

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE TLEMCEM
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE, SUBSTANCES NATURELLES ET ANALYSES

DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

SPECIALITE : CHIMIE BIO ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE

MEMOIRE DE MASTER

Elaboration d'une base de données des acides gras saturés et insaturés en analyse CPG

SOUTENU PUBLIQUEMENT PAR M^{ME} MALTI DOUNYAZAD, NEE HADJ KADDOUR

LE 10 JUIN 2015

DEVANT UN JURY COMPOSE DE :

WASSILA DRICI, MCA	PRESIDENTE
JOSEPH KAJIMA MULENGI, PR	EXAMINATEUR
LATIFA NEGADI, PR	EXAMINATRICE
BACHIR MOSTEFA KARA, PR	EXAMINATEUR
ZOHEIR ARRAR, MCA	EXAMINATEUR
ASSIA SLIMANI KENICHE, DR	EXAMINATRICE
WAFAA SEBA LEMERINI, MAA	EXAMINATRICE
ABDELMOUMEN MZERAI, DR	EXAMINATEUR
DJAMEL BENDIABDALLAH, MAA	ENCADREUR

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014-2015

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche ayant abouti, grâce au soutien financé de la DGRS-DT et le ministère d'enseignement supérieur et de la recherche scientifique dont nos vifs remerciements à ces institutions.

Ce projet a été réalisé au sein du laboratoire de chimie organique, substance naturelle et analyse (COSNA) sous la direction de Monsieur le Professeur J. KAJIMA MULENGI, dont j'ai eu le privilège de travailler au sein de son équipe, où j'ai apprécié ses qualités et ses valeurs. Son sérieux, sa compétence ainsi que son sens du devoir m'a énormément marqué.

Je suis infiniment reconnaissante à Mr. Dj. BENDIABDALLAH, de m'avoir encadré avec ses connaissances incommensurables, et d'avoir bien voulu me guider dans ce travail riche d'intérêt à chaque étape de sa réalisation. Je tiens à le remercier aussi pour son écoute et sa disponibilité, tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il m'a consacré et aussi pour la patience dont il a fait preuve. Je saisis aussi cette occasion pour lui exprimer ma profonde gratitude tout en lui témoignant mon respect.

Je tiens à remercier Mme DRICI WASSILA, pour sa présence en tant que présidente du jury dans le cadre de la présentation de mon mémoire.

Je tiens aussi à remercier l'ensemble du jury d'avoir honoré par sa présence et sa disponibilité à l'évaluation de mon travail.

Et pour terminer, je voudrai remercier tous mes camarades de promotion sans exception et leurs souhaiter plein de succès et de réussite dans leurs travail et leurs vie.

DEDICACES

Al hamdoulilah qui m'a donné la force de réaliser ce modeste travail synonyme de concrétisation de 5ans de formation, de labeur et d'effort, je dédie ce mémoire :

A mon très chermari, ma raison devivre, ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises, ton soutien moral, tes sacrifices m'ont permis de réussir mes études. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour. Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle. A mon très cher fils Wassim, ta venue au monde à transformer ma vie. Tu es à mes yeux ce que j'ai le plus précieux, tu es ma joie, mon oxygène,qu'elle plaisir d'être mère.

A mes très chers parents, à ma mère : Honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritiez pour tous les sacrifices que vous n'aviez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

A ma très chère sœur Amina, son époux et mes neveux, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A mes très chers sœur et frère Sarah et Mehdi, que j'aime énormément, Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle. Merci d'avoir été à mes coté dans les moments difficiles, Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

A ma chèrebelle-mère et mon beau père Vous m'avez accueilli à bras ouverts dans votre famille. Merci, pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présents.

A ma très chère belle-sœur Sanaa, qui a su prendre soin de moi et ma soutenu pendant les moments difficiles, je vous adore énormément, je vous souhaite une vie pleine de santé, d'amour et de bonheur.

A ma très chère amie et belle-sœur Ibtissem, en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous souhaite un avenir plein de bonheur et de réussite.

A mon beau-frère Ramzy, je vous souhaite un avenir plein de belles surprises et de réussite.

A tous ce que j'aime.

Liste des abréviations :

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.

EMAG : Esters méthyliques d'acides gras.

CGS : La chromatographie gaz-solide.

CGL: La chromatographie gaz-liquide.

WCOT: Wall coated open tubular.

SCOT: Support coated open tubular.

PLOT: Porouslayeropen tubular.

HMS : Huile de pépins de melon par extraction de soxhlet.

GC/FID : Chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme.

EI : Impact d'électrons.

T_R : Temps de rétention.

E.M.A.G : Ester méthylique d'acide gras.

BF₃ : Trifluorure de bore.

KOH : Hydroxyde de potassium.

MeOH : Méthanol.

Liste des figures :

Figure 1 : Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse.

Figure 2 : coupes d'une colonne capillaire.

Figure 3 : Colonnes capillaires de chromatographie en phase gazeuse.

Figure 4 : Coupes d'une colonne remplie.

Figure 5 : Représentation schématique d'un injecteur pour injection en mode « split/splitless ».

Figure 6 : schéma d'un détecteur à ionisation de flamme.

Figure 7 : Processus de combustion.

Figure 8 : Représentation schématique d'un spectromètre de masse à analyseur quadripolaire.

Figure 9: Représentation schématique d'un appareil de couplage GC-MS.

Figure 10 : Séries homologues des hydrocarbures saturés.

Figure 11 : Les colonnes capillaires utilisées en GC/FID et GC/MS

Figure 12 : Le soxhlet.

Figure 13 : Schéma d'un Procédé d'extraction CO₂ critique.

Figure 14 : Image représentant la microseringue d'injection en GC/FID et GC/MS.

Figure 15: Chromatogrammes des étalons et de l'échantillon HMS obtenues par GC/MS.

Figure 16 : Chromatogrammes des étalons (nonaoate de méthyle, octanoate de méthyle, heptanoate de méthyle, hexanoate de méthyle).

Figure 17 : Chromatogrammes des étalons (decanoate de méthyle, laurate de méthyle, tridecanoate de méthyle, palmitate de méthyle).

Figure 18: Chromatogrammes des étalons (linoléate de méthyle, oléate de méthyle, heptadecanoate de méthyle, pentadecanoate de méthyle).

Figure 19 : Chromatogrammes des étalons (arachidate de méthyle, stéarate de méthyle, tétradecanoate de méthyle).

Figure 20 : Spectres de masses ; spectre 1 :Arachidate de méthyle ; Spectre 2 :Decanoate de méthyle ; Spectre 3 :Heneicosanoate de méthyle

Figure 21 : Spectres de masses ; spectre 4 :Heptadecanoate de méthyle ; spectre 5 :Hexanoate de méthyle ; spectre 6 :Laurate de méthyle

Figure 22:Spectres de masses ; spectre 7 :Linoleate de méthyle ; spectre 8 :Tetradecanoate de méthyle ; spectre 9 : Nonanoate de méthyle

Figure 23:Spectres de masses ; spectre 10 :Octanoate de méthyle ; spectre 11 :Oleate de méthyle ; spectre 12 :Palmitate de méthyle

Figure 24 : Spectres de masse ;spectre 13 :Stearate de méthyle ; spectre 14 :Tridecanoate de méthyle ; spectre 15 :Heptanoate de méthyle

Figure 25 : Spectre de masse 16 :Pentadecanoate de méthyle

Figure 26 : Chromatogramme des 37 esters méthyliques d'acides gras aux conditions opératoires citées dans la partie expérimentale.

Listes des tableaux :

Tableau 1 : Polarités, propriétés et applications des phases des colonnes capillaires.

Tableau 2 : Exemples sur les acides gras essentiels.

Tableau 3 : Concentrations des étalons.

Tableau 4 : Temps de rétention des étalons injectés en GC/MS.

Tableau 5 : Temps de rétention des étalons injectés en GC/FID.

SOMMAIRE

Partie théorique

Introduction	1
I. CPG	3
I.1 Généralités.....	3
I.2 Principe de fonctionnement.....	3
I.3 Principaux modules d'un chromatographe.....	4
I.3.1 Colonnes.....	4
I.3.1.1 colonnes capillaires.....	4
I.3.1.2 Colonnes remplies.....	5
I.3.2 Gaz vecteur.....	6
I.3.3 Injecteurs.....	6
I.3.3.1 Injecteurs avec ou sans division.....	6
I.3.4 Détecteurs.....	7
I.3.4.1 Détecteurs usuel.....	7
I.3.4.2 Détecteurs spectrale.....	8
I.4 Four.....	10
I.4.1 Choix de la colonne.....	10
I.4.2 Choix de la phase stationnaire.....	12
I.5 Indice de rétention.....	13
II. Acides gras	15

II.1	Définition.....	15
II.2	Les différents acides gras.....	15
II.2.1	Acides gras saturés.....	15
II.2.2	Acides gras insaturés.....	16
II.2.2.1	Acides gras mono-insaturés.....	16
II.2.2.2	Acides gras poly-insaturés.....	17
II.3	Nomenclatures des acides gras.....	17
II.4	Propriétés physiques et chimiques des acides gras.....	18
II.4.1	Propriétés physiques.....	18
II.4.2	Propriétés chimiques.....	19
II.4.2.1	Acides gras saturés.....	19
II.4.2.2	Acides gras insaturés.....	19
	Conclusion	21
 Partie expérimentale		
	III. Partie	22
	expérimentale	
III.1	INTRODUCTION.....	22
III.2	Méthodes d'extractions.....	24
III.2.1	Extraction utilisant le montage soxhlet.....	24
III.2.2	Extraction utilisant le montage au C2 supercritique.....	25
III.3	Préparation de l'échantillon.....	27

III.4 Conditions opératoires en GS/FID et GC/MS.....	29
IV. Résultats et discussion	32
Conclusion générale	45
Bibliographie	47
Annexe	48

Partie

Théorique

Introduction

INTRODUCTION

Les esters méthyliques d'acides gras sont préparés à partir de la matière grasse obtenus par extractions des substances naturelles puis analysés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire.

L'objectif de ce travail est donc d'une part d'optimiser un mode opératoire convenable en Chromatographie en phase gazeuse (CPG) afin de pouvoir procéder à la séparation et l'identification de certains composés (acides gras) se trouvant dans les extraits d'huiles d pépins de melon et de grains de figues de barbarie, d'autre part d'établir une base de données des étalons d'acides gras estérifiés au laboratoire COSNA aux conditions d'analyse en CPG simple et GC-MS.

Les acides gras sont présents en grandes quantités dans les systèmes biologiques, mais rarement a l'état libre non ionisé. D'une façon générale, ils sont estérifiés par du glycol ou liés à d'autres molécules. La très grande majorité des acides gras naturels ont un nombre pair d'atomes de carbones (le plus souvent de 14 à 24) mais, il existe des acides gras a nombres impairs d'atomes de carbones en particulier dans des organismes marins. Ces derniers peuvent être saturés (toutes les liaisons carbone-carbone sont des liaisons covalentes simples) ou insaturés (avec une ou plusieurs doubles liaisons, ou plus rarement triples liaisons)^[1].

Les acides gras insaturés naturels sont un peu plus abondants, que les saturés, tout particulièrement dans les plantes, ils s'y trouvent dans les graisses animales, les graisses végétales ou les cires sous forme d'esters^[2].

Les acides gras, plus connus sous le nom de matières grasses, sont indispensables dans un régime alimentaire équilibré, les acides gras polyinsaturés de la famille des « oméga-3 » et « oméga-6 » sont des acides gras essentiels pour l'homme et les animaux. Ils sont impliqués dans différentes fonctions de l'organisme et leur carence peut conduire à de sévères anomalies physiologiques (retards de croissance, troubles cutanés et rénaux, anomalie des fonctions de reproduction...).

L'alimentation est un pourvoyeur suffisant de ces acides gras .Ainsi les « oméga-6 » sont apportés essentiellement par les huiles végétales (tournesol, huile de pépins de raisin...) et les végétaux terrestres alors que les produits de la mer et certaines espèces végétales terrestres (lin, colza, soja...) apportent les « oméga-3 ». Pour un bon équilibre, le rapport $\omega 6/\omega 3$ conseillé est voisin de 5^[3].

Afin de réaliser l'analyse qualitative et quantitative des acides gras ; la chromatographie en phase gazeuse apparaît comme la méthode la plus appropriée. Cependant, du fait de leur structure, l'étude des acides gras sous forme libre par cette technique est impossible. Il est indispensable de transformer les différents composés en des dérivés méthylés, afin de les rendre plus volatils. Pour cela, de nombreuses possibilités existent. Parmi les dérivés les plus employés à l'heure actuelle, on peut citer, les EMAG, les pyrrolidides, les esters picolinyques^[4].

La chromatographie en phase gazeuse est une technique très répandue. Découverte en 1941 par Martin et Synge, la CPG s'est surtout développée à partir de 1952, sous l'impulsion de James et Martin. Elle a pris un essor considérable, notamment entre 1960 et 1970, pour devenir l'une des méthodes de séparation les plus utilisées. Son développement qui n'a cessé depuis, est du à son extrême sensibilité, à sa polyvalence, à la rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation qui augmentent plus son intérêt. C'est une technique d'analyse qualitative et quantitative. , elle permet de connaître les nombres de constituants dans un mélange homogène^[5].

Chapitre I

Chromatographie en phase

gazeuse

Chapitre I : Chromatographie en phase gazeuse

I.1 Généralités :

La chromatographie en phase gazeuse est une technique de séparation applicable aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition, elle permet ainsi l'analyse de mélanges assez complexes dont les constituants peuvent différer d'une façon considérable par leur nature et leur volatilité.

✓ Principe de la chromatographie en phase gazeuse :

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode d'analyse immédiate basée sur le partage des substances entre deux phases, elle est caractérisée par le fait que la phase mobile est un gaz, appelé gaz vecteur de ce fait les solutés doivent pouvoir être entraînés au sein de ce gaz et par une phase stationnaire qui est contenue dans une colonne.

Il existe deux méthodes de chromatographie en phase gazeuse :

- ❖ La chromatographie gaz-liquide (CGL)
- ❖ La chromatographie gaz-solide (CGS)^[6].

I.2 Principe de fonctionnement :

Les appareils de chromatographie en phase gazeuse sont appelés chromatographes. Ils sont principalement composés: d'un four, d'un bloc d'injection, d'une colonne qui constitue la partie essentielle et d'un bloc de détection.

La colonne est un tube rempli soit d'un adsorbant solide, soit d'un support poreux inerte imprégné d'un liquide non volatil et traversé par un courant gazeux. La colonne est précédée par un dispositif d'injection, permettant d'introduire et de volatiliser l'échantillon dans le circuit gazeux, et suivi d'un détecteur mesurant généralement une propriété physique du gaz qui le traverse. L'appareil peut être complété par un collecteur de fraction ou sont piégés les composés séparés dans la colonne et par un débitmètre. Des systèmes électroniques permettent le control et la régulation des températures des enceintes contenant l'injecteur, la colonne et le détecteur ainsi que l'amplification et l'enregistrement du signal fourni par ce dernier. Le gaz vecteur est délivré par une bouteille de gaz comprimé après passage dans un régulateur de débit ou de pression^[8].

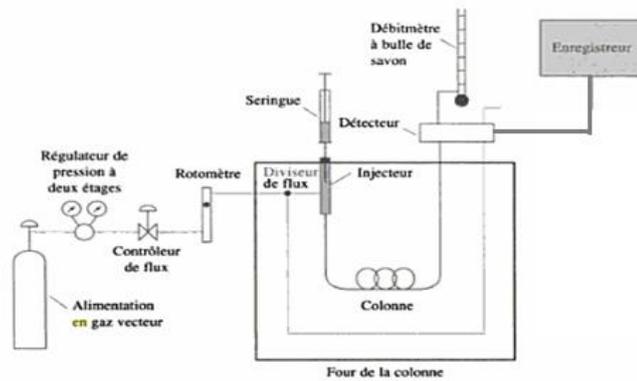


Figure 1 : Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse ^[7].

I.3 Principaux modules d'un chromatographe :

I.3.1 Colonnes :

Il existe deux types de colonnes qui n'offrent pas les mêmes performances : colonnes capillaires et colonnes remplies. Elles sont en acier inoxydable, en verre, en silice fondue. La température de la colonne est un paramètre important qui doit être contrôlé à quelques dixièmes de degré près, c'est pour ça, elle est placée dans une enceinte thermostatique. La température optimale de la colonne dépend du point d'ébullition de l'échantillon et du degré de séparation souhaité ^[9].

I.3.1.1 colonnes capillaires :

Appelé aussi « colonne de Golay » ; du nom de leur inventeur ; ces dernières offrent le moyens de séparations le plus efficaces ou le plus rapides ^[6].

Les colonnes capillaires possèdent un diamètre de quelques dixièmes de millimètre et une longueur de quelques dizaines de mètres. Elles n'ont pas de remplissage : La phase stationnaire ou l'adsorbant sont déposés sur leur paroi interne. L'absence de remplissage leur donne une grande perméabilité, ce qui autorise une grande longueur conduisant à de hautes efficacités, tout en conservant de faibles pertes de charge. La faible quantité de phase stationnaire présente permet des analyses rapides, mais n'autorise d'injecter que des quantités infimes d'échantillon ^[6].

Les colonnes standard sont en quartz fondu (silice très pure) et entourées d'une gaine de polymère souple, ce qui leur confère une grande résistance à la torsion. Leurs longueurs se situent entre 10 et 100m et leurs diamètres sont compris entre 0.10 et 0.70 mm ^[6].

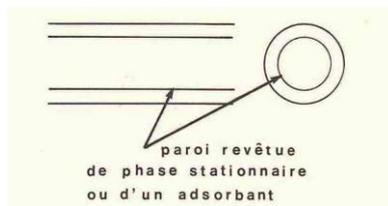


Figure 2 : coupes d'une colonne capillaire ^[6].

Les colonnes capillaires se différencient entre elles par les caractéristiques de la phase stationnaire qui tapisse leur paroi interne, soit sous forme de film (wcot), soit sous formes de fines particules poreuses adhérentes (Scot ou plot) :

- Colonnes Wcot (wallcoated open tubular) : sont de simples capillaires recouverts d'une couche mince de la phase stationnaire.
- Colonne Scot (support coated open tubular): Le support inerte solide est déposé en couche mince et est imprégné de phase stationnaire liquide ^[7].
- Colonne plot (porous layer open tubular) : la phase stationnaire solide est déposée en couche mince directement sur la paroi de la colonne ^[11].

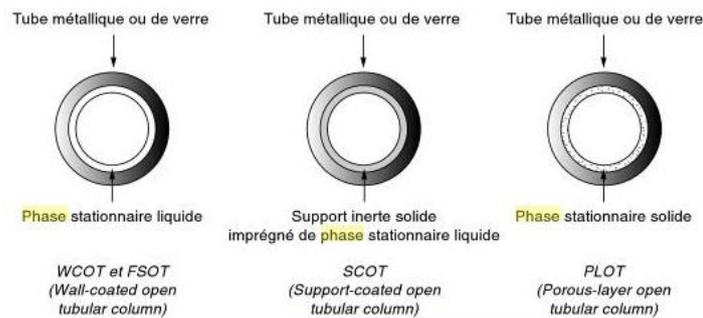


Figure 3 : Colonnes capillaires de chromatographie en phase gazeuse ^[11].

