

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

3/88

وزارة التعليم و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement et de la Recherche Scientifique

1 ex

## ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT : GENIE CHIMIQUE

المدرسة الوطنية المتوسطة للتقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

# PROJET DE FIN D'ETUDES

SUJET

AROMES ALIMENTAIRES.

CONTRIBUTION A L'ETUDE ANALYTIQUE

DES HUILES ESSENTIELLES DES

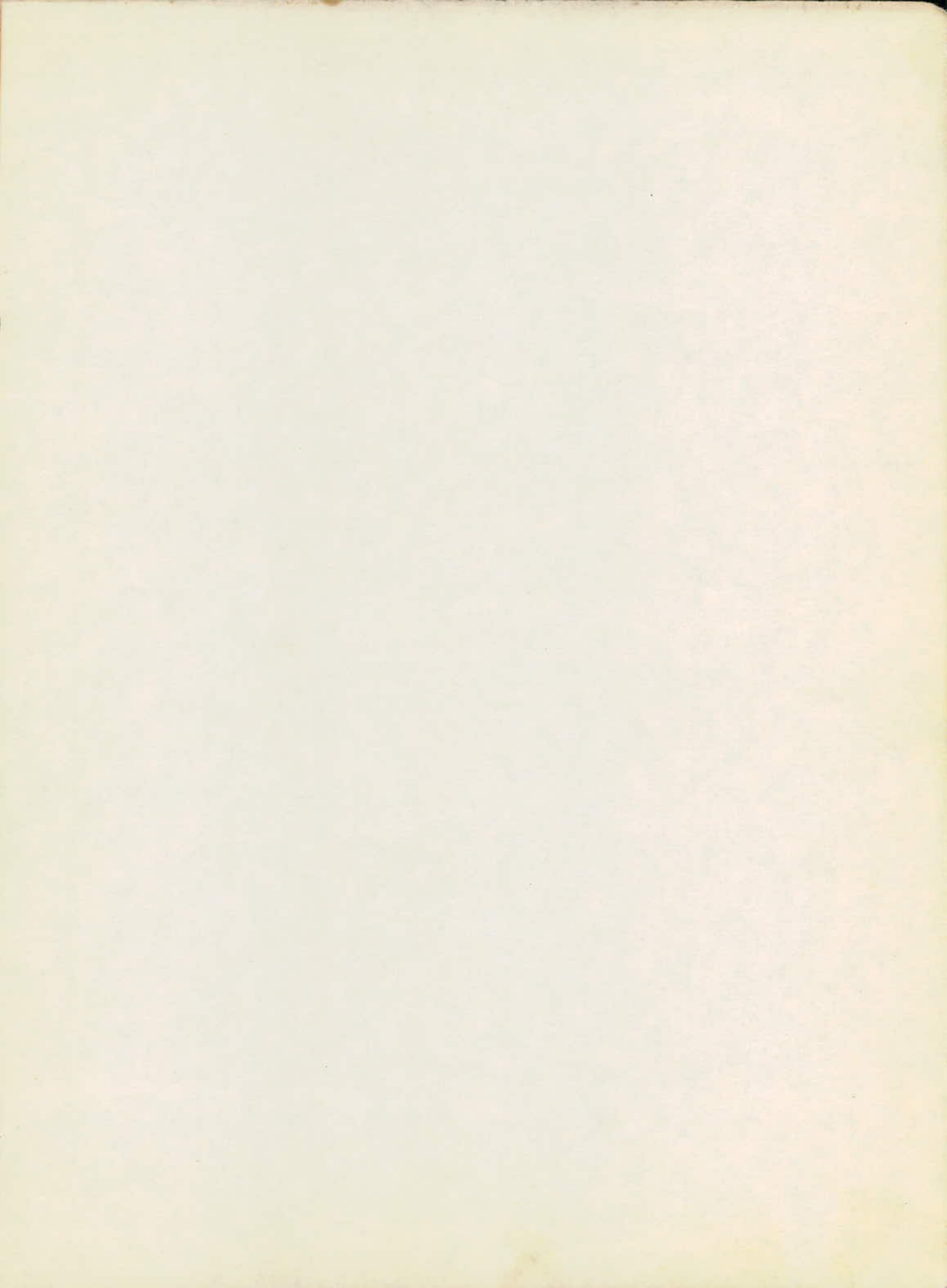
PRINCIPAUX CITRUS.

Proposé par :  
Pr. R. BELABBES

Etudié par :  
Melle O. BÉNHABILES.

Dirigé par :  
Pr R BELABBES  
Mme. R. DERRICHE

PROMOTION Janvier 1988



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement et de la Recherche Scientifique

## ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT : GENIE CHIMIQUE

المدرسة الكيميائية  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

## PROJET DE FIN D'ETUDES

### SUJET

AROMES ALIMENTAIRES.  
CONTRIBUTION A L'ETUDE ANALYTIQUE  
DES HUILES ESSENTIELLES DES  
PRINCIPAUX CITRUS.

Proposé par :

Pr. R. BELABBES

Etudié par :

Melle o. BENHABILES.

Dirigé par :

Pr R BELABBES

Mme. R. DERRICHE

PROMOTION: Janvier 1988



M E M B R E S   D U   J U R Y

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

Président:

Madame DJELLAS

Chargée de cours à l'E.N.P.

Examineurs:

Monsieur BELABBES

Professeur à l'E.N.P.

Madame DERRICHE

Chargée des cours à l'E.N.P.

Madame CHARCHARI

Maître Assistante Titulaire  
à l'E.N.P.

Monsieur BENIDDIR

Maître Assistant Stagiaire  
à l'E.N.P.

Invités:

Monsieur BOUSNADJI

Chef de Département des analyses  
fines du service des fraudes



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

Département : Génie Chimique

Promoteurs : M. BELABBES - Mme DERRICHE

Élève ingénieur: BENHABILES Ouahide

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
المكتبة - BIBLIOTHEQUE  
Ecole Nationale Polytechnique

وزارة التعليم العالي

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات

دائرة: الهندسة الكيميائية

الموجه: بلعباس دريوش

تلميذ مهندس: بن حبيل واحد

الموضوع: تحليل الزيوت الخالصة في العطور والعداسية  
ملحوظ: من عملنا يتعلق بالمراقبة التحليلية للتوعية  
وللمطابقة الأهمية للزيوت الخالصة لأنواع اللبغون  
الرئيسية، بواسطة الكروماتوغرافيا في العطور الغازية  
لتحقيق هذا لقد أخذنا بعين الاعتبار طريقتين للنسب الأولى  
تتمثل في إضافة الشواهد والثانية في استعمال مؤشرات  
الإستار "كوفاتس".

Sujet: Contribution à l'étude analytique des huiles essentielles  
des principaux citruses.

Résumé: Notre travail a consisté en un contrôle analytique de la  
qualité et de l'authenticité des huiles essentielles des princi-  
aux citruses (citron brut, citron semi déterpéné, citron déter-  
péné, limette des Indes, limette distillée), par chromatogra-  
phie, en phase gazeuse. Pour cela nous avons pris en considération  
deux méthodes d'identification, la première par ajout d'étalons, et  
la deuxième par indices de rétention de Kovats.

Subject: A contribution to analytical study of main citrus essential  
oils.

Our project work consists of an analytical quality control  
and genuineners of essential oils of main citrus (crude lemon,  
deterpened and semi-deterpened lemon, Indian lime, distilled lime),  
using gaz chomatography process.

Two identification methodes are used:

In the first one we proceed by the standrd sample addition  
technic, whereas in the second, the "Kovats" index retention method  
is performed.

DEDICACES

A la mémoire de mon grand père,

A ma mère,

A mon père,

qui par leurs sacrifices, m'ont permis d'embrasser  
cette magnifique carrière.

Je tiens à leur exprimer ici ma reconnaissance  
et ma profonde affection.

A mon frère et soeurs,

A ma tante,

A mes cousins : BOUZID et YOUCEF,

A ma belle soeur et beaux frères,

A ma nièce et neveux,

A tous les miens.



REMERCIEMENTS.

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

Ce travail a été réalisé au Département de Génie Chimique E. N. P sous la direction de:

Monsieur BELARRES, Professeur à L'E.N.P  
et Madame DERRICHE, chargée de cours.

Qu'ils trouvent ici, l'expression de mon profond respect et de ma profonde gratitude, pour leur aide constante et leurs précieux conseils.

J' exprime mes sincères remerciements à:

Madame DJELLAS, chargée des cours à l'E.N.P.  
Pour l'honneur qu'elle me fait de présider mon jury.

Mes remerciements vont également à:

Madame CHARCHARI, Maître assistante Titulaire, & L'E.N.P  
Monsieur BENIDDIR, Maître assistant stagiaire à l'E.N.P.

Pour avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je remercie infiniment Madame BOUCHTAOUTI, Madame CHARCHARI, Monsieur HADJADJ, pour m'avoir aidé à réaliser ce travail.

Je remercie tout le Personnel du Laboratoire Technique d'analyse, de la Bibliothèque, du Département de Technologie, I. N. A.

Pour leur chaleureux accueil, ainsi que le Personnel du Laboratoire du Service des Fraudes, particulièrement Monsieur BOUSNADJI pour son aimable collaboration, et le Personnel de la DIPROCHIM.

Je remercie Mademoiselle ZAHIA Secrétaire du Département Génie Chimique pour ses encouragements et sa sympathie.

Je remercie tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.



# S O M M A I R E



	<u>Pages</u>
A. <u>Partie théorique</u>	
I. <u>Généralités sur les huiles essentielles</u>	01
1. Introduction	01
2. Définition	01
3. Composition chimique	04
4. Mode d'obtention	
II. <u>Huiles essentielles des principaux Citrus</u>	06
1. Historique	06
2. Classification et caractéristiques botaniques	08
3. Essences déterpénées	08
4. Huile essentielle de citron	12
5. Essence de Limette	
III. <u>Généralités sur les arômes</u>	14
1. Qu'est-ce que l'arôme	14
a. Quelques définitions	15
b. Caractères physiques	16
c. Classification aromatique	16
d. Evaluation aromatique	16
2. Extraction de l'arôme	
IV. <u>Contrôle analytique des huiles essentielles</u>	20
1. L'odeur	20
2. Analyse sensorielle	

a. Olfaction et perception	20
b. L'évaluation sensorielle couplée avec CPG	21
c. Les seuils olfactifs et les unités d'odeur	22
d; Les relations structure - odeur	23
3. Caractéristiques physiques	25
V. <u>Recherches bibliographiques</u>	
- Introduction	26
1. L'huile essentielle de citron	26
2. L'huile essentielle de limette	29
VI. <u>Technique d'analyse: chromatographie en phase gazeuse</u>	
1. Qu'est-ce la chromatographie en phase gazeuse	37
a. Le principe	37
B. <u>Partie Expérimentale:</u>	
I. <u>Méthodes et Appareillage</u>	38
1. Appareillage	38
2. Préparation d'une colonne à remplissage	39
II. <u>Analyses:</u>	
1. Caractéristiques physiques	43
2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse	47
a. Choix des conditions opératoires	47
b. Appareillages utilisés	48
c; Analyse qualitative.	52
Conclusion Générale	67
I. Différents exemples de terpènes	
II. Bibliographie	

PARTIE THEORIQUE



## I N T R O D U C T I O N

Un arôme naturel est un ensemble complexe et équilibré de substances. Si cet équilibre est faussé par la perte totale ou même partielle d'un ou de plusieurs constituants, l'arôme se trouve déformé.

Tout particulièrement les corps les plus volatils sont indispensables pour donner à l'arôme sa vie et sa fraîcheur; étant les plus volatils, ils sont aussi les plus difficiles à capter.

D'autres composants sont présents uniquement à l'état de traces dans l'arôme naturel. Or il a été confirmé que ces traces sont tout aussi déterminantes pour l'individualisation de l'arôme que les composants principaux sous l'angle quantitatif.

Jusqu'à ce jour les techniques chromatographiques ne permettent d'identifier que ces composants principaux. Lorsque l'on essaie ensuite de reconstituer artificiellement un arôme en additionnant les éléments ainsi identifiés, dans les proportions indiquées par l'analyse on obtient un résultat en général décevant.

Le travail que nous avons tenté de réaliser consiste en un contrôle analytique des huiles essentielles dans les arômes alimentaires:

- Huile essentielle de citron brut pur zeste
- Huile essentielle de citron semi-déterpéné
- Huile essentielle de citron déterpéné
- Huile essentielle de limette distillée
- Huile essentielle de limette des "Indes"

Cette étude est articulée autour de cinq parties:

La première a consisté en la détermination des conditions opératoires optimales chromatographique (phase stationnaire, température de colonne, etc ...) suivie de la détermination des caractéristiques physiques.

Enfin l'identification des divers constituants est la recherche d'une méthode rapide et efficace, ont fait l'objet des deux dernières parties.

## I. Généralités sur les huiles essentielles:

### 1. Introduction:

Les huiles essentielles sont très répandues dans le règne végétal, elles se rencontrent surtout dans les phanérogames, mais quelques cryptogames en renferment également.

Dans la plupart des cas, les essences se trouvent toutes formées dans les différents organes de la plante, les feuilles, les fleurs, les fruits, les tiges ou les racines, elles sont alors localisées soit dans les glandes des poils sécréteurs, soit dans des réservoirs intercellulaires. Il arrive fréquemment que la composition de l'essence d'une même plante soit très variable, selon qu'elle est extraite de l'un ou l'autre organe de cette plante, il s'ensuit que ces produits ont également des propriétés fort différentes. C'est ainsi par exemple que l'essence de racine de cannellier a une composition tout autre que l'essence de l'écorce et que cette dernière, à son tour, ne présente que peu d'analogie avec l'essence des feuilles.

Mais il arrive souvent que les essences provenant d'une même partie de plante accusent entre elles des différences notables dues à l'état de maturité, aux conditions climatiques ou encore à la nature du sol; même si ces conditions sont identiques il est possible parfois d'obtenir des essences de caractère différent si l'on apporte quelques modifications au procédé de distillation. (1)

### 2. Définition:

Les huiles essentielles sont des produits naturels extraits des fleurs et des plantes aromatiques.

Ce sont des mélanges plus ou moins complexes dont les constituants jouent du point de vue de leur parfum des rôles d'inégale importance. Les uns contribuent puissamment à l'arôme de l'essence, d'autres participent simplement à l'harmonie du mélange il en est qui complètement inodores ou peu odorants ont un rôle tout à fait effacé, enfin certains corps constituent des facteurs négatifs qu'il y a intérêt à éliminer. (2)

### 3. Composition chimique des huiles essentielles:

Les huiles essentielles sont des mélanges plus ou moins complexes d'hydrocarbures terpéniques ( $C_5H_8$ )<sub>n</sub> d'alcools, d'esters, de cétones, d'aldehydes.

#### a. Les terpènes:

l'étude chimique des composants des huiles essentielles



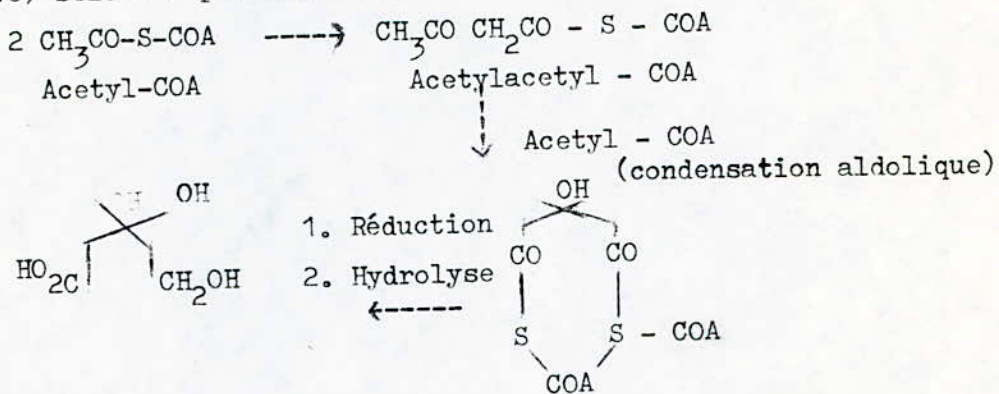
a; Les terpènes:

L'étude chimique des composants des huiles essentielles au XIX<sup>e</sup> siècle a permis de découvrir un certain nombre d'hydrocarbures isomères de formule C<sub>10</sub> H<sub>16</sub> et qui furent appelés terpènes.

L'établissement de la structure des terpènes qui sont de plus en plus nombreux révéla que pratiquement tous peuvent être considérés comme résultant de la condensation d'unités identiques en C<sub>5</sub>, de même squelette que l'isoprène C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>.

En 1887, WALLACH énonça les premières bases concernant l'assemblage isoprénique des terpènes. Cette constatation conduisit à la formulation de la règle isoprénique selon laquelle tous les terpènes peuvent être théoriquement décomposés en unités isopréniques.

De nos jours, nous savons que les terpènes ne sont pas vraiment formés dans la nature à partir de l'isoprène; ce dernier n'ayant jamais été détecté dans un organisme vivant. Le véritable précurseur universel de tous les terpènes est l'acide mévalonique, qui n'est connu que depuis 1956. L'acide mévalonique se forme à partir de l'acétyl COA (acétate activé) selon le processus général suivant: (3)



Les terpènes sont des hydrocarbures cycliques multiples de C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>, nous distinguons :

- les monoterpènes (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>2</sub> à 2 unités isopréniques
- les sesquiterpènes (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>3</sub> à 3 unités isopréniques
- les diterpènes (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>4</sub> à 4 unités isopréniques
- les polyterpènes (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> à n unités isopréniques

Les monoterpènes et les sesquiterpènes et dans une faible mesure les diterpènes ainsi que leurs dérivés sont largement répandus dans presque toutes les huiles essentielles.



b. Alcools:

Les composés alcooliques jouent un rôle très important dans les principes odorants des végétaux.

Les alcools de la série terpénique peuvent être considérés comme provenant des terpènes  $C_{10}H_{16}$ , des dihydroterpènes  $C_{10}H_{18}$  ou des sesquiterpènes  $C_{15}H_{24}$  et distribués entre les groupes suivants :

Des alcools terpéniques proprement dits: alcool  $C_{10}H_{16}O$  pouvant dériver des terpènes  $C_{10}H_{16}$  par substitution d'un groupement hydroxyle OH à un atome d'hydrogène.

- . Alcool  $C_{10}H_{18}O$  correspondant à des produits d'addition d'une molécule d'eau à une molécule de terpène  $C_{10}H_{16}$ .
- . Alcool  $C_{10}H_{20}O$  provenant de l'hydratation des dihydroterpènes  $C_{10}H_{18}$
- . Des alcools sesquiterpéniques, ils répondent soit à la formule  $C_{15}H_{24}O$ , soit à la formule  $C_{15}H_{26}O$ . Les premiers correspondent à des produits de substitution de OH à un atome d'hydrogène des sesquiterpènes  $C_{15}H_{24}$  et les seconds aux produits provenant de la fixation d'une molécule d'eau sur ces mêmes hydrocarbures. (4)

c. Aldéhydes:

Les aldéhydes contenus dans les huiles essentielles sont assez nombreuses et jouent du point de vue parfum, un rôle de première importance.

Les aldéhydes de la série terpénique comprenant:

- un homologue inférieur  $C_9H_{12}O$  des aldéhydes terpéniques de formule  $C_{10}H_{14}O$ .
  - Des aldéhydes proprement dits:
    - . Aldéhydes  $C_{10}H_{16}O$  qui correspondent aux alcools  $C_{10}H_{18}O$  et enfin des aldéhydes  $C_{10}H_{18}O$  qui correspondent aux alcools de formule  $C_{10}H_{20}O$ .
    - Un aldéhyde homoterpénique  $C_{11}H_{16}O$ , un aldéhyde sesquiterpénique  $C_{15}H_{22}O$  correspondant à un alcool sesquiterpénique  $C_{15}H_{24}O$ .
- Les aldéhydes non terpéniques contenus dans les huiles essentielles appartiennent les uns à la série grasse, les autres à la série asomatiques(4)

d. Phénols et dérivés phénoliques:

Cette classe de composés est extrêmement importante et compte des représentants nombreux et très répandus dans les huiles essentielles. Elle comprend:

- Des composés ne possédant qu'une fois la fonction phénol.
- Des diphénols et des quinones.
- Des composés phénoliques possédant en même temps la fonction éther oxyde de phénol.
- Des éthers oxydes de phénols chez lesquels le groupement fonctionnel se trouve ou non répété. (4)

c. Cétones:

On rencontre un assez grand nombre de Cétones qui accompagnent souvent les alcools secondaires dont elles dérivent d'ailleurs par oxydation. Les cétones peuvent se diviser en deux groupes: les cétones terpéniques et les cétones non terpéniques.

Les cétones de la série terpéniques se subdivisent comme suit:

- Des homologues inférieurs  $C_9H_{14}O$ , des cétones terpéniques  $C_{10}H_{16}O$ .
- Des cétones terpéniques dérivant soit d'alcools secondaires  $C_{10}H_{16}O$  (de formule  $C_{10}H_{14}O$ , soit d'alcools secondaires  $C_{10}H_{18}O$  de formule  $C_{10}H_{16}O$ , soit enfin d'alcools secondaires  $C_{10}H_{20}O$  de formule  $C_{10}H_{20}O$ .

Les cétones non terpéniques ont des représentants dans la série grasse et des représentants dans la série aromatique. (4)

4. Mode d'obtention:

L'extraction des huiles essentielles se fait selon le cas, par l'une des méthodes suivantes:

1. - L'expression
2. - Distillation à la vapeur d'eau
3. - Extraction au moyen d'un solvant volatil
4. - Extraction au moyen d'un solvant fixe (macération) et enfleurage)

1. Expression: Ce procédé ne s'emploie que pour les substances riches en huile essentielle, comme le zeste de l'orange et du citron. La matière première est fortement pressée, à froid, au moyen de presses hydrauliques ou bien à nu dans des presses spécialement aménagées. L'huile écoulée est décantée de la partie aqueuse et clarifiée par repos ou filtration.

2. Distillation à la vapeur d'eau: La plante ou les fleurs sont introduites dans de grands appareils distillatoires. Les principes volatils, peu solubles dans l'eau sont entraînés après condensation séparés du distillat par décantation.



3. Extraction au moyen d'un solvant volatil:

L'épuisement se fait à froid ou à chaud, au moyen d'ether de pétrol ou de benzène purs et désodorisés, dans des appareils clos. Dans le cas le plus fréquent d'une extraction à froid, chaque charge de fleurs est généralement lavée à plusieurs reprises successives, le solvant étant laissé chaque fois 6 à 8 heures en contact.

Après distillation du solvant on obtient une masse cireuse appelée "essèce concrète" mélange d'huiles essentielles et de cires; elle est traitée par l'alcool qui dissout l'huile essentielle et laisse les cires insolubles, puis on distille l'alcool.

4. Extraction au moyen d'un solvant fixe:

Les solvants utilisés sont principalement les matières grasses, l'extraction, peut se faire, soit à chaud par macération, soit à froid par enfleurage;

a. Macération: Les fleurs à épuiser sont introduites dans la matière grasse fondue. Ces fleurs ainsi épuisées sont passées à la presse ou traités par un dissolvant volatil.

b. Enfleurage: L'extraction à froid, par enfleurage, est celle qui conduit aux matières odorantes les plus fixes. Ce procédé utilise la propriété qu'ont les graisses d'absorber très facilement les émanations parfumées des plantes sans interrompre complètement la vie de la fleur. (2)



## II. Huiles essentielles des principaux Citrus (Hespéridées)

### 1. Historique:

Le genre *Cirtus*, de la classe des Aurantiacées ou Hespéridées, qui est une subdivision de la famille des Rutacées, est originaire de l'Asie Centrale. Le nombre des variétés de fruits de Citrus qui sont connus sous le nom collectif de fruits d'Hespéridées semble indiquer qu'ils sont cultivés depuis très longtemps.

Les arbres à Citrus paraissent être originaires de la Chine méridionale et des Indes; c'est les campagnes d'Alexandre le Grand que les peuples occidentaux les ont connus et qu'ils se sont répandus progressivement par la culture en Perse.

Plus tard, les Romains et ensuite les Arabes, ont également contribué à la propagation des arbres à Citrus dans les régions côtières de la Méditerranée, la culture s'est ensuite propagée dans tous les pays à climat chaud ou tempéré, de sorte qu'actuellement, les arbres du genre Citrus peuvent être rangés parmi les végétaux cultivés les plus répandus.

L'huile essentielle des fruits d'Hespéridées est contenue en abondance, dans le tissu cellulaire du zeste de ces fruits.

En 1555 "Conrad Gesner" donna les premières indications sur les essences distillées de citron et d'oranges, peu après (1571) suivirent celles de "Jaques Besson" et en 1589 celles de "Porta". Ce dernier décrit la préparation des essences de citron et d'oranges, par distillation des écorces fraîches et broyées. (5)

### 2. Classification et caractères botaniques:

Les Citrus se croisent naturellement entre eux avec la plus grande facilité et sont sujets à des variations de bourgeon relativement fréquentes.

Il en résulte une foule de types et de variétés dont la classification botaniques présente de grandes difficultés. On se réfère la plus souvent à celle de "Swingle" à laquelle de judicieuses modifications ont été récemment apportées par "Chapot" généticien de l'Institut des fruits et des agrumes

Famille : Rutaceae

Sous famille : Aurantioideae

Tribu : Citrae

Sous tribu : Citrinal (6)

Le tableau ci-dessous a pour objet d'indiquer la désignation botanique des plantes utilisées pour la production d'huiles essentielles, telle qu'elle a été adoptée par le comité ISO/TC 54 "Huiles essentielles" de l'Organisation Internationale de Normalisation (19)

Dénomination usuelle	Désignation Botanique	Désignation botanique usuelle en France	Famille	Partie de la plante utilisée
Citron	Citrus limon	C. Limonum Risso	Rutacées	Péricarpe du fruit
Lime	" Citrus aurantifolia Swingle	1-Lime (obtenue par expression) 2-Lime (obtenue par distillation)	Rutacées	Péricarpe du fruit



### 3. Essences déterpénées:

Depuis quelques années, l'emploi des huiles essentielles concentrées a pris une grande extension. La première tentative dans ce sens, fut faite par "Haersel de Pirna", qui en 1876, introduisit dans le commerce "l'essence" de Carvi Brevetée". Par la suite le mot breveté fut remplacé par celui de "déterpéné" et c'est sous ce nom que sont connues la plupart des essences concentrées du commerce.

Théoriquement les terpènes, quoique ayant des odeurs caractérisées, ne peuvent pas être considérés comme donnant aux différentes essences leur parfum spécifique. Ce parfum spécifique est presque toujours dû à un ou plusieurs corps oxygénés, qui ont une densité et un point d'ébullition plus élevés, en même temps qu'un pouvoir rotatoire plus faible que le terpène qui les accompagne. (7)

La déterpénation a en effet un double avantage; non seulement elle élimine les carbures dont l'odeur, généralement faible, est souvent désagréable, mais encore elle augmente considérablement la solubilité dans l'alcool dilué. C'est en effet, un phénomène observé depuis longtemps que parmi les constituants des essences, les terpènes sont ceux qui se dissolvent le moins bien dans les alcools à bas titre.

La déterpénation se fait toujours par distillation fractionnée, les terpènes ayant en général un point d'ébullition nettement inférieur à celui des composés oxygénés que l'on veut conserver. Cependant cette distillation ne peut se faire à la pression ordinaire, car il y aurait altération du parfum. On opère donc sous vide à température aussi basse que possible. L'opération est arrêtée lorsque la majeure partie des terpènes a passé. Les produits ainsi éliminés peuvent trouver des débouchés comme solvants dans l'industrie des vernis. (8)

### 4. Huile essentielle de Citron:

#### a. Historique:

L'origine du Citron ou Citrus Lemon a été un mystère. Bien que quelques informations existantes montrent qu'il est natif du sud est de la Chine, où il fut connu et cultivé avant la dynastie "Sung", "Webber" préconise le sud de la Chine tandis que Swingle affirme que le vrai citron d'introduction récente est très rare dans le sud de la Chine. A la limite, ceci prouve que le citron est un hybride de ce que l'on appelle le citron de l'Inde.

Selon "Swingle", le citron pourrait avoir pour parents le citron de type citrus Medica Linnaeus et celui de type citrus aurantiifolia Swingle et donc, par conséquent est un hybride de ces deux citrons. (9)



b. Caractères botaniques:

Grandes feuilles, bourgeons lavés de pourpre, les fleurs du citron sont blanches, assez grandes et légèrement rosâtres à l'extérieur; le fruit est ellipsoïde à mamelon cône, la peau est jaune, un peu verdâtre quand le fruit n'est pas complètement mûr, la pulpe est claire et transparente, aigre, douce et agréablement parfumée. (6)

c. Caractères:

L'essence de citron normale forme un liquide jaune clair, qui possède l'odeur agréable des citrons frais et une saveur aromatique, douce avec un arrière goût un peu amer

Il est fort difficile de formuler des limites de valeur universelle pour les constantes de l'essence de citron. La saison de récolte et le degré de maturité de ses fruits ont une influence marquée sur les caractères des essences. En effet les produits retirés des fruits récoltés au début de la saison, soit en novembre, ont le pouvoir rotatoire le plus élevé, lequel va constamment en diminuant durant l'hiver, à mesure que la maturité des fruits s'accroît; en même temps, la densité de l'essence et la proportion de citral augmente.

La densité va généralement de 0,856 à 0,861, on a cependant déjà constaté 0,854 comme limite la plus basse des essences pures.

Le pouvoir rotatoire optique varie dans la fourchette entre +57° et + 61°.

L'indice de réfraction  $n_D^{20}$  est compris entre 1,474 et 1,476 (7)

d. Composition:

Bien que l'essence de citron soit connue et utilisée de toutes manières depuis une date ancienne, il a fallu une période relativement longue pour qu'on parvienne à pénétrer, même superficiellement, la nature de ce mélange formé d'éléments aussi nombreux. Il convient toutefois de rappeler que son analyse a été fort difficile par la présence d'éléments non volatils, dont la suppression n'est pas possible sans que ces derniers ne soient partiellement décomposés et ce même par distillation à la vapeur d'eau. (7)

Cette huile contient 92 à 95% de terpènes dont le limonène est le représentant majeur, de faibles proportions de phellandrène, d' $\alpha$  et  $\beta$  pinènes, p-cymène, etc... et 7 à 8% de composés oxygénés dont le citral, des aldéhydes en C<sub>8</sub> et C<sub>9</sub>, des acétates de linalyle et de géranyle, du citronnellal, du linalol et etc... (10)



D'un point de vue odeur, le composant le plus important de l'essence de citron est le citral  $C_{10}H_{16}O$  aldéhyde découverte dans ce produit en 1880 par "M. J. Bertram"; la proportion de citral dans l'essence varie de 3 à 5% (7)

c. Extraction:

La production des essences d'Hespéridées par expression offre le grand avantage, de ne pas les exposer à une élévation de température, ce qui laisse tous leurs éléments en l'état où ils se trouvent naturellement dans la plante ; ce mode d'extraction présente toutefois, deux inconvénients appréciables. Il exige d'abord trop de manutention coûteuse, puis laisse dans les écorces une forte proportion d'essence qui se perd. Le moyen habituellement employé pour l'extraction des huiles essentielles, à savoir la distillation à la vapeur d'eau sous pression atmosphérique, n'est pas applicable aux essences d'Hesperidées parce qu'elle rend les produits extraits instables et les affecte d'une odeur désagréable. (7)

f. Conservation:

L'essence de citron, de même que toutes les huiles essentielles obtenues par expression, forment à la longue un dépôt plus ou moins cristallin. L'action de l'air et de la lumière modifie rapidement l'essence de citron lui fait perdre sa couleur et laisse déposer une masse brune, épaisse et visqueuse. Dans le même temps, sa densité augmente, ainsi que sa solubilité dans l'alcool à 90°. C'est pourquoi l'essence de citron doit être conservée à l'obscurité et au frais, dans des flacons en verre blanc bouchés (X) hermétiquement (7)

g. Essence déterpénée de citron:

L'essence déterpénée de citron est de loin la plus utilisée de toutes les essences déterpénées; elle trouve un débouché considérable dans la préparation des eaux gazeuses et etc...

L'essence de citron déterpénée, quand elle est bien faite, ne contient pas de limonène et ne retient que très peu du stéaroptène de l'essence naturelle. Ce dernier corps ne pouvant être utilisé en parfumerie ni comme aromate, précipite en grande proportion quand on a débarrassé l'essence de son terpène par distillation. Il reste alors dans l'essence deux aldéhydes: le citral et le citronnellal, de l'acétate

de géranyle et, dans certains cas, de l'acétate de l'inalyle. Elle renferme, en outre, de petites quantités de constituants qui lui confèrent une suavité caractéristique.

La véritable essence de citron déterpénée possède une densité à 20° variant de 0,909 à 0,914; elle est toujours lévogyre et son pouvoir rotatoire varie entre -7° et -9°.

Outre la véritable essence de citron déterpénée, on trouve sur le marché, une quantité énorme d'essence dite déterpénée. Cependant, ce n'est que de l'essence de citron ordinaire, déterpénée en partie seulement ayant une faible densité, ou de l'essence de citron à laquelle est ajoutée une certaine quantité de citral presque pur. (7)

Pour apprécier les essences concentrées "M Böcker" part du fait qu'une essence de citron entièrement débarrassée de ces hydrocarbures terpéniques renferme tout au plus 66% de citral. Il se base là-dessus pour dresser le tableau suivant: (8)

Teneur en H.C	Titre maximum admissible en Citral
0%	66%
5%	62,7%
10%	59,4%
15%	56,1%
20%	52,8%
25%	49,5%
30%	46,2%
35%	42,9%
40%	39,6%
45%	36,3%
50%	33%



## 5. Essence de Limette:

### a. Introduction:

Les variétés de ce fruit ont été très <sup>peu</sup> bien étudiées; elles sont classées en deux groupes: les limettes acides et les limettes douces, ces dernières sont insignifiantes en ce qui concerne les produits d'essence.

Selon "Swingle", la limette est une espèce distincte du Citrus Aurantifolia Swingle" et n'est commune à aucune autre espèce d'Agrumes. Cependant, les limettes s'hybrident librement avec d'autres espèces d'agrumes, et plusieurs de ces hybrides se rencontrent à l'est des Indes. (9)

### b. Historique:

Très probablement, la limette est née dans l'Archipel Est Indien d'où, elle fut introduite en Asie et dans d'autres régions tropicales et subtropicales du monde.

D'après "Guenther", il est même possible que la limette fut introduite dans la côte Ouest de la partie centrale et nord de l'Amérique du sud (Colombie, Equateur),

par les polynésiens des îles pacifiques. Ces limettes atteignirent même la côte Ouest Américaine (Californie). Cette hypothèse est basée sur l'existence de limette en quantité abondante dans les jungles et dans les régions peu connues de l'Amérique centrale tropicale du nord de l'Amérique du Sud et particulièrement dans la côte pacifique.

A notre connaissance, la limette d'Europe fut importer de l'Inde via la Perse, la Palestine et l'Egypte par les Arabes en même temps que l'orange aigre et le citron; ceci fut mentionné pour la première fois dans la littérature Arabe du 13eme siècle.

La plupart des botanistes sont d'accord de nos jours pour dire que la limette fut introduite aux Amériques par les Espagnols et les Portugais à travers leurs exploration du début du 16 eme siècle. (9)

### c. Caractère botanique:

La limette présente des boutons à fleurs plus ou moins pourpres ou blans; ses fruits sont ronds et mamelonnés à peau mince et adhérente, sa chair verdâtre est très acide et parfumée. (6)

— + — :

c. caractère:

L'essence de limette est un liquide jaune d'or, son odeur diffère à peine de celle d'une bonne essence de citron mis à part son intensité beaucoup plus marquée, la densité à 15° va généralement de 0,878 à 0,901. Le pouvoir rotatoire optique varie entre +32° et +38°

Cette essence donne avec 4 à 10 volumes d'alcool à 90° une solution trouble à faible fluorescence bleue, avec un dépôt d'éléments circoïdes(7)

e. Composition:

L'essence contient surtout du Limonène; il est à remarquer que l'essence obtenue par distillation a une odeur tout à fait désagréable et ne rappelle pas celle du Citral.

Elle contient également du Citral, du Linalal gauche, de l'acétate de Linalyle, des traces de phellandrène, etc ... et un produit appelé "Limettine". (11)

f. Essence de Limette distillée:

Elle diffère entièrement de l'essence extraite par expression on l'obtient comme produit secondaire lors de la concentration du suc. Son odeur est désagréable et térébentinée. Cette différence d'odeur est due à la décomposition partielle des éléments oxygénés de l'essence au cours de la distillation. Le Citral, sous l'influence de la température et en présence d'acides dilués se décompose en oxygène.

g. Propriétés physiques et chimiques de l'huile essentielle:  
de Limette:

Durant les dernières années "The New York Laboratoires of Fritzsche Brothers" ont examiné plusieurs variétés d'huile de Limette, distillée et exprimée, et ont établi les limites suivantes: (9)

1°/ - L'huile essentielle de limette exprimée

Densité à 15°	0,878 à 0,886
pouvoir rotatoire	+ 35°0' à 40°0'
Indice de réfraction à 20°	1,4820 à 1,4860
Aldéhydes (Citral)	4,5 à 8,5%
Résidu d'évaporation	10.0 à 13,5%

2°/ - L'huile essentielle de Limette distillée

Densité à 15°	0,862 à 0,868
Pouvoir rotatoire	+ 34°30' à + 46°30'
Aldéhydes (Citral)	0,5 à 1,5%



### III. Généralités sur les arômes:

#### 1;. Qu'est-ce que l'arôme:

Les arômes alimentaires sont des mélanges complexes comportant des substances aromatisantes appartenant à une ou plusieurs des trois catégories suivantes:

1. Les substances aromatisantes naturelles extraites de denrées alimentaires brutes ou préparées, de fruits, telles que les huiles essentielles et les extraits de toutes sortes.

2. Les substances aromatisantes de synthèse, identiques à celles qui existent dans la nature. Ce sont donc des substances synthétisées chimiquement et dont la constitution reproduit exactement celle de la substance trouvée dans un arôme naturel.

3. Les substances aromatisantes artificielles sont des corps chimiques définis, obtenus par synthèse et dont la constitution ne correspond à aucun produit trouvé dans la nature. A cette catégorie appartiennent certains homologues ou analogues des substances naturelles tels que l'éthylvanilline, de même que des corps qui n'ont strictement rien à voir avec des produits naturels, tels que le musc ambrette, le propenylguathol. (21)

#### a. Quelques définitions:

Avant de présenter les caractères physiques et l'extraction de l'arôme, il convient de rappeler les caractères organoleptiques d'un produit: couleur, odeur, texture et notamment flaveur.

- La texture d'un produit désigne sa consistance. Quant à la flaveur, mot d'origine anglaise réintroduit dans la langue française pour traduire le mot "flavour" ou "flavor" utilisé par les anglo-saxons, désigne l'ensemble des sensations gustatives et olfactives perçues lors de la consommation d'un aliment et résultant de la stimulation des récepteurs chimiques de la région buccalo-nasopharyngée. Ce terme général couvre deux éléments distincts : goût et arôme.

Le goût: est réservé à la perception par les papilles de la langue des quatre saveurs fondamentales: salée, sucrée, amère et acide.

Mais la dégustation d'un aliment provoque entre autre un ensemble de sensations qui permettent de juger véritablement de sa nature et de sa qualité. Ces sensations sont physiologiquement tout à fait différentes de celles du goût. Elles correspondent en fait à la perception de l'arôme, élément olfactif de la flaveur.

En effet, ce sont les molécules odorantes volatiles libérées du produit qui les renferment lors de la salivation et de la mastication, qui stimulent les récepteurs de cette perception situés dans la muqueuse de la région rétronasale.

Ainsi quand on dit en langage ordinaire que tel aliment à un goût de poisson on exprime en fait une perception olfactive. (12)

Rappelons également que les arômes de fruits se définissent comme un ensemble en général fort complexe de corps chimiques appartenant à une grande diversité de fonctions organiques acides, alcools, aldéhydes, esthers, etc ...

Pour chaque variété de fruits un spectre complet et équilibré de ces composants est responsable de notre perception et de notre identification olfactive du fruit concerné. (13)

#### b. Caractères physiques:

Volatilité: Les points d'ébullition des composants des arômes couvrent une vaste gamme, au dessous et au dessus de 100°C. Cependant tous ces corps ont un point commun: ils sont entraînés par la vapeur d'eau. Il s'agit ici d'une caractéristique intrinsèque des corps odorants. En effet les odeurs ne se dégagent pas en atmosphère complètement sèche, en d'autres termes elles nécessitent l'humidité comme véhicule.

Les arômes sont donc entraînés par la vapeur d'eau, même ceux dont les points d'ébullition sont largement supérieurs à 100°C. Cet entraînement a lieu en présence ou en absence d'air quelle que soit la pression; cependant la composition de la phase entraînée varie en fonction de la pression.

L'entraînement est moins bon sous pression réduite c'est à dire qu'il faut un plus grand poids de vapeur pour entraîner un même poids d'arômes. (13)

Solubilité dans l'eau: Celle-ci est très variable. Dans le cas où elle est pratiquement nulle à température ordinaire, il est possible de séparer la phase non aqueuse par décantation; le produit



ainsi obtenu est dénommé "huile essentielle". Par contre, beaucoup d'arômes, ou tout au moins une fraction importante de leurs composants demeurent en solution dans les eaux d'entraînement condensées; ceci est particulièrement le cas pour nombre d'arômes de fruits. De toute manière le critère de solubilité peut conduire à un fractionnement arbitraire de l'ensemble des corps odorants, car il n'est pas significatif sous l'angle aromatique: on en voit l'exemple dans de nombreuses distillations, de plantes à parfum, où une importante et intéressante fraction soluble est souvent perdue ou tout au moins mal valorisée. (13)

c. Classification aromatique:

D'après "Luthi" il existe trois sortes de substances aromatiques qui donnent au produit l'arôme caractéristique.

a. Des substances caractéristiques spécifiques ou essentielles sans lesquelles l'arôme d'un jus de fruit n'est pas typique.

Exemple de l'acide anthranilique qui contribue fortement à la formation typique du raisin concord .

b. Des substances aromatiques non spécifiques ou de soutien en général peu volatiles et insolubles dans l'eau. C'est le cas du géraniol dans le jus d'Agrumes.

c. Des substances aromatiques neutres, qui n'apportent rien à un arôme caractéristique. Cas de l'éthanol en quantité très variable: dans presque tous les jus de fruits. (14)

d. Evaluation aromatique: il est extrêmement difficile de définir le rôle spécifique de chaque composé volatil dans la sensation olfactive. Pris individuellement, un corps aromatique peut avoir une odeur désagréable, mais combiné à d'autres corps aromatiques il confère à l'arôme une sensation agréable, de part sa concentration et non son pouvoir odorant. (14)

e. Extraction:

L'extraction des arômes repose sur deux propriétés, physiques de leurs constituants: volatilité des composés aromatiques et leur solubilité dans des solvants organiques. Il est à remarquer, cependant, que cette extraction s'accompagne d'une distorsion qualitative et quantitative.

La distorsion qualitative s'explique par le fait que le procédé utilisé entraîne la dégradation de certains composés au profit

de l'apparition de nouveaux produits dont l'odeur peut modifier l'arôme naturel. De ce fait, des précautions extrêmes sont à prendre pour éviter cette distortion qualitative et notamment travailler à des températures modérées.

La distortion quantitative quant à elle réside dans le fait que les constituants d'un arôme n'ont pas la même volatilité. (14)

La technologie recherche des procédés de conservation et de transformation tels que le produit offert à la consommation provoque les mêmes sensations que la matière qui a servi à sa fabrication.

Les produits volatils responsables de l'odeur sont les premières victimes des traitements industriels que l'on fait subir aux fruits.

Deux voies sont offertes à leur préservation. La première consiste à récupérer les composés volatils qui s'échappent de la matière en transformation pour les reintroduire dans le produit fini.

L'autre plus ardue consiste à analyser un par un tous les constituants de l'arôme qualitativement et quantitativement, à réaliser leur synthèse et à reconstituer l'essence globale.

Pour saisir le phénomène de l'émission des arômes par une solution dans sa totalité, le chimiste devra résoudre un triple problème:

- La connaissance des composés odorants au-dessus de la matière et en équilibre avec elle.
- La connaissance totale tant qualitative que quantitative des composés volatils retenus dans la matière étudiée.
- L'état physique et la distribution des composés volatils dans la matière

En fait, l'ensemble de ces études est si complexe que les travaux que nous allons passer en revue ne traitent que, bien rarement plus de ces trois aspects.

L'analyse des vapeurs odorantes au-dessus de la matière et en équilibre avec elle, semble le moyen le plus immédiat pour découvrir les constituants volatils responsables de l'odeur. (15)

Espace de tête: (Headspace) est effectivement très employée, celle-ci peut s'effectuer de différentes façons:

- a. Les constituants de l'arôme sont piégés sous forme liquide ou solide dans une boucle d'échantillonnage refroidie à basse température. Après volatilisation par brusque chauffage, ils sont injectés dans la colonne chromatographique.



b. Les constituants volatils sont piégés sur un adsorbant solide constitué par un polymère organique hydrophobe à très grande surface spécifique. Les plus utilisés dans l'isolement des composés volatils sont le charbon activé, le Chromosorb et le Tenax.

Ce polymère d'un poids compris entre 100 et 500 mg placé dans un tube en verre est conditionné avant usage, par passage d'un courant d'Azote très pur et ne contenant pas d'oxygène. On opère entre 180°C et 225°C suivant le polymère. Le tube est ensuite fixé à l'appareil contenant l'échantillon et les composés volatils sont entraînés dans le tube à l'aide d'un courant d'Azote, d'Hélium ou d'air reconstitué.

Le piège est ensuite débranché et purgé avec de l'azote purifié pour éliminer l'eau.

Les produits volatils sont alors désorbés selon deux procédés:

- Soit par voie thermique suivie d'une recondensation en tête de colonne ou dans un capillaire en verre refroidi.

- Soit par lavage du piège avec une petite quantité de solvant.

c. Les composés volatils entraînés par un courant gazeux, sont piégés dans une colonne de grande longueur dont la paroi interne est enduite d'une phase organique telle que graisse de silicone. Ceux-ci sont ensuite désorbés par chauffage et recondensés dans un piège à Tenax GC.

d. Une dernière technique consiste à entraîner les composés volatils par un courant de gaz inerte (Azote, Hélium ...) et à les piéger dans une boucle refroidie dans l'azote liquide. (16)

Ainsi l'analyse par la technique de Headspace est une méthode indirecte de détermination des constituants volatils des liquides ou solides. La phase vapeur en équilibre thermodynamique avec l'échantillon à analyser contenu dans un système clos, est extraite par le gaz vecteur inerte puis injectée dans la colonne du chromatographe.

L'utilisation d'un gaz (He, N<sub>2</sub>) comme solvant présente plusieurs avantages:

- Solubilité idéale pour les solutés volatils
- Grande pureté par rapport aux solvants liquides, d'où inexistence d'interférences dues à d'éventuelles impuretés
- Le gaz ne provoque pas de pic de solvant au niveau du chromatogramme. (20)

Cette technique

Une technique simple améliorant celle des espaces de tête consiste à entraîner de façon continue les vapeurs émises par une matière et à les condenser dans un piège refroidi énergiquement; ce piège pouvant être une pré-colonne de chromatographie. Le gaz d'entraînement sera de l'air ou de préférence un gaz inerte comme l'hélium ou l'azote.

Cependant, telle méthode est longue et la matière étudiée devra posséder une bonne stabilité, ce qui n'est pas le cas des jus de fruits.

L'extraction des constituants volatils contenus dans la phase liquide par une technique identique à la précédente a été quelquefois utilisée, dans ce cas le gaz vecteur barbotte dans la solution aromatique.

L'augmentation de température accroît l'efficacité de la méthode mais aux dépens de la stabilité de la solution. La saturation par le sulfate de sodium ou le chlorure de sodium est également très utilisée pour augmenter la volatilité des constituants odorants.

La technique d'entraînement gazeux est ~~très~~ devenue beaucoup plus opérante et susceptible d'application industrielle quand on l'associe à un procédé de distillation. (15)



#### IV. Contrôle analytique des huiles essentielles:

##### A. L'odeur:

La propriété spéciale à certains composés organiques d'émettre une odeur peut être due, comme on l'admet depuis bien longtemps, à l'émission de particules de matière qui viennent agir sur notre organe olfactif. En 1895 " Jacques Pasy " démontra que des corps, tel que l'eau, les résines, les graisses, les métaux, le verre, etc ..., placés dans une enceinte fermée où se trouvaient des parfums pouvaient après un temps relativement court et sans qu'il y ait de contact direct avec la matière odorante, acquérir des odeurs comme celles de musc ou de vanilline par exemple (17).

##### 2. Analyse sensorielle:

###### a. Olfaction et perception:

Le fait le plus marquant de la perception olfactive réside dans l'extrême sensibilité des récepteurs aux substances chimiques et à leur capacité à les différencier. Cette détection est très souvent supérieure à celle que l'on peut déceler en C P G avec un détecteur à ionisation de flamme. Mais, ce phénomène est complexe car la perception varie non seulement avec les individus mais aussi pour un même individu, en fonction du temps, de son appétit, de son état hormonal et nutritionnel.

Les molécules odorantes dont seulement un petit nombre est perçu, peuvent suivre, outre la voie nasale normale, une diffusion rétro-nasale. Mais avant d'atteindre les récepteurs, elle doivent traverser la muqueuse olfactive qui est une couche de 10 à 100  $\mu\text{m}$  d'épaisseur entourant l'épithélium olfactif.

Au cours de cette traversée, il n'est pas impossible que les molécules subissent des modifications structurales. Elles atteignent enfin les ramifications nerveuses des récepteurs qui baignent dans le mucus à travers lesquelles pourra se transmettre le message au système nerveux central (S.N.C). On admet que l'identification spécifique du stimulus s'effectue au niveau de la membrane macromoléculaire de ces ramifications. Lorsque la partie active de la molécule rencontre un récepteur équipé d'un site accepteur, il peut se produire une interaction plus ou moins spécifique et de courte durée. Ce stimulus entraîne un changement de la perméabilité de la membrane qui se traduit



par un phénomène de dépolarisation. L'ensemble de ces variations locales peut aboutir à l'émission d'un potentiel signal électrique qui se propage le long de l'axone jusqu'au bulbe olfactif du cerveau. Tout se passe comme si l'activité spontanée du neurone se trouvait momentanément modifiée sous l'action du stimulus. Tous les neuro-récepteurs olfactifs stimulés simultanément envoient une série de messages par canaux indépendants que constituent les axones. C'est l'ensemble de tous les potentiels d'actions propagés jusqu'au S.N.C, à un instant donné, par les neuro-récepteurs stimulés simultanément par une odeur quelconque, qui constitue le message sensoriel ou l'image sensorielle périphérique de cette odeur.

La stimulation électrique des cellules olfactives isolées permet de mieux comprendre la sensibilité aux odeurs des récepteurs olfactifs. Il résulte de ces expériences qu'il existe plusieurs espèces de sites récepteurs et que ceux-ci se répartissent dans les cellules réceptrices de telle façon que chaque récepteur comporte plusieurs espèces de sites. Pour un récepteur donné, on peut d'autre part trouver plusieurs espèces de sites avec une fréquence plus grande que dans les autres.

A partir d'une étude portant sur une vingtaine de composés odorants de catégories différentes "Reviel et Al" ont montré que plusieurs d'entre eux pouvaient stimuler les mêmes récepteurs et que ces derniers étaient capables d'établir une discrimination entre certains groupes de composés odorants:

- Les aromatiques (benzène, bromobenzène)
- Les produits à odeur camphrée (camphre et Cinéol)
- L'alcool tertiobutylique, la cyclohexanone et le cyclohexanol.

Quant aux composés soufrés (sulfates et thiols) à l'exception du thiophénol, ils ont un faible effet stimulant par suite vraisemblablement d'une répartition plus limitée des récepteurs correspondants. (16)

b. L'évaluation sensorielle couplée avec la C P G:

La technique la plus répandue est l'évaluation par un jury d'experts "Panel" de l'odeur de chaque pic qui émerge d'une colonne chromatographique en phase gazeuse. On peut analyser les impressions olfactives de plusieurs portions du chromatogramme. Mais ces méthodes



présentent des inconvénients car elles ne tiennent compte ni des interactions entre les composants, ni des températures très supérieures à celles des vapeurs surmontant habituellement un aliment.

Aussi, préfère-t-on piéger les fractions à la sortie de la colonne soit directement dans une seringue, soit par adsorption inerte afin d'apprécier ultérieurement les caractéristiques olfactives de tel ou tel constituants. Il sera alors possible à un nez exercé d'en déterminer l'odeur ou l'impression olfactive en utilisant des descripteurs tels que: fumée, fruitée, épicée phénolique, etc ..., dont l'intensité pourra être chiffrée à l'aide d'une échelle arbitraire (de 0 à 5 par exemple, dans laquelle 0 correspondra à une intensité nulle, 1 à une intensité faible, 2 à une intensité moyenne, 3 à une intensité moyennement forte, 4 à une intensité forte et 5 à une intensité très forte.) Les juges peuvent même mettre un nom sur un certain nombre de pics et ce nombre sera d'autant plus grand que leur expérience dans ce domaine sera plus vaste. Par des études de ce genre, les composants caractéristiques de certains arômes ont été mis en évidence. (16)

### c. Les seuils olfactifs et les unités d'odeur:

La mesure de l'intensité des seuils olfactifs de perception permet d'apprécier la contribution d'un composant à l'arôme d'un aliment. On se base sur le critère suivant: plus le seuil d'un composant sera faible plus sa contribution sera grande. Les mesures sont toujours effectuées par un jury d'experts qui déterminent avec 50% de réponses exactes; la plus faible concentration décelable dans des liquides purs (eau, huile) ou dans l'air. Une méthode rapide et simple consiste à prendre une gamme de concentration croissante grâce à laquelle le seuil du "Panel" est défini, par la moyenne géométrique des seuils individuels.

La combinaison entre seuils de perception et concentration du composant dans l'aliment a conduit "Guadagni et Al" en 1966 à introduire la notion ~~notion~~ d'unité d'odeur  $U_0$  définie comme le rapport entre la concentration d'un composé volatil dans un aliment et son seuil de perception limite.

Les méthodes d'analyse psychométriques et psychophysiques trouvent de plus en plus d'applications dans le domaine de l'analyse sensorielle des produits alimentaires car elles permettent non seulement d'en apprécier l'arôme et la flaveur, mais aussi, d'en

déterminer les modifications survenant au cours du stockage ou des différents procédés de transformation. Grâce à ces méthodes, on a pu montrer que les composants d'un mélange n'agissent pas de façon additive et que dans le cas de mélanges binaires ou ternaires, ces constituants peuvent s'inhiber. Elles permettent enfin d'établir des modèles quantitatifs.

Parmi les appareils de mesure psychophysique des odeurs, le stimulateur olfactif différentiel de "MacLeod et Al" mérite une attention particulière. L'originalité de cet appareil est de permettre la comparaison simultanée de l'odeur à mesurer et de l'odeur étalon, respectivement présentées à chacune des deux narines d'un sujet. Seul le signal correspondant à la plus forte intensité est perçu par le cerveau car les voies olfactives droite et gauche sont raccordées indépendamment l'une de l'autre au cerveau. Outre un gain de temps et de volume de phase gazeuse, cet appareil permet de soustraire le sujet au milieu environnant. Il peut aussi être couplé aux autres méthodes (C P G, ... ,) (16)

#### d. Les relations structure-odeur:

Pourquoi des molécules semblables ont-elle des odeurs très différentes et vice-versa, alors que d'autres molécules de structure voisine ont des odeurs similaires? Cette question n'a toujours pas de réponse. Néanmoins des progrès sensibles ont été réalisés au cours de ces dernières années, grâce à l'informatique et au développement des méthodes de mesure des odeurs.

Dans un article consacré aux mesures physico-chimiques des odeurs "LAFFORT" a passé en revue les caractéristiques moléculaires impliquées dans le mécanisme de reconnaissance des odeurs par les cellules réceptrices. Trois conceptions semblent s'affronter:

- La théorie vibratoire de "WRIGHT" est basée sur la résonance des récepteurs olfactifs sous l'influence des fréquences de vibration et de rotation moléculaires des substances odorantes. Par exemple, l'influence des substituants sur l'odeur de la pyridine montre que les molécules qui possèdent cette odeur présentent en I R une bande de vibration hors du plan à  $400\text{ cm}^{-1}$ . Les substituants plus encombrants qu'un groupement éthyle modifient cette odeur. Mais, ces relations peuvent s'interpréter comme un reflet de similitude structurale.



- La théorie de la similitude de forme ou théorie stéréochimique de "AMORE" présume l'existence d'un nombre limité d'odeurs primaires associées à des formes particulières, tout comme il existe dans le domaine de la vision un nombre réduit (trois) de couleurs primaires.

- La théorie selon laquelle certains paramètres physico-chimiques des molécules aromatisantes seraient impliquées dans la perception de leur odeur semble la plus couramment admise mais la nature de tous les paramètres impliqués n'est pas connue avec précision.

Certaines relations établies entre les propriétés odorantes des pyridylcétones avec d'une part, les déplacements chimiques en R.M.N du carbone de la fonction carbonyle et avec d'autre part certains modes de fragmentation en spectromètre de masse semblent bien montrer que la distribution des charges dans les molécules odorantes est un paramètre important. Ces résultats devraient néanmoins être étendus à un plus grand nombre de produits et correlés aux données de la chimie quantique "LAFFORT et Al" ont utilisé 5 paramètres moléculaires qui tiennent compte respectivement de l'apolarité ( $\alpha$ ), de l'orientation ( $\omega$ ), des effets électroniques ( $\xi$ ), de l'effet donneur des protons ( $\pi$ ) et de la basicité ( $\beta$ ) de 79 substances pures. D'une façon générale,  $\alpha$  est proportionnel au volume de la molécule,  $\omega$  est élevé pour les cétones et les nitriles qui ont des moments dipolaires élevés, ( $\xi$ ) est élevé pour les substances soufrées, le terme suivant ( $\pi$ ) est élevé pour les acides carboxyliques, les alcools et ( $\beta$ ) est élevé pour les acides carboxyliques, les alcools, les amines, les cétones et les esters. Ces paramètres sont déterminés en C P G à l'aide de 5 colonnes montées en série et de polarité différente. Les temps de rétention sont transmis à un ordinateur où un programme approprié permet de calculer ces paramètres.

Une assez bonne corrélation a été trouvée entre les seuils olfactifs mesurés chez l'homme et les seuils calculés en utilisant les quatre premiers paramètres, le cinquième ( $\beta$ ) n'étant pas suffisamment précis. Mais, si des corrélations semblables ont été trouvées entre ces divers paramètres et des similitudes qualitatives d'odeur ou des qualités estimées par la technique des profils, elles sont, de l'avis des auteurs, loin d'être parfaites par suite de l'imprécision de certaines mesures, de la méthode employée (C P G)

et de notre impuissance à connaître tous les paramètres impliqués dans ce processus complexe.

Une étude plus vaste portant sur 1400 molécules utilisées couramment comme arômes alimentaires a été entreprise par "Jaubert" et Al". Ces auteurs ont étudié, à l'aide d'un micro-ordinateur, les relations entre l'odeur de ces substances chimiques, leurs propriétés osmophores, leur origine et quelques paramètres physico-chimiques.

La structure des molécules a été codée séparément sous forme de 1400 matrices de connectivité pour effectuer des interrogations par sous structures. Les matrices de données ont été étudiées par une analyse factorielle de correspondance ce qui a permis aux auteurs de définir un certain nombre de points:

- des typologies moléculaires en terme de **structure/activité**
- une organisation des différentes notes aromatiques
- des modèles théoriques en vue de la synthèse de molécules données de telle ou telle caractéristique osmophore spécifique.

Ces diverses approches étendues au plus grand nombre possible de molécules aromatisantes permettront, sans aucun doute, de franchir un pas important ( dans les relations structure-odeur. (16)

## 2. Caractéristiques physiques:

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques:

- Ce sont généralement des liquides à température ambiante.
- Leur volatilité les oppose aux huiles fixes tels que les lipides cette propriété engendre le caractère odorant et la possibilité de les obtenir par entraînement à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle quand elles viennent d'être préparées.
- Leur densité est souvent inférieure à "1".

Seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau: ce sont les huiles essentielles de cannelle, de giraflier et de sassafras.

- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont **douées** de pouvoir rotatoire.
- Peu solubles dans l'eau, elle lui communiquent cependant leur odeur; elles sont solubles dans les alcools de titres<sup>élevés</sup>, solubles dans les huiles fixes (lipides) et dans la plupart des solvants organiques. (22)



## V. Recherches bibliographiques:

### Introduction:

Le suivi des travaux scientifiques sur l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles des principaux Citrus, la prise en compte de l'évolution des techniques d'obtention et des méthodes d'analyse, une meilleure connaissance des mécanismes de biosynthèse des constituants de ces huiles, constituent autant d'éléments déterminants à cette recherche bibliographique.

L'une des méthodes d'analyse préconisée pour ces huiles est la chromatographie en phase gazeuse qui représente un progrès considérable dans le contrôle analytique de ces huiles. De même la substitution dans le domaine de l'utilisation de cette même chromatographie en phase gazeuse de colonnes remplies par des colonnes capillaires en verre ou en silice fondue de très grande efficacité de séparation a permis la mise en évidence de composés existant à l'état de traces parfois très caractéristiques d'une huile essentielle.

### 1°/ L'huile essentielle de Citron:

En 1960 "Bernhard" a examiné le citron Californien obtenu par expression à froid, il a pu identifier 5 terpènes et 20 composés oxygénés. Parmi ces terpènes on relèvera le limonène constituant majeur le  $\alpha$  et  $\beta$  - pinène, le  $\delta$  - terpinène et le p-cymène se trouvant en quantités plus ou moins importantes. Parmi les composés oxygénés, on notera le Citral aldéhyde majeur donnant probablement la flaveur la plus importante à cette huile.

La même année "Clark et Bernhard" ont concentré leurs études sur les fractions d'hydrocarbures sur le même type de citron. Ils ont ainsi séparé ces fractions en esters, aldéhydes, Cétones et alcools par distillation et ont identifié 8 hydrocarbures. L'examen des fractions non hydrocarbonées de la même huile a donné 4% de composés oxygénés pour 96% de terpènes. (23)

En 1976 "WMD Mac Lead" rapporte l'analyse de l'huile essentielle de citron par chromatographie en phase gazeuse en programmation de température. L'identification des constituants a été faite en comparant les temps de rétention et les données de spectrométrie de masse avec ceux des composés purs standards.

l'appareillage utilisé pour cette analyse: une colonne capillaire de carbowax 20M de longueur 34 m est de diamètre intérieur 0,25 mm.

Un détecteur à ionisation de flamme "FID" un enregistreur "Hitachi 1 m v 5mm/mn. Les conditions opératoires sont les suivantes:

Programmation de Température de colonne de 70°C à 180°C à raison de 2°C/mn.

T injecteur = 230°C

T détecteur = 200°C

Gaz vecteur: azote, débit à la sortie 1,5 ml/mn

La pression d'entrée 0,5 kg/m<sup>2</sup>

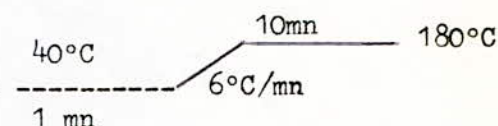
La pression de sortie: pression atmosphérique.

W M D a pu identifier 40 constituants dont les plus importants sont: le  $\alpha$ -pinène, le camphène, le myrcène, le limonène, le terpinène, le linalol, le géraniol, le nérol, le géraniol et le néral.

J.D Johnson et J.D Vora ont développ<sup>les analyses</sup>ées des huiles essentielles des principaux citrus par chromatographie en phase gazeuse en injectant directement 1  $\mu$ l d'échantillon avec un split système 100/1 dans un chromatographe "sigma 3B" équipé d'un détecteur à ionisation de flamme connecté à un intégrateur "3380 A". Ils ont travaillé avec une colonne capillaire de SE 30 en silice fondue de longueur 30m et de diamètre intérieur 0,25 mm. Les conditions opératoires sont les suivantes:

T injecteur = 200°C

T détecteur = 250°C

T colonne selon la programmation: 

vitesse de papier = 1cm/mn

Les constituants les plus importants qui ont été identifiés sont: le limonène, le  $\alpha$  et  $\beta$ -pinène, le terpinène, le géraniol, le néral, le linalol, le geraniol, etc ... (25)

#### Analyst:

L'huile analysé a été préparée par expression à froid des écorces de citron de manière à conserver les principes aromatiques caractéristiques du zeste. Le principal constituant de cette huile est le limonène. Cependant la flaveur la plus importante a été attribuée aux isomères du citral et quelques composés oxygénés. L'huile contient également une proportion de cire et autres



composés non volatils qui peuvent être séparés comme sédiments.  
L'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse a donné beaucoup de détails et d'informations relative à la composition des proportions volatiles de l'huile, tandis que la chromatographie en phase liquide a pu être appliquée aux composés non volatils

Pour cette analyse deux colonnes furent utilisées de polarité différente. L'une polaire: PEG 20M et l'autre apolaire : methyl-polysiloxane.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant: (26)

Constituants	% des constituants de la phase apolaire	% des constituants de la phase polaire
	M.P.S	FF 620M
$\alpha$ -Pinène	1.8	2.2
Sabinène	1.9	1.9
$\beta$ -Pinène	12.1	12.2
Limonène	67.0	66.5
$\delta$ -Terpinène	8.6	8.8
Neral	1.1	0.9
Géranial	1.8	2.0
Acétate de	0.5	0.7
Géranyle		
Acétate de	0.5	0.7
<del>Néryle</del>		

- NF T75-441/

La présente norme fait partie d'un ensemble de normes pour le contrôle de la qualité des huiles essentielles et matières utilisées dans l'industrie de la parfumerie et des arômes.

Les propriétés parfumantes, aromatisantes, thérapeutiques et toxicologiques d'une huile essentielle sont étroitement liées à sa composition chimique. La recherche de la conformité de cette composition chimique à celle d'une huile essentielle de référence est à la base du contrôle de la quantité.

Le principe de cette norme est l'analyse par C P G sur une colonne capillaire dans des conditions spécifiques de petites quantités d'huile essentielle de citron et de limette. (27)

Appareillage:

Chromatographe équipé d'un injecteur spécial pour colonne capillaire permettant l'injection de quantités de l'ordre du microgramme, d'un détecteur d'ionisation de flamme.

D'une colonne en PEG 20M de 38 m de longueur et de diamètre intérieur 0,4 mm.

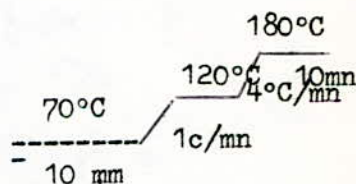
Les conditions opératoires sont les suivantes:

La charge est de 0,1  $\mu$ l, by pass 1/100

T injecteur = 250°C

T détecteur = 250°C

T colonne selon la programmation suivante



Gaz vecteur: Helium avec un débit de 1 ml/mn (27)

2. L'huile essentielle de Limette:

- M. AZZOUZ, GA Reincciub

L'analyse de l'huile essentielle de Limette "West Indies" obtenue par expression à froid et par distillation a été effectuée en choisissant un chromatographe "Hewlett Packard modèle 7620" équipé d'un détecteur F I D et d'un intégrateur électronique "3370 B".

Une colonne en SF 96/Igepalco 880 de longueur 20 m et de diamètre intérieur 2 mm.