I.3.1.2 colonnes remplies :

Elles sont appelés aussi « colonnes classiques » ou « colonnes à remplissage », elles contiennent un matériau granulé procurant une grande surface de contact avec la phase mobile.

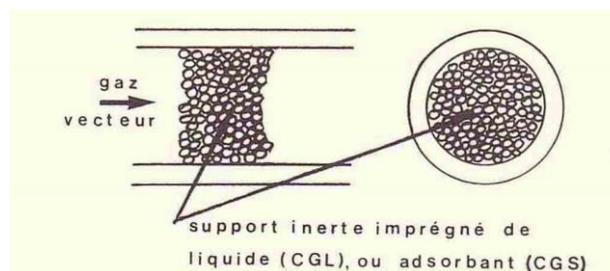


Figure 4 : Coupes d'une colonne remplie ^[6].

I.3.2 Gaz vecteur :

Le choix du gaz vecteur est conditionné par l'efficacité de la séparation et la sensibilité du détecteur. Le gaz vecteur qui est la phase mobile peut être de l'hélium, de l'azote, de l'hydrogène, ou de l'argon : son choix dépend de facteurs tels que : la disponibilité, la pureté, la consommation et le type de détecteur utilisé^[12]. Ce gaz doit être exempt de traces d'hydrocarbures, de vapeurs d'eau et de dioxygène qui se comporte comme des impuretés préjudiciables pour certaines phases stationnaires polaires et qui réduisent la sensibilité des détecteurs^[10].

I.3.3 Injecteurs :

L'injecteur est la porte d'entrée de l'échantillon dans le chromatographe. C'est un dispositif permettant la vaporisation de l'échantillon (qu'il soit solide, liquide ou gazeux) et sa dispersion au sein du gaz vecteur. Les caractéristiques des injecteurs, ainsi que les modes d'injection, diffèrent suivant les types de colonnes auxquels ils sont réunis. La qualité de séparation dépend de cette phase d'analyse^[10].

I.3.3.1 Injecteur avec ou sans division :

Ces injecteurs sont utilisés pour les colonnes capillaires à faible débit car les volumes introduits avec la microsiringue sont souvent trop importants pour ce type de colonne et peuvent les saturer. On utilise des injecteurs pouvant fonctionner suivant deux modes : avec ou sans division encore appelés split ou splitless.

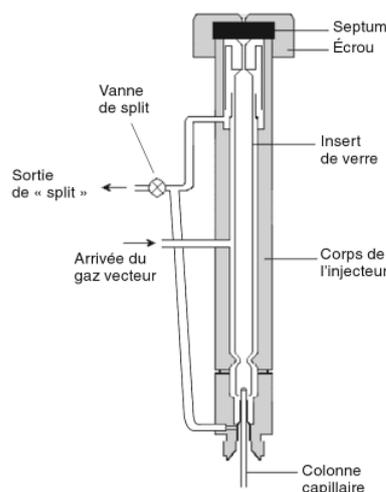


Figure 5 : Représentation schématique d'un injecteur pour injection en mode « split/splitless »^[13].

I.3.4 Détecteurs :

Il existe un grand choix de détecteurs. Cependant nous nous limiterons de définir le détecteur le plus couramment utilisés.

I.3.4.1 détecteur usuels :

✓ Détecteur à ionisation de flamme :

Le détecteur à ionisation de flamme est le détecteur le plus utilisée en chromatographie en phase gazeuse. Il est non spécifique, détecte toute substance organique mais insensible à la plupart des substances minérales. Ce détecteur possède une autre caractéristique ce qu'il est destructif des substances, mais sa bonne sensibilité permet de ne pas faire passer dans la flamme qu'une fraction de la phase mobile sortant de la colonne, les substances pouvant être piégées dans l'autre fraction^[35]. Les effluents de la colonne chromatographique pénètrent dans une flamme dont le combustible (hydrogène) est prémélangé au gaz vecteur et dont le comburant (air) arrive extérieurement et alimente la combustion par diffusion. Les composés organiques élués de la colonne forment des ions qui sont collectés au moyen de deux électrodes. Le courant, très faible, qui en résulte est transformé par l'électromètre en une tension qui est enregistrée^[6].

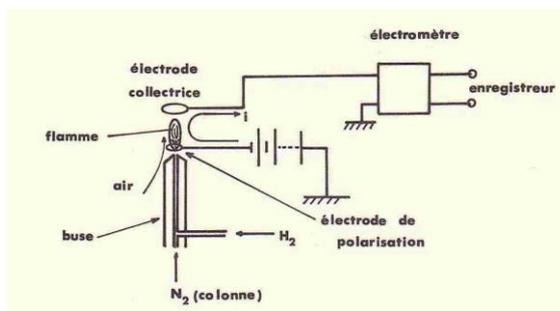
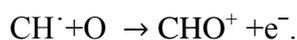


Figure 6 : schéma d'un détecteur à ionisation de flamme ^[6].

✓ **Mécanisme de formation des ions dans la flamme :**

Le mécanisme se déroule en deux étapes :

Dans un premier stade, les composés organiques sont craqués dans une zone chauffée centrale en formant des radicaux. Cette réaction s'effectue à l'abri de l'oxygène. Les ions se forment dans un deuxième temps, par ionisation chimique avec de l'oxygène, à l'interface de la zone centrale et d'une zone extérieure riche en oxygène.



Les ions réagissent rapidement dans une atmosphère de vapeur d'eau :

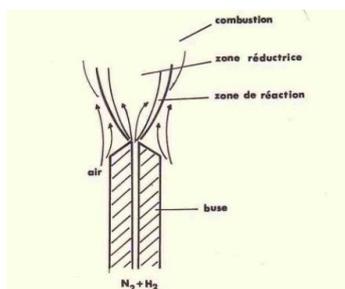
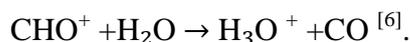


Figure 7 : Processus de combustion ^[6].

I.3.4.2 Détecteur spectrale :

✓ **Spectromètre de masse :**

La chromatographie en phase gazeuse est souvent couplée à des techniques sélectives de spectroscopies, ces couplages fournissent au chimiste de puissants outils permettant d'identifier les composants de mélange complexes ^[13].

✓ Éléments constitutifs d'un spectromètre de masse :

Les spectromètres de masse sont tous constitués s'au moins cinq éléments :

Un système d'introduction, une source, un analyseur, un détecteur et un système d'acquisition et de traitement des données. Voici la représentation schématique d'un spectromètre de masse à analyseur quadripolaire ^[13].

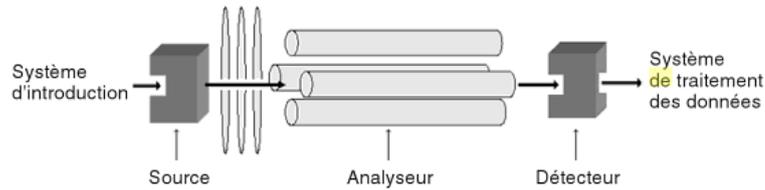


Figure 8 : Représentation schématique d'un spectromètre de masse à analyseur quadripolaire ^[13].

✓ Couplage GC-MS :

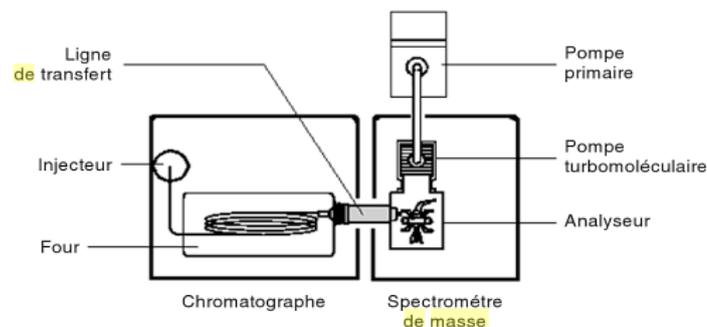


Figure 9 : Représentation schématique d'un appareil de couplage GC-MS ^[13].

Lorsqu'une molécule est introduite dans le spectromètre de masse, elle va être dans un premier temps vaporisée, puis dans un second temps, elle se trouve bombardée par un faisceau d'électrons produits par un filament incandescent et accélérés grâce à une différence de potentiel (= c'est l'ionisation).

Au cours de cette étape, les molécules se brisent en fragments parmi lesquels on trouve des ions positifs qui serviront à former le spectre de masse caractéristique de la molécule. Ces derniers sont ensuite transmis dans la partie analyseur du spectromètre de masse, qui va les séparer en fonction de leur rapport masse/charge par l'application et le balayage d'un champ magnétique et/ou électrique. Le tout est enfin dirigé vers le détecteur qui est constitué d'un collecteur d'ions, et d'un ensemble électronique de mesure et d'amplification des signaux associés aux ions de différentes masses.

Au final, le système informatique assure le traitement des données et on obtient pour chacun des composés un spectre de masse qui est constitué des abondances de ces ions (en ordonnée), en fonction de leur rapport masse/charge (en abscisse). Au cours de l'ensemble de l'analyse, un système de pompage maintient un vide poussé de 10^{-4} à 10^{-6} Torr, dans les parties de la source d'ionisation, de l'analyseur et du détecteur. L'existence de ce vide est très importante, car les ions produits par la source doivent être extraits, puis parcourir l'analyseur et être collectés sans subir de collisions avec des molécules résiduelles. Cela aurait pour conséquence de les dévier de leur trajectoire, ou de changer leur masse moléculaire. C'est pourquoi, il est capital de contrôler la pression dans la chambre d'ionisation du spectromètre ^[5].

I.4 Four :

Le four à l'intérieur duquel se trouve la colonne.

I.4.1 Choix de la colonne ^[14] :

La colonne constitue véritablement le cœur du chromatographe car c'est d'elle que dépend le succès de l'analyse.

Le chromatographe peut se trouver dans deux types de situations différentes :

- Ou il doit analyser un mélange totalement inconnu.
- Ou il reçoit un produit sur lequel il a déjà des renseignements ^[6].

Afin de choisir convenablement la colonne adéquate ; certains paramètres doivent être pris en compte : le temps d'analyse, la rétention et la résolution. Ces trois paramètres sont influencés par divers facteurs ou variables.

L'équation de résolution suivante réunit ces trois différents paramètres :

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \times \left(\frac{k}{k+1} \right) \times (\alpha - 1)$$

Efficacité
dépend de :

- Longueur
- Diamètre interne
- Nature du gaz vecteur et du débit

Rétention
dépend de :

- Diamètre interne
- Épaisseur du film
- Température

Résolution
dépend de :

- Nature de la phase stationnaire
- Température

N = L/H = Nombre effectif de plateaux théoriques
 L = Longueur de la colonne
 H = HETP = Hauteur équivalente à un plateau théorique

k = Facteur de rétention
 α = Facteur de résolution
 L'objectif est une séparation à la ligne de base (R=1.5)

(1)

Cette équation se compose de trois sections : la première section représente l'efficacité et qui dépend de : la longueur, le diamètre interne et de Nature du gaz vecteur et du débit, la deuxième section représente la rétention et qui dépend du : diamètres interne, l'épaisseur du film et la température troisième section définit la résolution qui dépend de : la nature de la phase stationnaire et de la température.

Le choix le plus important est le choix de la phase stationnaire car il permet d'aboutir à une bonne séparation. Le facteur α a un impact déterminant sur la séparation, ce dernier dépend essentiellement de la polarité et la sélectivité de la phase stationnaire. Pour choisir une colonne, il faut tenir compte à la fois de la polarité de la phase stationnaire et de celle des composés à analyser. Si les polarités sont comparables alors les forces d'attraction sont fortes et la rétention est plus grande. Une plus grande rétention conduit souvent à une meilleure résolution.

La sélectivité est directement liée à la composition de la phase stationnaire et à son mode d'interaction avec les composés-cibles par le biais de forces intermoléculaires. La capacité de la colonne pour un composé donné dépend également de la polarité et de la sélectivité de la phase stationnaire. Plus grande est la solubilité de ce composé dans la phase, plus grande est la capacité de la colonne vis-à-vis de celui-ci.

Le facteur de rétention (k) pour une colonne donnée, est fonction du temps qu'un analyte passe dans la phase stationnaire par rapport au temps qu'il passe dans le gaz vecteur. Ce dernier est essentiellement influencé par le diamètre interne de la colonne, l'épaisseur du film de phase et la température. Plus le film est épais et le diamètre interne petit, plus la rétention est grande et lorsque la température augmente, la valeur de k diminue. Pour choisir le diamètre interne de la colonne, le type d'injection, le détecteur utilisé et la concentration de l'échantillon (quantité injectée) doivent être pris en compte. La technique d'injection est un critère important. Le second critère est le débit de colonne maximal permettant un fonctionnement optimal du détecteur.

L'efficacité (N) de la colonne est égale à la longueur de la colonne divisée par la hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT). Le nombre de plateaux théoriques effectifs est influencé par la qualité du film de phase recouvrant les parois de la colonne. Il suffit de dire que plus la colonne est efficace (N), plus le pouvoir de résolution de la colonne est grand et plus la colonne est longue, plus son pouvoir de résolution est grand mais cela rallonge également le temps d'analyse ^[15].

✓ Règles empiriques pour le choix de colonne :

Qui se ressemble s'assemble : Cette règle générale reste valable pour les colonnes capillaires mais la résolution étant très élevée, le choix de la phase correcte reste moins crucial : la plupart des substances non polaires peuvent être séparées sur une phase non polaire ; et beaucoup de substances polaires peuvent être séparées sur une phase polaire.

✓ Colonne longue, élution lente, mais haute résolution.

✓ Petit diamètre, grande efficacité.

✓ Épaisseur du film ^[12].

I.4.2 Choix de la phase stationnaire :

✓ Polarités, propriétés et applications des phases des colonnes capillaires

Tableau 1 : Polarités, propriétés et applications des phases des colonnes capillaires ^[15].

	Phases stationnaires	Polarités	Applications	Phase équivalente
Rxi-1ms ,Rxi-1HT Rtx-1	Diméthyle polysiloxane	Apolaire	Solvants, produits pétroliers, pharmaceutiques, cire	(100%-méthyle) polysiloxane
Rxi-5ms, Rxi-5HT, Rtx-5, Rtx-5MS	Diphénylediméthylepolysiloxane	légèrement polaire	arômes, analyses environnementales, hydrocarbures aromatiques	(5%-phényle)-méthyle polysiloxane
Rxi-5Sil MS	1,4bis (diméthylesiloxy)phénylène diméthyle polysiloxane	légèrement polaire	arômes, analyses environnementales, pesticides, PCB, hydrocarbures aromatiques	(5%-phényle)-méthyle polysiloxane
Rtx-20	Diphényle diméthylpolysiloxane	légèrement polaire	composés volatils, alcools	(20%-phényle)-méthyle polysiloxane
Rtx-200	Trifluoropropylméthylepolysiloxane	sélectivité unique	analyses environnementales, solvants, gaz Fréon, stupéfiants, cétones, alcools	(trifluoropropyle)-méthyle polysiloxane
Rtx-50	Phényle méthyle polysiloxane	polarité intermédiaire	FAME, glucides	(50%-phényle)-méthyle polysiloxane
Rxi-17	Diphényle diméthyle polysiloxane	polarité intermédiaire	triglycérides, esters de phtalate, stéroïdes, phénols	(50%-phényle)-méthyle polysiloxane ²
Rxi-17Sil MS		polarité intermédiaire	triglycérides, esters de phtalate, stéroïdes, phénols	(50%-phényle)-méthyle polysiloxane
Rtx-1701		polarité intermédiaire	pesticides, PCB, alcools, composés oxygénés	(14%-cyanopropylephényle)-méthyle polysiloxane
Rtx-65, Rtx-65TG	Diphényle diméthyle polysiloxane	polarité intermédiaire	triglycérides, acides résiniques,	(65%-phényle)-méthyle polysiloxane

			acides gras libres	
Rtx-225	Cyanopropylméthylphénylméthyl Polysiloxane	Polaire	FAME, glucides	(50%-cyanopropyleméthyl)-Méthylephénylepolysiloxane
Rtx-2330	Biscyanopropylecyanopropylephénylepolysiloxane	très polaire	cis/trans FAME, isomères de dioxine, acides résiniques	(95%-cyanopropyle)-phényle polysiloxane
Stabilwax, Rtx-Wax	Polyéthylène glycol	Polaire	FAME, arômes, acides, amines, solvants, isomères du xylène	

I.5 Indice de rétention :

Kovat, en 1958, a proposé l'indice de rétention I comme paramètre d'identification des solutés. C'est une grandeur calculée par référence avec deux étalons choisis parmi une série homologue des hydrocarbures saturés. A chaque produit est associé un indice de rétention. Cet indice déduit des formules (1) est basé et (2) sur un système d'étalonnage par des hydrocarbures linéaires.

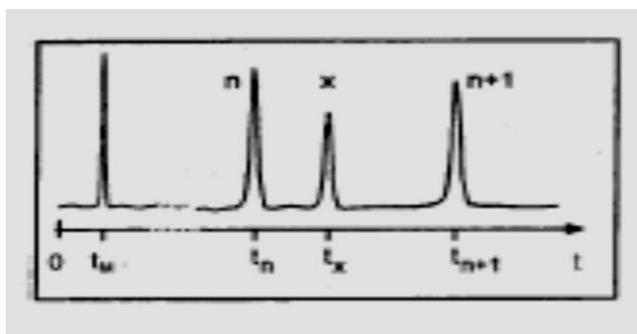


Figure 10: Séries homologues des hydrocarbures saturés^[16].

Les deux indices se calculent de deux manières différentes suivant le fonctionnement de la température du chromatographe.

✓ En mode isotherme :

On repère les temps de rétention réduits de ces alcanes $t'_r(n)$ et $t'_r(n+1)$ et celui du produit considéré $t'_r(x)$. Si un soluté est élué entre les deux alcanes (n) et (n+1), son indice de rétention I_x est donné par la formule (1) suivante:

$$I_x = 100. \left(\frac{\log t'_r(x) - \log t'_r(n)}{\log t'_r(n+1) - \log t'_r(n)} \right) + 100.n \quad (2)$$

✓ En mode programmation de température :

La formule (2) est différente et utilise des temps de rétention normaux $t_r(x)$

$$I_x = 100. \left(\frac{t_r(x) - t_r(n)}{t_r(n+1) - t_r(n)} \right) + 100.n \quad (3)$$

Avec :

n = nombre d'atomes de carbone de la paraffine éluee avant le produit éluee x .

$t'_r(x)$ = temps de rétention réduit du produit inconnu x .

$t'_r(n)$ = temps de rétention réduit de la paraffine normale à n atomes de carbone éluee avant le produit x .

$t'_r(n+1)$ = temps de rétention réduit de la paraffine normale à $n+1$ atomes de carbone éluee après le produit x ^[16].