La programmation de température: 45°C  $\xrightarrow[10mn]{4^\circ C/mn}$  170°C

La colonne est régénérée entre chaque injection en injectant 0,1  $\mu$ l d'un agent silanisant à une température de 170°C maintenue pendant 10 mn, ce traitement rend la colonne plus efficace et classe tous les impuretés. (28)





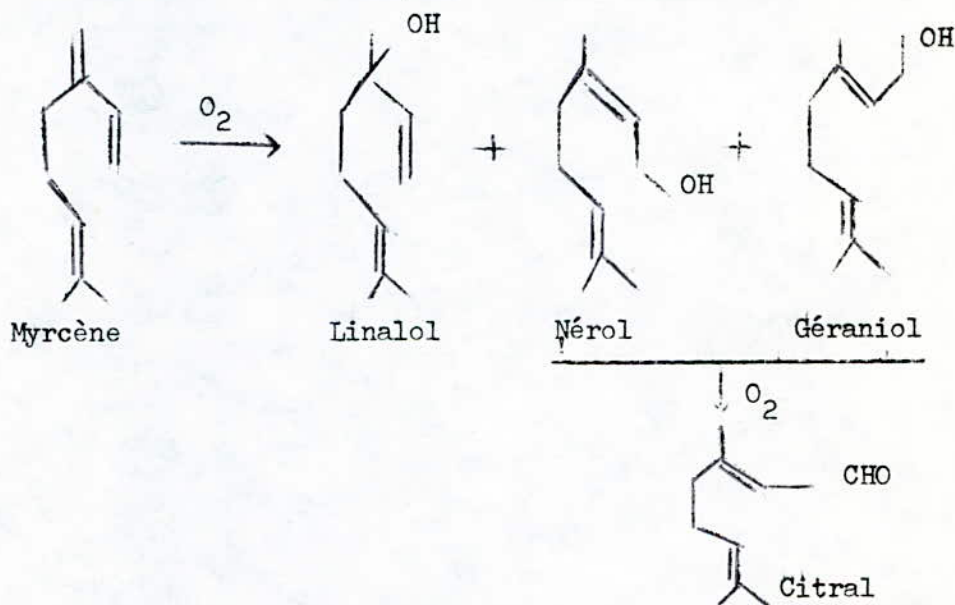
Constituants	% des constituants de limette exprimée	% des constituants de limette distillée
<u>Alcools:</u>		
Terpinène-4-ol	0,32	2.39
$\alpha$ -Terpinéol	-	6,81
<u>Aldéhydes:</u>		
Neral	1.13	0.13
Geranial	1.70	0.31
Decanal	0.48	-
<u>Esthers :</u>		
Acétate de Néryle	0.07	0.04
Acétate de Géranyle	0.16	0.56
<u>Monoterpènes:</u>		
$\alpha$ -Pinène	2.37	1.69
Limonène	44.17	47.25
$\gamma$ -Terpinène	11.88	8.86
Terpinolène	0.83	7.24
<u>Sesquiterpènes:</u>		
$\alpha$ -Bergamotène	1.34	0.61
$\beta$ -Bisabolène	3.18	2.12



La différence qui existe entre la limette exprimée et la limette distillée peut être expliquée en considérant les transformations de certains constituants:

Guzman et Huet (1972) ont remarqué que la concentration de l' $\alpha$  et  $\beta$  -pinène diminue durant la distillation et que les pinènes se dégradent en 1,4 et 1,8 Cinéole.

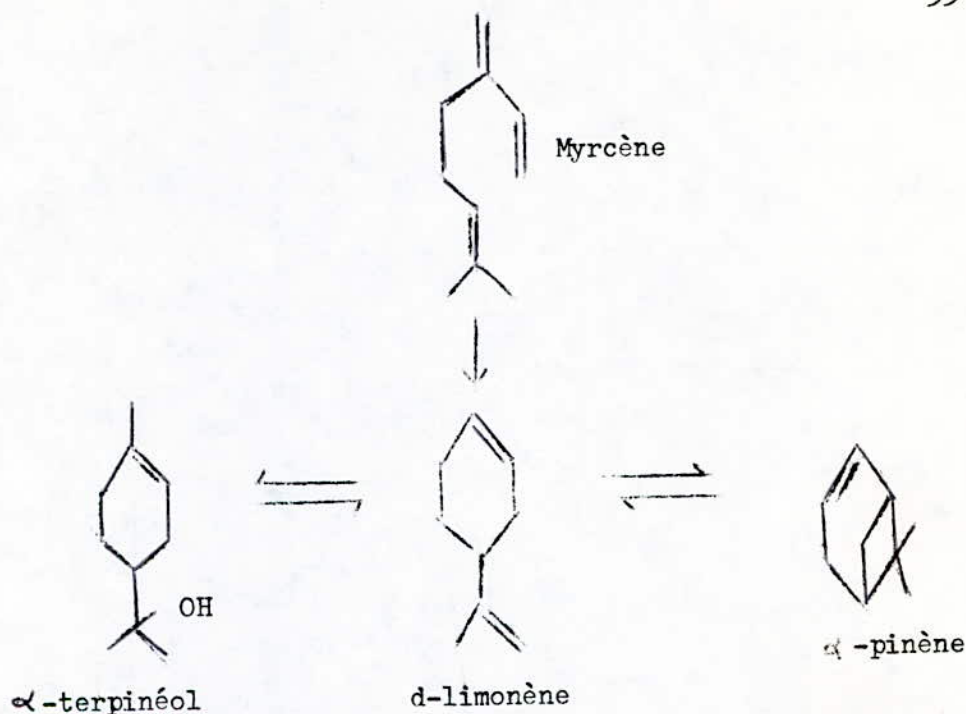
Le Myrcène diminue en quantité très variable; c'est le résultat observé par "Dickman et Palamard" (1974). La dégradation du Myrcène semble être due à la chaleur et à l'oxydation; elle consiste en une transformation en Linalol, nerol et Géraniol. (28)



Guenther (1949) rapporte que le Néral et le Géraniol ainsi que leurs alcools correspondants nérol et géranial se transforment facilement en P-cymène par l'action de l'acide citrique présent dans l'eau. Cette transformation est en majeure partie la raison de leur absence dans la limette distillée.

L'augmentation du d-limonène peut être due à sa transformation en dipentène.

Stater et Watkins (1964), Watnable (1962), Diekman et Flamard (1974) suggère le réarrangement suivant du d-limonène.



Le  $\alpha$ -Fenchol qui existe dans la limette distillée est formé par hydratation du  $\alpha$  et  $\beta$ -pinène selon Guenther (1949).

Les sesquiterpènes, le  $\alpha$  et  $\beta$ -élémane, et aussi les esters acétates de Géranyle et Néryle sont presque complètement détruits lors de la distillation, mais aucune explication à cette destruction n'a encore été donnée. (28)

Analyst:

L'huile analysée est obtenue par distillation à la vapeur, le principal constituant est le limonène ainsi que d'autres monoterpènes; les sesquiterpènes et les composés oxygénés sont présents en petites quantités. Le principal composé oxygéné est le  $\alpha$ -terpinéol.

Une bonne qualité de cette huile est caractérisée par une densité élevée et un pouvoir rotatoire très bas.



Les principaux constituants identifiés sont donnés dans le tableau  
 suivant: (26)

Constituants	% des constituants dans la phase apolaire 6 M.P.S	% des constituants dans la phase polaire - PEG 20M
Myrcène	1,1	1,1
$\alpha$ -terpinène	1,8	1,9
P-cymène	3,4	3,5
$\beta$ -pinène	0,9	1,2
Limonène	46,6	46,9
$\gamma$ -terpinène	8,7	8,9
Terpinolène	7,0	7,3
Fenchol	1,1	1,4
Terpinène-1-ol	1,1	1,2
Terpinène-4-ol	1,3	0,8
$\alpha$ -terpinéol	8,7	9,0
$\beta$ -bisabolène	1,2	1,5
Trans, trans- $\alpha$ -farnesène	1,0	1,0

-Chamblee et al

En 1985, "Chamblee et al" ont développé une méthode de préfractionnement de la limette sur chromatographe en phase liquide haute performance (HPLC). Quant à l'analyse de ces fractions, ils utilisèrent la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse.

Cette analyse a permis d'identifier 23 nouveaux composés existants dans la limette exprimée.

Ces composés sont les suivants:

6 -méthyl - 5 - heptène - 2 - one

3 -hexanone

piperitone

1,4 cinéole

Dodecyle acétate

$\alpha$  - Farnésal

$\theta$ is - Carveol

Trans - Carveol

Citronellol

P- cymène - 8 - ol

1,3 diméthyle - 3 - (4 - méthyle - 3 pentényle) -2-norbornanol

isopiperitenol

$\gamma$ -isogéraniol

P - menth - 3 - en - 1 - ol

Sabinol

Myrtenol

trans - pinocarvéol

$\beta$  - terpinéol

verbéno

$\alpha$  - bisabolol

$\alpha$  - cadinal



La même année "Hiro et Faos" ont comparé l'analyse de deux types de limette mexicaine.

L'analyse a permis l'identification de composés déjà connus et quelques nouveaux constituants. (29)

N F T 75 411 Mai (1985)

Lesmêmes conditions opératoires ainsi que le même appareillage que' ceux utilisés pour la norme citron sont appliquées. (27)

## VI. Technique d'analyse : chromatographie en phase gazeuse:

### 1. Qu'est-ce que la chromatographie en phase gazeuse:

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle permet ainsi l'analyse de mélanges éventuellement très complexes dont les constituants peuvent différer d'une façon considérable par leur nature et leur volatilité. (18)

#### a. Le principe:

Un fluide appelé phase mobile parcourt un tube appelé colonne, renfermant un granulé poreux éventuellement imprégné d'un liquide appelé solvant ou phase liquide stationnaire.

A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers celle-ci si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange appelés généralement "solutés", sont inégalement retenus par celle-ci dans la traversée de la colonne. De ce phénomène appelé "retention" il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont en outre inégales. Ceci les conduit à sortir de la colonne les uns après les autres au sein de la phase mobile.

Le processus de séparation chromatographique essentiellement discontinu, consiste donc en la séparation d'un mélange complexe dilué dans un fluide en une succession de mélanges binaires soluté-fluide. Ce processus analytique conduit à une méthode d'analyse au sens moderne du mot, grâce à un analyseur de mélange binaire appelé détecteur qui complète l'installation placée à la sortie de la colonne.

Accessoirement on enregistre un signal constant, appelé ligne de base, en présence du fluide porteur, seul, et un pic, au passage de chaque soluté séparé. Le temps de chaque pic ou "temps de rétention", caractérise qualitativement la substance concernée. L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté objectif fondamental de la chromatographie moderne.



PARTIE  
EXPERIMENTALE

## I. Méthodes et appareillage

### Introduction:

L'objectif de notre travail est de pouvoir préciser dans un premier temps, les conditions les plus favorables de détermination des composants les plus importants des huiles essentielles dans les arômes alimentaires par chromatographie en phase gazeuse. Dans un deuxième temps, nous nous préoccupons de l'identification des constituants majeurs de ces huiles et nous rechercherons une méthode d'analyse efficace pour s'assurer de la qualité et de l'authenticité de ces huiles essentielles, répondant ainsi à un besoin à la fois technique et commercial.

### 1°. Appareillage:

Dans la technique chromatographique en phase gazeuse, nous mettrons l'accent sur les différentes colonnes et leur préparation éventuelle.

#### Colonnes:

La colonne constitue la partie essentielle de tout chromatographe, car c'est d'elle que dépend le succès de la séparation.

On distingue deux types de colonnes:

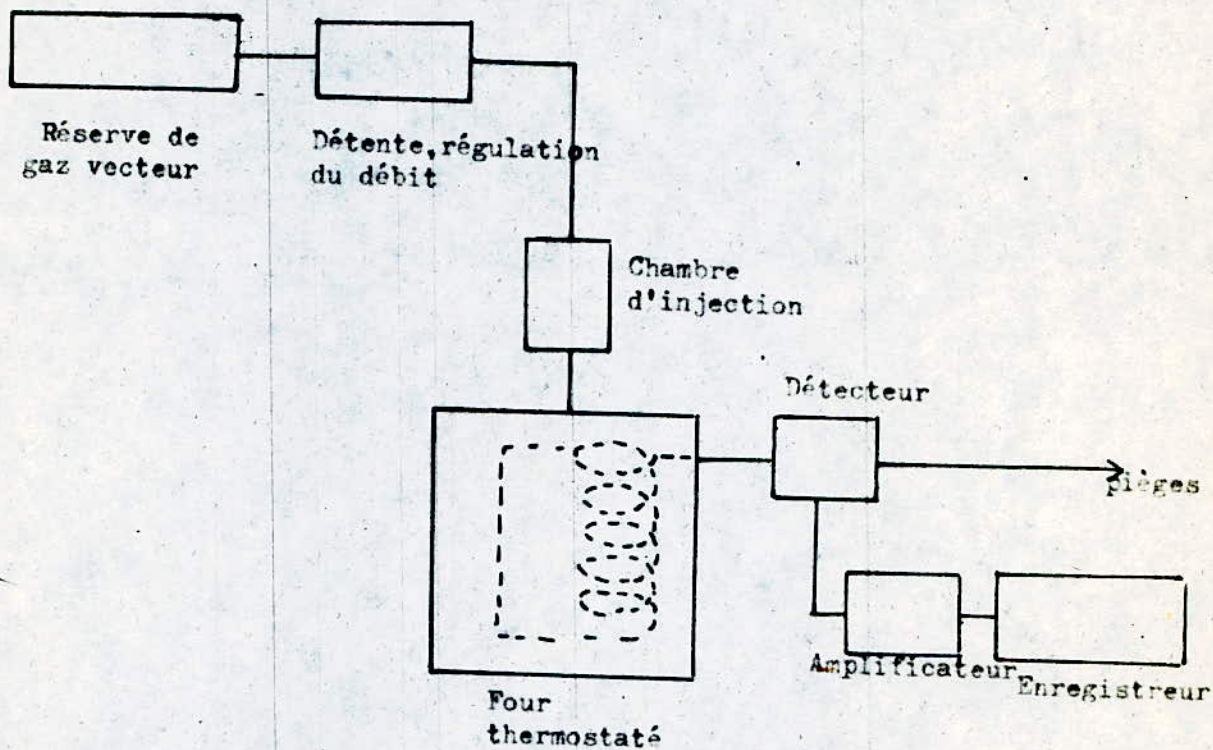
- Les colonnes à remplissage
- Les colonnes capillaires ou à tube ouvert.

Les colonnes à remplissage: Elles contiennent un matériau de granulométrie homogène procurant une grande surface de contact avec la phase mobile. Ce remplissage est soit un support inerte imprégné de liquide ou phase stationnaire, soit un adsorbant. De nombreuses variétés de colonnes sont obtenues en modifiant la longueur et le diamètre du tube, le type de support utilisé ainsi que les teneurs en phase stationnaire.

Les colonnes capillaires: ou à tube ouvert: elles n'ont pas de remplissage, la phase stationnaire est déposée sur la paroi interne, l'absence de remplissage leur donne une grande perméabilité. (18)

Le schéma de l'appareillage utilisé est le suivant:





SCHEMA D'UN CHROMATOGRAPHE

## 2°. Préparation d'une colonne à remplissage:

Avant de présenter la méthode de préparation d'une colonne, nous rappellerons quelques définitions relatives au support et à la phase stationnaire.

### a. Le support:

Les supports sont des grains de solides inertes sur lesquels est réparti le liquide non volatil constituant la phase stationnaire. Cette répartition est obtenue par imprégnation des grains du support à l'aide d'une solution de phase liquide stationnaire dans un solvant volatil et évaporation de ce dernier. (18)

### Caractéristiques du support:

#### - Granulométrie:

La granulométrie du support est toujours définie, par les dimensions extrêmes d'ouverture de deux tamis consécutifs.

Exemple: 80 - 100 mesh, soit 0,175 - 0,150 mm. (18)

#### - Densité apparente:

Cette caractéristique est importante; en effet la quantité de phase stationnaire présente dans la colonne ne dépend pas seulement du taux d'imprégnation, mais aussi de la masse du support imprégné que l'on peut mettre dans la colonne, soit de la densité apparente du support. (18)

### b. La phase stationnaire:

La phase stationnaire est un liquide non volatil à la température d'analyse; elle doit offrir une affinité différente aux divers composants d'un mélange de manière qu'ils soient séparés à leur arrivée au détecteur. Cette phase doit être répartie uniformément sous forme d'un film mince sur le support.

Par ailleurs, la phase stationnaire doit présenter une inertie chimique vis à vis des substances éluées.

L'échange entre soluté et solvant ne peut être rapide que si la phase stationnaire demeure liquide. Pour chaque phase il existe donc deux températures limites d'utilisation, l'une minimale et l'autre maximale.

En effet, on ne peut généralement pas descendre en-dessous du point de cristallisation de la phase liquide sans perdre beaucoup d'efficacité.



De la même façon, au delà d'une certaine température, la phase stationnaire présente des signes de volatilisation ou de décomposition:

Le taux d'imprégnation exprimé en % est, par convention, la masse en grammes de phase stationnaire pour 100g de support. C'est la volatilité de l'échantillon à éluer qui permettra de choisir ces pourcentages.

Les taux élevés, par exemple 20%; sont utilisés pour obtenir une rétention suffisante des composés volatils.

Les faibles taux, par exemple 2 à 3% permettent l'analyse des composés peu volatils (sterols, triglycerides). (18)

c. Méthode de préparation:

Dans le cadre de notre travail, nous avons été amené à préparer une colonne à 20% de "carbowax 20M" dont les caractéristiques sont les suivantes:

Longueur : 1,5 m

Diamètre intérieur : 4mm

Support : chromosorb C AW traité au diméthyl dichlorosilane (DMCS).

CAW : Acid Washed Diatomite "C"

Granulométrie : 80 - 100 mesh (0,175 - 0,150 mm)

Phase stationnaire : 20% polyéthylène glycol de masse 20000.

Solvant : chloroforme.

Le volume de remplissage exige pour remplir les colonnes de diamètres intérieurs différents peut être calculé par la formule suivante: (30)

$$\text{Volume exigé pour remplir la colonne (CC)} = 154 \left( \begin{array}{l} \text{Longueur de la} \\ \text{colonne en feet} \end{array} \right) \times \left( \begin{array}{l} \text{diamètre intérieur}^2 \\ \text{en inches} \end{array} \right)$$

Il existe une autre méthode plus simple pour déterminer le volume exigé. Pour cela on choisit d'après le tableau suivant la valeur du "cc/ft" qui correspond au diamètre intérieur de notre colonne, on multiplie cette valeur par la longueur de la colonne et on ajoute 10 - 20 cc pour compenser les pertes. (30)

Matière du tube	Diamètre extérieur	Diamètre intérieur	cc/ft
Aluminium	1/8"	0,065"	0,7
Verre	6 ou 4 mm	2 mm	1,0
	6 mm	4 mm	3,8

$$\# V_{\text{exigé}} = 3,8 \text{ (cc/ft)} \times 4,62 \text{ (ft)} = 17,55 \text{ cc}$$

Volume du support solide:

$$17,55 + \frac{12,45}{\text{pertes}} = 30 \text{ cc}$$

\* on pèse le support

$$: M_{\text{sup}} = 8,2098 \text{ g}$$

\* Le poids de la phase stationnaire:

on détermine le poids de la phase stationnaire exigé pour avoir le taux d'imprégnation désiré par la formule suivante: (30)

$$\begin{aligned} \text{pds de la phase stationnaire} &= \frac{(\% \text{ d'imprégnation}) \times (\text{pds du support})}{100 - \% \text{ d'imprégnation}} \\ &= \frac{20 \times 2,2098}{100 - 20} = 2,05245 \text{ g} \end{aligned}$$

Il faut tout d'abord dissoudre la phase stationnaire dans un solvant pur adéquat (chlôroforme dans notre cas) qui est indiqué dans les listes de phases commercialisées.

La quantité de solvant à utiliser dépend de la densité apparente du support: plus celle-ci est élevée et moins il faut de solvant. En effet, après avoir mélangé le support et la solution, on ne doit pas avoir un trop grand excès de liquide.



L'étape suivante consiste à évaporer le solvant; cette évaporation doit être régulière afin d'obtenir un dépôt homogène de phase stationnaire sur le support. Pour cela on utilise un évaporateur rotatif qui présente l'avantage de fournir une bonne ~~Homogénéisation~~ <sup>Homogénéisation</sup>. Cependant, le brassage continuuel doit être le plus modéré possible afin d'éviter la frittage des grains du support.

Technique de remplissage:

Méthode sous vide:

On place à une extrémité de la colonne un tampon de laine de verre et on la raccorde à une pompe à vide. <sup>l'autre</sup> À l'autre extrémité est placé un entonnoir et on y verse le support imprégné de phase stationnaire de façon que, sous l'action combinée du vide et des vibrations d'un vibreur électrique n'apparaissent plus de portions vides.

Conditionnement de la colonne:

Il est nécessaire de conditionner la colonne en la chauffant à une température voisine de la température limite maximale, sous courant de gaz vecteur, afin de chasser les dernières traces de solvant et les impuretés volatiles de la phase stationnaire. Notre colonne montée dans le chromatographe est parcourue par un faible débit de gaz vecteur (10 ml/mn) à une température suffisante ( 200°C). Pendant le conditionnement il est recommandé de ne pas brancher la colonne au détecteur afin de ne pas l'encrasser.

## II. Analyses:

### 1° Caractéristiques physiques:

a. Densité: La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport de masse d'un certain volume d'huile essentielles à 20°C, à la masse d'un égal volume d'eau, distillée à 20°C. (31)

Les mesures sont faites à l'aide d'un picnomètre de 1 ml et d'une balance analytique digitale.

b. Indice de réfraction: L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux monochromatique (longueur d'onde déterminée), passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à température constante.

La longueur d'onde spécifiée (589,3 ± 0,3) nm correspond aux radiations D<sub>1</sub> et D<sub>2</sub> du spectre de sodium. (32)

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,0004 (t' - t)$$

où:

$$n_D^{t'} = \text{valeur de la lecture, obtenue à la température } t'.$$

Les résultats obtenus sont donnés par le tableau suivant:

Tableau n° 1: Densité et Indices de réfraction des différents échantillons.



Echantillons	Densité à 20°C	Indice de réfraction à 20°C
Citron brut	0,8750	1,4738
Citron semi deterpéné	1,064	1,4516
Citron déterpéné	1,027	1,4475
Limette distillée	0,8784	1,4767
Limette des Indes	0,8762	1,4761

Il est important de comparer les propriétés de notre huile à celles données par la littérature pour les mêmes types d'huile.

Ceci nous permettra d'avoir une meilleure idée de sa qualité.

Pour le citron brut et la limette distillée, les valeurs théoriques et expérimentales sont données par le tableau suivant:

Propriétés	Citron brut			Limette distillée					
	ISO 855	BP	AMC/EO	ISO 3519	BS2999/45	EOA	AMC/EO		
d <sup>20</sup> :	min	0,849	0,850	0,852	0,856	0,856	0,855	0,860	(28)
	max	0,858	0,856	-	0,865	0,862	0,863	-	
20	min	1,474	1,474	1,475	1,474	1,475	1,475	1,476	(28)
	max	1,476	1,476	-	1,478	1,477	1,477	1 -	
d <sup>20</sup>	0,8750			0,8784					
20	1,4738			1,4767					

Théoriques

Expérimentales



Interprétation du tableau n°2:

Il est à noter que les huiles de citron brut et de limette distillée sont plus denses et que cette différence peut être expliquée par plusieurs facteurs tels: le mode d'obtention, le degré de maturité, la saison de la récolte, etc ...

Selon la littérature la véritable essence déterpénée possède une densité à 20°C variant entre 0,909 et 0,914. Le résultat expérimental obtenu  $d_{20}^{20} = 1,027$  peut s'expliquer de la manière suivante:

Soit que notre essence n'a pas été bien déterpénée, soit que le procédé de préparation a varié selon les fabricants. Les produits obtenus sont par conséquent si divers qu'il est impossible de fixer des limites universelles.

En conclusion, nous ~~avons~~ ne pouvons pas valider notre essence, en nous basant uniquement sur les propriétés physico-chimiques, aussi est-il nécessaire de lui faire subir d'autres tests, entre autres des analyses par chromatographie en phase gazeuse.

## 2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse:

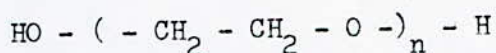
### a. Choix des conditions opératoires:

Comme, les huiles essentielles renferment de nombreux constituants qui diffèrent par leur volatilité, polarité et concentration, il est alors très difficile de choisir une température de colonne et de faire l'analyse sur une seule colonne.

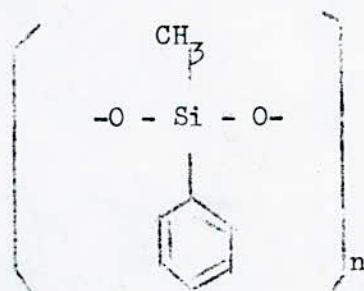
Aussi, une série d'analyse a été effectuée sur deux colonnes de polarité différentes afin d'aboutir à un mode opératoire de séparation donnant satisfaction.

- Colonne: trois types de colonnes ont été utilisés au cours de notre étude, l'une est capillaire, il s'agit de la carbowax 20M, les deux autres sont classiques: carbowax 20M et OV 17.

Carbowax 20M: (60/225°C) polyéthylène glycol de masse 20 000 présentant une bonne stabilité thermique jusqu'à 200°C.



OV 17 : ( 0/300°C) 50% Méthyl, 50% Phényl silicone



Sa faible viscosité permet de travailler à basse température sans perte d'efficacité.

### Débit gazeux:

Les débits gazeux sont donnés par la fascicule d'utilisation.

Pour un détecteur à ionisation de flamme FID, nous avons:



Dimension de la colonne (en mm)	Débit du G.V (ml/mn)
6	200
4	30 - 40
2	30 - 40
Capillaire	2

Le débit d'Hydrogène est supérieur de 10% au débit de gaz vecteur.  $N_2$  : 30 ml/mn

$H_2$  : 33 ml/mn

Le débit d'air est égal à 10 fois le débit d'hydrogène.

$H_2$  : 33 ml/mn

Air : 330 ml/mn

#### Températures d'injecteur et du détecteur:

- Le détecteur est maintenu à une température supérieure à celle de la colonne afin d'éviter les condensations  $T_D = 300^\circ C$

- L'injecteur est maintenu à une température suffisante pour vaporiser l'échantillon à analyser.

$T_{inj} = 225^\circ C$  sur OV 17

$T_{inj} = 200^\circ C$  sur Carbowax 20M.

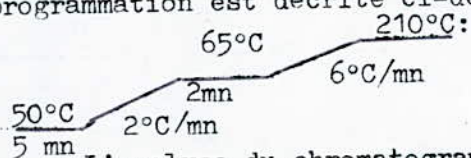
#### b. Appareillages utilisés:

- Chromatographie type PYE - UNICAM série 304.
- Enregistreur et intégrateur électronique type PYE - UNICAM 4810 computing integrator philips.
- Détecteur à ionisation de flamme FID.
- Colonnes:

	Colonne OV 17	Colonne PEG 20M (classique)	Colonne PEG 20M (capillaire)
Matière du tube	verre	verre	acier inoxydable
Longueur	1,5 m	1,5 m	48 m
Diamètre intérieur	4 mm	4 mm	0,27 mm
Phase stationnaire	50% méthyl 50% phényl silicone	Polyéthylène glycol	Polyéthylène glycol
Remplissage	Diatomite C "Q"	chromosorb W.A.W D M C S	-
Granulométrie (mesh)	100 - 120	80 - 100	-
Taux d'imprégnation	3%	20%	-
Gaz vecteur	Azote	Azote	Hydrogène

Comme le mélange à analyser est inconnu nous avons préféré tenter une première ~~expérience~~ séparation sur une colonne moyennement polaire (OV 17).

La première analyse a été effectuée en programmation de température avec une température initiale assez basse afin de vérifier l'existence des composés volatils. La programmation est décrite ci-dessous;



L'analyse du chromatogramme obtenu permet de donner les conclusions suivantes: (chroma 1)



Tableau n°3:

Intervalle de température	Réponse	Conclusion
50°C - 70°C	Aucun pic n'apparaît	Eviter de travailler à basse température
70°C - 210°C	Pics très larges et écartés	nécessité d'augmenter le gradient de température progressivement

Pour les différentes analyses qui ont été effectuées nous présentons sous forme de tableau quelques - unes des conclusions auxquelles nous avons abouti en examinant de façon critique les chromatogrammes obtenus.

a. Sur colonne OV 17

Tableau n°4:

Température de la colonne	Conclusions
<p>70°C 5 mn 2°C/mn 90°C 2 mn 6°C/mn 210°C</p>	Eviter la programmation multilinéaire
<p>100°C 4 mn 3°C/mn 150°C</p>	Abaisser la température du début d'analyse et augmenter le gradient de température
T = 120°C	Impossible de séparer les constituants lourds.
T = 100°C	Idem qu'à 120°C
T = 150°C	Mauvaise séparation des constituants légers.

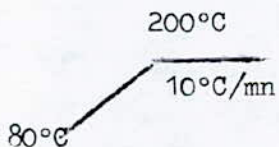
b. Sur colonne carbowax 20 M (classique)

Tableau n°5

Température	Conclusions
	Diminu le gradient de température et augmenter la température initiale
	Bonne séparation mais existence d'une dérive de ligne de base à partir de T = 150°C.
	Dérive de ligne de base à la fin de l'analyse.
	Pics mal séparés au début de l'analyse

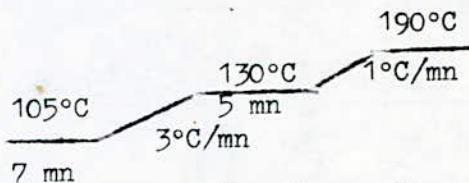
Une fois ces premiers renseignements tirés, un meilleur choix de la programmation de température est fait.

Sur colonne OV 17:



Atténuation : 32  
Vitesse du papier: 0,75 mm/mn

Sur colonne Carbowax 20M (classique)



Atténuation : 64  
Vitesse du papier: 0,5 mm/mn



c \* Analyse qualitative :

L'analyse qualitative est toujours indispensable, car une fois la séparation des constituants effectuée nous devons procéder à leur identification,.

C'est à dire mettre un nom sur chacun des pics du chromatogramme. Pour cela il existe divers procédés.

Pour notre étude, nous avons utilisé:

- L'identification par comparaison avec des étalons témoins.
- L'identification par les indices de rétention (Kovats).

L'identification par comparaison à l'aide d'étalons témoins:

L'identification a été réalisée en comparant les temps de rétention qui par ailleurs, représentent l'empreinte digitale de chaque constituant pour des conditions opératoires bien déterminées.

Tableau n°6: Identification des constituants majeurs sur colonne OV.17. (chroma: 2,3,4,5,6)

Composés	t <sub>R</sub> (mn)	% Citron brut	Citron semi- déterpéné	Citron déter- péné	Limette des Indices	limette disti- llée
α-pinène	2,21	-	-	-	-	2,509
β-pinène	2,77	3,102	1,403	-	7,441	4,532
Limonène	3,46	81,157	3,353	10,69	67,457	64,189
Phellandrene	3,69	1,455	1,709	-	6,613	5,064
Terpinène	3,97	0,792	-	11,251	3,248	2,670
Linalol/acide caprique	4,65/ 4,38	1,694	3,204	52,202	-	-
Citronellal	5,60	-	1,282	-	-	0,964
p-cymène	6,35	0,937	9,510	0,098	-	-
Néral	6,92	2,368	13,029	0,918	1,121	2,868
Géranial	7,37	4,564	21,866	1,451	2,462	4,501

\* Les valeurs données par le tableau représentent les pourcentages des différents constituants.

Tableau N°7: Identification des constituants majeurs sur colonne capillaire Carbowax 20M. (chroma 7,8,9)

Composés	t <sub>R</sub> (mn)	% des consti- tuants citron brut	% des consti- tuants; citron déterpéné	% des consti- tuants. citron déterpéné
α - pinène	2,63	0,915	-	-
β - pinène	3,59	1,476	1,694	1,555
Limonène	5,29	87,330	7,671	10,228
P - cymène	6,93	1,143	-	-
Néral	21,32	0,463	20,159	16,979
Géranial	23,27	0,639	27,764	23,066
Linalol	16,85	-	4,069	4,662

Tableau N°8: Identification des constituants majeurs sur colonne classique Carbowax 20M. (Chroma : 10,11,12,13,14)

Composés	t <sub>R</sub> (mn)	Citron brut	citron semi déterpéné	citron déterpéné	limette des Indes	limette distillée
α - pinène	3,80	0,882	0,173	-	2,489	0,740
β - pinène	6,93	2,046	0,212	0,914	1,286	-
Limonène	9,49	83,377	11,858	17,331	53,857	55,347
Néral	38,47	2,151	24,743	1,964	6,587	-
Géranial	43,09	3,688	33,657	3,133	-	-

L'examen des tableaux : 6,7 et 8 montre que si nous venons à comparer les pourcentages obtenus sur les trois colonnes, nous remarquons qu'il existe une variation de ces derniers. Cependant l'ordre de grandeur est maintenu. Aussi, toute comparaison se bornera aux constituants les plus importants en l'occurrence Limonène, Néral, Géranial.



Tableau N°9: Comparaison des pourcentages obtenus sur les trois colonnes pour le citron brut

% des composés colonne	Limonène	Neral	Géranial
OV 17	81,157	2,368	4,564
PEG (analytique)	83,377	2,151	3,688
PEG(Capillaire)	87,330	0,463	0,639

Il parait très clair que les valeurs obtenues sur les trois colonnes sont proches, les unes des autres et sont conformes aux résultats théoriques.

Tableau N°10: comparaison des pourcentages obtenus sur les trois colonnes de l'huile semi déterpénée.

% des composés Colonne	Limonène	Neral	Géranial	Citral
OV 17	3,353	13,029	21,866	34,895
PEG (classique)	11,853	24,743	33,657	58,400
8 PEG (capillaire)	7,671	20,159	27,764	47,920

Si l'on compare les résultats obtenus au tableau donné par "Böcker" nous pouvons dire que sur la colonne OV 17, l'huile a subi une déterpénation de l'ordre de 45 à 50%, alors que sur la colonne PEG (classique) la déterpénation est de l'ordre de 5 à 10% et qu'elle atteint 25 à 30% sur colonne PEG capillaire. Ces résultats confirment donc que cette huile est plus ou moins semi déterpénée.

Tableau N°11: Comparaison des pourcentages obtenus sur les trois colonnes de l'huile déterpénée.

% des composés Colonne	Limonène	Néral	Géranial	Citral
OV 17	10,690	0,318	1,451	2,369
PEG (classique)	17,331	1,964	3,133	5,097
PEG (capillaire)	10,228	23,066	4,662	27,728

Ce tableau suscite les remarques suivantes:

La première est l'existence d'un pourcentage assez élevé en Limonène par rapport au pourcentage en Citral. Or si une huile est bien déterpénée, elle ne contient pas de Limonène et ne retient que peu de stéroïdes de l'essence naturelle. Il reste alors deux aldéhydes: le Citral et le Citronnellal, un ester de l'acétate de Géranyle et, dans certains cas de l'acétate de Linalyle. Ce résultat a conduit aux suppositions suivantes:

- soit que, cette huile est de l'essence de Citron à laquelle a été ajoutée une certaine quantité de Citral.
- soit que c'est une essence à laquelle on a ajouté un solvant pour fixer les arômes.

Pour justifier ces suppositions, on a préféré vérifier tout d'abord s'il n'y avait pas eu inversion d'étiquette entre l'essence semi déterpénée et l'essence déterpénée.

Pour cela l'analyse d'autres huiles essentielles du même type venant d'autres firmes montre que les résultats obtenus sont identiques. (Chroma: 15).

La deuxième vérification a porté sur l'analyse de solvants additionnés tels que le propanediol 1-3 et le PEG 400, ces résultats montrent que cette supposition est loin d'être vraie. Le problème reste ouvert. (Chroma 16-17).

Aussi, les constituants lourds que nous n'avons pas pu identifier dans les deux huiles semi déterpénée et déterpénée sont-ils des constituants se trouvant à l'état de traces dans le citron brut?



### Indices de rétention de Kovats:

Pour pallier l'insuffisance d'étalons, Kovats a pensé à établir une comparaison par rapport à deux hydrocarbures paraffiniques normaux dont les pics encadrent celui du soluté inconnu.

Son étalonnage est donc une véritable échelle, et, en principe il se trouvera toujours des pics voisins du soluté aussi lourd que soit celui-ci.

#### En isotherme:

Si le soluté a été analysé dans les mêmes conditions chromatographiques que l'échelle des n-paraffines on peut appliquer la formule suivante: (18)

$$I_i = 100Z + 100 \frac{\ln(t_{R,i} / t_{R,Z})}{\ln(t_{R,Z+1} / t_{R,Z})} \quad (18)$$

$I_i$  : indice de rétention du soluté.

$t_{R,Z}$  : température de rétention de la n-paraffine dont le pic sort immédiatement avant celui du soluté et dont le nombre d'atomes de carbone est Z.

$t_{R,Z+1}$  : température de rétention de la n-paraffine à (Z+1) atomes de carbone, sortant immédiatement après le soluté.

Pour éviter les valeurs décimales, Kovats a multiplié par 100 toutes les valeurs de Z, c'est-à-dire que par définition quelle que soit la colonne utilisée et la température, l'indice de rétention d'une paraffine normale est égal à 100 fois son nombre d'atomes de carbone. (18)

#### Schéma d'un processus d'identification utilisant les indices de rétention:

Sur la phase stationnaire Carbowax 20M, à une température déterminée, on effectue l'analyse chromatographique et on calcule l'indice de rétention du soluté à identifier; l'échelle des hydrocarbures de référence étant tracée lors d'une analyse effectuée précédemment.

Application pour le citron brut.

$$T = 110^{\circ}\text{C}.$$

On détermine les indices de rétention pour quelques constituants majeurs. Pour cela on effectue les analyses dans les mêmes conditions opératoires que l'échelle des Hydrocarbures.

$$T_{\text{colonne}} = 110^{\circ}\text{C}$$

$$V_{\text{injection}} = 1,5 \mu\text{l}$$

$$\text{Atténuation} = 64$$

$$\text{Sensibilité} : 10^3$$

Les résultats sont donnés dans le tableau suivant:  
Tableau N°12: temps de rétention des constituants majeurs et des hydrocarbures de référence pour  $T=110^{\circ}\text{C}$  (chroma: 18,19)

Composés	$t_R$ (mn)	$\ln t_R$
$\alpha$ -pinène	2,99	1,095
$\beta$ -pinène	5,24	1,660
Limonène	7;29	1,900
$C_9$	1,59	0,460
$C_{10}$	2,40	0,880
$C_{11}$	3;83	1,340
$C_{12}$	6,36	1,850
$C_{14}$	17,67	2,870

Exemple de calcul pour le  $\alpha$ -pinène:

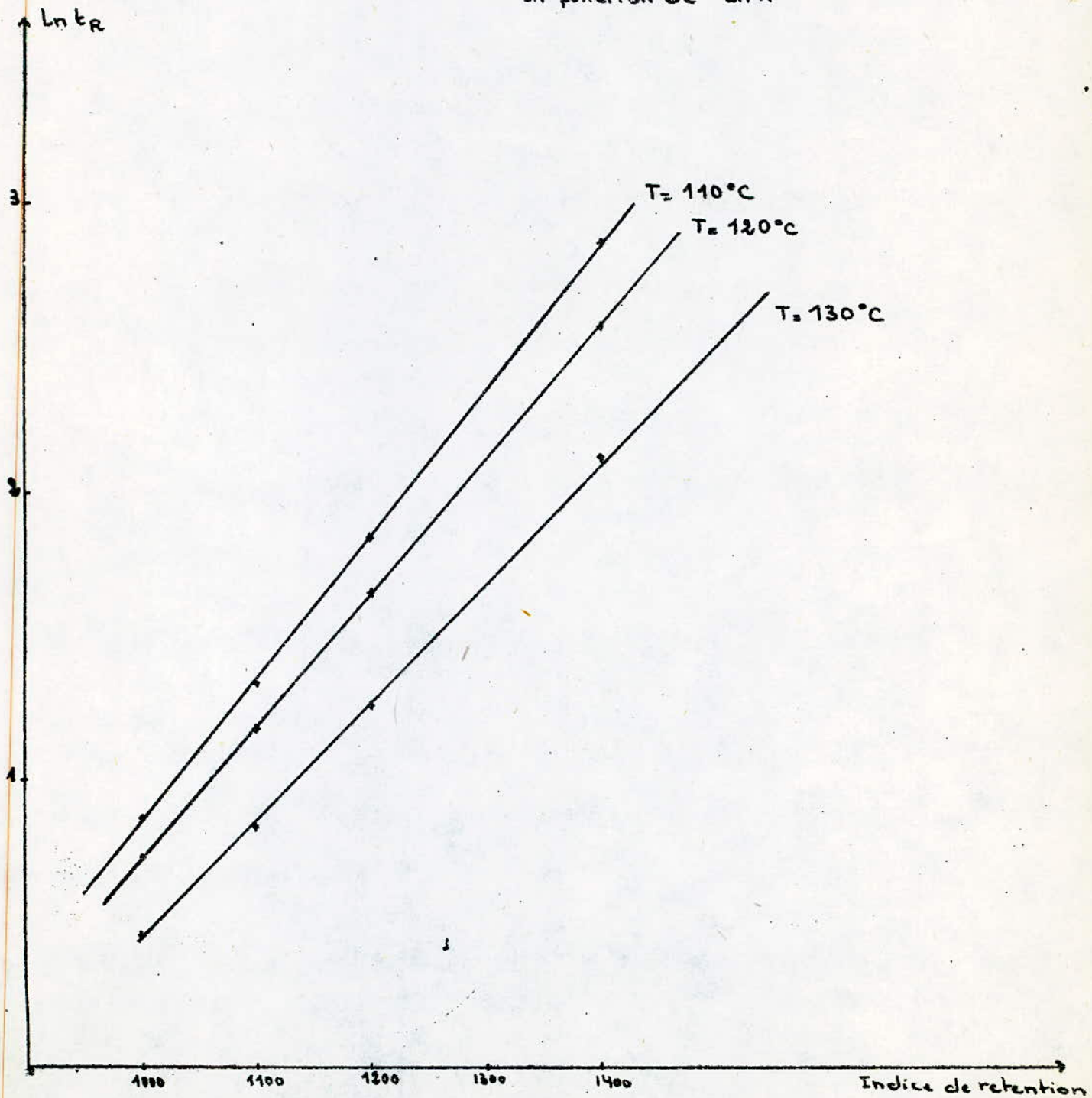
D'après le tableau N°12, le soluté  $\alpha$ -pinène est encadré par les Hydrocarbures  $C_{10} - C_{11}$  d'où:

$$I = 100 \times 10 + 100 \frac{\ln(2,99/2,4)}{\ln(3,83/2,4)}$$

$$I = 1047,03$$



Figure n°1: variation des indices de retention en fonction de "Ln tr"



En traçant le diagramme  $I = f(\ln t_R)$  nous pouvons déterminer l'indice de rétention des différents constituants. (fig: 1)

Les valeurs obtenues sont données dans le tableau suivant:

Composés	Indice de rétention
$\alpha$ -pinène	1045
$\beta$ -pinène	1160
Limonène	1225

Ne disposant pas d'étalon  $C_{13}$ , le temps de rétention " $t_{C_{13}}$ " a été interpolé à partir du diagramme  $I = f(\ln t_R)$ .

Pour une étude des propriétés des indices de rétention, nous avons effectué trois analyses en isotherme afin de vérifier l'influence de la température de colonne.

Les résultats obtenus sont donnés par les tableaux suivants:

Tableau N°13: temps de rétention des constituants majeurs et des Hydrocarbures de référence pour  $T=120^\circ\text{C}$ . (chroma: 20,21)

Composés	$t_R$ (mn)	$\ln t_R$
$\alpha$ -pinène	2,61	0,960
$\beta$ -pinène	4,33	1,460
Limonène	5,96	1,795
$C_9$	1,44	0,360
$C_{10}$	2,09	0,740
$C_{11}$	3,25	1,180
$C_{12}$	5,26	1,660
$C_{14}$	13,01	2,570



Tableau N°14: temps de rétention des constituants majeurs et des Hydrocarbures de référence pour T= 130°C. (chroma: 22,23)

Composés	$t_R$ (mn)	$\ln t_R$
$\alpha$ -pinène	2,03	0,70
$\beta$ -pinène	3,12	1,14
Limonène	4,25	1,45
$C_9$	1,14	0,13
$C_{10}$	1,58	0,46
$C_{11}$	2,31	0,84
$C_{12}$	3,51	1,26
$C_{14}$	8,46	2,14

Pour chaque température le diagramme:  $I = f(\ln t_R)$  est tracé et l'on détermine les indices de rétentions de chaque soluté.

Tableau N°15: variation des indices de rétention en fonction de la température.

Composés	$I_{110^\circ C}$	$I_{120^\circ C}$	$I_{130^\circ C}$
$\alpha$ -pinène	1045	1050	1060
$\beta$ -pinène	1160	1160	1165
Limonène	1225	1225	1245

En portant sur un graphe, l'indice de rétention en fonction de la température (fig 2), nous voyons l'influence de cette dernière. Nous remarquons que les indices de rétention ne sont pas fonction uniquement du couple phase stationnaire/soluté, mais aussi de la température de la colonne.

En conclusion, le calcul des indices de rétention de "Kovats" permet d'éliminer l'utilisation d'étalon coûteux, en même temps que d'optimiser les conditions opératoires, à savoir le choix de la température de colonne appropriée pour l'analyse de plusieurs solutés.

#### Les indices de rétention dans le cas de la programmation de température.

En programmation linéaire de température (LTPGC) "Van den Dool et Kratz" (33), ont introduit des indices de rétention calculés par une interpolation linéaire des températures de rétention des solutés et des n-paraffines diluées avant et après le soluté.

$$I_{\text{prog}} = 100 Z + 100 \frac{T_{R,i} - T_{R,Z}}{T_{R,Z+1} - T_{R,Z}} \quad (\bar{2})$$

où:  $T_R = T_0 + r t_R$

avec:

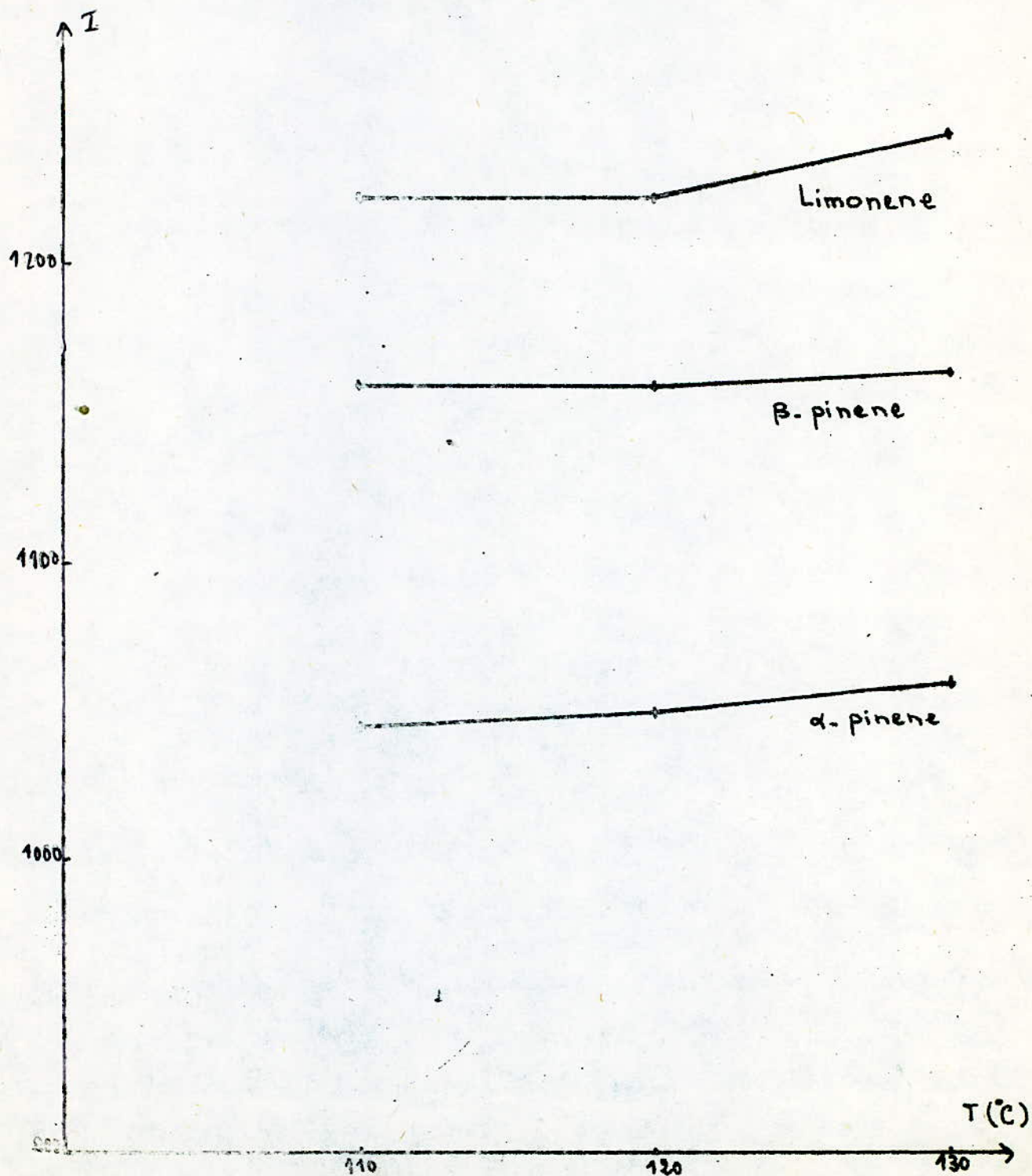
$T_0$  : température initiale ( $^{\circ}\text{C}$ )

$r$  : gradient de température ( $^{\circ}\text{C}/\text{mn}$ )

$t_R$  : temps de rétention (mn)



Figure n° 2: Variation des indices de rétention en fonction de la température.



Parmi les facteurs les plus importants qui influent sur les indices de rétention en programmation de température, l'on citera:

- La température initiale
- Le gradient de température
- La phase stationnaire
- Le débit du gaz vecteur

"Bartu et Wicar" (33), ont montré que la température de la colonne en isotherme est supposée égale à celle du four, par contre en programmation de température, la température de la colonne est plus basse que celle du four, ainsi la différence entre ces deux températures est toujours variable.

Mais jusqu'à présent la relation (2) n'a été appliquée que pour de faibles gradients de température allant de 0,1 à 1°C/mn.

Les analyses ont été effectuées sur la colonne Carbowax 20M (classique) en injectant le mélange d'huile et les n-paraffines dans les mêmes conditions chromatographiques suivantes:

T injection	200°C	
T détection:	300°C	
T colonne :	105°C	140°C
		2°C/mn
Atténuation : 64		
Sensibilité : 10 <sup>3</sup>		

Les résultats obtenus sont portés sur le tableau N°16.



! Tableau N°16: température de rétention de certains constituants majeurs et des Hydrocarbures de référence. (chroma: 24,25).

Composés	$t_R$ (mn)	$T_R$ (°C)
$\alpha$ -pinène	3,39	111,78
$\beta$ -pinène	5,65	116,30
Limonène	5,43	119,86
$C_{10}$	2,62	110,24
$C_{11}$	4,07	113,14
$C_{12}$	6,34	117,68
$C_{14}$	13,57	132,14

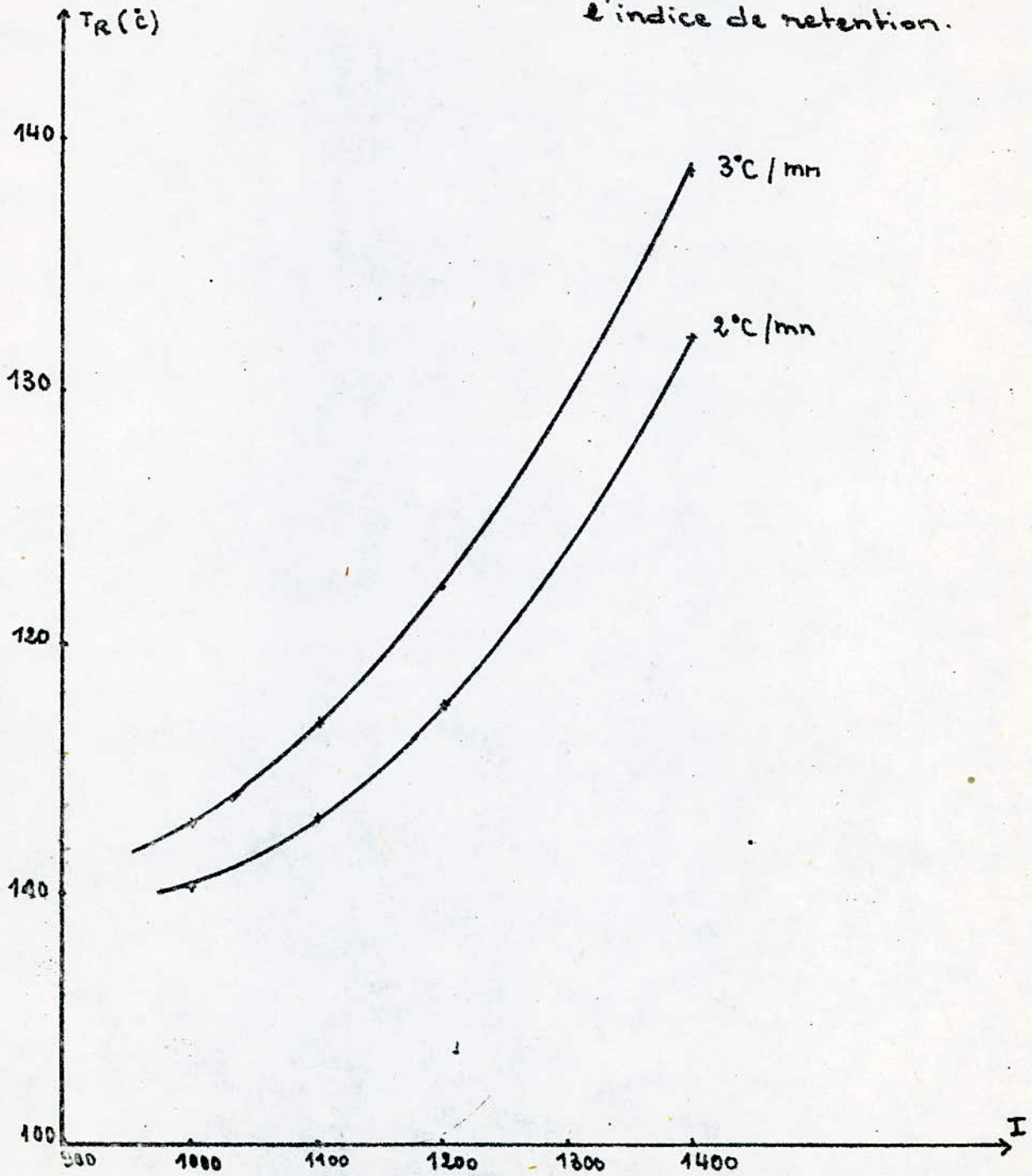
Pour la détermination des indices de rétention on trace  $T_R = f(I)$ , et par extrapolation de cette courbe, nous pouvons à partir de la température de rétention du composé tirer l'indice correspondant. (fig3)

Ne disposant pas d'étalon  $C_{13}$ , la température de rétention de ce dernier a été calculé à partir du graphe.

Tableau N°17: Indice de rétention de certains constituants majeurs.

Composés	Indice de rétention
$\alpha$ - pinène	1050
$\beta$ - pinène	1170
Limonène	1245

Figure n°3: variation des températures de rétention en fonction de l'indice de rétention.





Pour l'étude des variations des indices de rétention en fonction du gradient de température, nous avons effectué deux analyses tout en faisant varier le gradient successivement de  $1^{\circ}\text{C}/\text{mn}$  pour chaque analyse.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau N°18.

Tableau N°18: temps, température, indice de rétention de certains constituants majeurs des Hydrocarbures de référence. (chroma: 24;25;26;27)

Composés	2°C/mn			3°C/mn		
	t <sub>R</sub> (mn)	T <sub>R</sub> (°C)	I <sub>prog</sub>	t <sub>R</sub> (min)	T <sub>R</sub> (°C)	I <sub>prog</sub>
α-pinène	3,39	111,78	1050	3,3	114,9	1050
β-pinène	5,65	116,30	1170	5,32	120,96	1175
Limonène	7,43	119,86	1245	6,82	125,46	1250
C <sub>10</sub>	2,62	110,24	1000	2,64	112,92	1000
C <sub>11</sub>	4,07	113,14	1100	3,96	116,88	1100
C <sub>12</sub>	6,34	117,68	1200	5,80	122,40	1200
C <sub>14</sub>	13,57	132,14	1400	11,25	138,75	1400



Nous pouvons constater à travers ce tableau que la variation des indices de rétention en fonction du gradient de température est assez faible.

Etablissons à présent la comparaison entre les indices de rétention calculés en isotherme et ceux en programmation de température.

Tableau N°19: comparaison entre les indices de rétention calculés en isotherme et ceux en programmation de température.

8

Composés	$I_{iso=110}$ (°C)	$I_{iso=120}$ (°C)	$I_{iso=130}$ (°C)	$I_{prog=2°C/Mn}$	$I_{prog=3°C/mn}$
$\alpha$ -pinène	1045	1050	1060	1050	1050
$\beta$ -pinène	1160	1160	1165	1170	1175
Limonène	1225	1225	1245	1245	1250

D'après la (fig 3), nous remarquons que la précision des mesures faites par programmation de température est moins bonne que dans le cas de la chromatographie isotherme, ceci est due à la difficulté de mesurer réellement la température de rétention " $T_R$ ".

#### Conclusion:

La gamme d'étalon proposés étant loin de couvrir tout le champ possible des tensions de vapeur en fonction des températures d'analyse, il est préférable d'utiliser les indices de rétention .

Théoriquement si l'on répète l'opération à l'aide de plusieurs colonnes contenant des phases stationnaires de nature différente, la comparaison des groupes repérés sur les tables doit conduire à l'identification du soluté étudié.

Donc le problème de l'analyse quantitative d'un mélange séparable par chromatographie en phase gazeuse serait ramené à un simple travail de recherche dans ces tables.

Il sera néanmoins prudent en se référant aux tables d'indices de rétention de prendre une certaine fourchette de valeurs, autour du chiffre trouvé.

Enfin, il est certain que cette méthode demande beaucoup de temps, et c'est pourquoi, malgré tout son intérêt chromatographique, les chercheurs lui préfèrent souvent les procédés de couplage avec d'autres méthodes physico-chimiques tels que le couplage GC - MS.



Conclusion Générale :

Cette étude a permis peut être, une contribution à la détermination d'une "fiche d'identité" de chaque huile essentielle, autrement dit à la détermination d'un profil standard des huiles essentielles étudiées, qui peut servir de référence à la qualité du produit.

A cet effet une première étude a consisté à déterminer les conditions opératoires optimales chromatographiques.

Le choix a été assez délicat, puisqu'il fallait faire plusieurs essais tout en tenant compte des différents paramètres: phase stationnaire, température de colonne, etc ...

Une deuxième étude a eu pour objectif d'identifier les différents constituants des ces huiles essentielles.

La richesse olfactive des échantillons nous mène à conclure que nous sommes encore loin d'avoir identifié les nombreuses substances odorantes, il serait donc important de se pencher sur ce sujet qui est la détermination des saveurs. des huiles essentielles étudiées.

La troisième étude a permis la recherche d'une méthode d'analyse qualitative en utilisant les indices de rétention de "Kovats".

On peut conclure que pour un gain de temps d'analyse des arômes, il est préférable de travailler avec une colonne à OV 16 peu polaire, alors que pour une bonne séparation il est préconisé de travailler plutôt avec une colonne polaire à polyéthylène glycol de masse 20 000.

ANALYSES

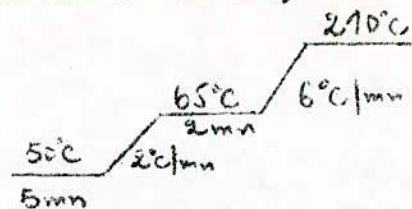
SUR

COLONNE OV 17



chroma 1: Huile de citron brut  
(colonne OV17)

T° colonne.



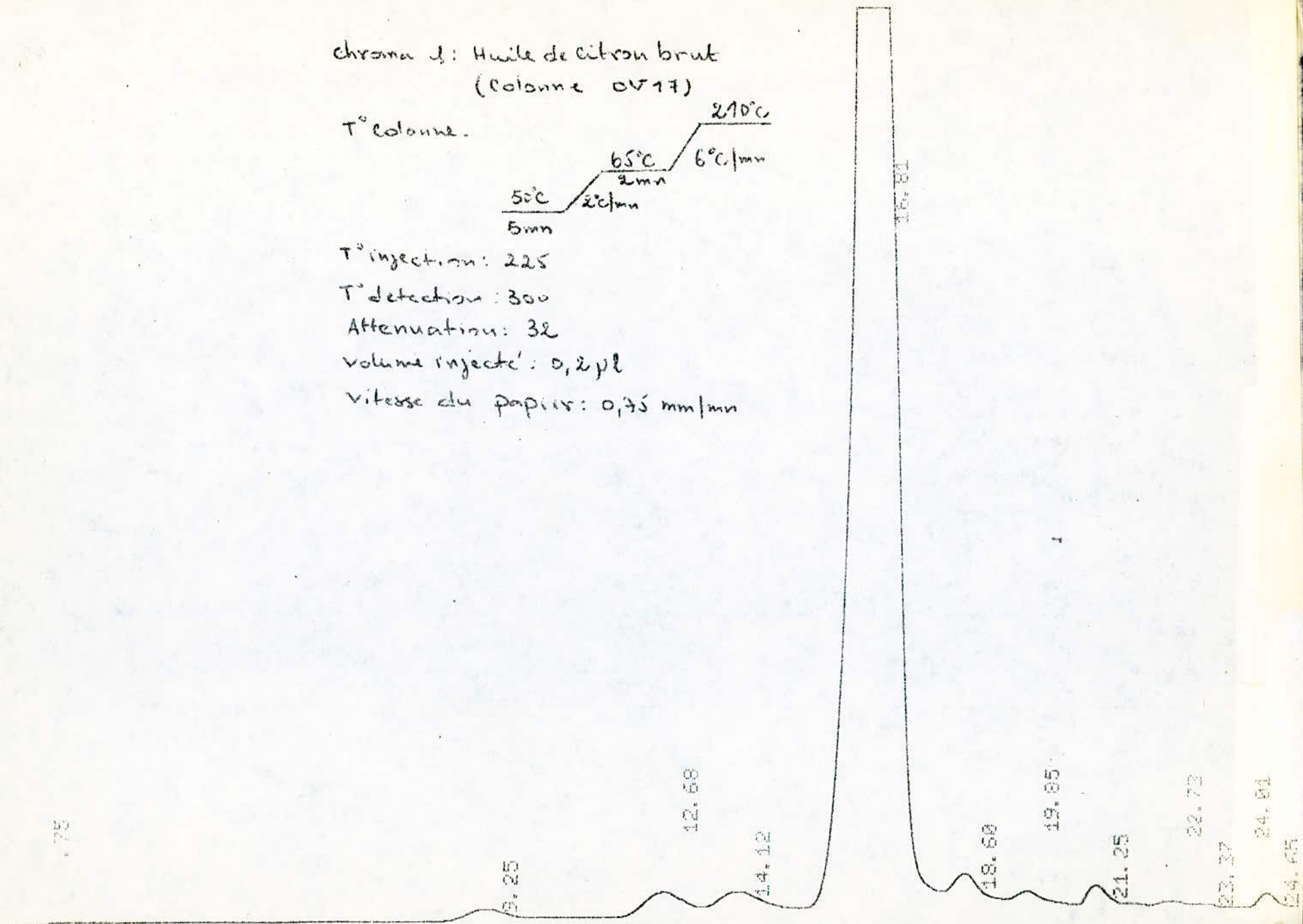
T° injection: 225

T° detection: 300

Attenuation: 32

volumé injecté: 0,2 µl

vitesse du papier: 0,75 mm/min



21.07.19 1406107

25.64

26.50

27.33

28.93

30.47

30.85

36.20

37.73

21/07/19 13:26:07

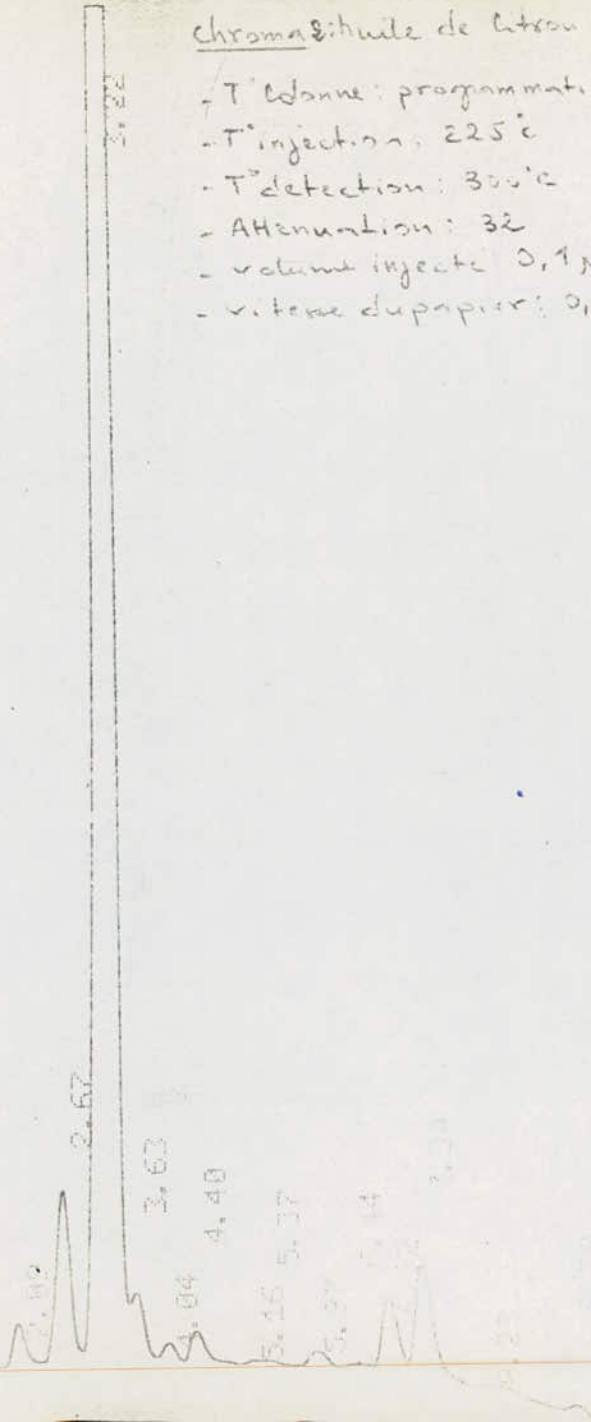
CH= "A" PS= 1.