Chapitre II

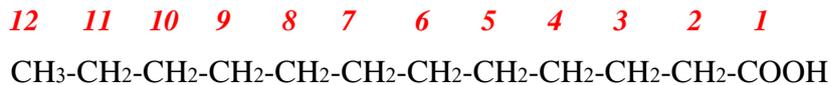
Acides gras

Chapitre II : Acides gras

II.1 Définition :

Les acides gras sont des acides carboxyliques à longue chaîne carbonée. Leurs molécules comportent deux zones bien différentes : une chaîne carbonée qui ressemble beaucoup à celle des carbures saturés et une extrémité carboxylique : -COOH. La chaîne carbonée est hydrophobe, non mouillable. L'extrémité carboxylique est dissociable en libérant des protons comme tout acide. Elle occupe peu de place par rapport à la chaîne carbonée.

Exemple d'acides gras à 12 atomes de carbone : Acide laurique



Il existe des acides gras saturés et insaturés. Ce type de molécules est présent à l'état combiné par l'intermédiaire de la fonction COOH dans tous les lipides ou matières grasses. C'est la chaîne carbonée qui confère aux lipides leurs caractères insoluble dans l'eau. C'est le fait de les extraire à partir des matières grasses qui leur a valu le nom d'acides gras^[17].

Les acides gras ont 4 rôles physiologiques majeurs :

- ✓ éléments de structure constitutifs des phospholipides et des glycolipides (constituants importants des membranes).
- ✓ source d'énergie très importante.
- ✓ Ils peuvent être liés aux protéines pour en permettre la localisation cellulaire.
- ✓ Des dérivés des acides gras sont des hormones nécessaires au métabolisme^[18].

II.2 Les différents acides gras :

II.2.1 Acides gras saturés :

Les acides gras saturés ne comportent aucune double liaison entre les atomes de carbone. Ils sont désignés soit par leur nom usuel en rapport avec leur origine (Acide butyrique extrait de beurre, acide palmitique extrait de la palme), soit par la nomenclature officielle des acides carboxyliques.

Les acides gras saturés correspondent aux formules suivantes :

Formule semi-développée : $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_m-\text{COOH}$; Formule brute ou moléculaire : $\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_2$

Les principales sources de ces acides proviennent des produits d'origine animale tels que : le beurre, la viande, le fromage et le lait entier et les produits d'origine végétale tels que : les huiles de palme, de coco.

Exemples :

- Acide butyrique ou butanoïque : $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$, sa formule brute est la suivante: $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$
- Acide stéarique : $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{16}\text{-COOH}$, sa formule brute est la suivante : $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ ^[19].

II.2.2 Acides gras insaturés :

Les acides gras insaturés comportent une ou plusieurs doubles liaisons entre les carbones de leurs chaînes. Ces doubles liaisons sont en général des liaisons cis, ce qui limite l'encombrement stérique par suite du repliement en U. Pour ce qui est des acides gras insaturés, leurs sources dérivent :

- Des huiles végétales fluides (olives, noisettes..) en ce qui concerne les acides mono-insaturés.
- Des huiles végétales de pépins de raisin, de tournesol, de maïs...Pour les acides polyinsaturés.
- Des margarines partiellement hydrogénées, produites par hémisynthèse, en contiennent, ainsi que les acides gras trans. Beaucoup d'acides gras polyinsaturés sont dits « essentiels » : l'organisme ne peut pas les synthétiser, alors qu'ils sont indispensables à la constitution des tissus organiques et membranes cellulaires .Ils doivent être apportés par l'alimentation ^[19].

II.2.2.1 Acides gras mono-insaturés :

Les acides gras mono-insaturés correspondent aux formules générales suivantes :

Formule semi-développée : $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_m\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_p\text{-COOH}$

Formule moléculaires est la suivantes : $\text{C}_n\text{H}_{2n-2}\text{O}_2$

Exemples des acides gras mono-insaturés :

- Acide oléique: $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_7\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$, sa formule brute: $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$
- Acide palmitoleique : $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_5\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$, sa formule brute: $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$ ^[19].

II.2.2.2 Acides gras polyinsaturés :

Pour ce type d'acide, il n'y a pas de formule semi-développée générale, car elle varie selon le nombre d'insaturations.

Exemples :

- Acide α -linoléique : $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$, sa formule brute est la suivante : $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$ [19].

Rôles fonctionnels des acides gras essentiels :

Tableau 2 : Exemples sur les acides gras essentiels [20].

Acide linoléique	Acide α - linoléique
croissance et développement	rôle essentiel dans la biogénèse des membranes (système nerveux et rétine) rôle critique au moment du développement
constituants des phospholipides membranaires	
fonction épidermique et des reins	facilite la croissance et le développement (< n-6)
reproduction	

II.3 Nomenclatures des acides gras :

Deux principales nomenclatures sont utilisées pour indiquer la position des différentes doubles liaisons :

1 /Dans la nomenclature « Δ », la position d'une double liaison sur la chaîne est notée en précisant la position du premier atome de carbone porteur de la double liaison. La position 1, étant celle de l'atome de carbone de la fonction carbonyle.

2/Une autre nomenclature dite «n-x», ou « ω », consiste à numéroter les positions à partir du carbone terminal de la chaîne (groupement méthyle). Cette nomenclature ne donne la position que de la première double liaison portée par l'atome de carbone le plus proche de la position CH_3 terminale [5].

II.4 Propriétés physiques et chimiques des acides gras :

II.4.1 Propriétés physique :

➤ Masse moléculaire, volume et densité :

Les masses moléculaires sont relativement faibles car ils contiennent peu d'oxygène. C'est l'oxygène qui confère une masse élevée aux masses organiques en raison de sa masse atomique nettement plus forte que celle du carbone. Par contre ces molécules occupent un volume important. Le volume de l'atome de carbone n'est pas très différent de celui de l'atome d'oxygène. Le grand nombre de CH_2 unis linéairement occupe un gros volume. Il en résulte que la masse volumique d'acide gras est faible (Rapport de la masse moléculaire au volume qu'occupe une molécule). Elle est inférieure à celle de l'eau, qui est prise pour unité : la densité est le rapport de la masse volumique d'une substance à celle de l'eau. La faible densité des acides gras est communiquée aux lipides qui les contiennent : c'est le fait que les matières grasses sont plus légères que l'eau ^[17].

➤ Solubilités dans l'eau et les solvants :

Les acides gras contiennent deux régions différentes ayant un comportement opposé :

Un pôle acide COO^- qui est mouillable c'est-à-dire il peut s'associer aux molécules d'eau

Une zone qui comporte la chaîne de type hydrocarbure et qui est la zone hydrophobe c'est-à-dire elle évite les molécules d'eau. Le comportement de l'ensemble de la molécule dépend du volume occupé respectivement par les deux parties. Quand le nombre d'atomes de C est inférieur à 4, le pôle mouillable exerce une influence prédominante, l'ensemble de molécules est soluble de l'eau. Par contre quand le nombre d'atomes de C est supérieur à 4, la chaîne alcanique occupe plus de place que la partie mouillable, la solubilité dans l'eau diminue.

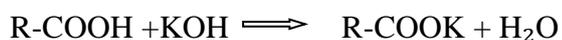
Les molécules d'acides gras sont solubles dans des solvants organiques tels que : le toluène, le benzène, l'éther et le chloroforme. Ce sont des solvants apolaires alors que l'eau est un solvant polaire. De ce fait, on doit considérer comme véritables acides gras ceux dont la chaîne alcanique est assez longue pour qu'ils soient solubles dans les solvants apolaires et insolubles dans l'eau : la limite se situe au-delà de 8 atomes de carbone pour les acides gras saturés. Il faut noter que les acides gras insaturés sont plus solubles dans l'eau que les acides gras saturés. et que les sels d'acide gras (savon) sont beaucoup plus solubles ^[17].

II.4.2 Propriétés chimiques :

II.4.2.1 Acides gras saturés :

➤ Neutralisation par les bases :

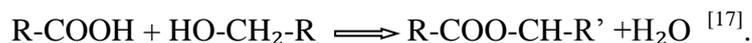
La fonction acide carboxylique, des acides gras est relativement peu dissociés, d'autant plus que ces composés ne sont pas solubles dans l'eau. Cependant, on peut arriver à provoquer la neutralisation de cette fonction par une base comme la potasse KOH, à condition de permettre aux molécules réagissantes de se rencontrer, soit en opérant à chaud et en mélangeant fortement, soit en ajoutant de l'alcool éthylique. L'alcool est ce qu'on appelle un solvant de miscibilité. Il est à la fois mouillable et associable aux lipides ou aux solvants des matières grasses : il leur permet de se mélanger. Par conséquent, on peut faire réagir la potasse en solution alcoolique avec les acides gras. Tous les sels d'acides gras sont appelés : savons. Toute réaction de formation de savon est appelée saponification.



Les savons de sodium et potassium sont plus solubles dans l'eau que les acides gras. Par contre, les savons de calcium sont très insolubles^[17].

➤ Réaction d'estérification :

La réaction d'estérification nécessite d'ajouter un acide minéral comme catalyseur, et de chauffer pour fournir de l'énergie :



II.4.2.2 Acides gras insaturés :

Ils ont les mêmes propriétés que les acides gras saturés en ce qui concerne leur fonction carboxylique. Ils ont en outre des propriétés particulières dues à la présence d'une ou plusieurs doubles liaisons^[17].

➤ Isomérisation Cis-trans de la double liaison :

Les doubles liaisons des acides gras insaturés naturels sont cis. La double liaison s'isomérisie en trans, lentement à température ordinaire, très vite si on la chauffe^[17].

➤ **Réduction :**

La fixation d'hydrogène sur la double liaison transforme l'acide gras insaturé en acide gras saturé. In vitro, le catalyseur est le noir de platine. En utilisant ce procédé, l'industrie transforme les huiles végétales en margarines ^[17].

➤ **Oxydation :**

Les produits formés par oxydation sont différents suivant que l'acide gras possède une seule double liaison ou plusieurs et selon la nature de l'oxydant ^[17].

Conclusion :

L'analyse des acides gras se fait grâce au perfectionnement de techniques anciennes, parmi les techniques les plus performantes, la chromatographie semble la plus indiquée. Afin de permettre l'identification complète des constituants dans un mélange complexe, le couplage avec la spectroscopie de masse est approprié.

La chromatographie en phase gazeuse est un outil puissant pour séparer les espèces chimiques, la séparation sur la colonne se faisant sur des composés qui doivent être à l'état gazeux, l'analyse des liquides et solides impose de pouvoir les transformer à l'état de vapeur par chauffage. Elle est couramment utilisée pour mettre en évidence la présence ou l'absence des substances dans des mélanges qui contiennent un nombre limité d'espèces. L'identification du produit se fera par comparaison des temps de rétention avec ceux d'un étalon.

La chromatographie en phase gazeuse a révolutionné l'analyse des acides gras. Il est maintenant possible d'obtenir une analyse quantitative complète des acides gras d'un échantillon en un temps très court, ces derniers étant identifiés individuellement par leurs temps de rétention sur une colonne donnée, dans des conditions données d'une façon quasi-certaine. Cependant, l'analyse des acides gras sous forme libre par cette technique est impossible. Il est indispensable de transformer les différents composés en des esters afin de les rendre plus volatils, parmi les dérivés les plus employés, on peut citer les esters méthyliques d'acides gras.

En conclusion, avant de procéder à l'analyse, on doit d'abord préparer l'échantillon qui se fait en deux étapes. La première étape débute par une extraction en utilisant une méthode usuelle qui est le Soxhlet et la deuxième étape consiste en la reconversion des acides gras en des esters méthyliques d'acides gras. Après il s'agit de trouver le mode opératoire convenable pour procéder à l'analyse en CPG et en GC-MS.

Partie

Expérimentale

Chapitre III :
Partie expérimentale

Chapitre III : Partie expérimentale

III.1 INTRODUCTION :

L'élucidation structurale à partir des spectres obtenus en ionisation à impact d'électrons est souvent difficile car un spectre de masse contient trop d'informations structurales pour permettre la détermination de la structure d'un composé dont on ne sait rien.

Pour ces raisons, la majorité des utilisateurs de GC-MS utilisent des bases de données commerciales ou **personnelles** pour identifier les composés élués par chromatographie en phase gazeuse.

Une base de données est généralement constituée d'une bibliothèque de spectres de masses et d'un algorithme qui procède à la comparaison des spectres de masse à celui du composé qu'on cherche à identifier avec ceux contenu dans la bibliothèque. Généralement lorsqu'on fait cette recherche avec une base de données commerciale, elle nous propose un certain nombre de spectres de références par comparaison à notre spectre cible avec un taux compris entre 80 à 100% de ressemblance (matching). Cette base nous propose 20 spectres à un taux de ressemblance (supérieur ou égale à 80% du spectre du composé inconnu) ^[13]. Les inconvénients de la bibliothèque commerciale ont été enregistrés de toutes origines, certaines bases de donnée affichent plus de composés que de spectres de masses.

A l'issue d'une recherche dans la base de données, on aura deux options, la solution proposée est considérée comme plausible ou bien elle ne l'est pas. Dans ce dernier cas il convient d'avoir :

1. Soit des étalons a injecté pour confirmer le résultat.
2. Soit de procéder à l'interprétation des spectres de masses sur des critères chimiques.

A cet effet nous avons établi notre propre base de données concernant notre axe de recherche sur les principaux esters méthyliques d'acides gras. Cette base nous servira à identifier quelques composés majoritaires se trouvant dans un mélange d'extrait d'huile de pépins de melon et d'huile de grains de figue de barbarie.

La démarche suivie dans l'expérimentation pour obtenir les spectres de masses de qualité, nous a permis de tracer un plan de travail :

- En premier lieu de comprendre le fonctionnement de la GC / FID ensuite le principe de fonctionnement de la GC-MS pour l'analyse des acides gras.
- En deuxième lieu schématiser un Protocole de préparation de l'échantillon à analyser.

- En dernier, le choix des conditions opératoires en chromatographie en phase gazeuse.

Ce dernier point a été élaboré sur la base de séparation par GC/FID des acides gras de l'extrait d'huile de pépin de melon obtenus par la méthode d'extraction de soxhlet (HMS).

Remarque : Les acides gras sont injectés en CPG sous forme d'esters.

Traditionnellement les conditions opératoires de l'analyse en GC connus à partir de la bibliographie sont utilisées selon le type de colonne choisie. Le choix de nos conditions d'analyse en chromatographie en phase gazeuse est dicté par les colonnes :

1. Colonne capillaire TR-CN100 en GC /FID.

2. Colonne capillaire Elite-5 en GC-MS.

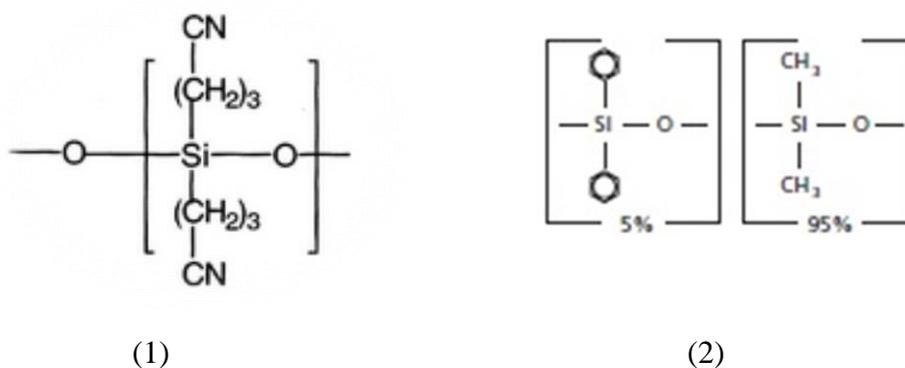


Figure 11: colonnes capillaires utilisées en GC/FID et GC/MS

III .2 Méthodes d'extractions :

Comme les composés injectés dans un chromatographe doivent être volatils dans les conditions expérimentales choisies, il est impossible de les injectés directement dans l'appareil car il faut d'abord les extraire de leurs états naturels. On distingue deux types d'extractions :

III.2.1 Extraction utilisant le montage soxhlet :

1. Extraction des acides gras :

L'extraction des acides gras par l'utilisation d'un soxhlet est l'une des méthodes les plus anciennes, mais aujourd'hui encore c'est l'une des plus usuelles.

Le fonctionnement de cet appareil est le suivant :

Le corps de l'extracteur, contenant une cartouche remplie de l'échantillon à analyser, est fixé à la partie supérieure et est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé, et traverse le lit de solide par percolation pour donner une solution qui est soutirée périodiquement par l'amorçage d'un siphon. La solution du ballon s'enrichit petit à petit en soluté et le solide est toujours mis en contact avec du solvant fraîchement distillé ^[21].

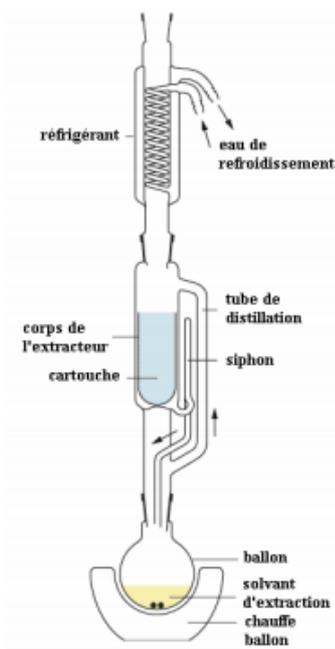
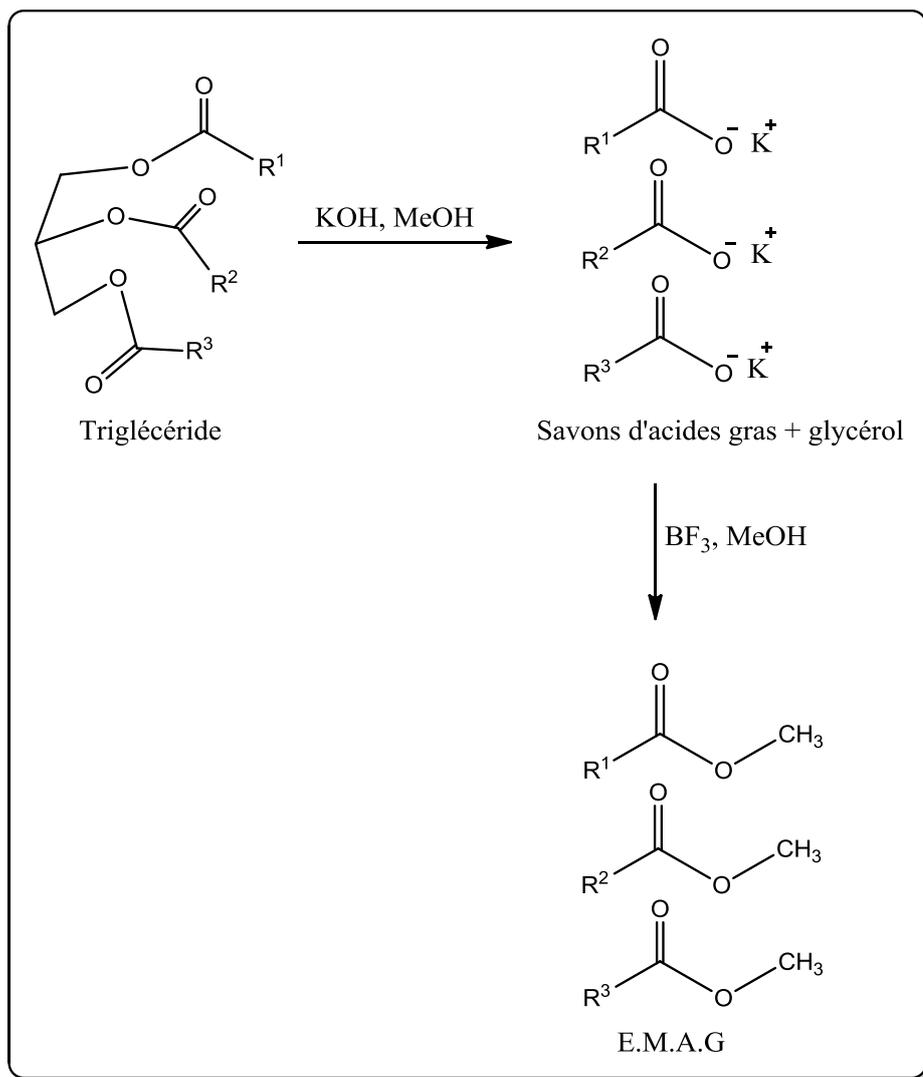


Figure 12 : Le soxhlet ^[21].