METHOD	0.	RUN	3	INDEX	3
AREA%	RT	AREA	BC		
0.001	0.75	65	01		
0.588	3.25	34764	01		
1.573	12.68	92957	02		
2.016	14.12	119097	02		
81.754	16.81	4829889	02		
2.256	18.6	133301	02		
1.398	19.85	82590	02		
1.328	21.25	78431	02		
0.549	22.73	32445	02		
0.342	23.37	20256	02		
0.115	24.81	5776	02		
2.636	24.85	41410	02		
0.625	25.64	75998	02		
2.135	30.5	139909	02		
1.711	31.22	319956	02		
0.256	32.93	12198	05		
0.387	33.48	12172	06		
0.287	33.85	12152	07		
0.01	36.2	778	02		
0.006	37.73	815	01		



CHANNEL A TRAJCT 27/07/19 10:36:08

58



Chromatogramme de l'essai brut

- T° colonne: programmation 80°C
- T° injection: 225°C
- T° detection: 300°C
- Atténuation: 32
- volume injecté: 0,1 µl
- vitesse du papier: 0,75 mm/min

80°C  
10°C/min

CV17  
(M.E.B classique)

27/07/19 10:36:08 -CH= "A" PS=

FILE 1. METHOD 0. RUN 2 INDEX 2

PEAK#	AREA#	RT	AREA	BC
1	0.001	0.58	35	01
2	0.725	2.09	24708	02
3	1.102	2.67	185780	02
4	1.157	3.20	2767269	02
5	1.157	3.51	40684	02
6	1.157	4.04	25994	02
7	1.157	4.4	57779	02
8	1.157	4.4	20925	02
9	1.157	5.16	37879	02
10	1.157	5.37	46159	02
11	1.157	5.37	71335	02
12	1.157	6.14	80754	02
13	1.157	6.34	155609	04
14	4.564	7.34	6112	05
15	0.238	8.23	6238	06
16	0.483	9.38	6238	06

TOTM 100. 3409709

CHANNEL A INJECT 27/07/19 11:20:42

chroma 3 : Huile de citron semi deterpenee

- T° colonne: programmation (OV17)

80°C → 200°C  
10°C/min

- T° injection: 225°C

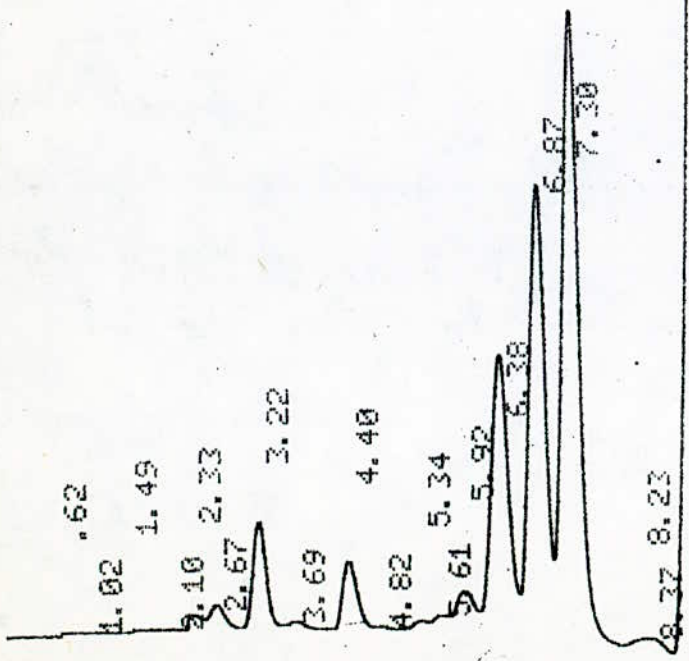
- T° detection: 300°C

- Attenuation: 32

- volume injecte: 0,1 µl

- vitesse du papier: 0,75 mm/min

8.98



27/07/19 11:20:42 CH= "A" PS= 1.

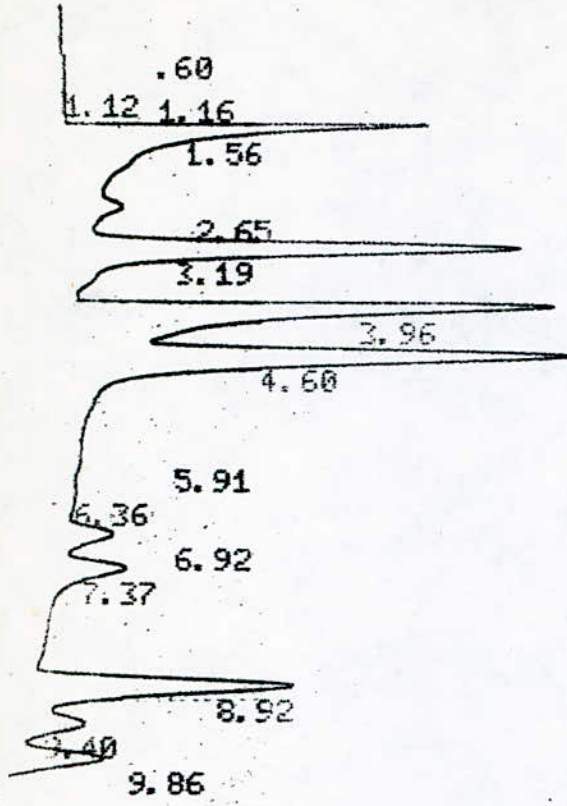
FILE 1. METHOD 0. RUN 4 INDEX 4

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.004	0.62	105	01
2	0.059	1.02	1558	02
3	0.347	1.49	9082	02
4	0.42	2.1	11013	02
5	0.644	2.33	16887	02
6	1.403	2.67	36764	02
7	3.353	3.22	87882	02
8	1.789	3.69	44793	02
9	3.204	4.4	83964	02
10	0.915	4.82	23991	02
11	1.591	5.34	41694	02
12	1.282	5.61	32592	02
13	2.702	5.92	70821	02
14	9.51	6.38	249238	02
15	13.029	6.87	341478	02
16	21.866	7.3	573087	08
17	0.199	8.23	5209	05
18	0.263	8.37	6901	05
19	37.5	8.98	982847	03
TOTAL	100.		2620906	

TOTAL

2620906

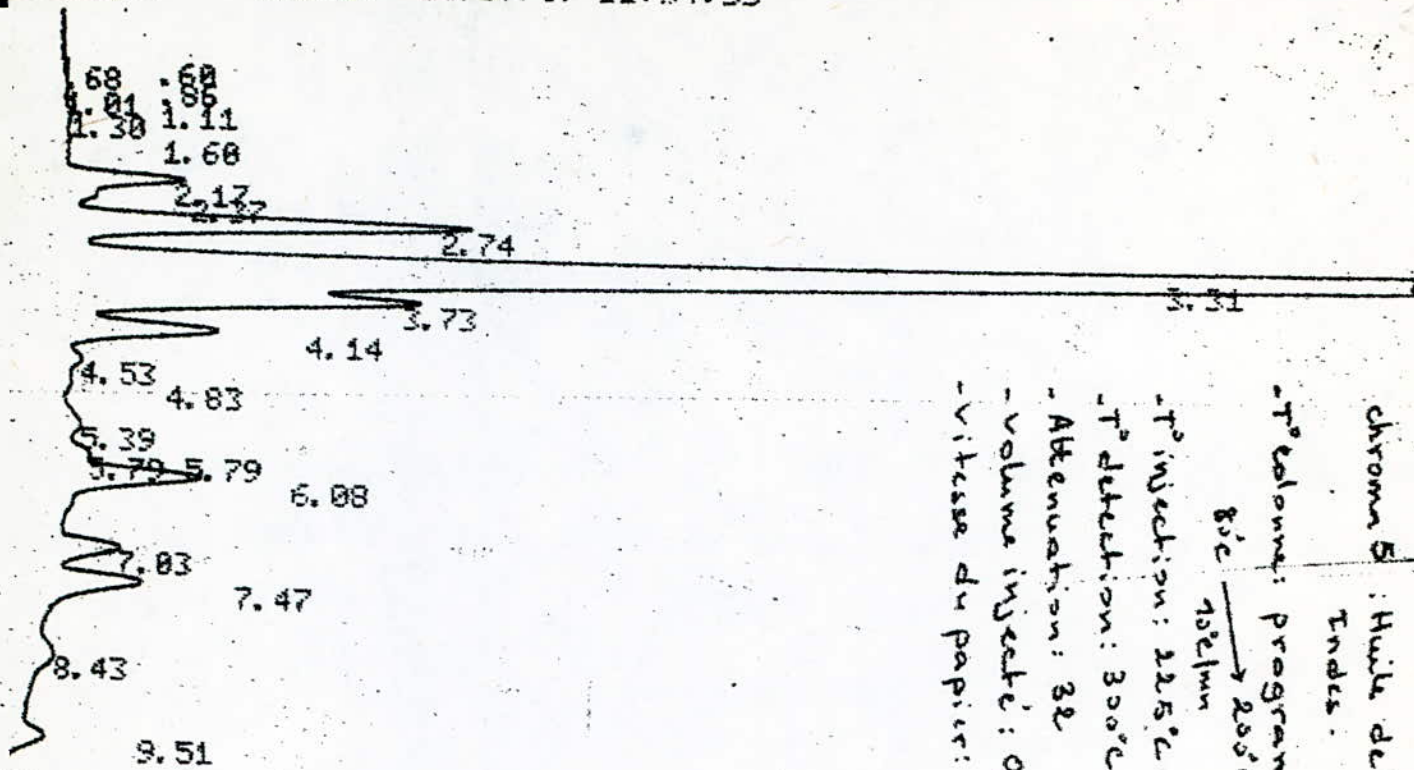




chromat 4 Huile de citron deterpenée  
 - T° colonne: programmation  
 Boie → 100°C → Boie (OV-17)  
 - T° injection: 225°C  
 - T° detection: 300°C  
 - Attenuation: 32x  
 - Volume injecté: 0,4 µl  
 - Vitesse du papier: 0,75 cm/min

FILE 1. METHOD 0. RUN 3 INDEX 3

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BU
1	0.002	0.6	85	01
2	0.001	1.12	36	02
3	0.004	1.16	139	03
4	10.516	1.56	373819	08
5	0.375	2.65	13338	06
6	10.69	3.19	379992	02
7	11.251	3.96	399952	02
8	52.202	4.6	1855620	08
9	0.059	5.91	2087	05
10	0.098	6.36	3469	06
11	0.918	6.92	32644	06
12	1.451	7.37	51572	07
13	5.27	8.92	187330	06
14	1.849	9.4	65720	06
15	5.313	9.86	188870	07
TOTAL	100.		3554680	



chroma 5 : Huile de linette des Indes.  
 - T° colonne: Programmation  
 8°C → 250°C (0.17)  
 10°C/min  
 - T° injection: 225°C  
 - T° detection: 300°C  
 - Attenuation: 32  
 - Volume injecté: 0,1 µl  
 - Vitesse du papier: 0,15 µl

28/07/87 12:34:33

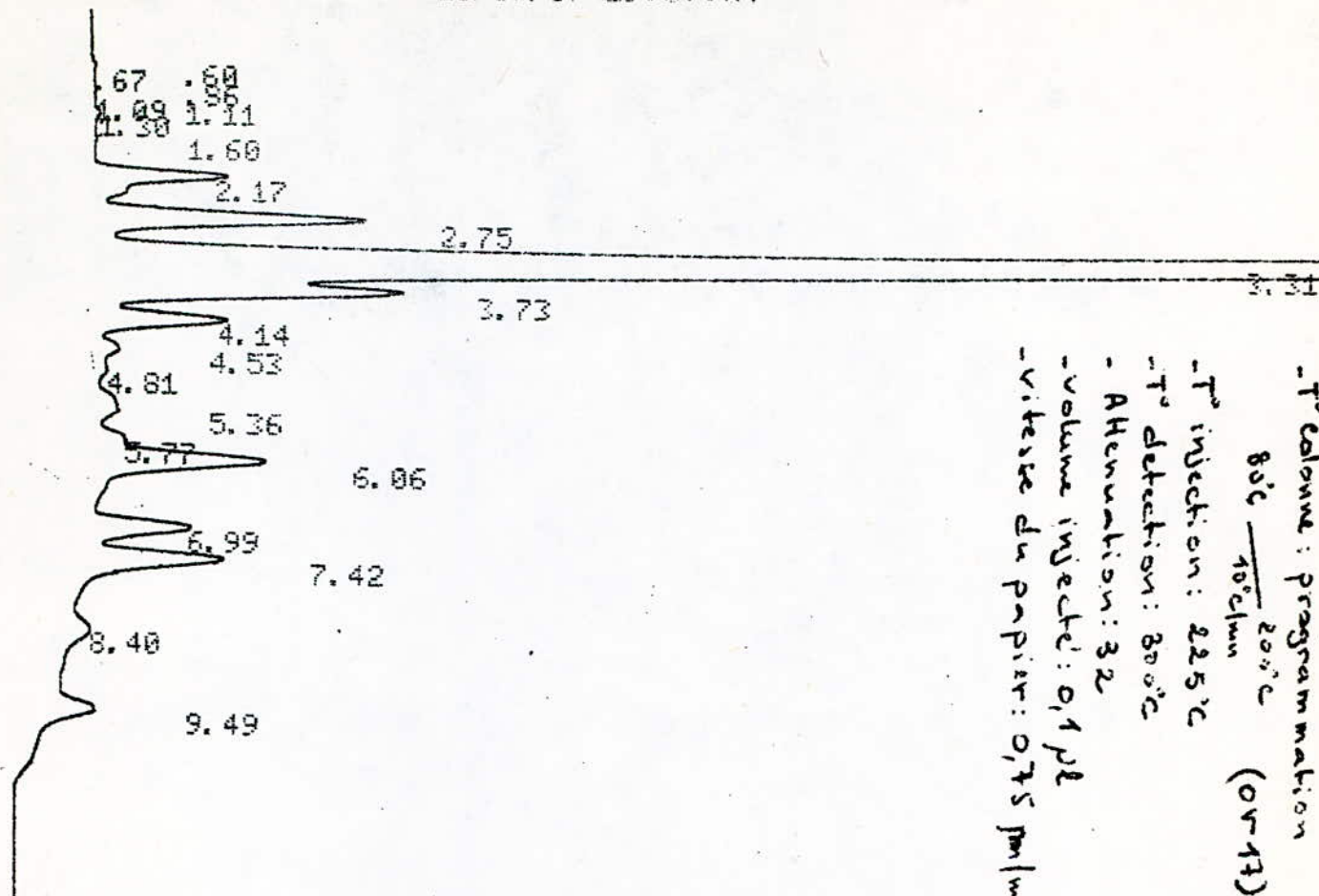
CH= "A" PS= 1.

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 5	INDEX 5
PEAK#	AREA%Z	RT	AREA BC
1	0.001	0.6	33 02
2	0.001	0.68	38 03
3	0.008	0.86	243 02
4	0.006	1.01	191 02
5	0.004	1.11	134 02
6	0.008	1.3	2712 02
7	0.041	1.6	1258 03
8	2.019	2.17	62411 02
9	0.329	2.37	10177 02
10	7.471	2.74	230909 02
11	67.457	3.31	2085022 02
12	6.613	3.73	204395 02
13	3.248	4.14	100386 02
14	0.601	4.53	18581 02
15	0.421	4.83	13013 02
16	1.048	5.39	32382 02
17	0.525	5.79	16222 02
18	0.261	5.79	8060 02
19	5.143	6.08	158978 08
20	1.121	7.03	34538 06
21	2.462	7.47	76105 03
22	0.515	8.43	15923 01
23	0.617	9.51	19064 01

TOTAL 100.

3090625



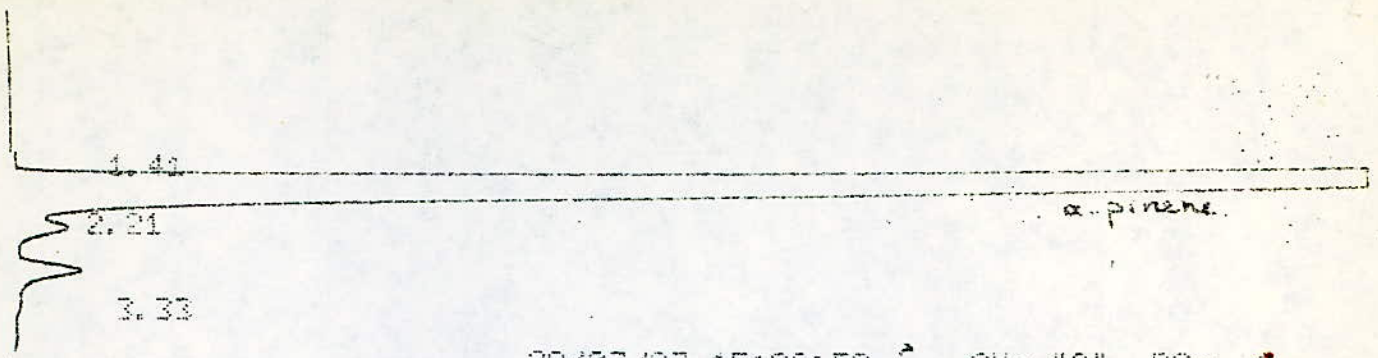


Chromatogram: Huile de Linette distillée  
 - T° colonne: programmation  
 85°C / 10°C/min / 200°C (0-17)  
 - T° injection: 225°C  
 - T° detection: 80°C  
 - Attenuation: 32  
 - volume injecté: 0,1 µl  
 - vitesse du papier: 0,75 ml/min

28/07/87 11:07:04 CH= "A" PS= 1.

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 1	INDEX 1
PEAK#	AREA#	RT	AREA BC
1	0.003	0.6	124 02
2	0.001	0.67	45 03
3	0.004	0.86	157 01
4	0.007	1.09	277 02
5	0.011	1.11	430 02
6	0.118	1.3	4605 02
7	0.108	1.6	4214 02
8	2.509	2.17	97073 02
9	4.532	2.75	176749 02
10	64.189	3.31	2503606 02
11	5.064	3.73	197522 02
12	2.67	4.14	104124 02
13	0.994	4.53	38762 02
14	0.723	4.81	28184 02
15	1.695	5.36	66124 02
16	0.964	5.77	37615 02
17	5.695	6.06	222134 02
18	2.868	6.99	111877 02
19	4.501	7.42	175569 02
20	1.963	8.4	76579 02
21	1.379	9.49	53772 02

TOTAL 100. 3900342

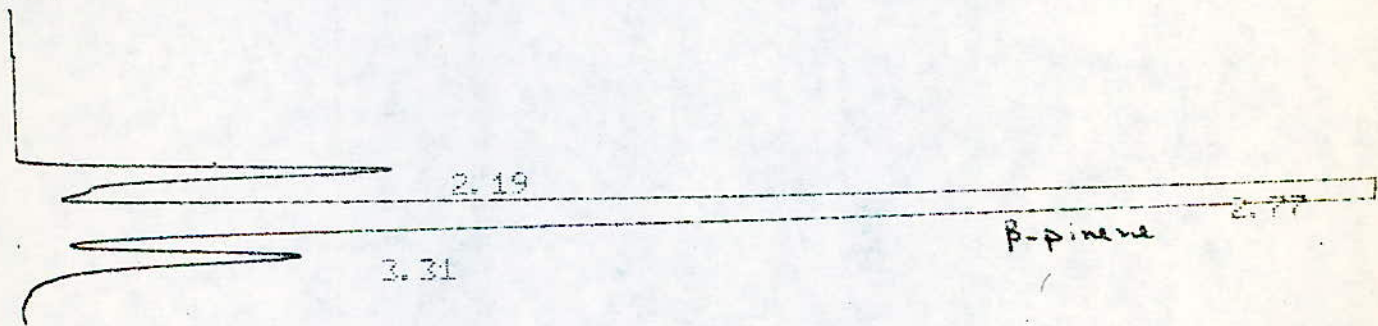


28/07/87 15:02:50 CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 6 INDEX 6

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.005	1.41	3575	02
2	90.877	2.21	3803963	02
3	1.99	3.33	83290	02
4	0.661	4.17	27676	02
5	2.009	4.97	84101	02
6	1.594	6.18	66732	02
7	0.845	7.17	35366	02
8	1.939	7.65	81143	03

TOTAL 100. 4185846



28/07/87 15:21:25 CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 7 INDEX 7

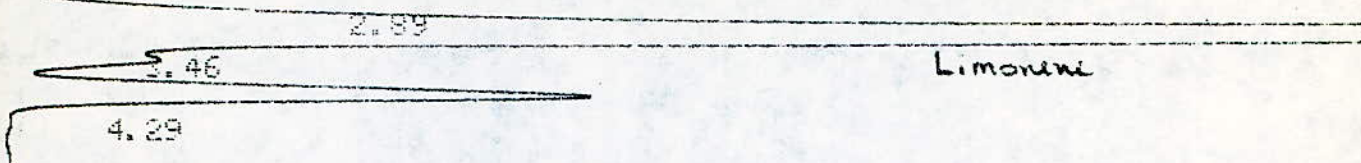
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	5.337	2.19	201656	02
2	89.832	2.77	3294494	02
3	4.831	3.31	182565	03

TOTAL 100. 3778715

Etalons analysés sur colonne OV17  
 T° colonne: 80°C → 200°C  
 T° injection: 225°C 10°C/min  
 T° detection: 300°C  
 volume injecté: 0,1 µl



0.93 0.66

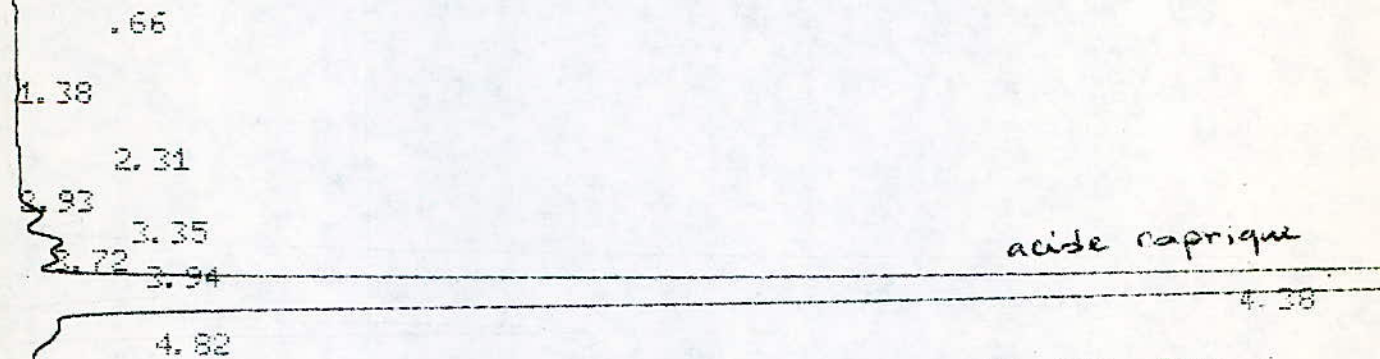


19/09/7 12:37:26 CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 1 INDEX 1

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.003	0.66	96	02
2	0.002	0.93	61	03
3	1.919	2.89	59463	02
4	80.844	3.46	2504463	02
5	11.554	4.29	357938	02
6	0.694	5.57	21486	02

CHANNEL A INJECT 29/07/19 17:21:09

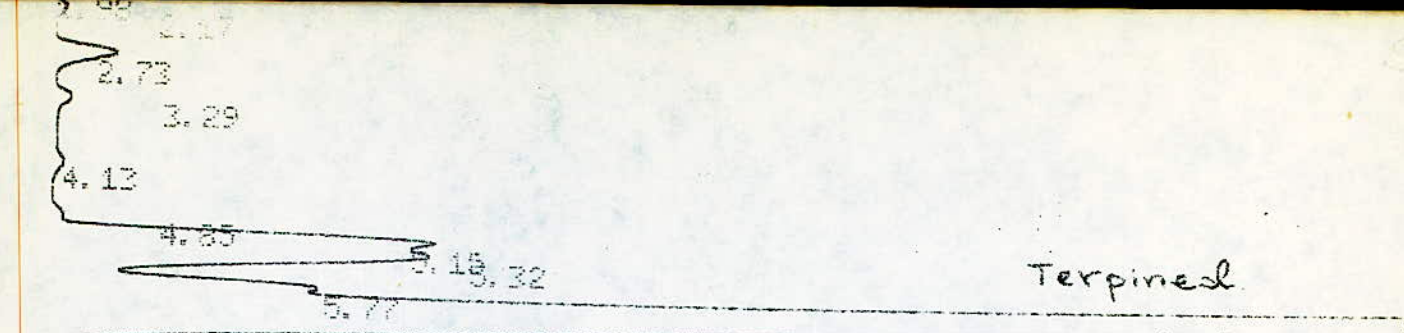


29/07/19 17:21:09 CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 17 INDEX 17

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.025	0.66	807	01
2	0.063	1.38	2843	02
3	0.018	2.31	575	03
4	0.006	2.93	193	02
5	0.445	3.35	14449	02
6	0.765	3.72	24808	02
7	0.599	3.94	19423	02
8	88.813	4.38	2880535	02
9	0.994	4.82	32231	02

Etalons analysés sur colonne OV17  
 T° colonne: 100°C → 200°C  
 10 cm



Terpinol

8	6.452	5.15	230603	02
9	6.948	5.32	248322	02
10	3.714	5.77	132736	02
11	77.135	6.12	2756973	08
12	0.02	7.14	714	05
13	0.123	7.53	4411	06
14	0.116	7.94	4150	06
15	0.33	8.25	11798	07



p-Cymene

11	0.425	5.63	13509	02
12	92.376	6.35	2936507	08
13	1.292	7.45	41056	06
14	2.482	8.27	78890	06
15	0.274	8.67	8720	06
16	0.871	9.86	27674	06
17	0.25	10.76	7955	06
18	0.019	11.53	611	07

TOTAL 100. 3178849



Citronellal

12	0.238	5.17	2644	02
13	92.174	5.6	1022891	08
14	1.741	6.72	19324	05

Etibus analyse sur colonne OV17  
 T° colonne 80°C → 200°C  
 10°C/min  
 T° injection 220°C T° detection 300°C  
 AH: 21, volume injecté: 0,1 µl



3.85  
2.59  
2.92  
2.24

3.74 3.97

$\delta$ -Terpinene

11	16.355	3.74	507992	02
12	78.743	3.97	2445824	03
13	0.279	5.19	8676	02

5.41 5.64  
5.93

6.56

linal

6.92

7.37

Geranial

13	3.538	6.56	101384	02
14	35.909	6.92	1028858	02
15	51.294	7.37	1469695	03
16	0.637	8.44	18245	01

TOTAL 100. 286521.4

3.20

phellandrene

3.69

4.32 4.75

11	4.068	2.92	120530	02
12	11.624	3.2	344410	02
13	47.356	3.69	1403156	02
14	2.646	4.32	78418	02

3.69

4.65

linalol.

11	0.249	3.69	6882	02
12	98.676	4.65	2732715	02
13	0.121	5.99	3339	02
14	0.253	6.57	7015	02

Echantons analysés sur colonne OV17

T° colonne. 80°C → 200°C  
100/min.

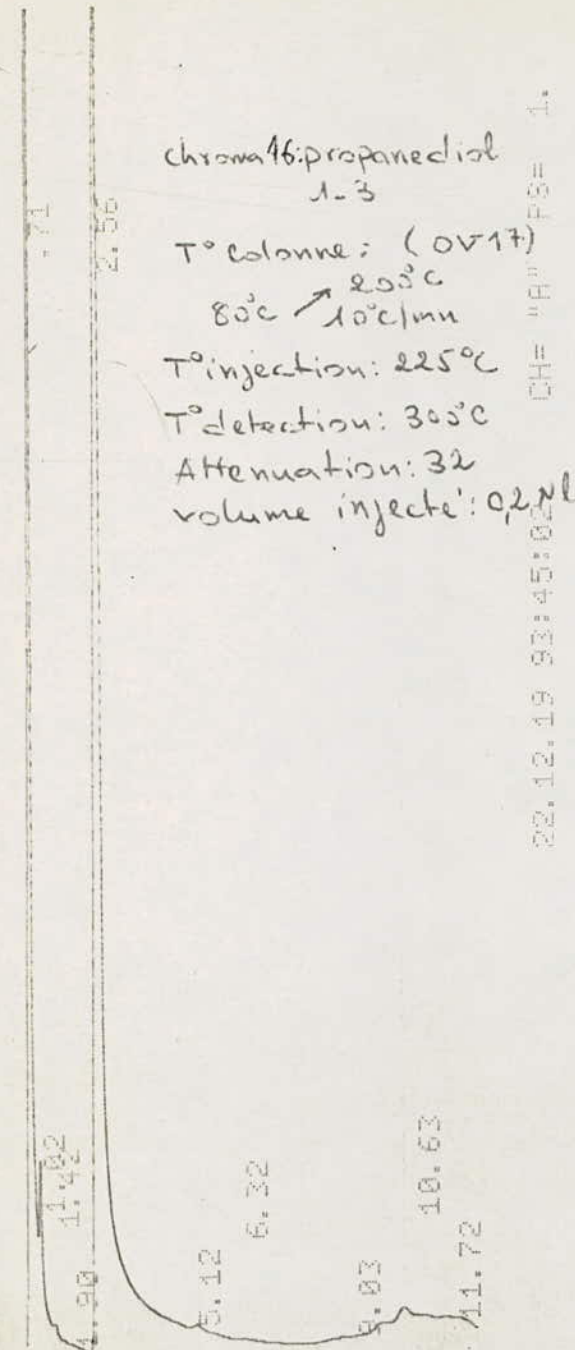
T° injection. 225°C

T° detection. 300°C

Att. 32.

volume injecté. 0,1 µl

CHANNEL A INJECT 22.12.19 93:45:02



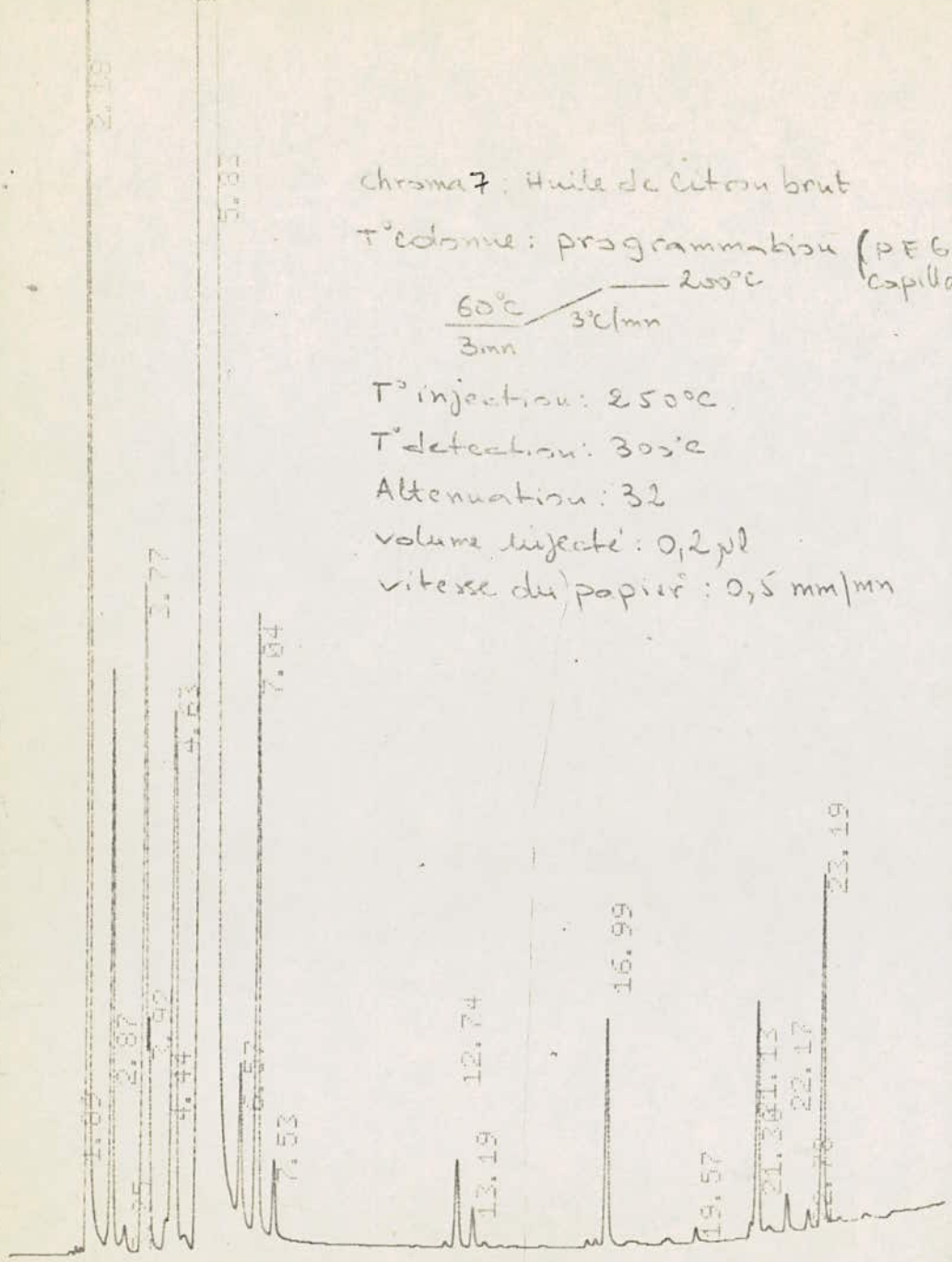
Chromat. prepared 1-3  
 T° colonne: (OV17) 250°C  
 80°C → 10°C/min  
 T° injection: 225°C  
 T° detection: 300°C  
 Attenuation: 32  
 volume injecté: 0,2 µl

22.12.19 93:45:02 CH= "A" PS= 1.

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	6	INDEX	6
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC	BC	BC	BC
1	42.048	0.71	865568	08			
2	0.815	1.02	16777	05			
3	0.095	1.42	1963	05			
4	0.	1.9	5	05			
5	51.407	2.56	1058023	06			
6	1.367	5.12	28135	07			
7	0.046	6.32	956	01			
8	0.057	8.03	1098	02			
9	3.281	10.63	67543	02			
10	0.882	11.72	1848	03			
TOTAL	100.		1069587				



ANALYSES  
SUR  
COLONNE CAPILLAIRE  
PEG 20M



chroma 7 : Huile de Citron brut

T° colonne : programmation (PEG capillaire)

60°C / 3°C/min / 200°C

T° injection : 250°C

T° detection : 300°C

Attenuation : 32

volume injecté : 0,2 µl

vitesse du papier : 0,5 mm/min

02:17:00 CH="H" PS="L"

02:17:00

INDEX 4

RUN 4

METHOD 0.