2. Transformation en esters méthyliques :

Avant analyse, les acides gras doivent être convertis en esters méthyliques par saponification puis par estérification. En effet, les lipides sont tout d'abord saponifiés par l'action d'une solution d'hydroxyde de potassium dans du méthanol, puis estérifiés par une solution de BF_3 en excès de méthanol ^[22].



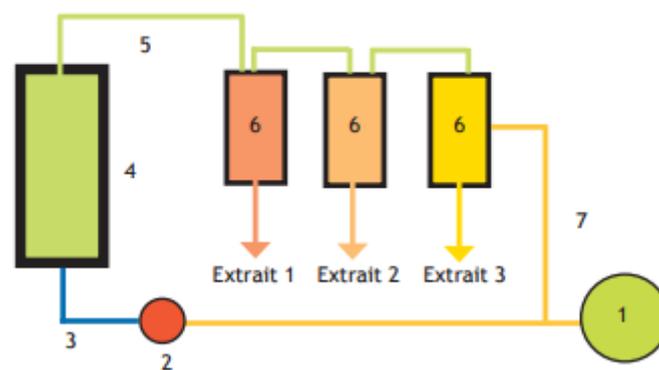
Réaction de saponification et méthylation des triglycérides ^[21].

III.2.2 Extraction utilisant le montage au CO_2 supercritique :

Schéma d'un procédé d'extraction :

Un procédé typique d'extraction comporte les étapes suivantes :

- La matière première est introduite dans l'extracteur.
- Le CO₂ est pompé et porté aux pressions et températures désirées.
- Le CO₂ supercritique circule à travers la matière première et solubilise les molécules recherchées.
- La pression est ensuite diminuée par paliers, dans les séparateurs. Le pouvoir solvant baisse, et les molécules dissoutes précipitent (plusieurs séparateurs sont en général montés en série afin de permettre un fractionnement plus efficace).
- Le CO₂ est recyclé.
- Les extraits sont déchargé(s).



- | | |
|---|--|
| 1. Réservoir de CO ₂ liquide | 5. CO ₂ super critique + molécules naturelles |
| 2. Pompe | 6. Séparateurs |
| 3. CO ₂ supercritique | 7. CO ₂ recyclé (gazeux puis liquide) |
| 4. Extracteur | |

Figure 13 : Schéma d'un Procédé d'extraction CO₂ critique ^[22] .

Quelques avantages de l'extraction CO₂ supercritique :

- Le CO₂ présente des propriétés qui en font un solvant de choix pour l'extraction des molécules naturelles.
- C'est un gaz naturel, inodore, largement utilisé dans l'industrie alimentaire (boissons gazeuses).
- Sa faible température critique permet d'extraire à basse température, minimisant les risques de dégradation thermique ^[22].

III.3 Préparation de l'échantillon :

Matériel de laboratoire utilisé :

- Balance analytique 10^{-4} g
- Fiole jaugée : V=10mL (± 0.025)
- Bécher de 50ml
- Spatule.
- Pipette de 2 ml
- Poire aspirante.
- Pipette de pasteur
- Micropipette (EASY 40⁺) 100 μ l à volume variable avec une précision de 0.1 μ l
- Flacons à bouchon à vis de 2 mL

Préparation des étalons :

Les étalons à l'état solides sont : Palmitate de méthyle, arachidate de méthyle, lignocerate de méthyle, stéarate de méthyle, heneiccanoate de méthyle, heptadecanoate de méthyle.

On effectue la pesée à l'aide d'une balance analytique. On procède à la dissolution du solide avec un solvant approprié qui est le dichlorométhane. Une fois le solide dissous, on verse le contenu du bécher dans la fiole jaugée. On complète ensuite la fiole au trait de jauge. L'homogénéisation de la solution se fait par agitation de la fiole contenant la solution étalons.

Les étalons à l'état liquide sont : Butyrate de méthyle, hexanoate de méthyle, heptanoate de méthyle, octanoate de méthyle, nonanoate de méthyle, decanoate de méthyle, tridecanoate de méthyle, pentadecanoate de méthyle, oleate de méthyle, linoleate de méthyle, Cis-4,7,10,13,16,19 docosahexanoate de méthyle, HMS, mélanges des 37 esters méthyliques d'acides gras.

A l'aide d'une micropipette, on prélève un volume précis (entre 50 et 100 μ l) et on le met dans un flacon prédestiné à l'analyse qualitative en CPG, qu'on dilue avec un volume connu du dichlorométhane destiné spécialement pour la CPG. La concentration des étalons a été calculée en mg/ml.

Pour les étalons liquides, on doit tenir compte de leurs densités.

$$d = \frac{m}{v} \quad \Longrightarrow \quad m = d \times v$$

Le tableau ci-dessous représente toutes les concentrations des solutions étalons injectées :

Tableau 3 : Concentrations des étalons

N°	Etalons.	Concentration (mg/ml)
1	Butyrate de méthyle	25,71
2	Hexanoate de méthyle	88,11
3	Heptanoate de méthyle	87,12
4	Octanoate de méthyle	8,71
5	Nonanoate de méthyle	48,33
6	Decanoate de méthyle	25,71
7	Laurate de méthyle	51,17
8	Tridecanoate de méthyle	24,57
9	Palmitate de méthyle	2,41
10	Pentadecanoate de méthyle	24,57
11	Heptadecanoate de méthyle	5,50
12	Oleate de méthyle	25,14
13	Linoleate de méthyle	25,14
14	Stearate de méthyle	2,90
15	Arachidate de méthyle	2,38
16	Heneicosanoate de méthyle	6,23
17	Lignocérate de méthyle	1,5
18	Cis-4, 7, 10, 13 ,16, 19 docosahexanoate de méthyle	26,28

L'analyse des esters méthyliques d'acides gras consiste à identifier un ou plusieurs composés du mélange inconnu injecté. Pour ce faire, il faut posséder des étalons des composés soupçonnés dans le mélange.

Pour un ensemble de paramètres donné (débit de gaz vecteur, température du four....) chaque composé est caractérisé par son temps de rétention. L'analyse qualitative nous aidera à identifier un pic sur le chromatogramme, par comparaison de temps de rétention des étalons dans les mêmes conditions opératoires que le mélange inconnu. Si le temps de rétention du standard correspond au temps de rétention du pic choisi du mélange, on conclut que c'est le même composé.

Dans la partie expérimentale, on a injecté les étalons existant au laboratoire COSNA dont la liste est ci-dessus (tableau 3), ainsi que l'extrait HMS et le mélange des 37 esters méthyliques d'acides gras.

Ces derniers sont injectés à l'aide d'une microsiringue de 2 μ L dont le volume d'injection varie entre 0,5 et 2 μ L.



Figure 14 : Image représentant la microsiringue d'injection en GC/FID et GC/MS.

III.4 Conditions opératoires en GC/FID et GC/MS :

L'analyse qualitative de l'extrait d'huile de pépins de melon a été faite en chromatographie phase gazeuse en détection à ionisation de flamme (GC/FID), et en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

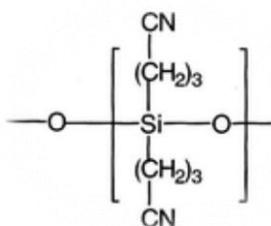
L'analyse GC/FID nous a servi à dépister les conditions opératoires pour la résolution en analyse GC/MS. En perspective l'analyse quantitative sera étudiée.

➤ **Conditions opératoires de la GC/FID, type GC-17A de marque SHIMADZU assisté par un PC :**

Gaz vecteur : N_2 (Azote) à 5N

Type de colonne : colonne capillaire type **TR-CN100**

Structure de la colonne utilisée : **Poly (bicyanopropyl) siloxane**



Température maximum de la colonne : **220°c**

Température de l'injecteur : **250°c**

Température du détecteur : **280°c**

Longueur : **30m**

Diamètre intérieur : **0,25 mm**

Epaisseur du film : **0,20µm**

Vitesse du gaz vecteur : **34cm/sec**

Débit total du gaz vecteur : **25mL/min**

Débit du gaz vecteur dans la colonne : **1,5 mL/min**

Mode d'injection : **Split**

Rapport split : **14 :1**

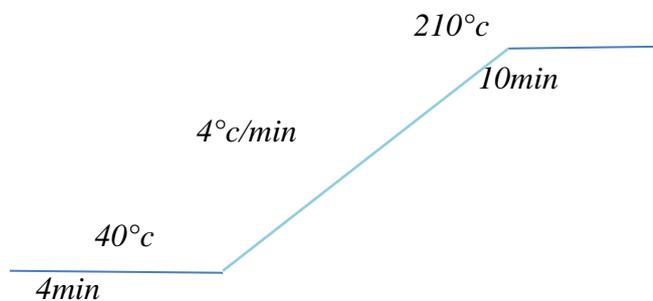
Débit du gaz dans le split : **20mL/min**

Débit de la purge : **3mL/min**

Fuite du septum : **2mL/min**

Pression : **600 kPa**

La programmation de la température est faite comme suit :



Temps totale de l'analyse : **60 min**

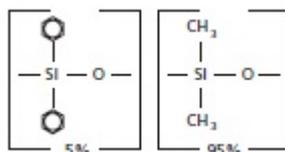
- *Conditions opératoires de la GC/SM de marque Perkin Elmer type auto système XL couplée au spectromètre de masse (Turbomasse) assisté par un ordinateur*

Conditions opératoires CPG :

Gaz vecteur : **Hélium**

Type de colonne : Colonne capillaire Elit-5

Structure de la colonne utilisée : **(5% Diphenyl) Dimethyl polysiloxane**



Longueur : **30m**

Diamètre intérieur : **0,25mm**

Epaisseur du film : **0,25 µm**

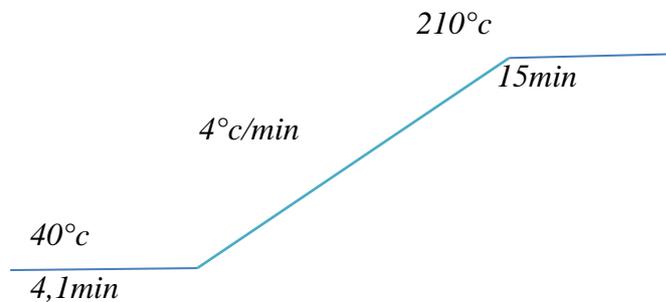
Température de l'injecteur : **250°c**

Split total : **5mL/min**

Vitesse de chauffe : **4°c/min**

Débit du gaz vecteur : **1mL/min**

La programmation de la température est faite comme suit :



Conditions opératoires SM :

Ligne de transfert : **270°c**

Température de la source : **255°c**

Purge du solvant (Arrêt d'analyse du solvant) : **4,1min**

Multiplicateur : **310 v**

Courant du filament : **0,08 A**

L'intervalle de balayage : **[45-450] uma**

Chapitre IV

Résultats et discussions

Chapitre IV : Résultats et discussion

➤ Identification des principaux composés majoritaires d'acides gras se trouvant dans l'extrait d'huile de pépins de melon (HMS):

Les extraits de l'huile de pépins de melon ont été obtenus dans le cadre des travaux en cours de préparation d'une thèse de doctorat en substance naturelle au niveau du laboratoire de chimie organique, substances naturelles et analyses (COSNA).

Les conditions opératoires citées ci-dessus, ont été obtenues après une recherche expérimentales durant laquelle on a fait des changements du paramètre gradient de température, et cela pour l'amélioration de la résolution chromatographique des composés d'acides gras estérifiés de l'extrait d'huile de pépins de melon (HMS).

Le chromatogramme obtenu par GC/MS est relativement complexe compte tenu de la quantité d'acides gras présents dans l'échantillon HMS. En effet, l'échantillon analysé possède quatre acides gras majoritaires dans le mélange. L'identification de ces acides gras majoritaire présents dans HMS, a été effectuée par comparaison des temps de rétentions des étalons injectés à ceux de l'échantillon HMS (Voire figure 12).

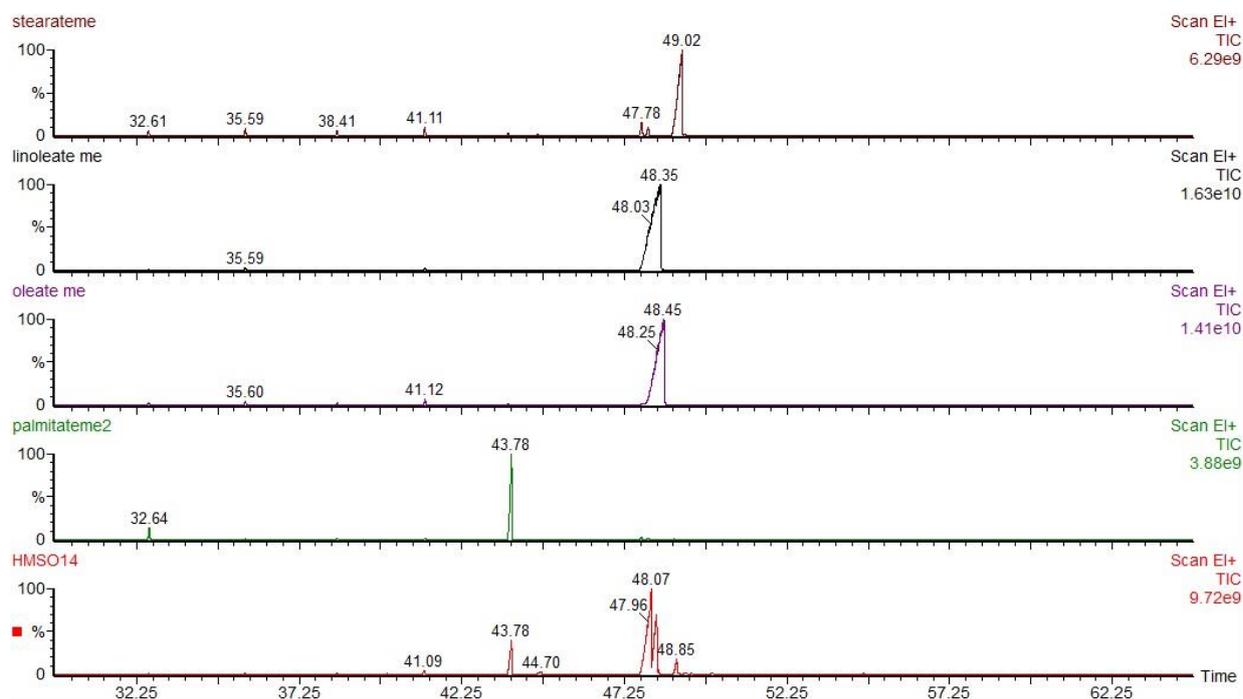


Figure 15: Chromatogrammes des étalons et de l'échantillon HMS obtenus par GC/MS

Les pics identifiés dans l'extrait de l'huile pépins de melon sont :

- Palmitate de méthyle qui représente l'acide palmitique avec un temps de rétention de $T_R=43,78$ min.
- Linoléate de méthyle qui représente l'acide linoléique avec un temps de rétention de $T_R=47,96$ min.
- Oléate de méthyle qui représente l'acide oléique avec un temps de rétention de $T_R=48,07$ min.
- Stéarate de méthyle qui représente l'acide stéarique avec un temps de rétention de $T_R=48,85$ min.

Ce résultat d'identification a été confirmé par les spectres de masses de la base de données personnelle. Cette base de données a été conçue par les injections en GC/MS des étalons existant au laboratoire COSNA, dont le résultat des temps de rétention se trouve dans le tableau 4.

➤ **Chromatogrammes et spectres de masses obtenus lors de l'analyse GC/MS :**

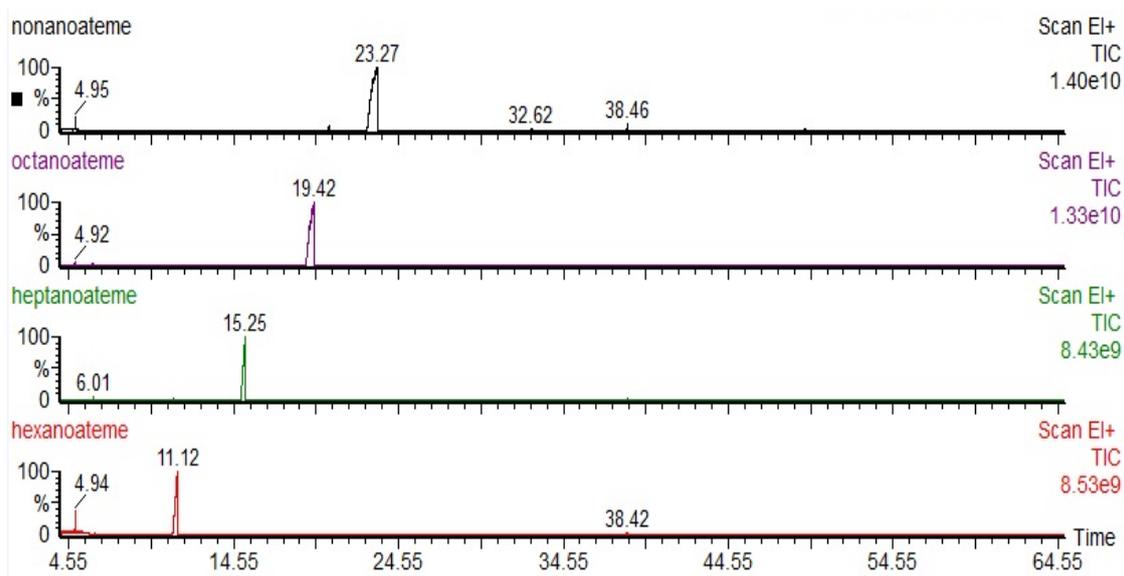


Figure 16 : Chromatogrammes des étalons (nonaoate de méthyle, octanoate de méthyle, heptanoate de méthyle, hexanoate de méthyle).

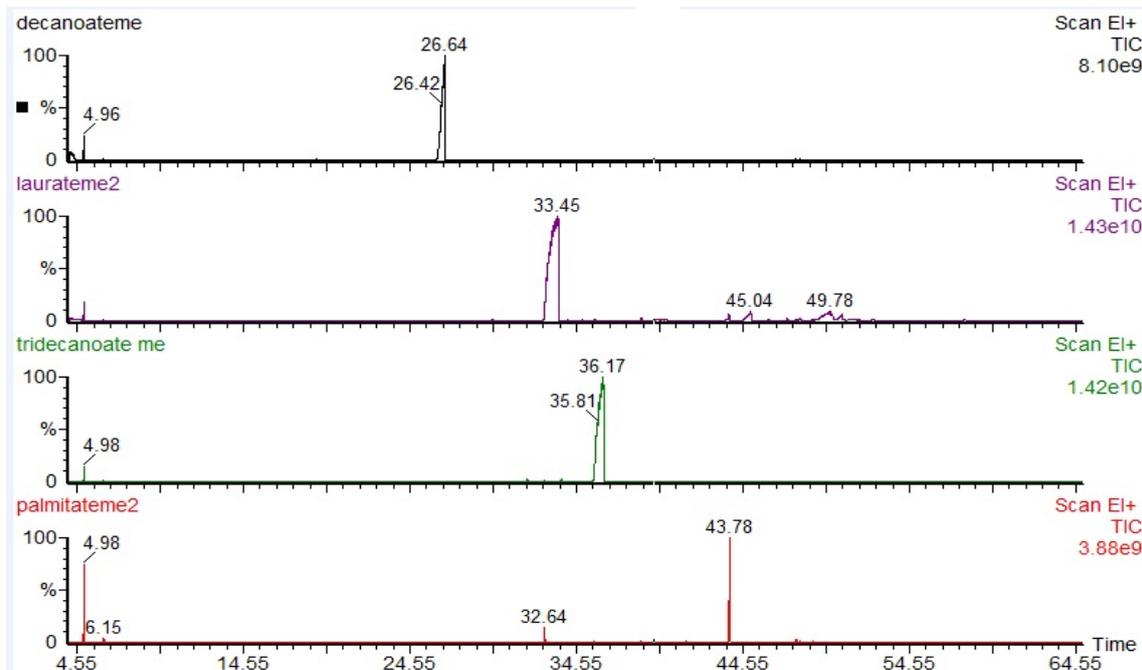


Figure 17 : Chromatogrammes des étalons (decanoate de méthyle, laurate de méthyle, tridecanoate de méthyle, palmitate de méthyle).

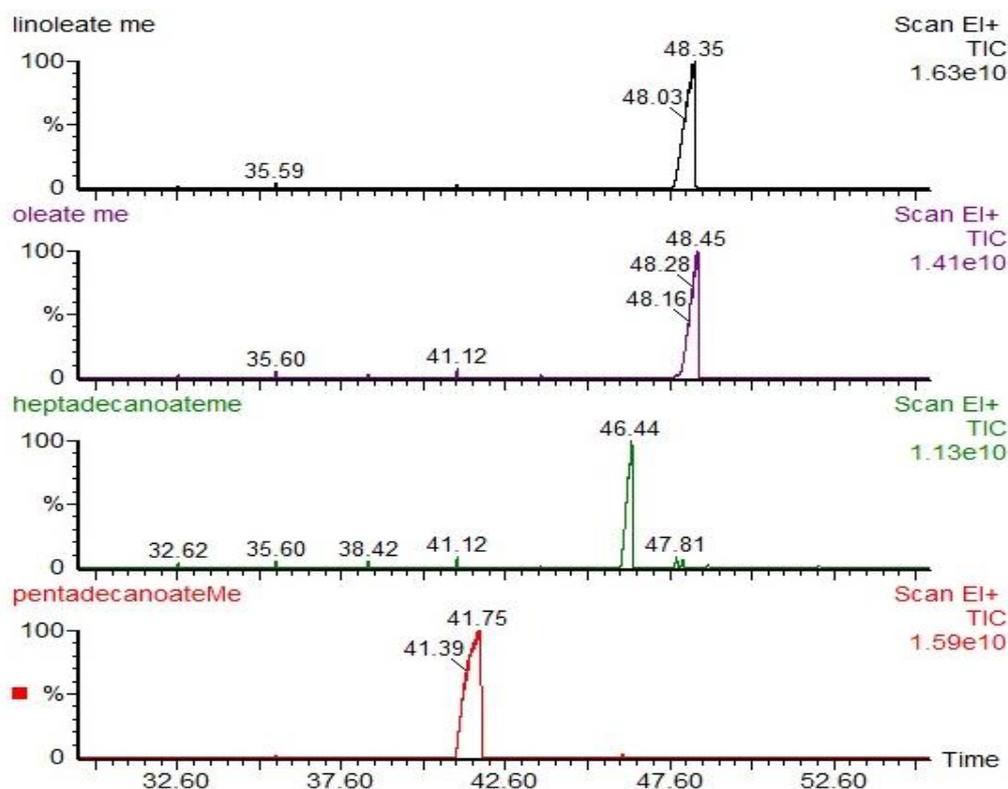


Figure 18 : Chromatogrammes des étalons (linoléate de méthyle, oléate de méthyle, heptadecanoate de méthyle, pentadecanoate de méthyle).

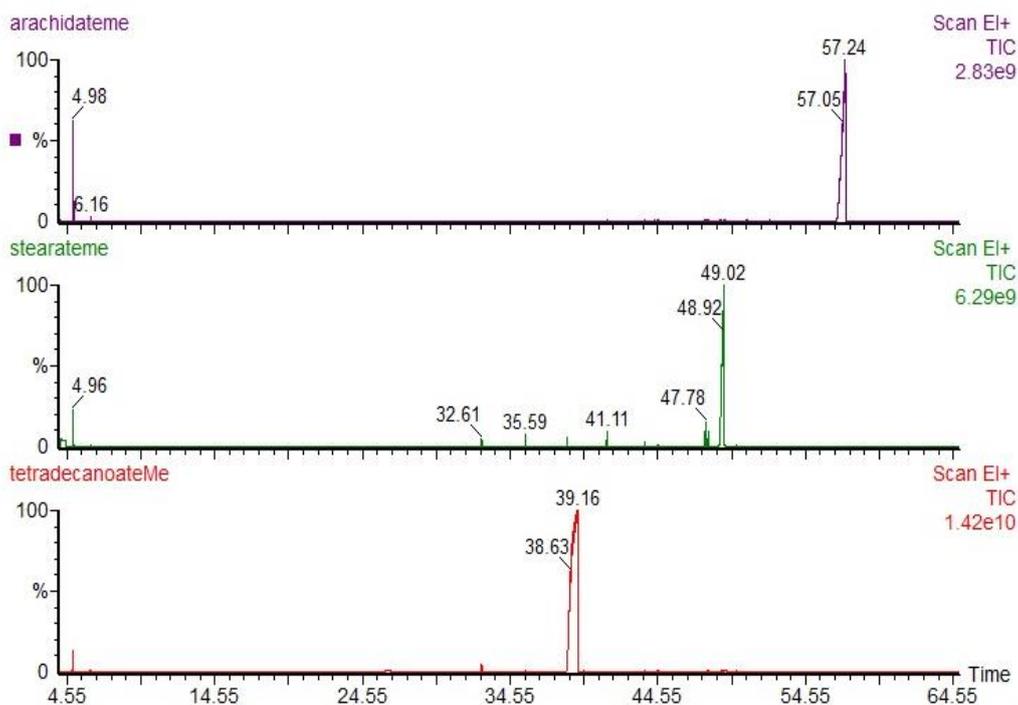
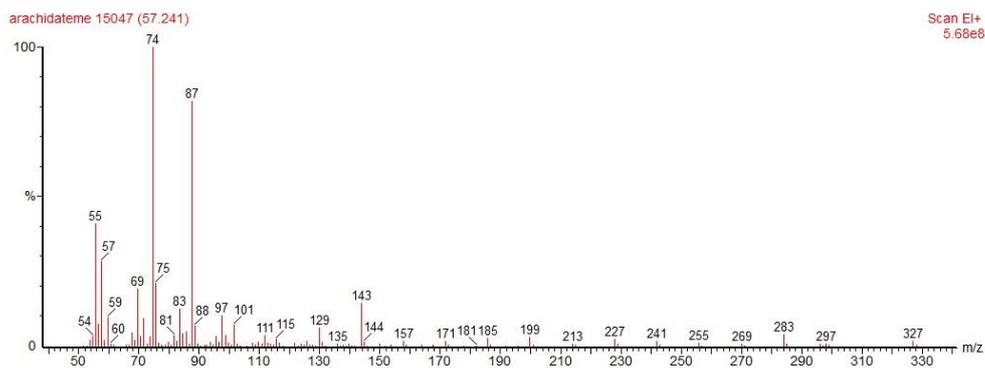


Figure 19 : Chromatogrammes des étalons (arachidate de méthyle, stéarate de méthyle, tétradecanoate de méthyle).

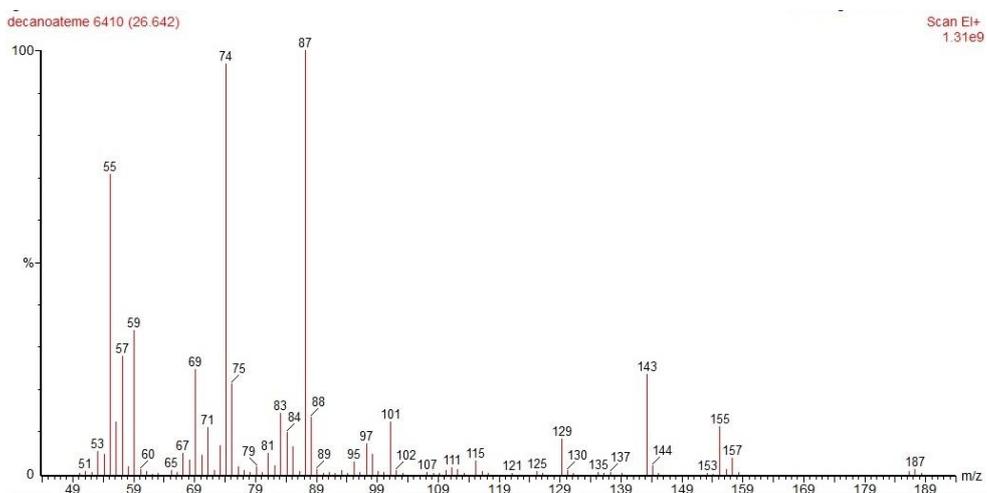
Ci-dessous se trouve le temps de rétention de chaque étalon.

Tableau 4 : Temps de rétention des étalons injectés en GC/MS

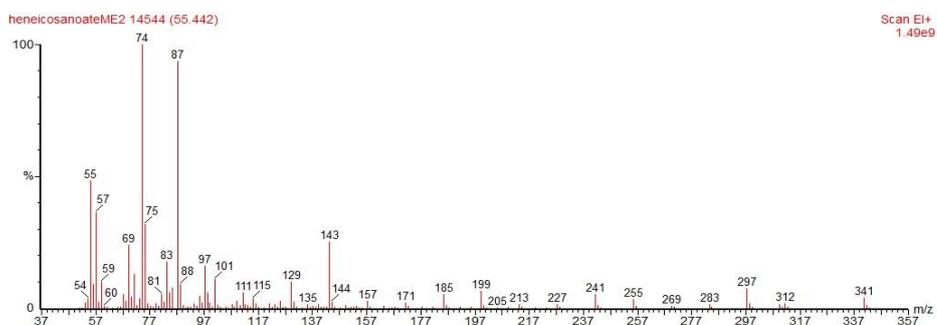
N°	Étalons	T _R (min)
1	Hexanoate de méthyle	11,12
2	Heptanoate de méthyle	15,25
3	Octanoate de méthyle	19,42
4	Nonanoate de méthyle	23,27
5	Decanoate de méthyle	26,64
6	Tridecanoate de méthyle	36,17
7	Laurate de méthyle	36,59
8	Tétradecanoate de méthyle	39,16
9	Pentadecanoate de méthyle	41,75
10	Palmitate de méthyle	43,78
11	Heptadecanoate de méthyle	46,38
12	Linoléate de méthyle	48,35
13	Oléate de méthyle	48,45
14	Stéarate de méthyle	49,02
15	Arachidate de méthyle	57,24
16	Hénicosanoate de méthyle	/
17	Lignocérate de méthyle	/
18	Cis- 4, 7, 10, 13, 16,19 docosahexanoate de méthyle	/



Spectre 1

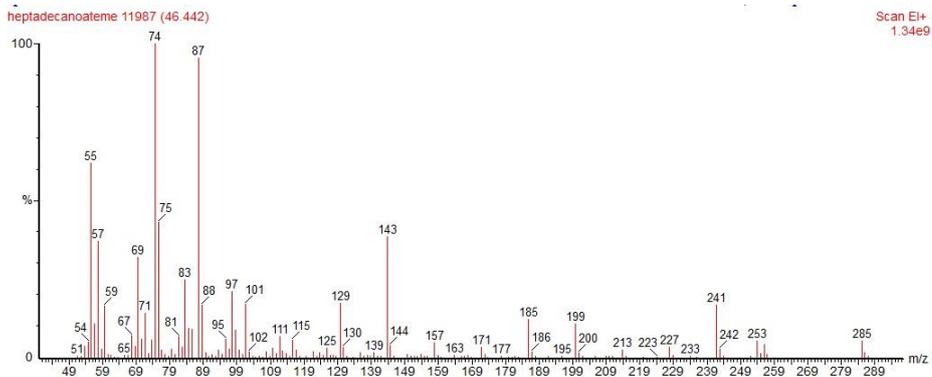


Spectre 2

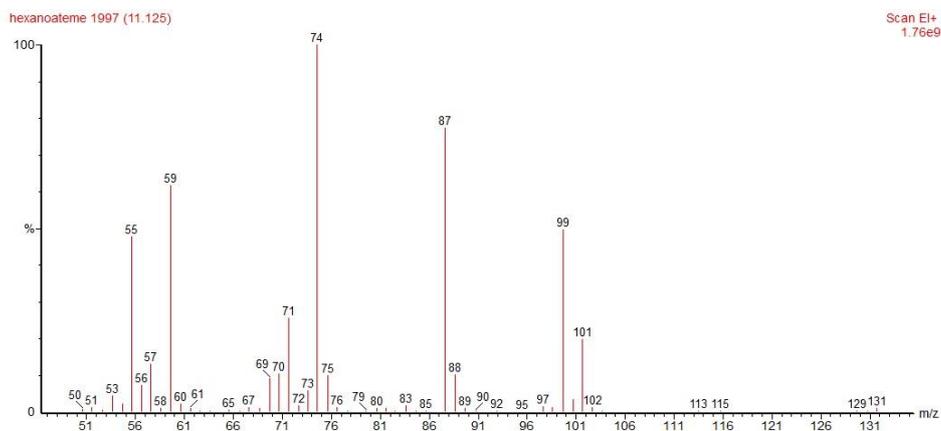


Spectre 3

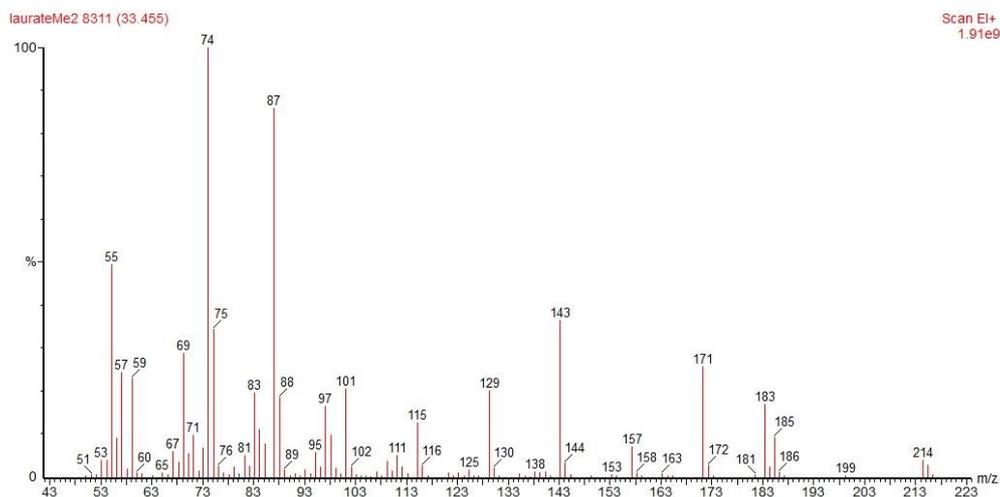
Figure 20 : Spetres de masses ; spectre 1 :Arachidate de méthyle ; Spectre 2 :Decanoate de méthyle ; Spectre 3 :Heneicosanoate de méthyle