FILE 1.

AREA BC

RT

AREA:

PEAK#	AREA:	METHOD	0.	RT	RUN	4	AREA	BC
1	0.009			1.09			1396	01
2	4.505			2.48			705832	01
3	0.915			2.87			140171	01
4	0.054			3.25			9262	01
5	1.476			3.77			226269	02
6	0.426			4.22			66860	03
7	0.06			4.44			5194	02
8	1.566			4.63			240026	03
9	87.33			4.63			13284409	01
10	0.296			5.31			45305	01
11	1.143			6.57			175210	01
12	0.141			7.04			21641	01
13	0.2			7.53			20576	01
14	0.074			12.74			11268	01
15	0.429			13.19			65790	01
16	0.026			16.99			4450	01
17	0.024			19.57			3753	02
18	0.453			21.34			70907	03
19	0.071			21.45			10870	01
20	0.039			22.17			5973	01
21	0.629			23.19			98904	01



CHANNEL A INJECT 16/11/87 16:57:04

chroma 8 : Huile de Citron semi  
deterpene

T° colonne:  $\frac{60^{\circ}\text{C}}{3\text{mn}}$  /  $\frac{200^{\circ}\text{C}}{30\text{mn}}$   
(PEG capillaire)

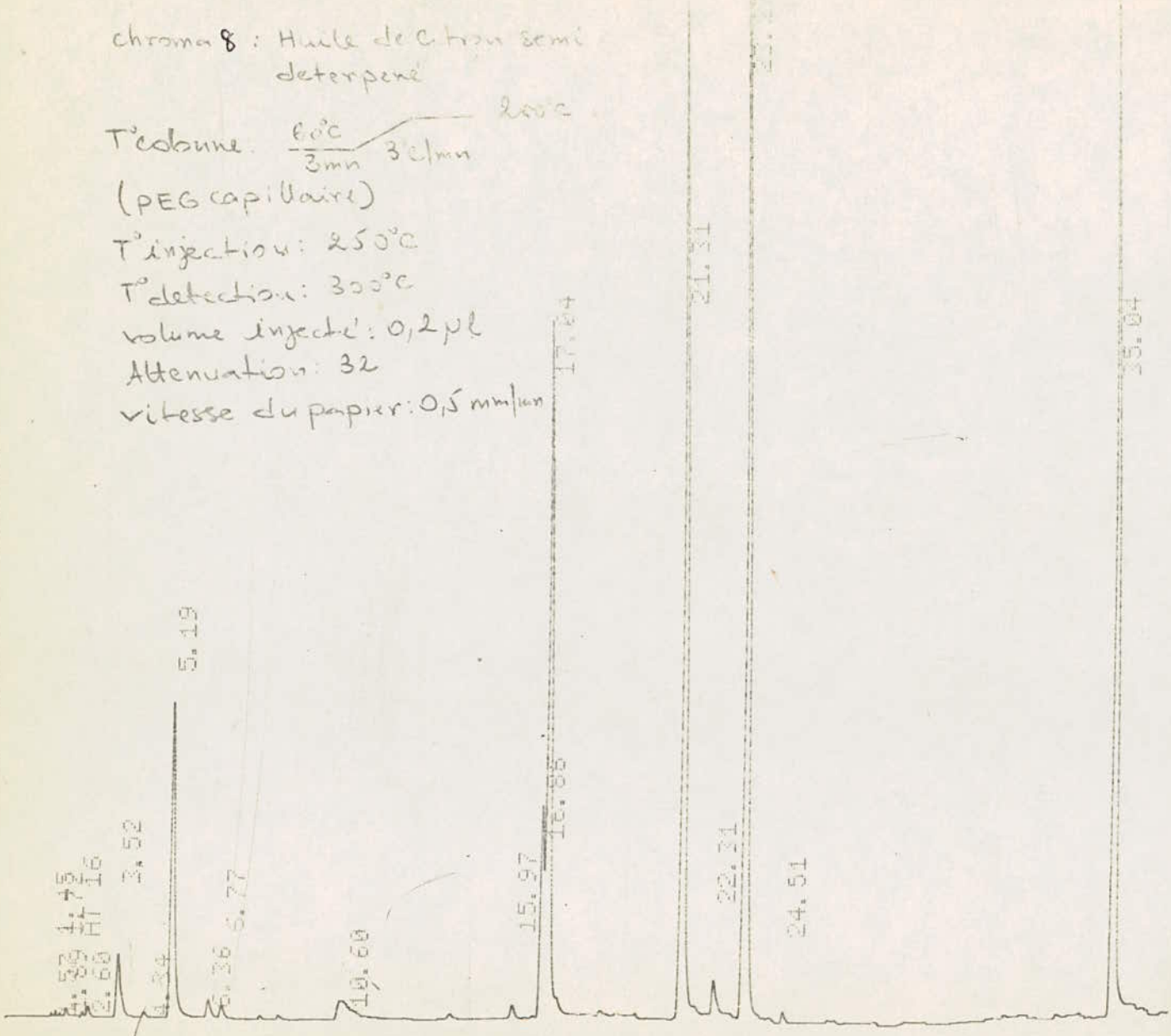
T° injection: 250°C

T° detection: 300°C

volume injecte: 0,2 µl

Attenuation: 32

vitesse du papier: 0,5 mm/min



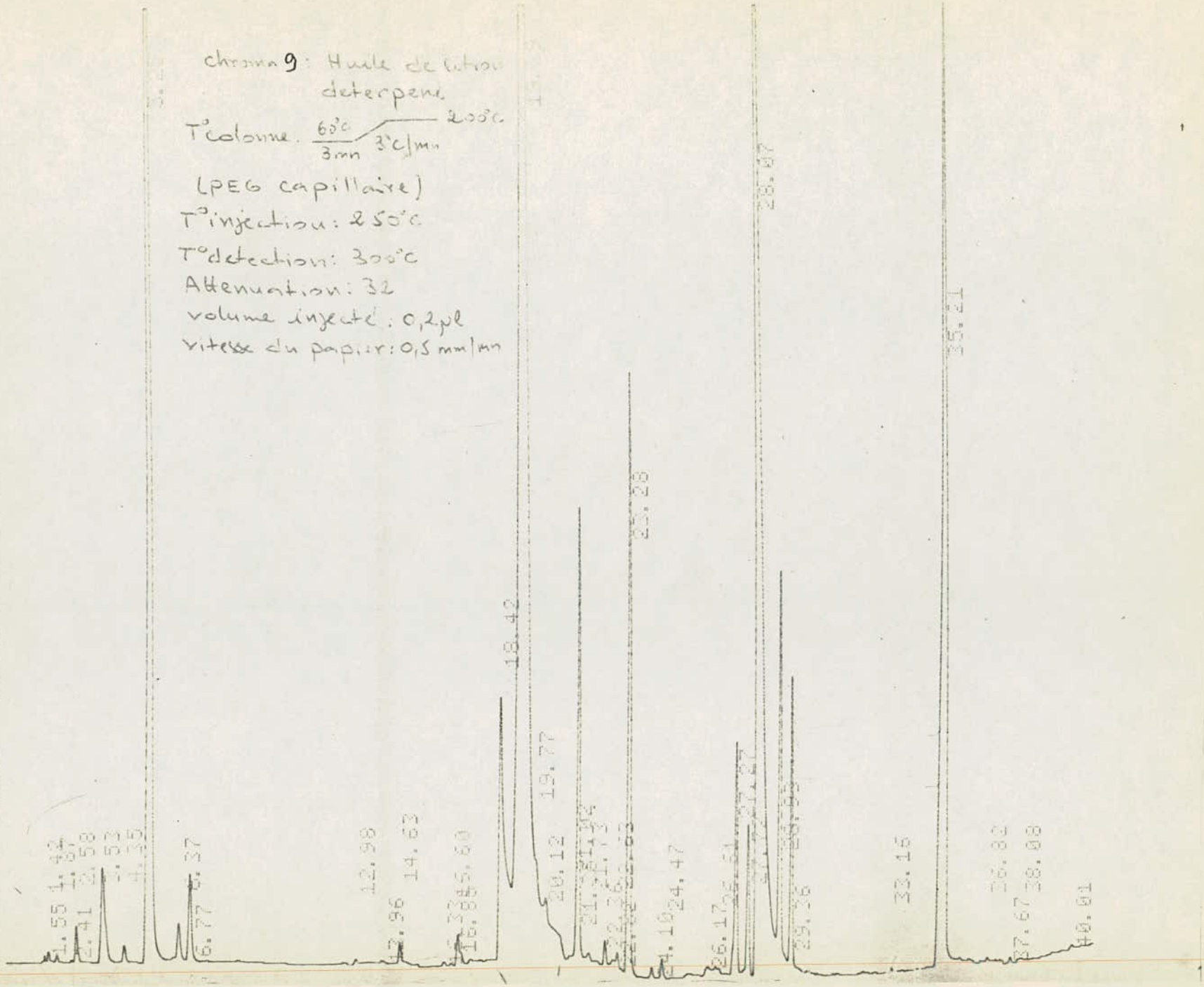
16/11/87 16:57:04 CH= "A" RS= 1.

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 9	INDEX 9
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	1.694	3.52	15736 01
2	7.671	5.19	71274 01
3	1.14	10.60	10594 01
4	4.069	16.86	37868 02
5	45.299	17.04	142150 03
6	20.159	21.31	187396 01
7	27.764	22.27	257964 01
8	22.203	35.04	206296 01

TOTAL 100. 929136

ANNEL R INJECT 16/11/87 09:39:06

chromatogram: Huile de citron  
 diterpene  
 T° colonne:  $\frac{60^{\circ}\text{C}}{3\text{mn}} \begin{matrix} / \\ 3^{\circ}\text{C}/\text{mn} \end{matrix} \frac{200^{\circ}\text{C}}{}$   
 (PEG capillaire)  
 T° injection: 250°C  
 T° detection: 300°C  
 Attenuation: 32  
 volume injecté: 0,2 µl  
 vitesse du papier: 0,5 mm/min





FILE 1. METHOD 0. RUN 2 INDEX 2

PEAK#	AREA	RT	AREA	BC
1	0.221	2.58	14922	02
2	0.951	3.53	61416	01
3	16.433	5.25	1061269	01
4	0.013	6.17	29237	02
5	0.661	6.77	42651	02
6	0.099	16.05	18721	02
7	0.618	18.42	214914	02
8	0.223	19.39	2089736	09
9	2.654	21.35	171353	02
10	0.135	22.26	8802	01
11	2.98	23.28	257022	01
12	0.295	26.17	19949	02
13	1.52	27.27	98100	01
14	0.975	27.72	62932	02
15	19.62	28.07	1267557	08
16	2.146	28.92	108595	05
17	1.442	29.06	93111	05
18	11.451	35.21	709422	01
19	0.714	38.08	46099	02
20	0.212	40.01	20222	03

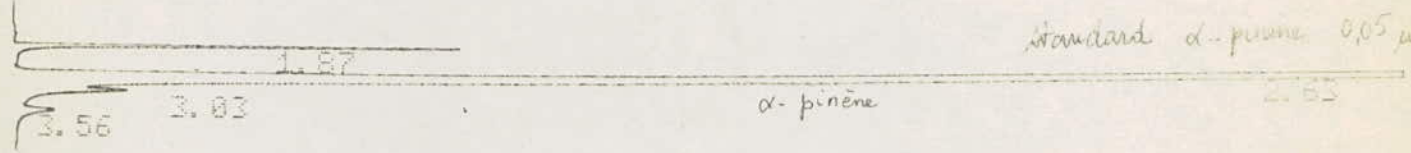
TOTAL 100. 6457208

5.33

6.93 f-gyrene

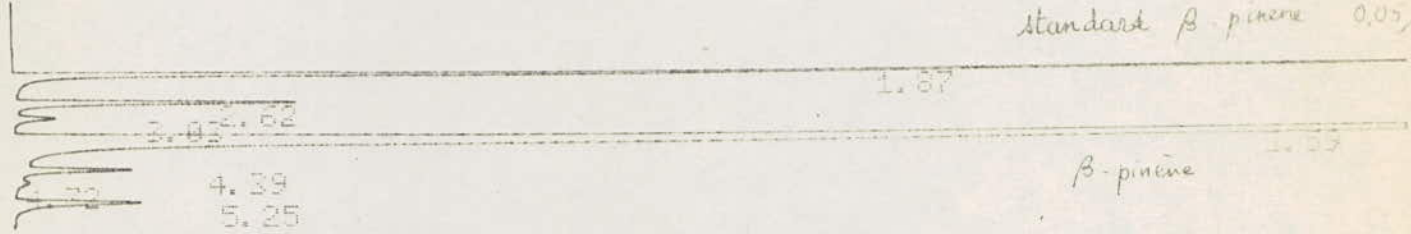
2	0.87	5.33	18877	01
3	79.858	6.93	1733723	01
4	0.795	22.08	17268	03
5	2.18	27.47	47324	01

TOTAL 100. 2170996



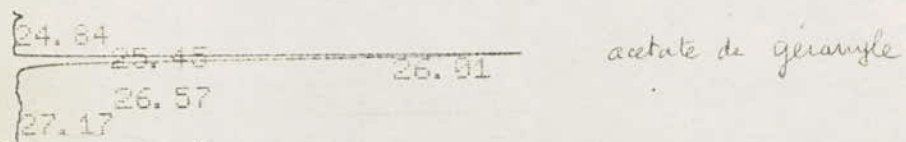
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	2.724	1.87	67513	01
2	93.027	2.63	2306041	02
3	2.329	3.03	57728	06

CHANNEL A INJECT 16/11/87 14:27:23



1	15.705	1.87	308442	01
2	3.912	2.63	76833	01
3	0.536	3.03	12495	01
4	75.266	3.59	1478246	01
5	1.463	4.39	28725	01
6	2.518	5.25	49448	01
7	0.501	18.91	9833	01

TOTAL 100. 1964022



9	0.168	25.45	865	01
10	32.366	26.01	166509	01
11	0.102	26.57	524	01

Etalons analysés sur colonne PEG 20M (capillaire)

T° colonne:  $\frac{60^{\circ}\text{C}}{3\text{mm}}$   $\frac{200^{\circ}\text{C}}{3\text{cm}}$

T° injection: 250°C

T° detection: 300°C

Attenuation: 32



Linalol  
16.85

3	20.9	13.51	87866	01
4	47.636	16.85	200271	01
5	2.292	19.99	9638	01

TOTAL 100. 420419

Limonene

~~21.75~~  
23.22

~~5.16~~  
6.79

3	0.723	4.13	17253	03
4	66.864	5.29	1595440	01
5	0.545	6.16	13004	01
6	6.968	6.79	166254	01

~~21.75~~  
23.22

Terpeneol

23.22

23.32

8	2.469	21.75	79351	02
9	70.628	22.52	2270046	03
10	0.34	28.17	10912	01
11	0.65	34.94	20893	01
12	0.564	39.7	18136	01

TOTAL 100. 3214097

acetate de linalyle

17.41

18.61

18.47

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.11	1.23	1143	01
2	13.241	1.51	137366	01
3	43.577	16.61	452077	01
4	0.075	17.41	775	01

Etalons analysés sur colonne PEG 20M (capillaire)

T° colonne:  $\frac{60^{\circ}C}{3mm} \rightarrow 200^{\circ}C$   
32mm

T° injection: 250°C

T° detection: 300°C

Attenuation: 32

volume injecté: 0,05 µl

vitesse du papier: 0,5 mm/min

ANALYSES

SUR

COLONNE CLASSIQUE

PEG 20M

chroma: 10 Huile de citron brut  
(PEG 20H classique)

T° colonne:  $\frac{105^{\circ}\text{C}}{7\text{mn}}$   $\frac{130^{\circ}\text{C}}{5\text{mn}}$   $\frac{190^{\circ}\text{C}}{1^{\circ}\text{C/mn}}$

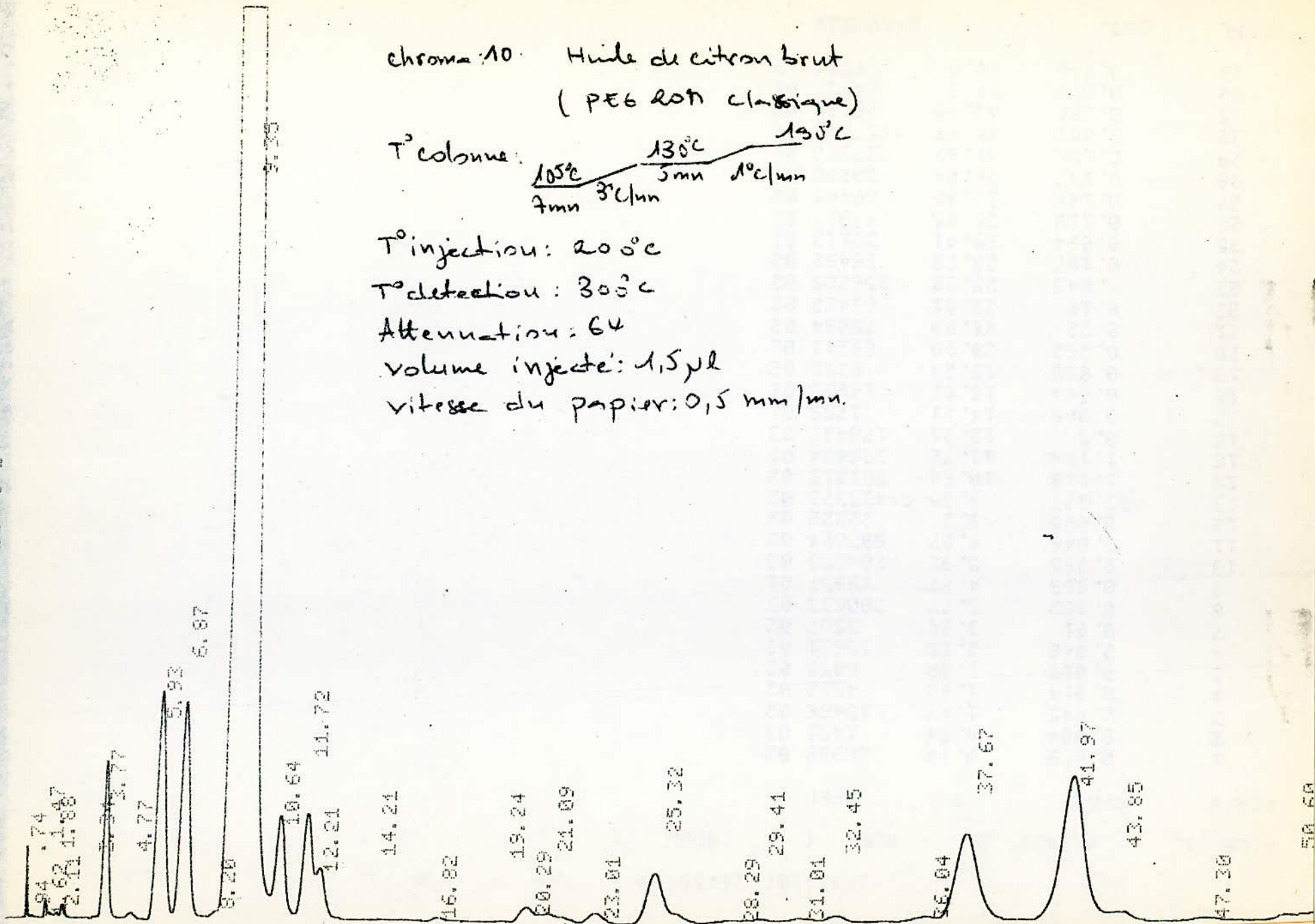
T° injection: 200°C

T° detection: 300°C

Attenuation: 64

volume injecté: 1,5 µl

vitesse du papier: 0,5 mm/mn.





19912987 11:55:14

CH= "R" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 1 INDEX 1

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.079	0.74	26930	02
2	0.004	0.94	1451	03
3	0.045	1.47	15466	02
4	0.014	1.62	4882	02
5	0.018	1.88	6055	02
6	0.046	2.11	15631	03
7	0.01	3.34	3507	02
8	0.082	3.77	300633	03
9	0.059	4.77	19957	01
10	2.065	5.93	704258	02
11	2.046	6.07	697874	02
12	0.065	8.2	22222	02
13	83.377	9.35	28433373	02
14	1.118	10.64	381213	02
15	1.104	11.72	376404	02
16	0.5	12.21	170447	02
17	0.085	14.21	1789	01
18	0.044	16.02	14895	01
19	0.025	19.24	8382	02
20	0.262	20.29	89241	02
21	0.22	21.09	75084	02
22	0.18	23.01	61422	02
23	1.045	25.32	356225	02
24	0.107	28.29	36492	02
25	0.084	29.41	32119	02
26	0.129	31.01	43833	02
27	0.148	32.45	50441	02
28	0.147	36.04	50298	02
29	2.151	37.67	733552	03
30	3.688	41.97	1257599	02
31	0.206	43.85	70189	03
32	0.073	47.3	24952	01
33	0.046	50.6	15536	03

TOTAL 100.

34102330



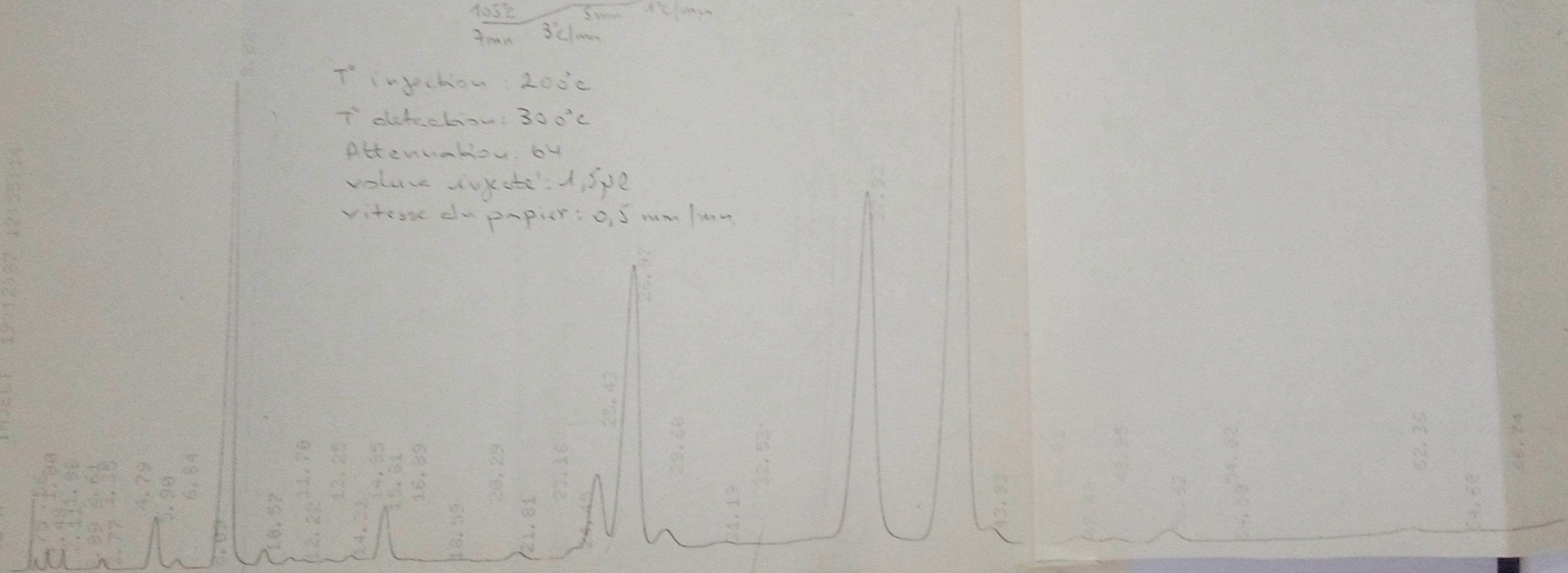
Pc 00388  
③

Chrom 81: Huile de colza semi déterpene  
(PE6 20M classique)

T° colonne:  $\frac{105^{\circ}\text{C}}{7\text{min}}$   $\frac{135^{\circ}\text{C}}{5\text{min}}$   $\frac{120^{\circ}\text{C}}{4^{\circ}/\text{min}}$   
 $3^{\circ}/\text{min}$

T° injection: 200°C  
T° detection: 300°C  
Attenuation: 64  
volume injecté: 1,5 µl  
vitesse du papier: 0,5 mm/min

CHANNEL 8 INJECT 19/12/87 12:55:14



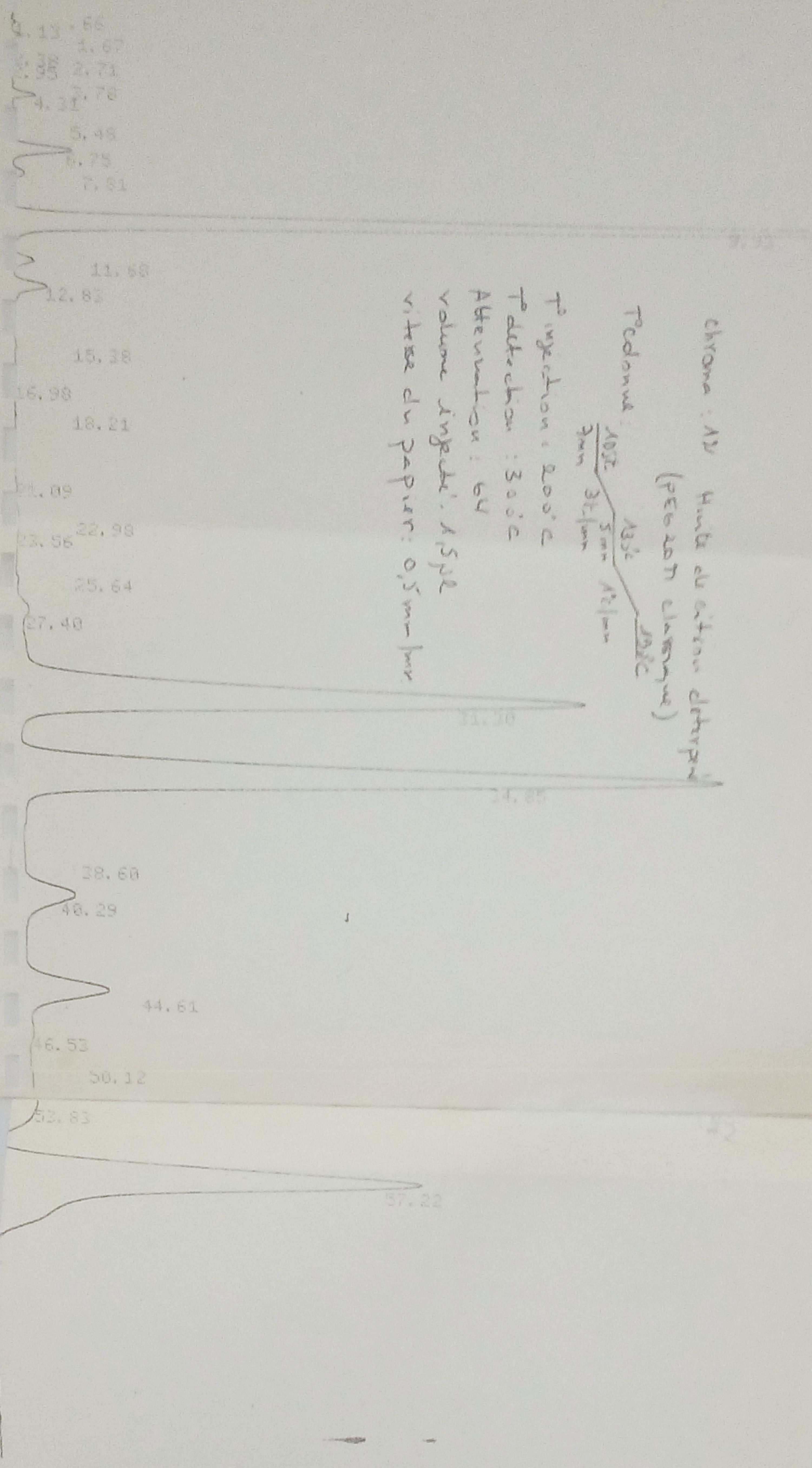


FILE 1. METHOD 0. RUN 2 INDEX 2

PK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.008	0.56	1297	02
2	0.186	0.75	29204	02
3	0.082	1.	12915	02
4	0.181	1.48	28306	08
5	0.007	1.88	1069	06
6	0.176	2.11	27532	03
7	0.002	2.61	246	02
8	0.011	2.89	1754	02
9	0.025	3.35	3871	02
10	0.173	3.77	27130	03
11	0.007	4.79	1069	01
12	1.063	5.9	166456	02
13	0.212	6.84	33193	03
14	0.011	8.09	1756	02
15	11.858	8.82	1857214	08
16	0.383	10.57	59968	06
17	0.194	11.7	30457	06
18	0.118	12.22	18419	06
19	0.154	13.25	24163	06
20	0.28	14.31	43681	06
21	0.09	14.85	14145	06
22	1.712	15.81	268239	06
23	0.056	16.89	8828	06
24	0.02	18.59	3067	07
25	0.013	20.29	2068	01
26	0.359	21.81	56162	02
27	0.014	23.16	2258	02
28	0.304	24.45	47576	02
29	3.719	25.43	582432	02
30	14.015	26.97	2195094	02
31	1.662	28.6	260358	02
32	1.136	31.19	177961	02
33	0.53	32.53	82941	02
34	24.743	37.93	3875302	02
35	33.657	42.31	5271511	02
36	0.952	43.93	149087	02
37	0.001	46.02	138	02
38	0.403	47.48	63181	02
39	0.26	48.95	40754	02
40	0.764	51.62	119658	02
41	0.01	54.02	1515	02
42	0.001	54.5	207	02
43	0.272	62.36	42659	02
44	0.081	64.6	12707	02
45	0.094	66.74	14310	03

TAL 100. 15662478





Chromatogram: AB  
 Méthode du cône dérivé  
 (pédon de la courbe)  
 T° colonne: 100°C  
 T° injection: 200°C  
 T° détecteur: 300°C  
 Atténuation: 64  
 Volume injecté: 1.5 µl  
 Vitesse du papier: 0.5 mm/min

06/12/87 14147158 CH= "A" RS= 1.