Spectre 4

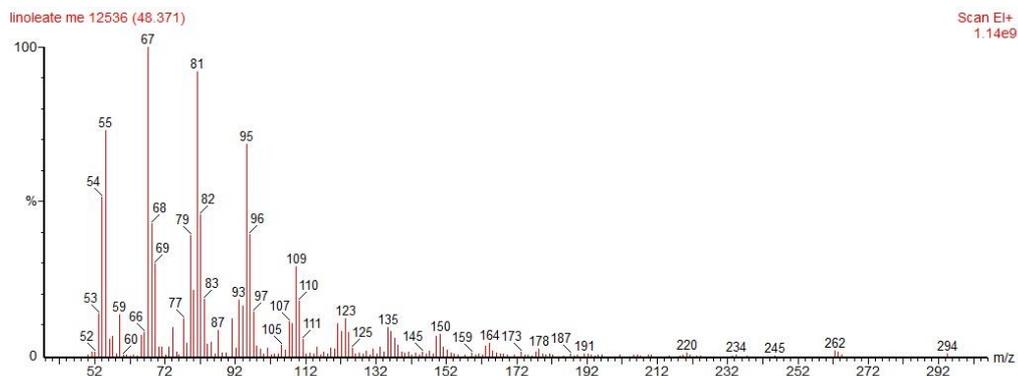


Spectre 5

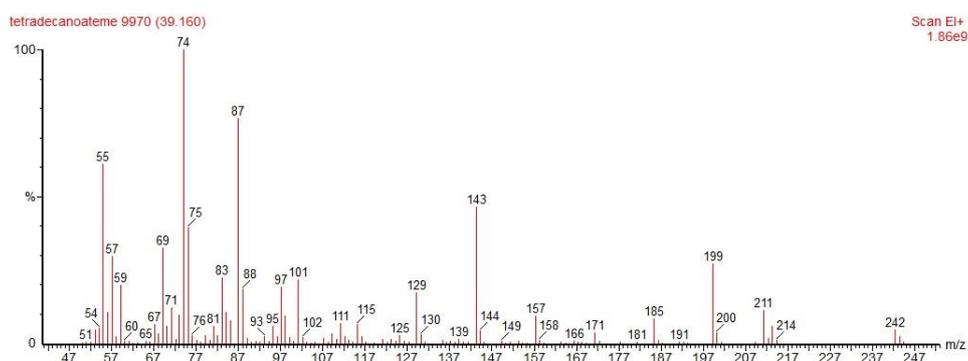


Spectre 6

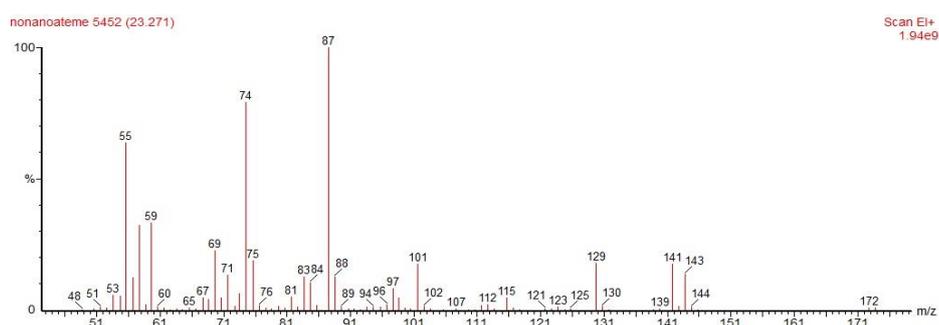
Figure 21 : Spectres de masses ;spectre 4 :Heptadecanoate de méthyle ; spectre 5 :Hexanoate de méthyle ; spectre 6 :Laurate de méthyle



Spectre 7

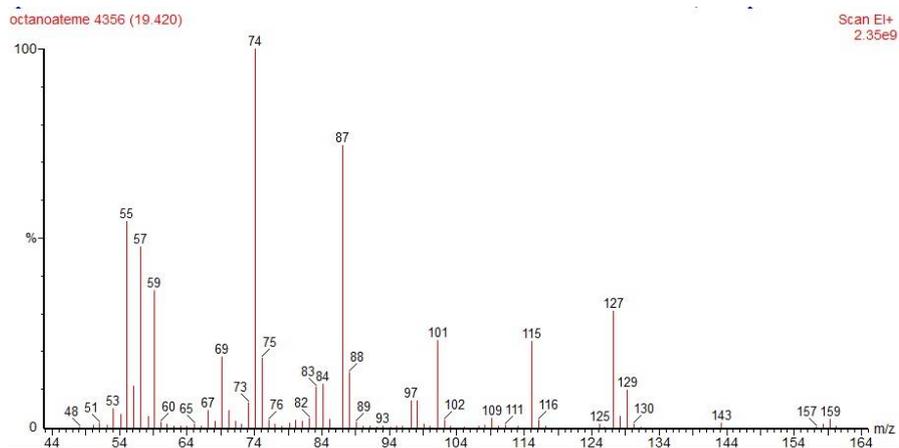


Spectre 8

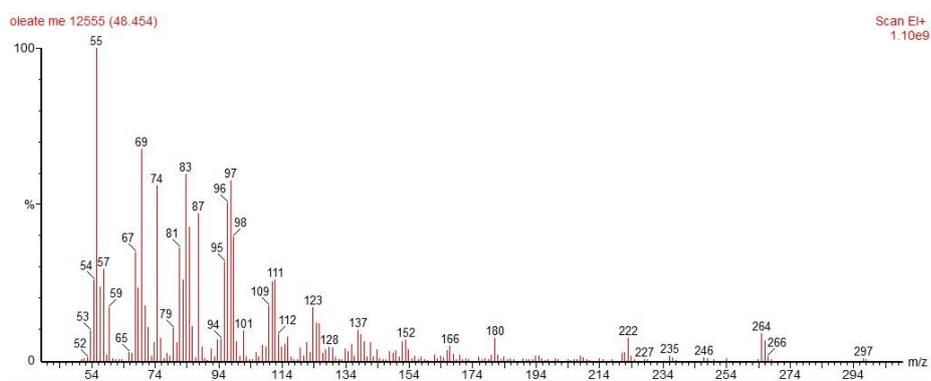


Spectre 9

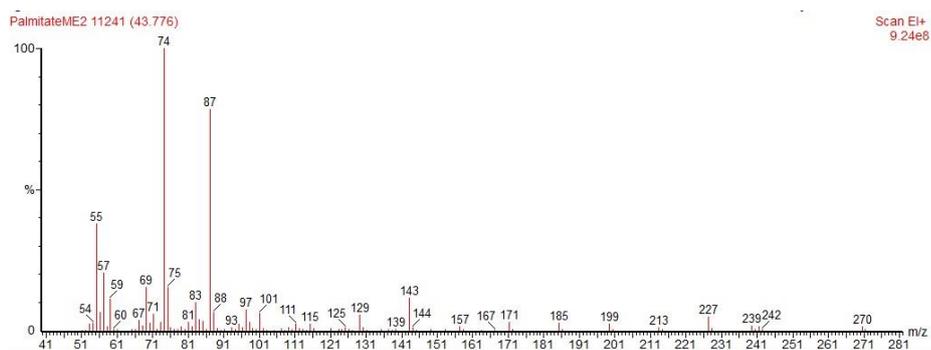
Figure 22: Spectres de masses ; spectre 7 : Linoleate de méthyle ; spectre 8 : Tetradecanoate de méthyle ; spectre 9 : Nonanoate de méthyle



Spectre 10

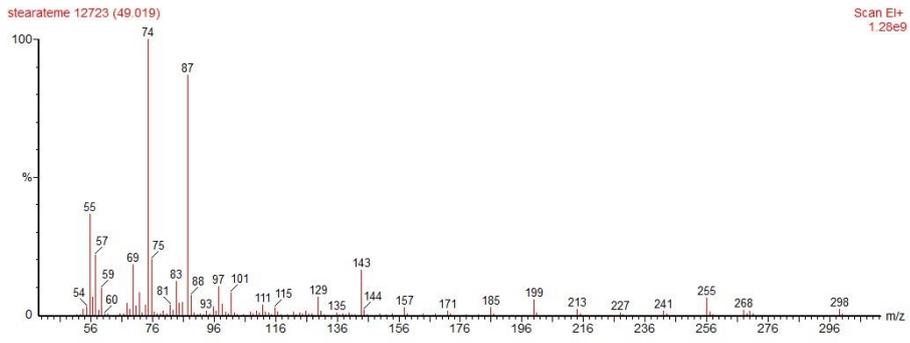


Spectre 11

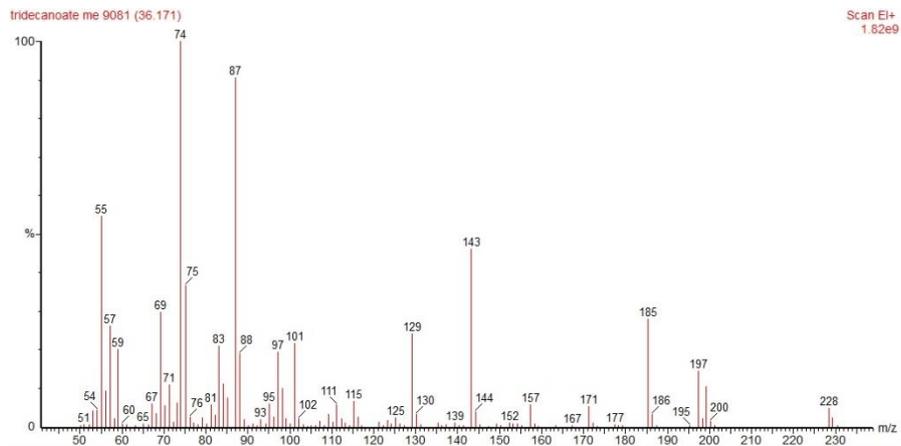


Spectre 12

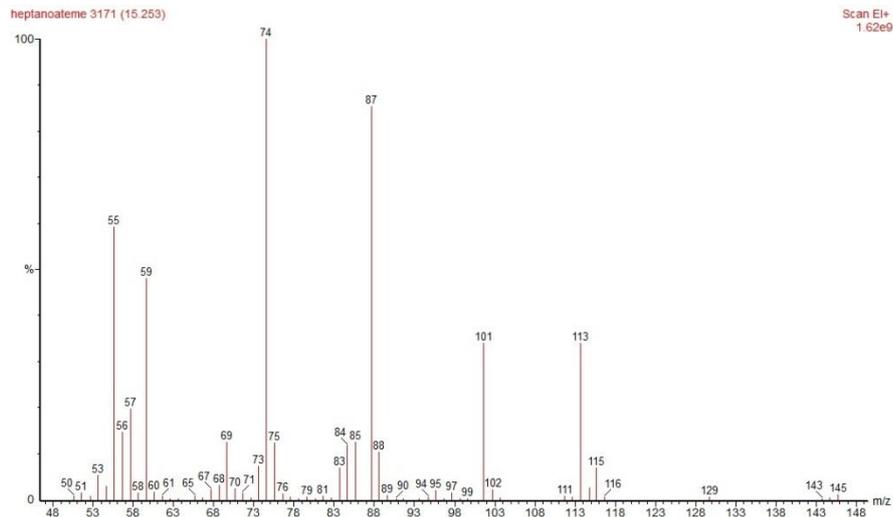
Figure 23 : Spectres de masses ; spectre 10 : Octanoate de méthyle ; spectre 11 : Oleate de méthyle ; spectre 12 : Palmitate de méthyle



Spectre 13

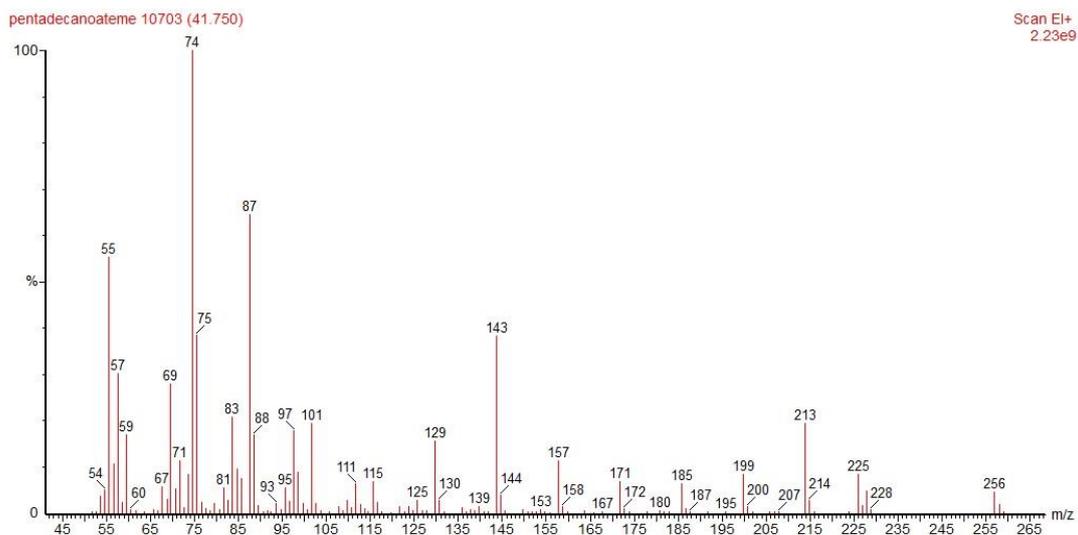


Spectre 14



Spectre 15

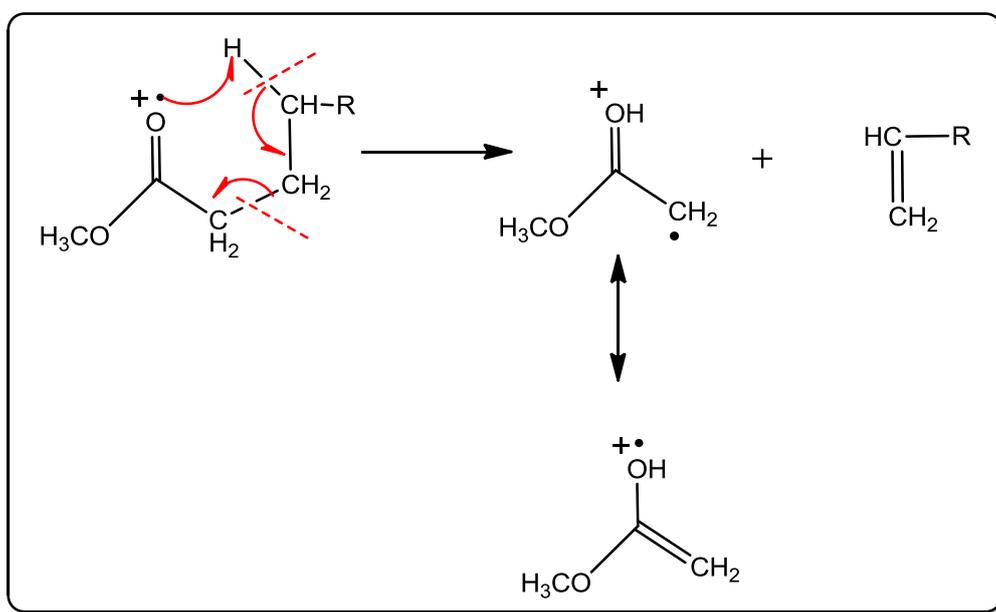
Figure 24 : Spectres de masse ;spectre 13 :Stearate de méthyle ; spectre 14 :Tridecanoate de méthyle ; spectre 15 :Hepranoate de méthyle



Spectre 16

Figure 25 : Spectre de masse 16 :Pentadecanoate de méthyle

D'après les spectres de masses obtenus, on constate que le pic de base des esters méthyliques saturés, est présent par un réarrangement de Mac Lafferty : Ion $m/z = 74$ uma



Réaction de Mc Lafferty

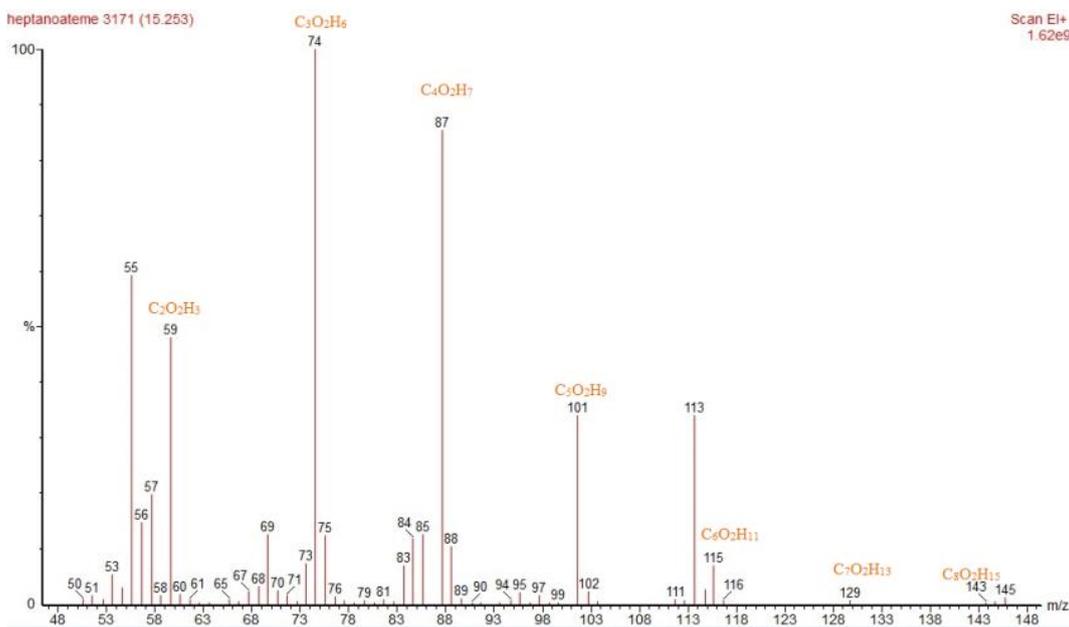
Pour élucider l'interprétation des spectres de masses, nous avons interpréter trois composés comme exemple à savoir :

1. L'heptanoate de méthyle et l'octanoate de méthyle pour les acides gras saturés
2. L'oléate de méthyle pour les acides gras insaturés.

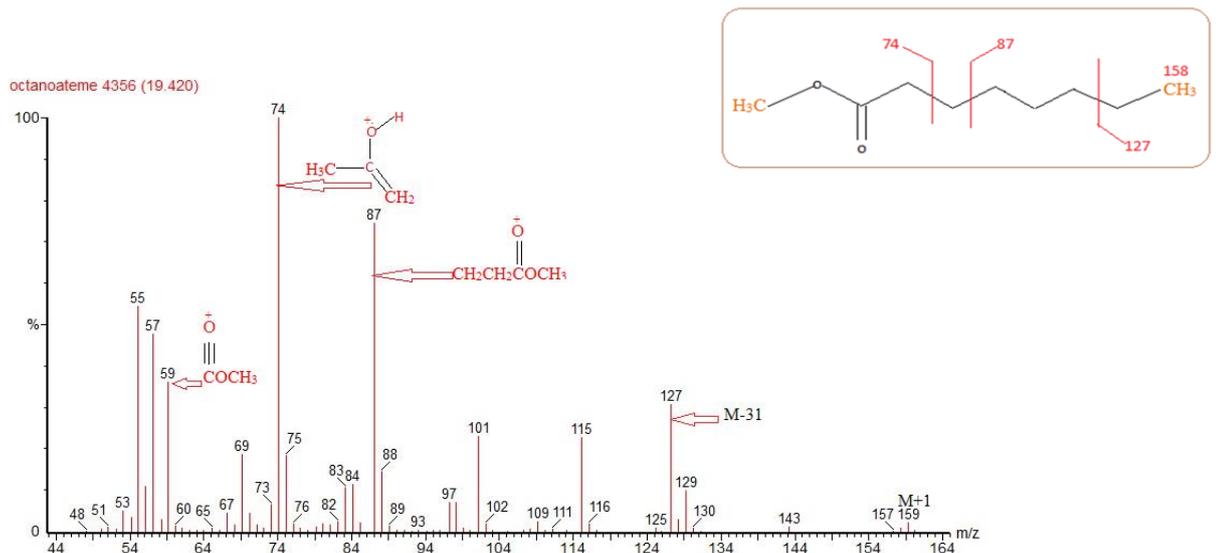
Exemple 1 : Heptanoate de méthyle

- Le pic de base est $m/z=74$, c'est le produit d'un réarrangement de Mac Lafferty
- L'ion $m/z=87$, correspond à une coupure δ du C=O.
- L'ion $m/z=113$ correspond à P-31 (perte de OCH_3)
- L'ion $m/z=115$, plus faible, correspond à P-29 (perte de $\text{CH}_2\text{-CH}_3$)

Ci-dessous se trouve les molécules correspondant aux fragments observés.