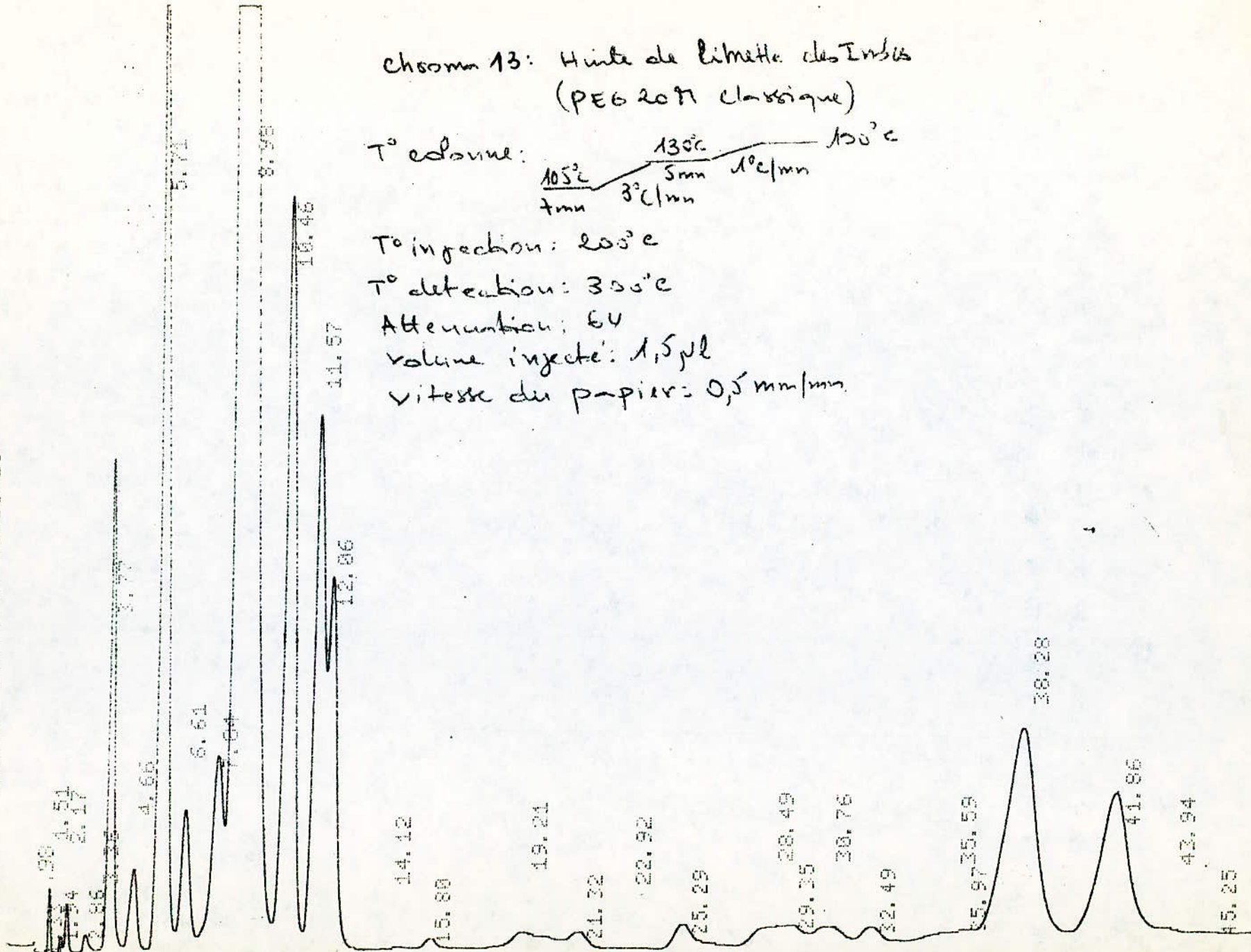
1. METHOD D. RUN 6 INDEX 6

AREA%	RT	AREA	BC
0.006	0.66	1424	02
0.02	1.13	4929	03
0.061	1.67	15107	01
0.01	2.28	2401	02
0.014	2.71	2468	02
0.008	2.95	1918	01
0.008	3.76	2092	02
0.238	4.31	59374	03
0.007	5.48	1742	01
0.914	6.75	227513	02
0.201	7.81	49943	03
17.331	9.93	4315636	08
0.299	11.68	74466	05
0.571	12.83	142696	01
0.035	15.38	8608	01
0.003	16.98	685	01
0.006	18.21	1416	01
0.008	21.09	2026	02
0.101	22.98	25273	02
0.049	23.56	12216	02
0.068	25.64	16939	02
0.625	27.4	155592	02
22.817	31.2	5681656	02
26.022	34.85	6479602	08
0.031	38.6	7762	06
1.964	40.29	488995	06
3.133	44.61	786235	06
0.207	46.53	51663	06
0.042	50.12	10564	06
2.816	53.83	701107	06
22.387	57.22	5574429	07

PC00388  
 (5)



CHANNEL B INJECT 31/12/87 10:35:26



Chrom 13: Huile de Linette des Indes  
(PEG 20M classique)

T° colonne:  $105^{\circ}\text{C}$   $7\text{mn}$   $3^{\circ}\text{C/mn}$   $130^{\circ}\text{C}$   $5\text{mn}$   $1^{\circ}\text{C/mn}$   $150^{\circ}\text{C}$

T° injection:  $200^{\circ}\text{C}$

T° detection:  $350^{\circ}\text{C}$

Attenuation: 6V

Volume injecté: 1,5  $\mu\text{l}$

Vitesse du papier: 0,5 mm/mn



31/12/87 10:35:26

CH= '6' PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 1 INDEX 1

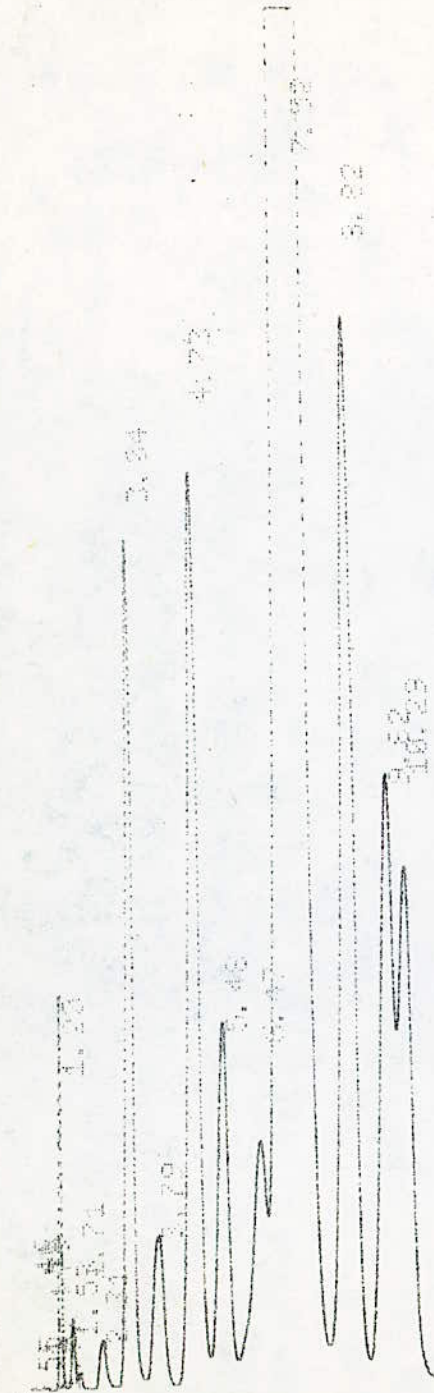
PEAK#	AREA%	RT	AREA	GC
1	0.000	0.98	2913	01
2	0.004	1.33	1449	02
3	0.147	1.51	50775	03
4	0.05	1.94	17126	02
5	0.16	2.17	55248	03
6	0.099	2.86	34100	02
7	0.012	3.36	4033	02
8	2.489	3.77	857700	02
9	0.661	4.66	227750	02
10	7.702	5.71	2654488	02
11	1.096	6.61	443200	02
12	2.213	7.84	762623	02
13	13.057	8.98	18561200	02
14	7.415	10.46	2555797	02
15	5.344	11.57	1841601	02
16	3.451	12.06	1109263	03
17	0.025	14.12	8575	01
18	0.106	15.8	30400	01
19	0.684	19.21	235867	02
20	0.397	21.32	136741	02
21	0.027	22.92	9131	03
22	0.554	25.29	190996	02
23	0.553	28.49	200943	02
24	0.431	29.35	148479	02
25	0.548	30.76	188719	02
26	0.331	32.45	114175	02
27	0.244	35.59	84220	02
28	0.176	35.97	61083	02
29	6.587	38.28	2259972	02
30	4.325	41.86	1490421	02
31	0.683	43.94	28543	03

TOTAL

100.

34461945

CHANNEL B INJECT 31/12/87 11:28:43



chroma 14: Huile de limette distillée  
 (colonne PE 6 20M classique)  
 T° colonne: 105°C / 130°C / 105°C  
 7mm / 3i/mm / 1°C/min  
 T° injection: 205°C  
 T° detection: 305°C  
 volume injecté: 1,5 µl  
 Atténuation: 64  
 vitesse du papier: 0,5 mm/min



21/12/97 11:20:43

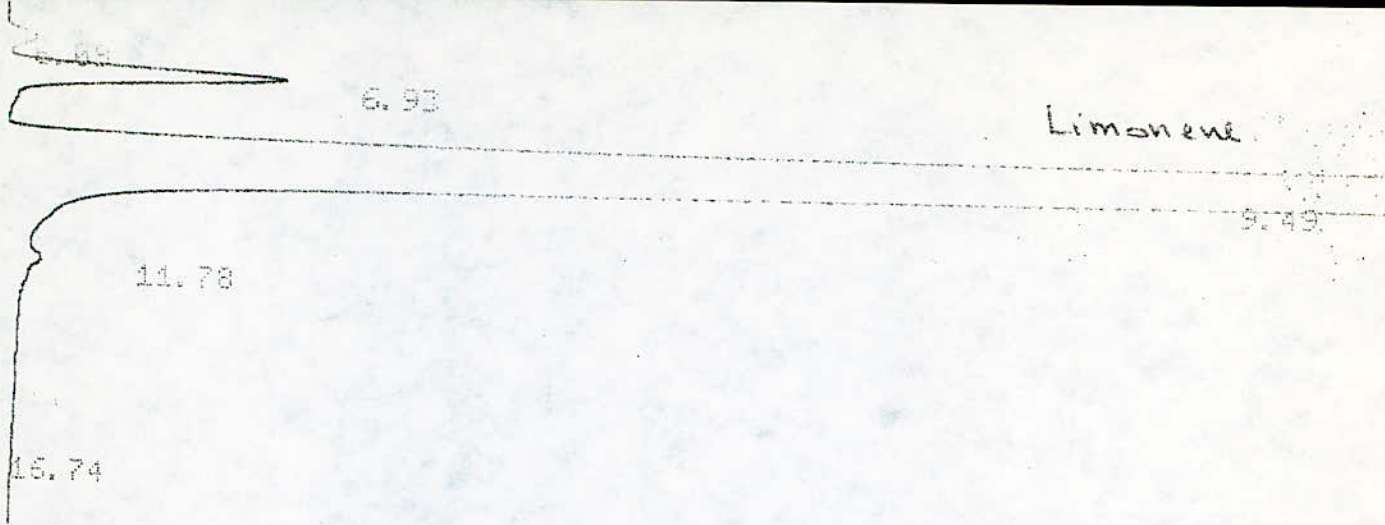
CH= "R" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 2 INDEX 2

PK#	AREA	RT	AREA	BC
1	0.001	0.46	326	02
2	0.003	0.55	1270	02
3	0.001	0.62	346	02
4	0.001	0.71	515	02
5	0.006	0.79	3019	02
6	0.004	1.07	1417	02
7	0.420	1.2	159604	08
8	0.11	1.53	39804	06
9	0.02	1.71	16751	07
10	0.161	2.31	58702	02
11	2.521	3.04	908930	02
12	0.74	3.79	268210	02
13	4.067	4.72	1479502	02
14	1.766	5.48	638972	02
15	1.632	6.47	593701	02
16	35.247	7.52	30599967	02
17	0.2	8.02	2255814	02
18	3.557	9.02	1234201	02
19	2.001	10.29	1068205	02
20	0.016	12.2	5864	02
21	0.412	13.06	149967	02
22	0.38	13.49	138377	02
23	0.372	16.65	135436	02
24	0.162	17.45	51002	02
25	0.001	19.44	241409	02
26	0.007	19.78	20022	02
27	0.49	21.96	178007	02
28	0.119	22.79	43105	02
29	0.607	24.01	249910	02
30	0.139	25.46	123210	02
31	0.702	26.02	238066	02
32	0.5	28.49	131660	02
33	1.232	31.11	448693	02
34	7.471	33.06	2717994	02
35	5.326	37.29	1937503	02
36	0.143	39.14	51027	02
37	0.149	40.49	54062	02
38	0.679	42.76	247051	02
39	0.573	45.72	208479	02
40	0.036	48.26	13155	02

TOTAL 100.

36331763



19012087 14:14:43 CH# "R" PS# 1.

FILE 1. METHOD 8. RUN 3 INDEX 3

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.013	0.75	4352	01
2	0.006	1.48	1981	01
3	0.179	3.8	59319	01
4	0.173	6.09	57256	02
5	1.874	6.93	621221	02
6	97.528	9.49	32361616	08

neral

38.47

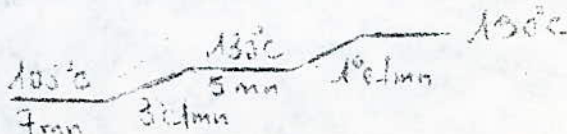
Geraniol

43.09

31	1.691	31.73	571338	02
32	0.146	32.92	49444	02
33	39.115	38.47	13214892	02
34	53.422	43.09	18048558	02
35	0.036	45.19	12321	02

Etalons analysés sur colonne PEG 20M classique

T° colonne:



T° injection: 200°C

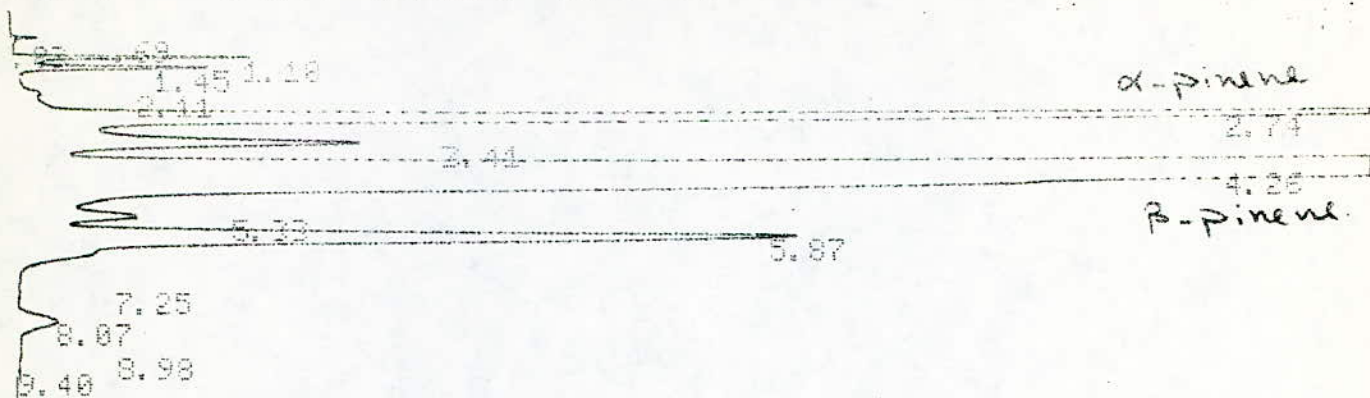
T° détection: 300°C

Atténuation: 64

volume injecté: 1,5 µl

vitesse du papier: 0,5 mm/min.





26/12/87 16:05:23 CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 11 INDEX 11

P	PK#	AREA%	RT	AREA	BC
	1	0.032	0.69	7501	02
	2	0.003	0.83	685	03
	3	0.459	1.18	108140	02
	4	0.675	1.45	159039	08
	5	10.222	2.74	2409910	02
	6	2.524	3.41	595051	02
	7	79.858	4.26	18827397	08
	8	0.272	5.33	87599	06
	9	5.403	5.87	1273863	07
	10	0.	7.25	1	05
	11	0.42	8.07	99056	06
	12	0.025	8.98	5891	06
	13	0.009	9.4	2074	07
TOTAL		100.		23576207	

Etalons analysés sur colonne p 56 20M (classique)

T° colonne: 120°C

T° injection: 250°C

T° detection: 300°C

Atténuation: 64

volume injecté: 1,5 µl

vitesse du papier: 0,5 mm/min

chroma 15 : Huile de citrou deterpene  
(Firme: DGF) (PEG 20M  
classique)

T° colonne : 110°C / 5mn 4°C/mn / 130°C

T° injection : 200°C

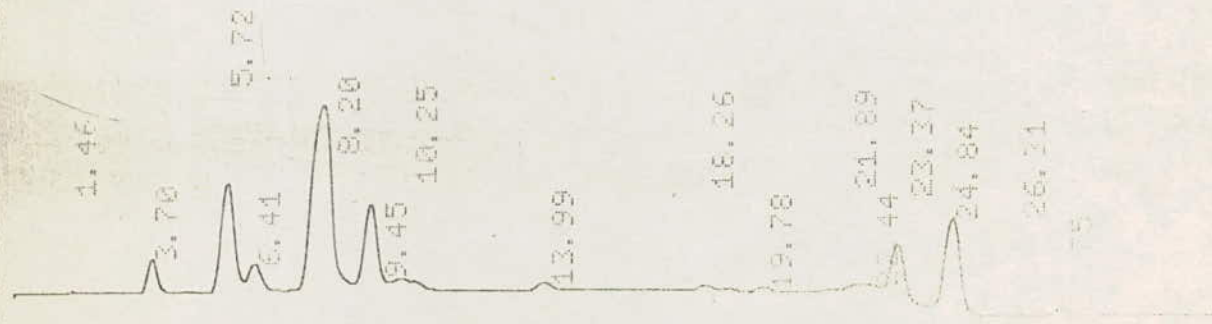
T° detection : 300°C

Attenuation : 4

volume injecte : 1 µl

vitesse du papier : 0.5 mm/min

CHANNEL 1 INJECT 02/12/87 14:46:29





02/12/87 14:46:29

CH= "8" PG= 1.

FILE 1. METHOD 6. RUN 9 INDEX. 9

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.045	1.46	48	01
2	3.033	3.7	3276	01
3	13.884	5.72	14971	02
4	2.524	6.41	3680	03
5	24.266	8.2	36948	02
6	11.847	9.45	12774	02
7	2.97	10.35	3282	03
8	1.191	12.99	1187	01
9	0.546	13.26	589	01
10	0.732	13.78	789	01
11	1.168	21.89	1259	02
12	4.28	22.44	4723	02
13	9.668	23.27	9347	02
14	12.663	24.84	13546	01
15	0.335	25.21	382	01
16	0.92	27.75	992	01

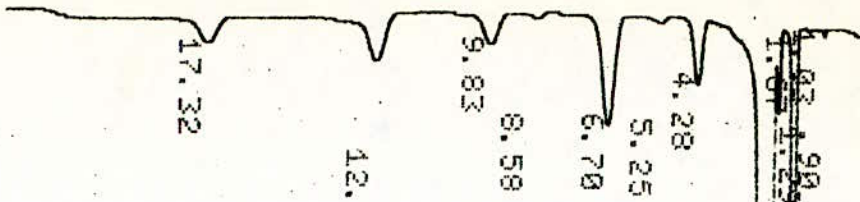
TOTAL 100.

107928

02

T° colonne 420°C  
 T° injection 200°C  
 T° detection 300°C  
 Attenuation: 64  
 Volume injecté: 4,5 µl  
 Vitesse du papier: 0,5 mm/min

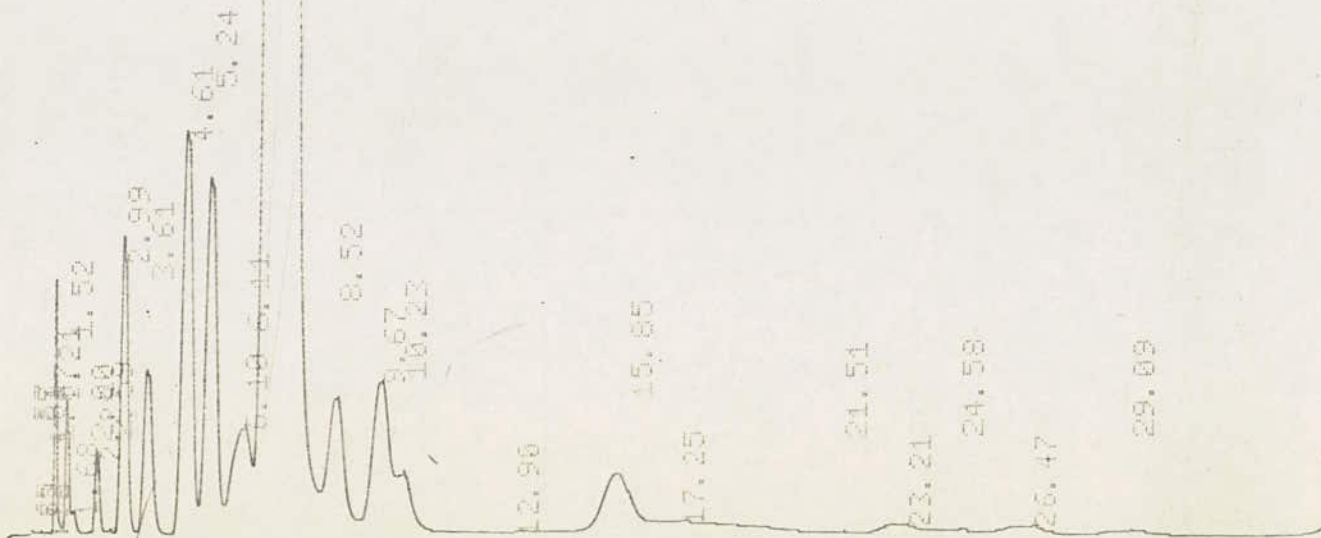
Chromatogramme (colonne PEG clarique)



FILE	1.	METHOD	0.	RUN	14	INDEX	14
PERK#		AREA%	RT	AREA	BC		
1		0.037	0.9	2510	01		
2		0.015	1.03	1012	01		
3		0.037	1.29	2551	02		
4		6.273	1.67	430628	02		
5		85.212	2.25	5849162	03		
6		1.301	4.28	89330	01		
7		0.17	5.25	11651	01		
8		3.187	6.7	218772	01		
9		0.164	8.58	11239	01		
10		1.049	9.83	72031	01		
11		1.603	12.87	110046	01		
12		0.952	17.32	65321	01		
TOTAL		100.		6864254			



CHANNEL 8 INJECT 29/12/87 11:56:02



chroma 18: Huile de Citron brut

- temp colonne = 120°C (PEG classique)
- temp injection = 200°C
- temp detection = 300°C
- Attenuation = 64
- volume injecté = 1,5 µl
- vitesse du papier = 0,5 mm/min.

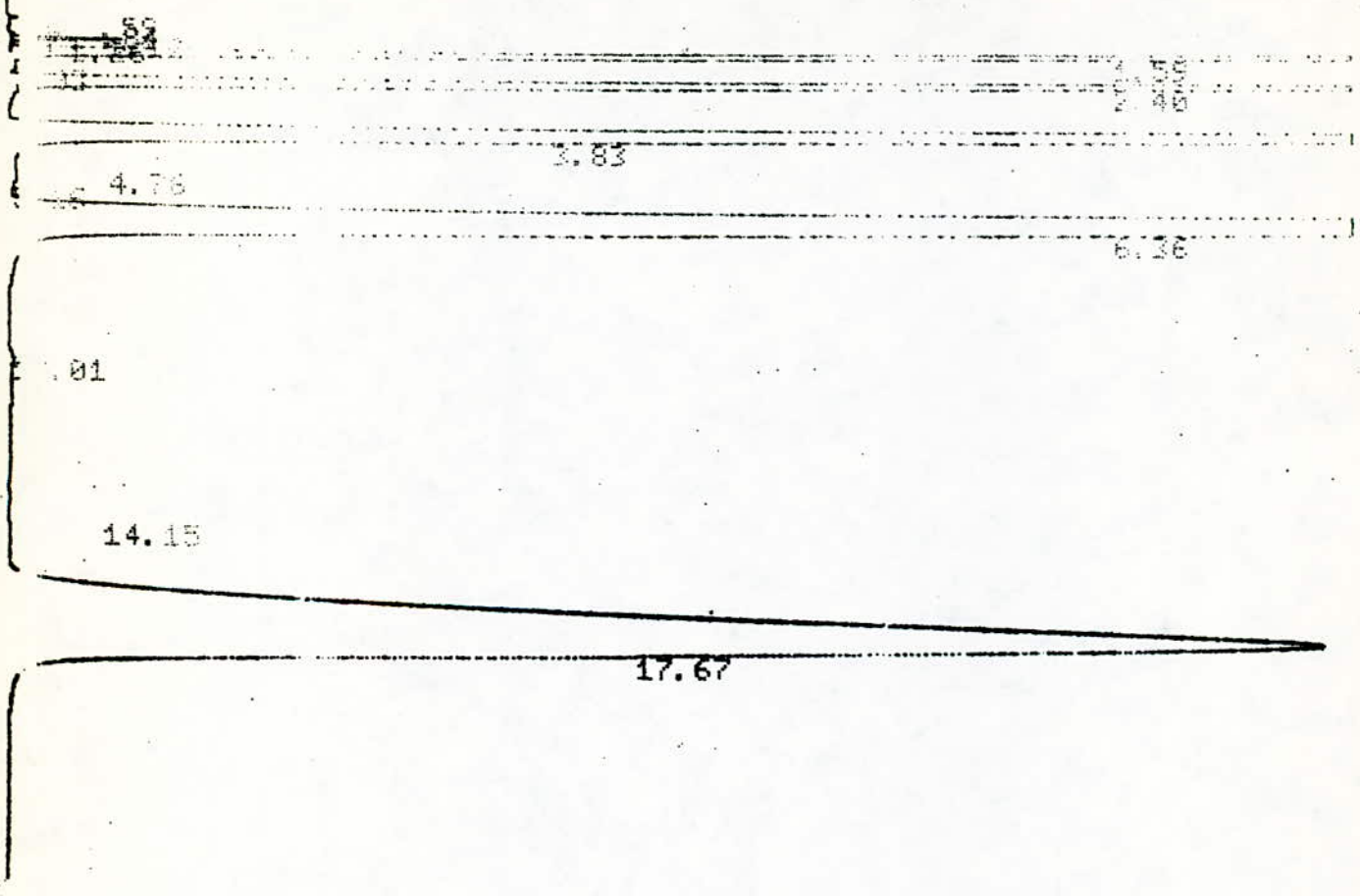
FILE 1. METHOD 8. RUN 1 INDEX 1

PEAK#	AREA%	RT	AREA	SC
1	0.005	0.57	1447	02
2	0.001	0.55	328	02
3	0.002	0.55	438	02
4	0.001	0.72	154	02
5	0.007	0.81	1737	02
6	0.001	0.92	376	02
7	0.002	1.07	509	02
8	0.424	1.21	108836	02
9	0.304	1.52	77913	02
10	0.077	1.68	19818	02
11	0.003	2.	824	02
12	0.274	2.29	70373	02
13	0.015	2.59	3949	02
14	1.222	2.99	313352	02
15	0.839	3.61	215177	02
16	2.493	4.61	639165	02
17	2.365	5.24	606457	02
18	0.789	6.1	202269	02
19	0.495	6.11	126982	02
20	82.701	7.29	21459309	02
21	1.454	8.52	372680	02
22	1.7	9.67	435734	02
23	0.602	10.22	154396	02
24	0.021	12.9	5426	02
25	1.333	15.65	341743	02
26	0.81	17.25	207560	02
27	0.049	21.51	12488	02
28	0.34	22.21	87076	02
29	0.157	24.58	40320	02
30	0.324	26.47	82983	02
31	0.188	29.09	48321	02

TOTAL 100.

25638141





29/12/87 17:10:01 CH= "A" PS= 1.

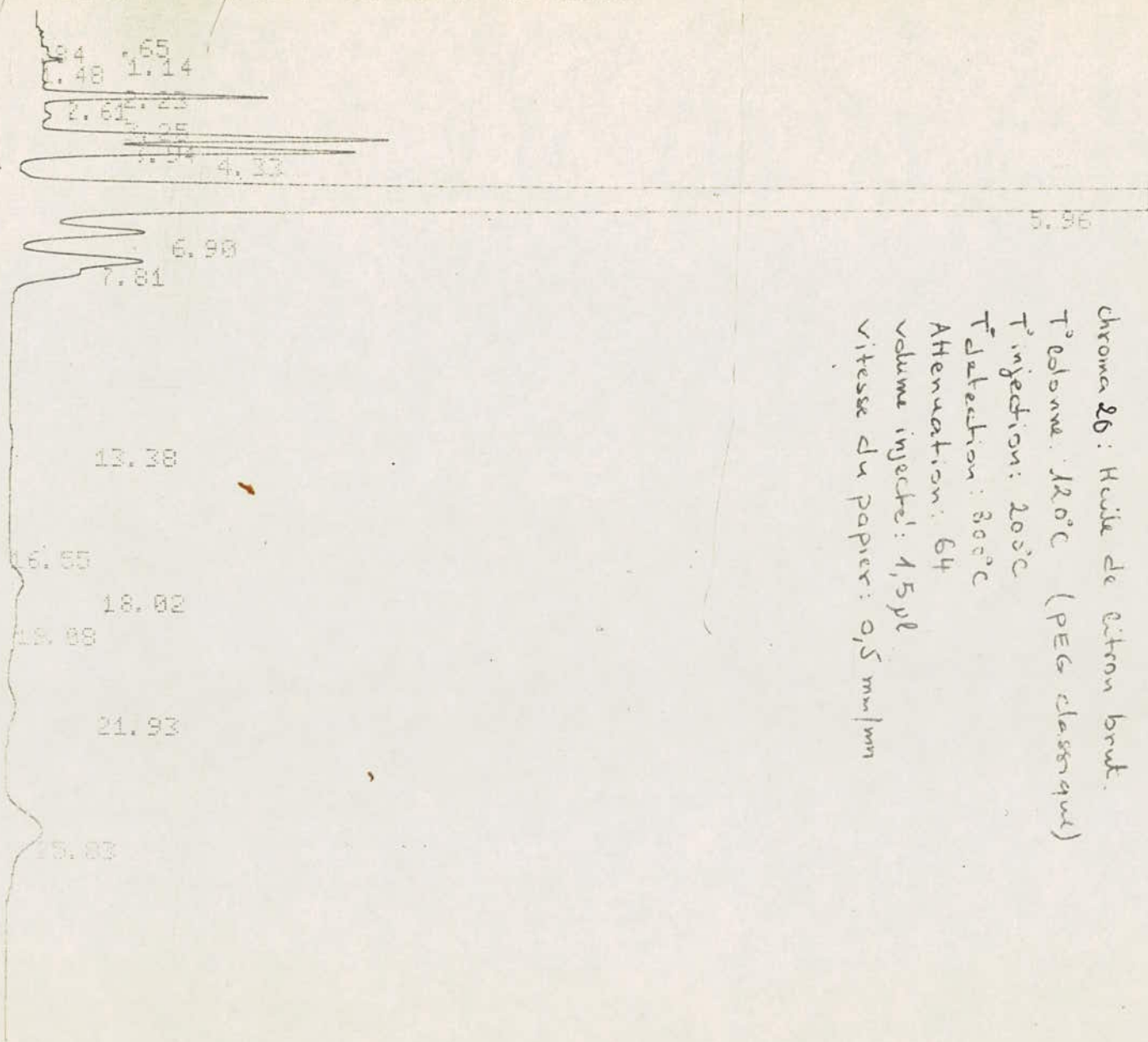
LE 1. METHOD 0. RUN 9 INDEX 9

RT	AREA%	RT	AREA	BC
0.59	0.	0.59	45	02
0.61	0.01	0.69	2502	02
0.69	0.003	0.84	844	02
0.84	0.	0.97	55	02
0.97	0.011	1.12	2729	02
1.12	0.2	1.26	49692	02
1.26	7.618	1.59	1891953	08
1.59	0.008	2.03	1914	06
2.03	7.71	2.4	1914819	03
2.4	19.799	2.93	4917344	08
2.93	0.007	4.76	1677	05
4.76	0.002	5.16	586	05
5.16	32.195	6.36	7996106	05
6.36	0.344	10.01	10935	01
10.01	0.060	14.15	15637	02
14.15	32.33	17.67	8829653	03

Chroma 19 Melange d'hydrocarbures  
 paraffiniques C<sub>9</sub>-C<sub>14</sub>  
 T° colonne: 110°C (PEG classique)  
 T° injection: 200°C  
 T° detection: 300°C  
 Attenuation: 64  
 Volume injecté: 1,5 µl  
 vitesse du papier: 0.5 mm/min

CHANNEL A

INJECT 26/12/87 09:26:03



chroma 26: Huile de citron brut.  
T° colonne: 120°C (PEG classique)  
T° injection: 200°C  
T° detection: 300°C  
Attenuation: 64  
volume injecté: 1,5 µl  
vitesse du papier: 0,5 mm/min



26/12/87 09:26:03

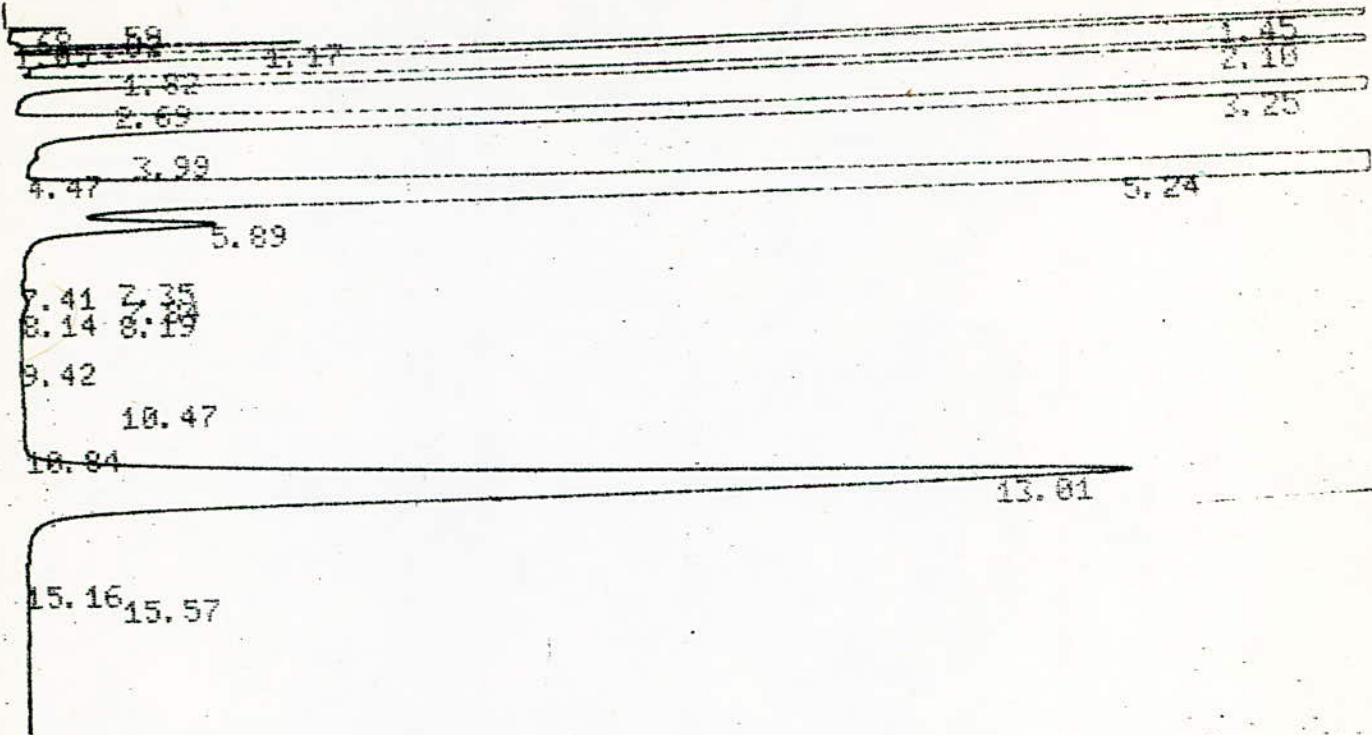
CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 8. RUN 1 INDEX 1

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.02	0.65	4185	02
2	0.085	0.84	1811	02
3	0.07	1.14	14789	02
4	0.129	1.48	27222	02
5	0.046	2.23	9729	02
6	1.226	2.61	259457	02
7	0.12	3.25	25168	02
8	2.009	3.94	594424	02
9	2.885	4.33	610542	02
10	86.033	5.96	18284247	02
11	1.595	6.9	437422	02
12	2.388	7.81	585284	02
13	0.069	12.38	14542	01
14	0.035	16.55	7383	02
15	0.414	18.02	87515	02
16	0.35	19.08	74143	02
17	0.28	21.93	58175	02
18	1.527	25.03	323170	01

TOTAL 100.