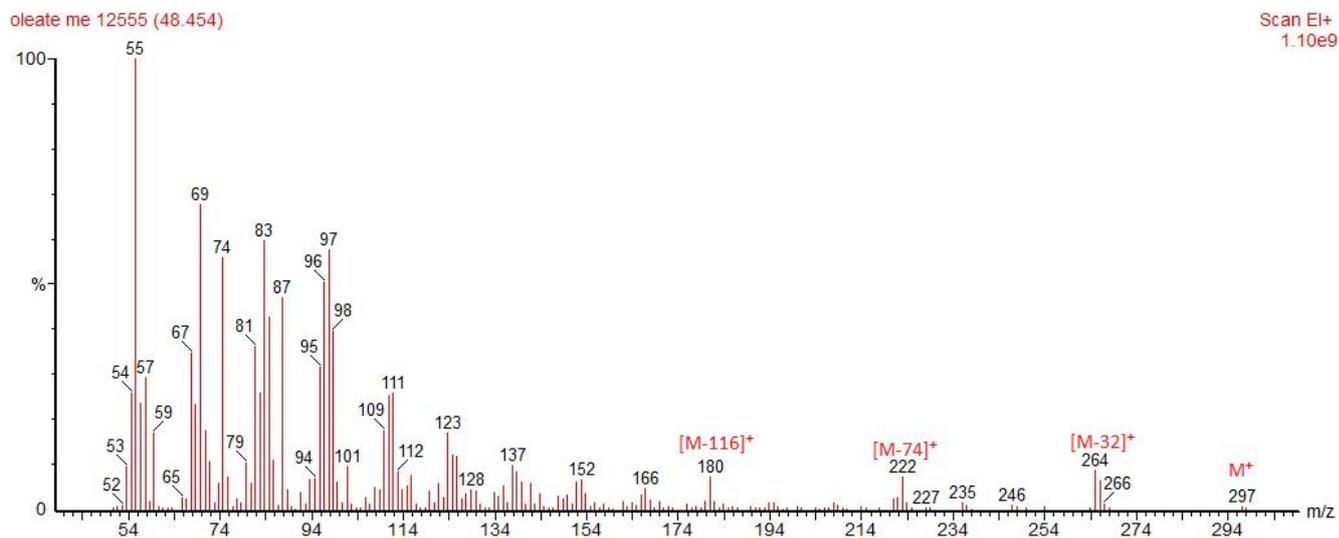


Exemple 2 : Octanoate de méthyle



Exemple 3 : Oléate de méthyle

- L'ion $m/z=55$ représente le pic de base.
- L'ion moléculaire est visible, il correspond à $m/z=297$
- L'ion $m/z=264$, correspond à P-32 (perte du groupe méthanol)
- L'ion $m/z=222$, correspond à P-74



➤ Chromatogramme du mélange 37 esters méthylés obtenu par GC/MS :

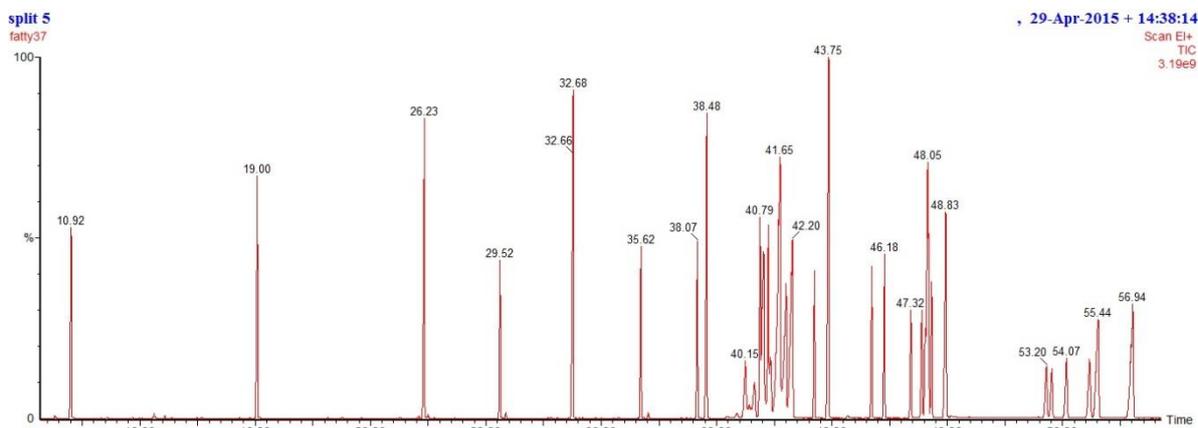


Figure 26: Chromatogramme des 37 esters méthyliques d'acides gras aux conditions opératoires citées dans la partie expérimentale

➤ *Temps de rétention des chromatogrammes obtenus lors de l'analyse GC/FID :*

Tableau 5 : Temps de rétention des étalons injectés en GC/FID

<i>N°</i>	<i>Etalons</i>	<i>T_R (min)</i>	<i>Masse moléculaire (g/mol)</i>
<i>1</i>	Butyrate de méthyle	03,58	102,137
<i>2</i>	Hexanoate de méthyle	08,12	130,184
<i>3</i>	Heptanoate de méthyle	13,33	144,211
<i>4</i>	Octanoate de méthyle	14,09	158,238
<i>5</i>	Nonanoate de méthyle	17,01	172,365
<i>6</i>	Decanoate de méthyle	19,61	186,291
<i>7</i>	Laurate de méthyle	24,47	214,344
<i>8</i>	Tridecanoate de méthyle	26,76	228,371
<i>9</i>	Palmitate de méthyle	28,09	270,451
<i>10</i>	Tetradecanoate de méthyle	29,23	242,398
<i>11</i>	Pentadecanoate de méthyle	30,91	256,424
<i>12</i>	Heptadecanoate de méthyle	35,45	284,477
<i>13</i>	Oleate de méthyle	37,86	296,488
<i>14</i>	Linoleate de méthyle	38,46	294,452
<i>15</i>	Stearate de méthyle	38,72	298,503
<i>16</i>	Arachidate de méthyle	42,33	326,557
<i>17</i>	Heneicosanoate de méthyle	45,29	340,583
<i>18</i>	Cis- 4, 7, 10, 13, 16,19 docosahexanoate de méthyle	/	342,514
<i>19</i>	Lignocerate de méthyle	/	382,66

Conclusion générale

Il existe deux types de bibliothèques de spectres : la bibliothèque de spectre commerciale et la bibliothèque de spectre personnelle. Les bibliothèques commerciales sont vendues par des entreprises ou des constructeurs et bien d'autres. Il s'agit de bibliothèques qui répertorient des spectres de masses enregistrées en ionisation EI (70eV). Ces bibliothèques commerciales offrent des avantages et des inconvénients. L'avantage primordial, est de pouvoir stocker plusieurs dizaines de milliers de spectres de masses dans le domaine environnemental : toxicité, agroalimentaire, médicaments.....^[13].

Les inconvénients sont :

1. D'avoir plus de composés que de spectres (c'est-à-dire certains composés ont été enregistré plusieurs fois).
2. De ne pas nous permettre de différencier les énantiomères.
3. Et d'avoir tous les spectres compilés non enregistrés dans les conditions standard.

C'est pour cela, qu'il faut considérer prudemment les spectres de masses proposés à l'issue des recherches.

Comme il existe dans le laboratoire COSNA un thème de recherche de substances naturelles pour l'identification des acides gras contenu dans l'huile de pépins de melon et l'huile de grains de figue de barbarie, nous avons décidé d'édifier une bibliothèque personnelle dédiée aux molécules d'acides gras d'intérêt pour ce thème de recherche, qui nous permettra d'enregistrer les spectres de masses des molécules à caractériser. La disposition des composés étalons (18 étalons) au niveau de laboratoire COSNA nous a encouragés à élaborer cette base de données. L'avantage d'une telle base repose sur le fait d'identifier les composés dans des conditions opératoires tracés dans ce cadre.

Nous avons suivi un protocole pour la préparation des étalons qu'on a analysé par la suite en GC/FID et GC/MS afin d'établir notre propre base de données. Cette base de données nous servira à comparer les spectres de masse ainsi que les chromatogrammes des étalons avec ceux du mélange inconnu des acides gras méthylés, ce qui nous permettra l'identification des composés majoritaire des extraits d'huile. Les conditions opératoires choisies nous ont permis de faire la séparation des mélanges et des étalons avec une bonne résolution.

L'analyse GC/FID nous a servi aux dépistages des conditions opératoires pour la résolution des échantillons (mélanges).

Cependant, il nous reste encore des points à éclaircir :

Le mode opératoire utilisé ne nous a pas permis d'obtenir les pics chromatographiques d'étalons dont le temps de rétention dépasse le temps d'analyse, et pour cela, l'étude doit se diriger sur le paramètre de programmation de températures qui va nous faire augmenter le temps d'analyse .

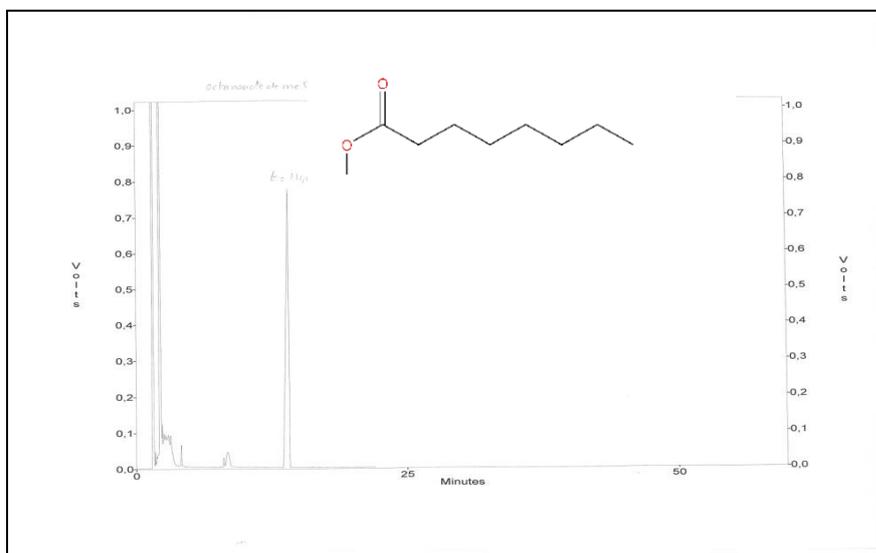
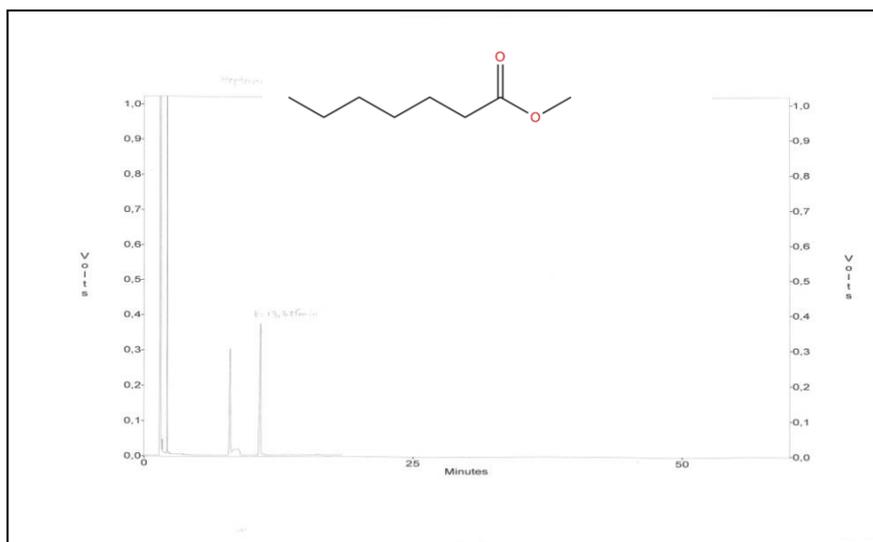
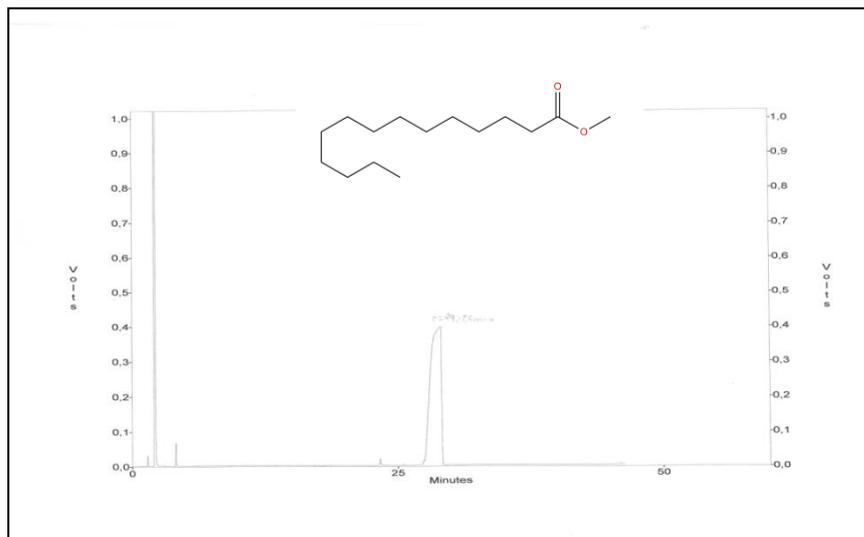
Le second point sera consacré à l'analyse quantitative des composés identifiés. Ce que nous essaierons de faire par la suite lors de nos prochains travaux.

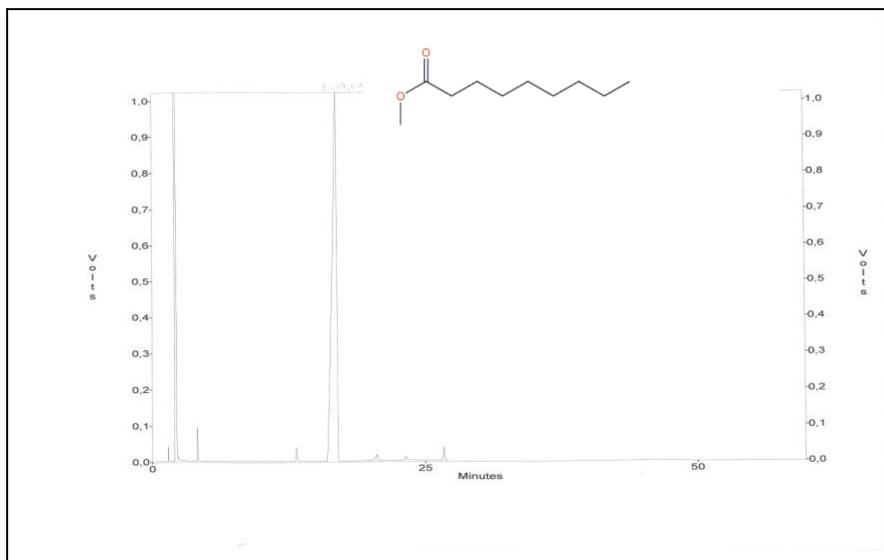
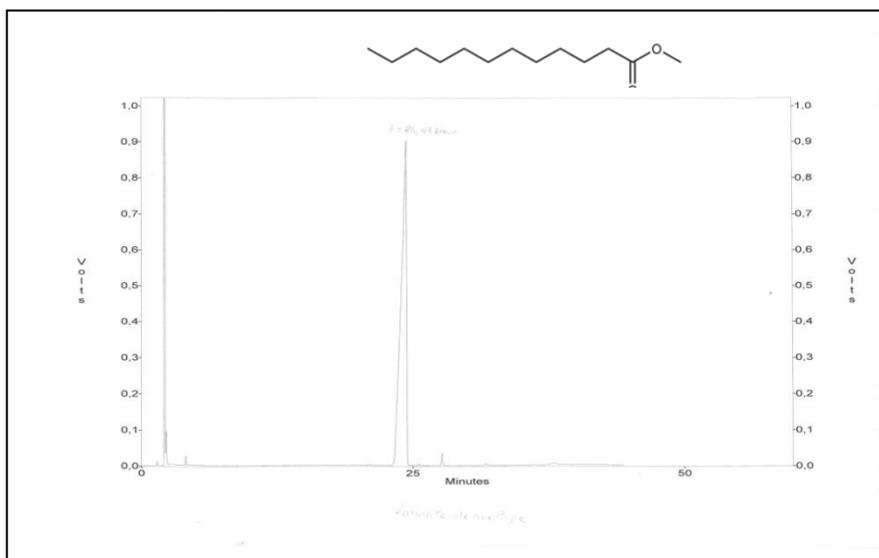
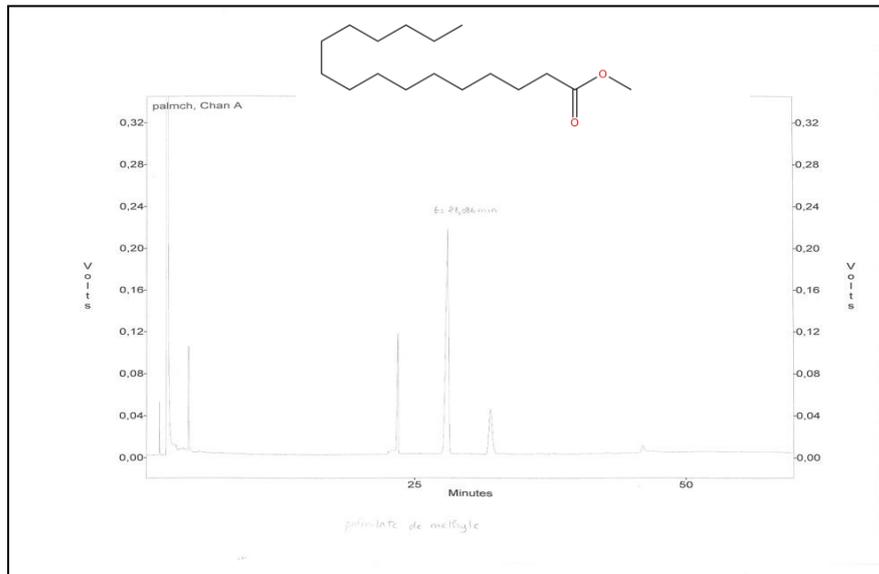
BIBLIOGRAPHIE