21159511



26/12/87 12:48:08

CH= "A" PS= 1

FILE 1. METHOD 0. RUN 5 INDEX 5

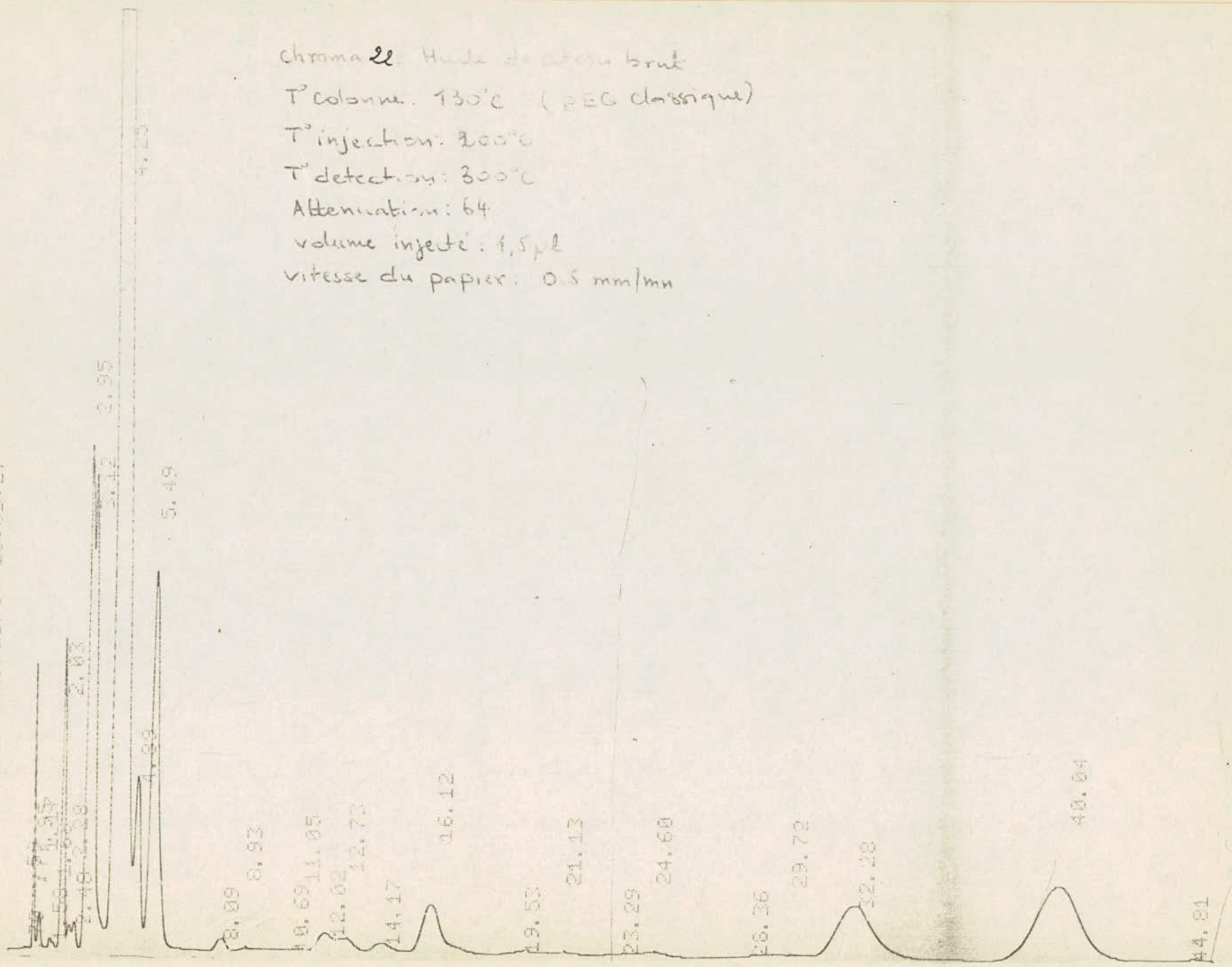
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.	0.59	50 02
2	0.05	0.68	13662 02
3	0.005	0.82	1320 03
4	0.015	1.05	4219 02
5	0.41	1.17	112625 02
6	10.772	1.45	2956284 08
7	0.005	1.82	1454 06
8	9.803	2.1	2690369 08
9	0.	2.69	19 05
10	23.638	3.25	6487310 08
11	0.013	3.99	3512 05
12	0.	4.47	2 05
13	38.114	5.24	10460084 02
14	1.34	5.89	367752 03
15	0.	7.35	112 02
16	0.	7.41	46 03
17	0.048	7.84	13238 02
18	0.001	8.14	335 02
19	0.001	8.19	398 03
20	0.	9.42	58 01
21	0.01	10.47	2796 02
22	0.036	10.84	9796 02
23	15.735	13.01	4318209 08
24	0.001	15.16	142 05
25	0.	15.57	113 05

Chroma 21 : Melange d'hydrocarbures  
 paraffiniques C<sub>9</sub>...C<sub>14</sub>  
 (PE6 chromatique)  
 T° colonne: 120°C  
 T° injection: 200°C  
 T° detection: 300°C  
 Attenuation: 64  
 volume injecté: 1,5µl  
 vitesse du papier: 0,5 mm/mn

TOTAL 100. 27443905



ARNEL H INJECT 29/12/87 15:53:27



chroma 22. Huile de coton brut  
 T° colonne. 130°C (PEG classique)  
 T° injection: 200°C  
 T° detection: 300°C  
 Attenuation: 64  
 volume injecté: 1,5 µl  
 vitesse du papier: 0.5 mm/mn

29/12/87 15:53:27

CH= "A" PS= 1.

FILE 1.

METHOD 0.

RUN 7

INDEX 7

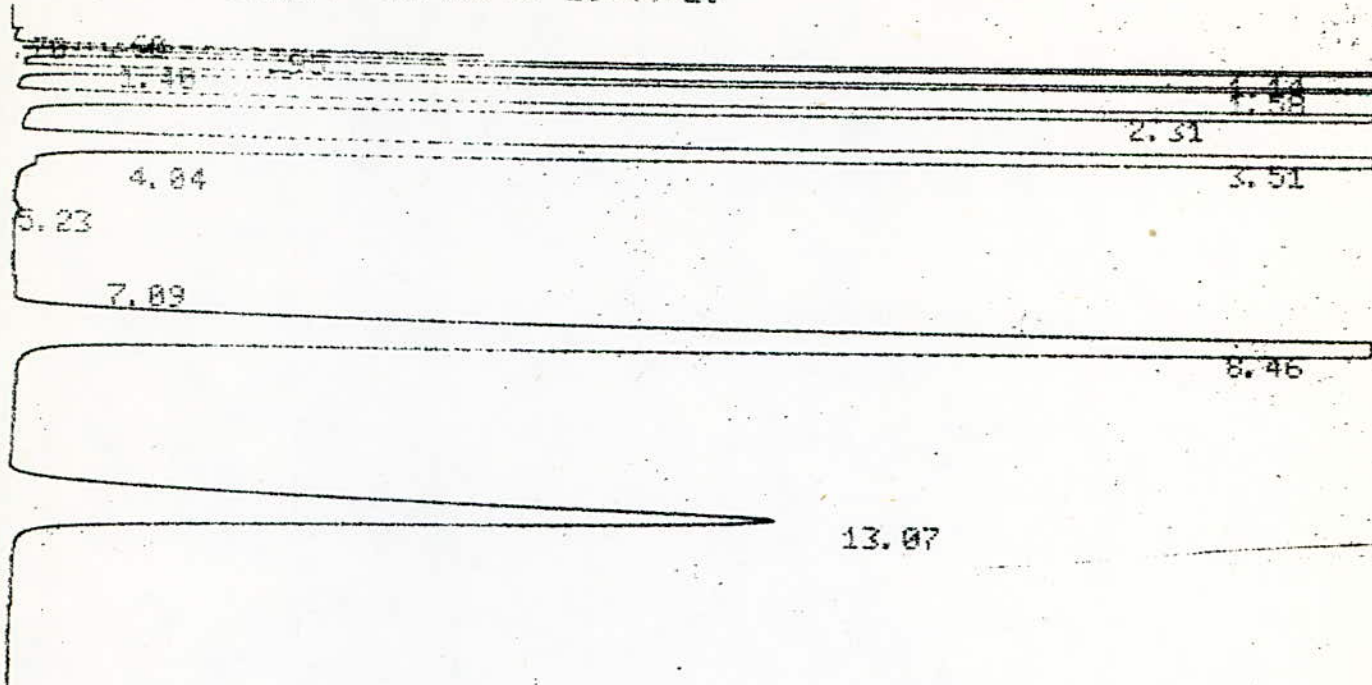
PEAK#	AREA#	RT	AREA	BC
1	0.012	0.59	2742	02
2	0.000	0.7	1945	02
3	0.000	0.77	651	02
4	0.540	0.95	128253	02
5	0.280	1.17	47318	06
6	0.040	1.58	9847	06
7	0.014	1.68	3348	06
8	1.351	2.03	317161	02
9	0.132	2.28	30906	02
10	0.166	2.48	38839	02
11	1.826	2.95	662044	02
12	2.117	3.12	729697	02
13	2.034	4.25	17285614	02
14	1.599	4.89	374389	02
15	4.263	5.49	998100	03
16	0.194	8.89	45350	02
17	0.042	8.93	9822	03
18	0.011	10.69	2498	02
19	0.026	11.05	6045	02
20	0.29	12.02	91397	02
21	0.245	12.73	80294	02
22	0.267	14.17	62576	02
23	1.024	16.12	382448	08
24	0.178	19.53	41779	06
25	0.137	21.13	32139	06
26	0.167	22.29	39873	06
27	0.283	24.6	47625	06
28	0.012	28.36	2754	06
29	0.075	29.72	17631	06
30	1.055	32.28	715138	03
31	5.031	44.84	1177814	02
32	0.112	44.81	26305	03

TOTAL 100.

23411525

5.9





29/12/87 16:44:16

CH= "A" PS= 1.

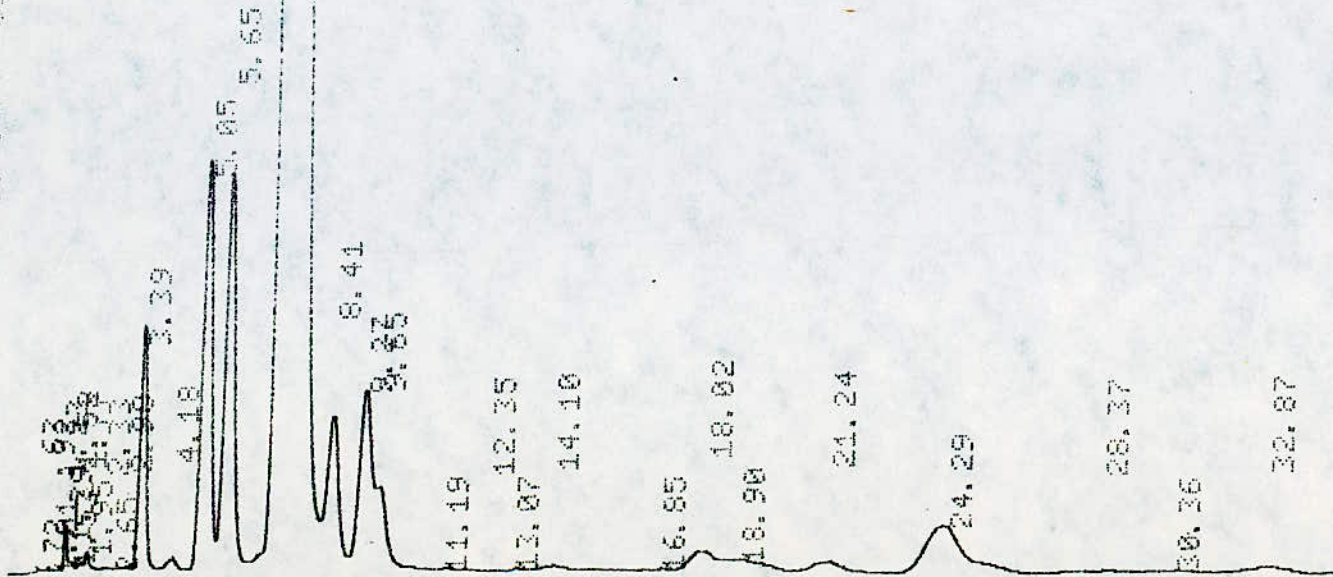
FILE 1. METHOD 0. RUN 8 INDEX 8

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.009	0.6	1887	02
2	0.003	0.7	613	02
3	0.694	0.95	144986	02
4	6.842	1.14	1429872	08
5	0.	1.4	89	06
6	6.97	1.58	1456612	02
7	17.154	2.31	3584878	02
8	26.846	3.51	5610332	02
9	0.285	4.84	42780	02
10	0.083	5.23	17358	03
11	0.039	7.89	8283	02
12	27.8	8.46	5809636	03
13	13.355	13.87	2790973	01

Chromat: Mélange d'hydrocarbures  
 Paraffiniques C<sub>6</sub>...C<sub>15</sub>  
 T° colonne: 180°C (PFC détecteur)  
 T° injection: 200°C  
 T° détection: 300°C  
 Atténuation: 64  
 Volume injecté: 1,5 µl  
 Vitesse du papier: 0,5 mm/min

CTRL 100. 20898219

47  
CHANNEL A INJECT 29/12/87 09:55:50



chroma 24: Huile de citron brut.  
T° colonne :  $\frac{105^{\circ}\text{C}}{2^{\circ}\text{C/mn}}$   $\frac{240^{\circ}\text{C}}{2^{\circ}\text{C/mn}}$   
(PEG 20M classique)  
T° injection: 200°C  
T° detection: 300°C  
Attenuation: 64  
volume injecté: 1,5 µl  
vitesse du papier: 0,5 mm/mn

29/12/87 09:55:50

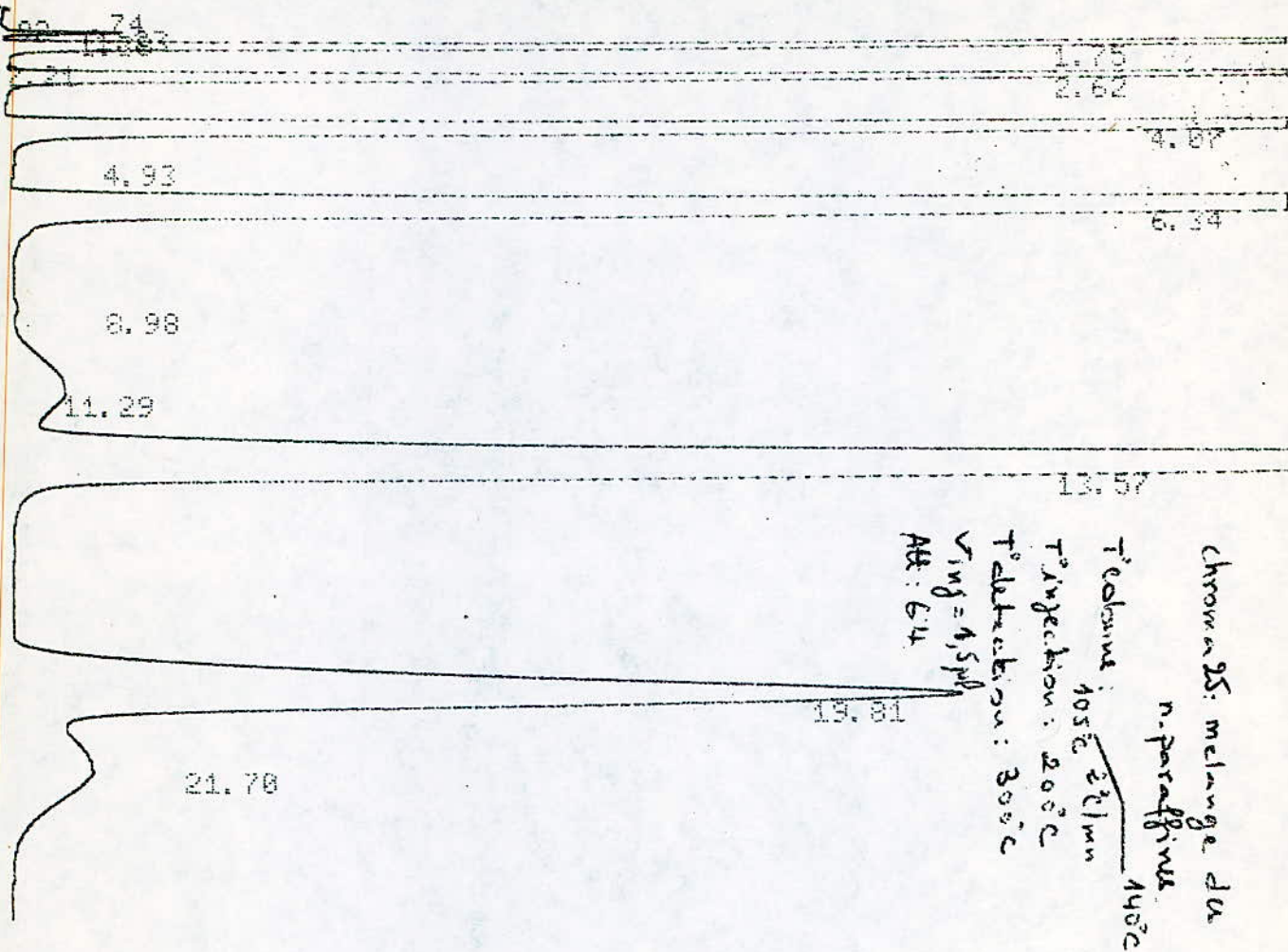
CH= "R" PS= 1.



FILE 1. METHOD 0. RUN 40 INDEX 40

SAK#	AREA#	RT	AREA	BC
1	0.007	0.63	1740	02
2	0.003	0.72	666	02
3	0.006	0.92	1504	02
4	0.003	1.01	751	02
5	0.002	1.23	508	02
6	0.105	1.39	24500	02
7	0.006	1.52	1420	02
8	0.021	1.53	4854	02
9	0.029	1.77	6670	02
10	0.007	1.95	22442	06
11	0.001	2.33	215	05
12	0.004	2.65	1822	06
13	0.011	2.98	2631	06
14	1.174	3.39	272841	02
15	0.009	4.18	22987	02
16	2.704	5.05	628277	02
17	2.731	5.65	634541	02
18	86.423	7.43	20080771	02
19	1.4	8.41	325359	02
20	1.64	9.27	381079	02
21	0.666	9.65	154718	08
22	0.019	11.19	4431	05
23	0.011	12.35	2549	02
24	0.018	13.07	4297	02
25	0.061	14.1	14083	03
26	0.034	16.05	7932	02
27	0.383	18.02	68965	02
28	0.325	18.9	75507	02
29	0.239	21.24	55417	02
30	1.357	24.29	315340	02
31	0.112	26.37	26882	02
32	0.09	30.36	20935	02
33	0.218	32.87	50550	03

TAL 100. 23235424



29/13/87 10:35:16 CH= "A" PG= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 41 INDEX 41

PEAK#	AREA	RT	AREA BC
1	0.011	0.74	3679 02
2	0.002	0.92	852 03
3	0.009	1.23	3004 02
4	0.18	1.38	62016 02
5	6.495	1.75	2234744 08
6	0.005	2.21	1692 05
7	6.495	2.62	2234701 01
8	16.176	4.07	5565382 01
9	0.005	4.93	1864 01
10	25.75	6.34	8859520 01
11	0.037	8.98	12629 02
12	1.536	11.29	528340 02
13	26.068	13.57	8968899 03
14	14.426	19.81	4963313 02
15	2.806	21.7	965307 03

TOTAL 100. 34406142



chroma 26: Huile de Citron brut

T° colonne: 105°C / 140°C  
3 1/2 / mn  
(PEG 20M classique)

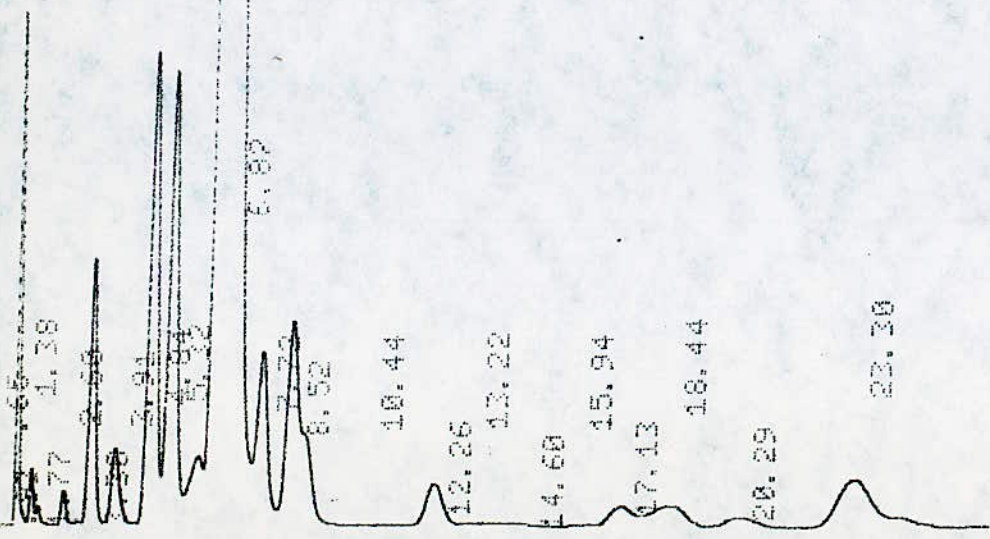
T° injection: 200°C

T° detection: 300°C

Attenuation: 64

volume injecte: 4,5 µl

vitese du papier: 0,5 mm/mn.



CH= "A" PG= 1.

29/13/87 11:06:12

INDEX 42

RUN 42

FILE 1. METHOD 0.

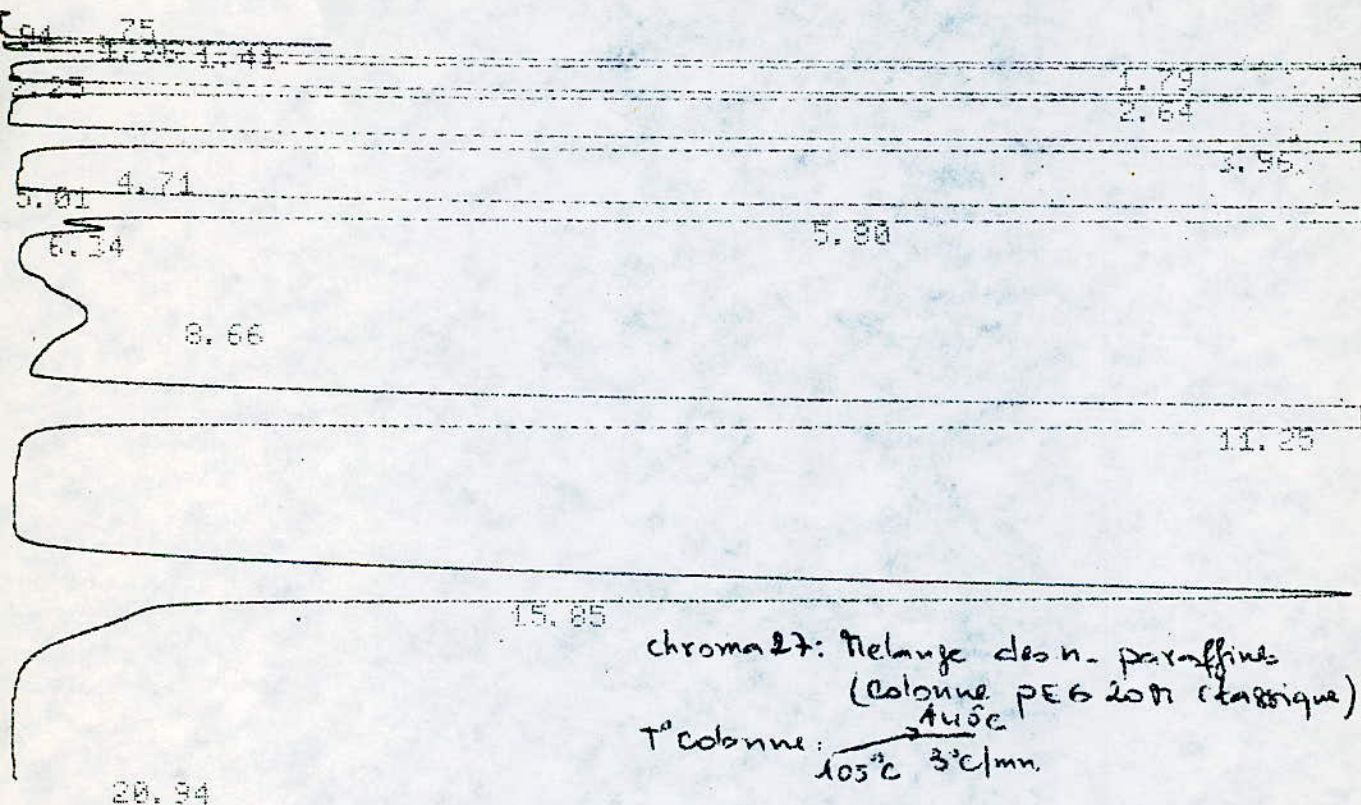
PEAK#	AREA%	RT	AREA	GC
1	0.012	0.65	0050	02
2	0.016	0.77	2684	02
3	1.029	1.38	2423	02
4	0.267	1.77	6288	02
5	0.104	2.58	4095	02
6	1.255	2.91	2925	02
7	0.513	3.94	1195	02
8	2.007	4.84	5545	02
9	2.007	5.92	6600	02
10	83.26	6.52	19415	02
11	1.494	7.22	3482	02
12	2.946	8.52	6870	02
13	0.018	10.44	485	06
14	0.564	12.26	1215	06
15	0.088	13.22	204	06
16	0.019	14.60	43	06
17	0.048	15.94	112	06
18	0.408	17.13	924	06
19	0.599	18.44	1370	06
20	0.35	20.29	582	06
21	1.348	23.30	3142	07

ITRL 100.

23320160



INEL R INJECT 29/13/87 12:15:58



chroma 27: mélange des n. paraffines  
 (colonne PEG 20M classique)  
 T° colonne: 105°C → 415°C  
 3°C/min

29/13/87 12:15:58 CH= "A" PS= 1.

1. METHOD 0. RUN 44 INDEX 44

#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.001	0.75	3413	01
2	0.002	0.94	762	01
3	0.009	1.26	3068	02
4	0.438	1.41	147508	02
5	6.575	1.79	2213000	08
6	0.007	2.25	2472	05
7	6.578	2.64	2214009	01
8	16.114	3.96	5423416	08
9	0.009	4.71	3068	05
0	0.002	5.01	754	02
1	24.864	5.8	8768409	02
2	0.435	6.34	146314	02
3	1.922	8.66	647029	02
4	25.759	11.25	8669745	03
5	17.272	15.85	5813202	01
6	0.001	20.94	472	01

T° injection: 200°C  
 T° detection: 300°C  
 Attenuation: 64  
 volume injecté: 1,5 µl  
 vitesse du papier: 0,5 mm/min

100. 33656641



ANNEXE

Nom

Structure

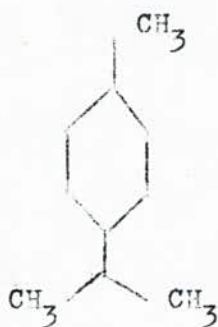
$\alpha$  - Pinène



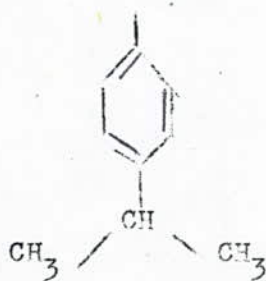
$\beta$  - Pinène



$\alpha$  - Terpinène



p- Cymène

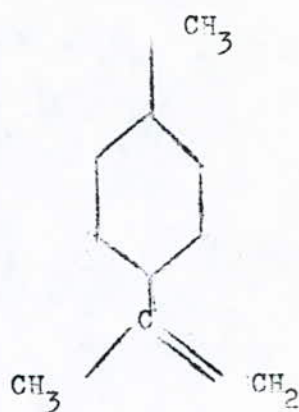




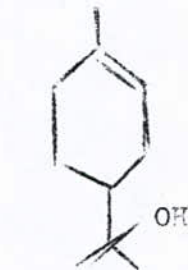
Nom

Structure

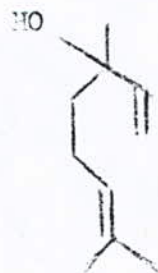
Limonène



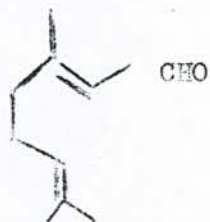
- Terpinéol



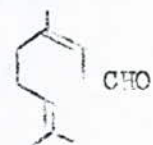
Linalol



Géranial



Néral



## B I B L I O G R A P H I E

- (1) E. GILDERMEISTER, F. R. HOFFMAN, les huiles essentielles, tome I.  
Ed. Schimmel et Cie, 1912
- (2) P. CARREE, Précis de technologie et de chimie industrielle  
tome III: Les industries des produits  
organiques.  
Ed. Librairie J. B. Baillière et fils, 1953.
- (3) ALLINGER, CAVA, JOHNSON, chimie organique tome III.  
Ed. M. C. Graw - Hill, 1983.
- (4) E. CHARABOT, Industrie des parfums naturels:  
Les principes odorants des végétaux.  
Ed. Octave Doin et fils, 1912
- (5) E. GILDERMEISTER, FR. HOFFMAN, les huiles essentielles,  
tome III.  
Ed. Schimmel et Cie, 1912.
- (6) H. REBOUR, les agrumes: manuel de culture des citrus pour  
le bassin méditerranéen.  
Ed. J. B. Baillière et fils, 1966
- (7) J. P. DURVELL, Fabrication des essences et des parfums.  
Ed. Librairie centrale des sciences, 1930
- (8) H. TATU, L'industrie moderne des parfums.  
Ed. J. B. Baillière et fils, 1932
- (9) E. GUENTHER, The essential oils, Volume III.  
Ed. Robert E. Krieger, 1975



- (10) T. BASSIRI, Introduction à l'étude des parfums d'origine naturelle et de synthèse.  
Ed. Masson et Cie, 1960
- (11) M. P. OTTO, L'industrie des parfums.  
Ed. Dunod, 1924.
- (12) N. MASSAMBA, Etude des arômes de jus d'orange concentré, des huiles essentielles pour la formation de Soda trouble.  
INA, Dept de Technologie  
Projet de fin d'études, Juin 1974.
- (13) J.P. MARTEL, Techniques industrielles de récupération des arômes de fruits.  
Industries Alimentaires et Agricoles.  
N°7 - 8, Juillet/ Août 1970.
- (14) H. DJELLOULI, Contribution à l'étude des arômes et des composants de certains jus de fruits Algériens;  
INA, Dept de Technologie  
Projet de fin d'études , 1976.
- (15) R. HUET, Les arômes de fruits: méthodes d'extraction et d'analyse.  
Industries Alimentaires et Agricoles.  
N°5, 1970.
- (16) G. VERNIC, G. VERNI, Arômes alimentaires:  
Développements recents.  
Association pour la promotion industrie agriculture, Juin 1982.

- (17) R. DELANGE, Essences naturelles et parfums  
Ed. Armand Colin, 1930.
- (18) J. TRANCHANT, Manuel pratique de chromatographie en  
phase gazeuse.  
Ed. Masson, 1982
- (19) NORME AFNOR, Huile essentielle, Nomenclature botanique  
des huiles essentielles .  
NFT 75 - 005, Juillet 1986.
- (20) D. DUMAS, Analyse des composés volatils du yaourt par  
CPG, espace de tête (Headspace)  
Industries Alimentaires et Agricoles.  
N°9, Septembre 1986.
- (21) C.A. VODOZ, Evaluation des législations Europeenes  
en matière d'arôme alimentaire.  
Industrie alimentaire et agricole.  
N°5, 1972.
- (22) S. TOUAHRIA, Extraction de l'huile essentielle du  
bois de cèdre.  
ENP, Dept de Génie chimique.  
Projet de fin d'étude, 1987.
- (23) G.J. DICKESAND, P.V. NICOLAS, Gaz chromatography in  
food analysis.  
Ed. Butter Worthes, Ltd, 1979
- (24) Y. MASSADA, Analysis of Essentials oils by gaz  
chromatography and mass spectrometry.  
Ed. John Wiley, 1976.



- (25) J.D. JOHNSON, JD. VORA, Natural citrus Essences, Food technology.  
Ed. Publication of the institute of food technology, Decembre 1983.
- (26) Analytical methods committee, Monographs for seven essentials oils.  
Analyst, 1984.
- (27) NORME AFNOR, Huiles essentielles de citron, de petitgrain, citronnier et de lime obtenue par des procédés mécaniques. Détermination de la teneur en citral. Méthode par CPG sur colonne capillaire.  
NF T 75. 411, Mai 1985.
- (28) M. AZZOUZ, G.A. REINCCIUB, Comparaison between cold - pressed and distilled lime oils through the application of gaz chromatography and Mass spectrometry.  
Journal of food science, vol 41, N°2,  
Ed. Publication of the intitut of food technology, March/April 1976.
- (29) B. M. LAWRENCE, R.J. REYNOLD, Progress in Essential oils, Perfumer and Favorits, vol 11.  
Ed. An Allured publication corp,  
April/May 1986.
- (30) Liquid, Gaz chromatography supplies.  
Ed. Alltech Associates, inc, 1975 - 76

- (31) NORME AFNOR, Huile essentielle, détermination de la densité relative à 20°C.  
NF T 75 - 111, Juin 1982
- (32) NORME AFNOR, Huile essentielle, détermination de l'indice de réfraction.  
NF T 75 - 112, Août 1972.
- (33) J. KRUPCIK, D. REPKA, T. HEVESI and GARAJ, Use of "KOVATS" retention indice for characterizing solutes in complex samples, separated by linear temperature - programmed capillary gas - liquid chromatography.  
Journal of chromatography, vol 406.  
Ed. Elsevier science publishers, B.V.  
Amsterdam, october, 2, 1987.