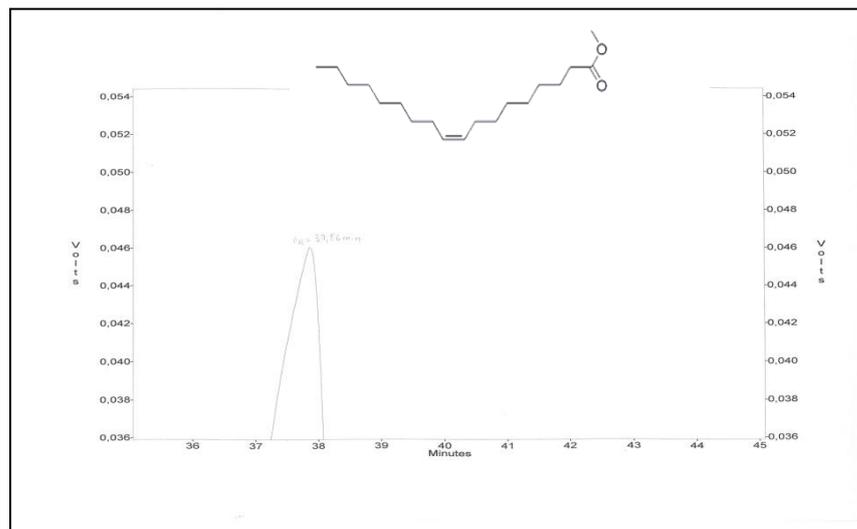
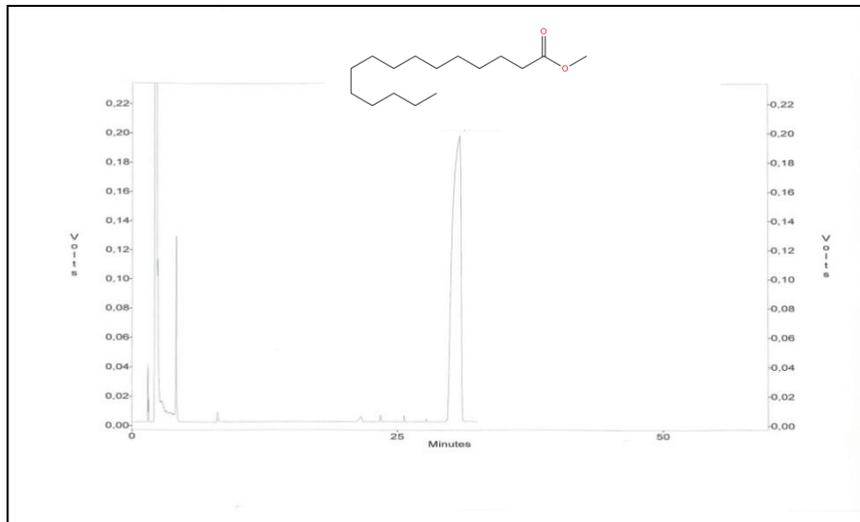
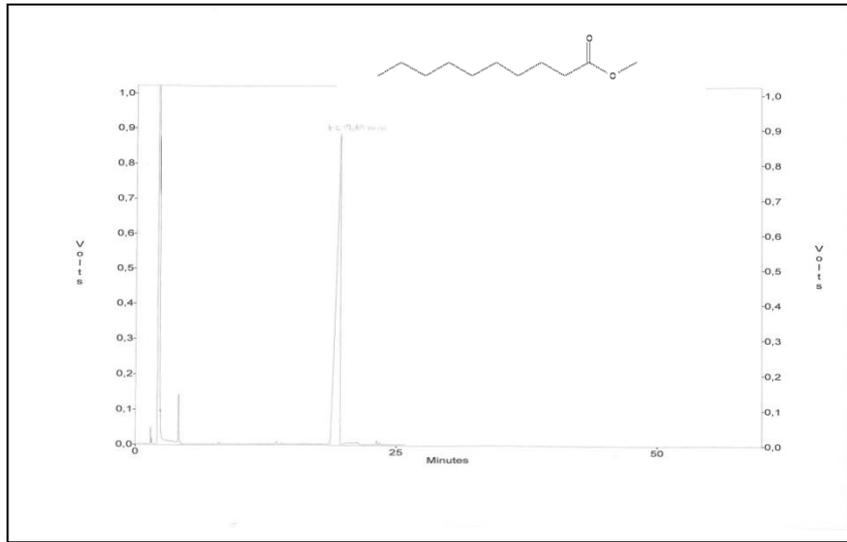
- [1]Reginald H. Garrett,Charles M. Grisham, *biochimie*, p : 239, 2^e ed : De boeck, **2000**
- [2] Donald Voet, Judith G .Voet, *biochimie*, p : 383, 2^e ed : De boeck, **2005**
- [3] Justine Dumay, *Contribution à l'analyse des lipides issus de biomasse marine en vue de la recherche des molécules à activité biologique*, Ecole pratique des hautes études, Nantes, **2003**
- [4]Cuvelier C., Cabaraux J.-F., Dufrasne I., Hornick J.-L., Istasse L, Ann. Méd. Vét., **2004**, 148, 133-140
- [5] Nolwenn DUBOIS, *optimisation de l'analyse acides gras par chromatographie en phase gazeuse : Application à l'étude de lipides naturels complexes*, école pratique des hautes études, Nantes, **2005**
- [6] Jean Tranchant, *manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*, p : 01- 420, 3^eed : Masson, **1982**
- [7] Douglas A.skoog, Donald M.West, F.jamesHoller, *chimie analytique*, p : 686- 694, 7^eed : De boeck, **1997**
- [8] G.Guiochon, G.Pommier, *la chromatographie en phase gazeuse en chimie inorganique*, p : 52, collection monographie de chimie minérale, **1971**
- [9] Douglas A.Skoon, F.jamesHoller, Timothy A.Nieman ,*principes d'analyses instrumentales* , p : 705, 5^eed : De boeck, , **2003**
- [10] Francis Rouessac , Annick Rouessac , *analyse chimique , méthodes et techniques instrumentales modernes*, p : 63-68 ,6^eed : DUNOD, **2004** .
- [11]Gwenola Burgot,Jean-Louis Burgot, *méthode instrumentale d'analyse chimique et applications*, p : 123-131, 3^eed : Lavoisier, **2011**
- [12] J.Mendham ,R.C.Denney ,J.D.Barnes , M.J.K.Thomas , *analyse chimique quantitative de Vogel* p : 315-332, , 6^eed : De boeck, **2006**
- [13] Bouchennet Stéphane, *la spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse*, p : 7-27, ed : Lavoisier, **2009**
- [14] Jacques Yonger, *cours de chimie analytique, analyse organique immédiate*, p : 177-194, ed : C.D.U et SEDES, **1979**
- [15] <http://www.restek.fr/Colonnes/Colonnes-GC>
- [16] <http://www.masterchimie1.u-psud.fr/Chromatoweb/AnalyseGC.html>
- [17] Borel, Maquar, Le peuch, Randoux, Giller, Bellon, Monboiss, *biochimie dynamique*, p : 111-113, ed : De boeck, **1997**.
- [18] http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p222/07_AcidesGrasL2.pdf
- [19]Isabelle Claverie, Mireille Panet ,*biochimie*, p : 22-23, 2^e ed: Wolters Kluwer, **2008**.
- [20]http://www.uvp5.univparis5.fr/WIKINU/docvideos/Grenoble_1011/hininger_favier_isabelle/hininger_favier_isabelle_P01/hininger_favier_isabelle_P01.pdf
- [21] Aurélie EUDE, *Dosage des omégas 3 et 6 dans les suppléments alimentaires et les poissons gras*, laboratoire de chimie analytique,Cedex , p : 9-10 , 2005
- [22] http://tamarind18.com/print/neo_web.pdf

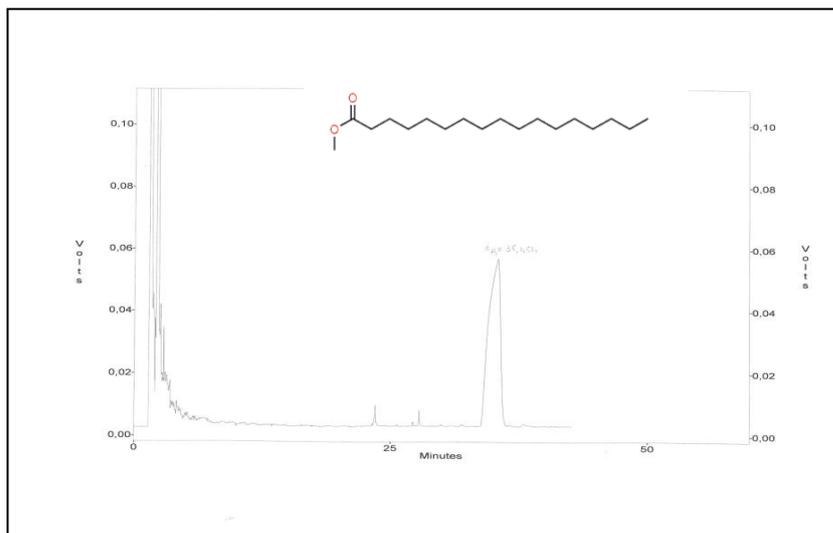
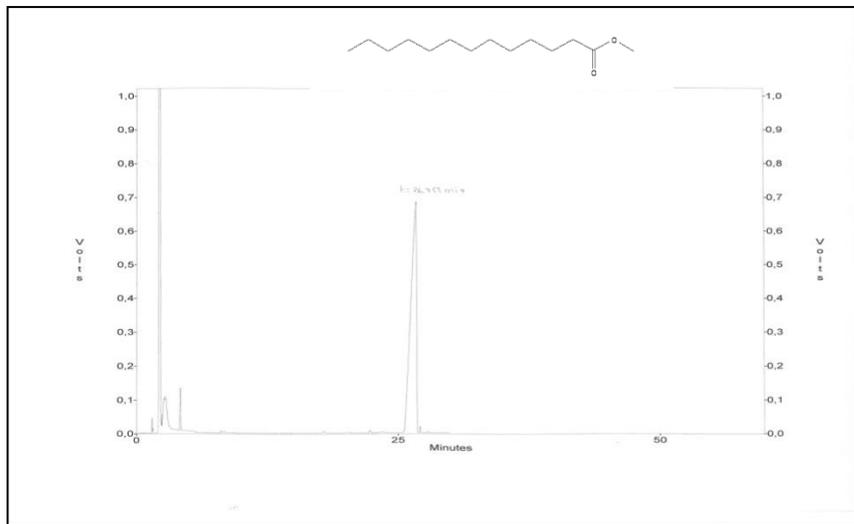
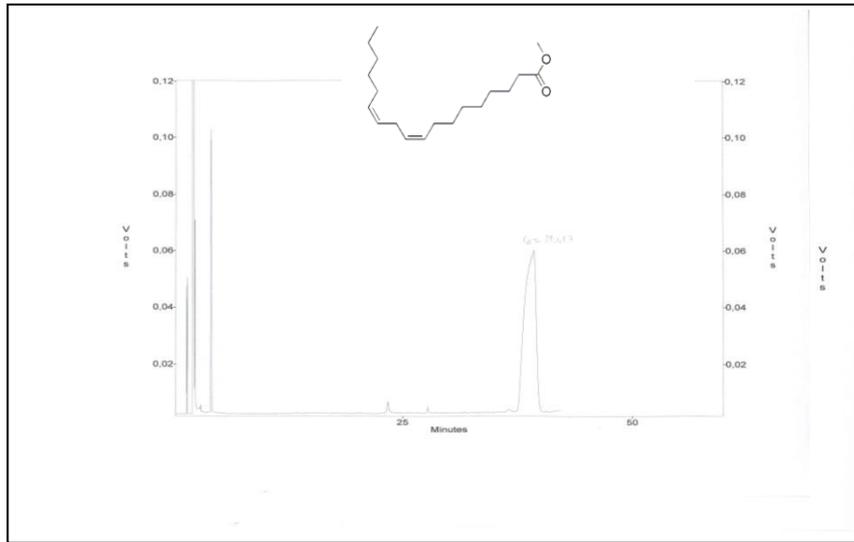
Annexe

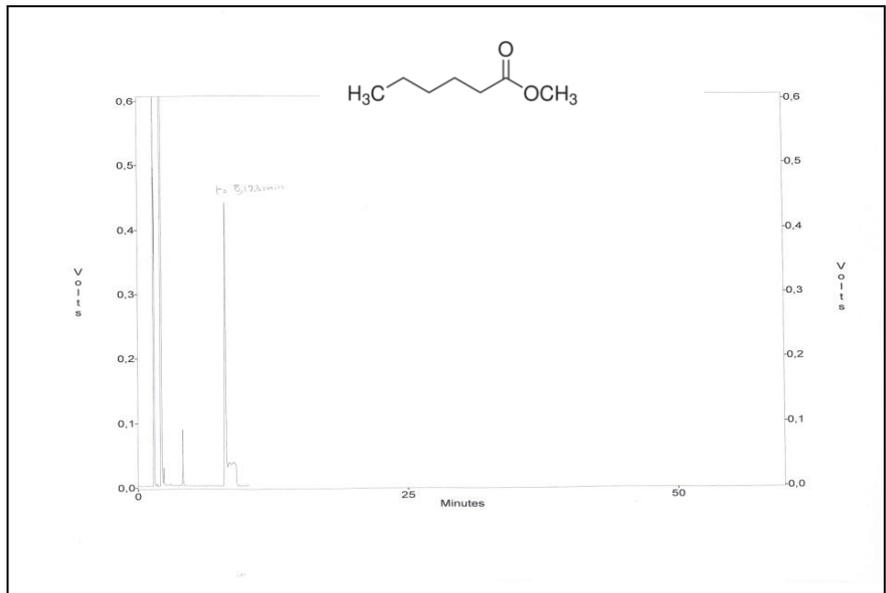
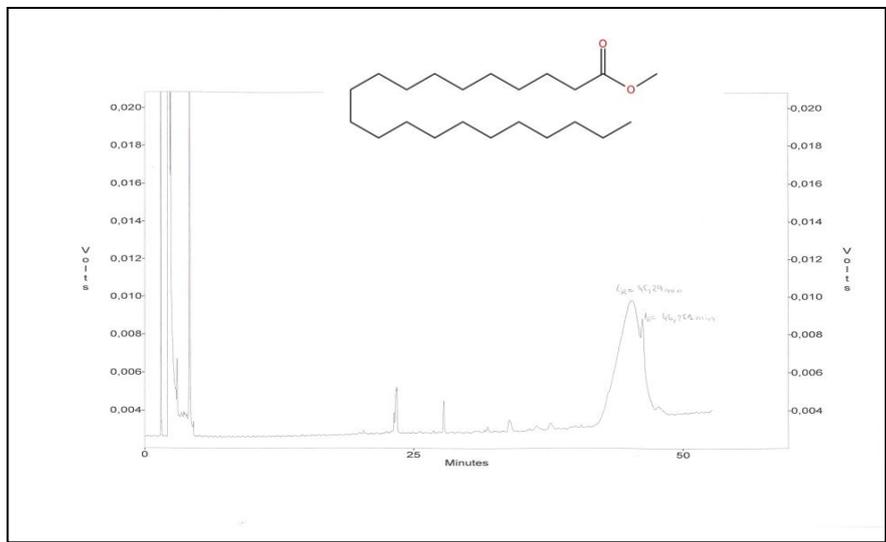
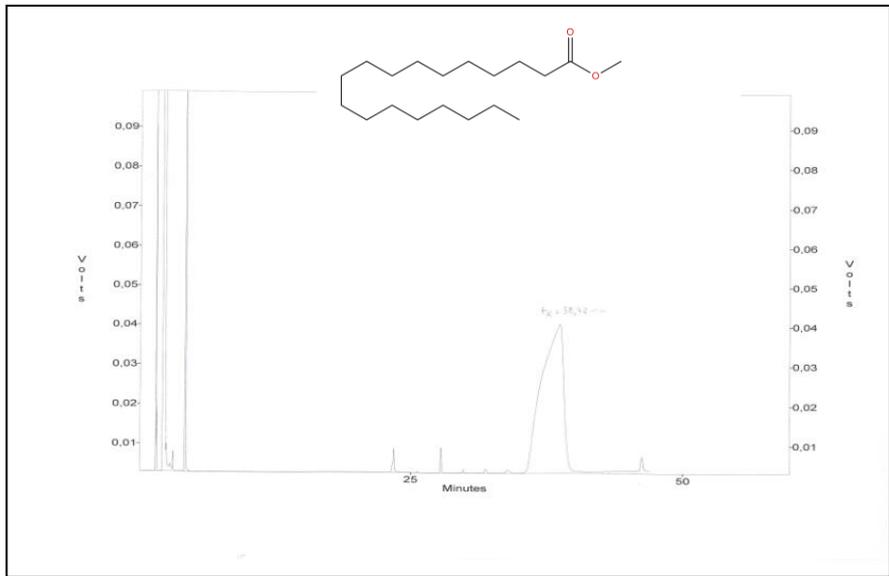
Voici ci-après les chromatogrammes des différents étalons disponibles au niveau du laboratoire COSNA obtenus par analyse chromatographique en phase gazeuse/FID :











Résumé :

Les acides gras se trouvent dans les huiles qui sont composées d'un mélange des 3 groupes d'acides gras. Afin de procéder à l'analyse GC/FID et GC/MS, ces derniers doivent être transformés en esters méthylique.

Notre travail consiste à établir notre propre base de données, c'est pour cela, nous avons suivi un protocole pour la préparation des étalons qu'on a analysé par la suite en GC/FID et GC/MS. Cette base de données nous servira à comparer les spectres de masse ainsi que les chromatogrammes des étalons avec ceux du mélange inconnu des acides gras méthylés, ce qui nous permettra l'identification des composés majoritaire des extraits d'huile. Les étalons ainsi que le mélange ont été injectés dans les mêmes conditions opératoires.

Mots clés : GC/FID ; GC/MS ; acides gras ; étalons.

Abstract :

The fattyacids are found in oilsthat are composed of a mixture of the 3 groups of fattyacids. In order to proceed to the analysis GC/FID and GC/MS, these must beconvertedintomethyl esters. Our job is to establishourowndatabase, whichiswhywefollowed a protocol for the preparation of standards weanalyzedlater in GC/FID and GC/MS. This databeswill serve to compare mass spectra and chromatograms of the standards withthose of the unknown mixture of methylatedfattyacids, whichwillenable us to identify compounds majority of oilextracts. The standards and the mixture wasinjectedunder the same operating conditions.

Keyword : GC/FID ; GC/MS ; fattyacids, standards

ملخص:

الأحماض الدهنية التي توجد في الزيوت تتكون من خليط من 3 مجموعات من الأحماض الدهنية. من أجل المضي قدما إلى التحليل GC/FID و GC/MS الأطروحة يجب أن تحول إلى استرات الميثيل. مهمتنا هي إنشاء قاعدة البيانات الخاصة لهذا تابعنا وضع بروتوكول لإعداد المعايير التي قمنا بتحليل في وقت لاحق ب GC/FID و GC/SM . سوف تخدم قاعدة البيانات هذه لمقارنة سببا كترو بوتشروماتوجرامس من المعايير مع أولئك من الخليط الغير المعروف من الأحماض الدهنية ميثليته، التي سوف تمكننا من تحديد المركبات أغلبية مستخلصات المعايير والخليط. تم الحقن تحت نفس ظروف التشغيل

الكلمات المفتاحية : الأحماض الدهنية ; المعايير , GC/MS, GC /FID