

Liste des figures

Figure1 : Classe des alcools.....	3
Figure2 : Utilisation des alcools	7
Figure3 : Appareillage CPG	10
Figure4 : Appareillage HPLC.....	14
Figure5 : Colonne en phase normale	16
Figure6 : Colonne en phase inversée	16
Figure7: Description d'un chromatogramme.....	18
Figure8 : Chromatogramme étalon CPG	24
Figure9 : Etalons externes en HPLC.....	27
Figure 10 : Chromatogramme de E1/NJR1 par CPG	29
Figure11 : Chromatogramme de E1/NJR1 par HPLC	31
Figure 12 : Chromatogramme d'E2/NJR2 par CPG	33
Figure 13: Chromatogramme de E2/NJR2 par HPLC	36
Figure 14 Chromatogramme du THC par HPLC.....	37
Figure 15 : Formule semi-développée du THC	38
Figure 16 : Chromatogramme de E3/NJR3 par CPG	39
Figure 17 : Chromatogramme de E3/NJR3 par HPLC	41
Figure 18 : Chromatogramme de l'Acroléine par HPLC	42
Figure 19 : Formule semi-développée de l'Acroléine	43
Figure 20 : Chromatogramme de E4/NJR4 par CPG	44
Figure 21 : Chromatogramme de E4/NJR4 par HPLC	46

Liste des tableaux

Tableau 1 : Type de détecteurs en CPG.....	12
Tableau 2 : Solvants utilisés en HPLC	19
Tableau 3 : Conditions chromatographiques de l'analyse par CPG	13
Tableau 4 : Propriétés des produits de la gamme étalon en CPG.....	25
Tableau 5 : Conditions chromatographiques en HPLC	26
Tableau 6 : Résultats de l'analyse de E1/NJR1 par CPG	29
Tableau 7 : Résultats de l'analyse de E1/NJR1 par HPLC.....	32
Tableau 8 : Résultats de l'analyse de E2/NJR2 par CPG	34
Tableau 9 : Résultats de l'analyse de E2/NJR2 par HPLC.....	35
Tableau 10 : Résultats de l'analyse de E3/NJR3 par CPG	40
Tableau 11 : Résultats de l'analyse de E3/NJR3 par HPLC.....	42
Tableau 12 : Résultats de l'analyse de E4/NJR4 par CPG	45
Tableau 13 : Résultats de l'analyse de E4/NJR4 par HPLC.....	47
Tableau 14 : Comparaison des résultats d'analyse par CPG et par HPLC	52

Liste des abréviations

CaCO ₃	Carbonate de calcium
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
HPLC	Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance
CrO ₃	Oxyde de Chrome (Réactif de Collins)
H ₂ SO ₄	Acide Sulfurique
AFNOR	Association Française de NORmalisation
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire

IR	Infrarouge
SM	Spectroscopie de Masse
FID	Détecteur à Ionisation à flamme
TCD	Détecteur à Conductibilité thermique
ECD	Détecteur à Capture d'électrons
TID	Détecteur à Thermo-ionisation
PID	Détecteur à Photo-ionisation
H ₂	Gaz hydrogène
N ₂	Gaz Azote
Log	Logarithme Népérien
I _i :	Indice de rétention de KOVATS en CPG
ml	Millilitre
mn	Minute
d	Diamètre de la colonne en HPLC
I _x	Indice de KOVATS en HPLC
DMSO	Diméthyl sulfoxyde
TMS	Tetraméthyl silane
E1/NJR1	Echantillon N°1 (Alcool combustible)
E2/NJR2	Echantillon N°2 (LohanaToaka Gasy)
E3/NJR3	Echantillon N°3 (VatanaToaka Gasy)
E4/NJR4	Echantillon N°4 (Alcool commercial)
NaOH	Hydroxyde de Sodium
KOH	Hydroxyde de potassium
T _R	Temps de rétention
S	Surfaces des pics
K	Coefficient de réponse
GTZ	Laboratoire de protection des Végétaux
μl	Microlitre
μm	Micromètre
MEC	Madagascar Energy Combustible
V	Volume
THC	TetraHydroCannabinol
D	Degré éthylique
ΔT _R	Différence de temps de rétention
K ₂ SO ₄	Sulfate de Potassium
Pr	Pourcentage par rapport aux pics

Liste des Réactions chimiques

<u>Réaction 1</u> :Deprotonation de l'alcool	14
<u>Réaction 2</u> :Protonation de l'alcool	14
<u>Réaction 3</u> :Estérification	4
<u>Réaction 4</u> :Exemple Déshydratation de l'alcool	15
<u>Réaction 5</u> :Oxydation des alcools primaires	5
<u>Réaction 6</u> :Oxydation des Alcools secondaires	5
<u>Réaction 7</u> :Déshydratation du Glycérol	43

Liste des Relations

<u>Relation 1</u> : Méthode Etalonnage interne	13
<u>Relation 2</u> :équation de la droite de KOVATS	13
<u>Relation 3</u> : Indice de KOVATS en CPG	13
<u>Relation 4</u> :Indice de rétention de KOVATS en HPLC.....	19
<u>Relation 5</u> : Méthode d'étalonnage externe	20
<u>Relation 6</u> :Concentration massique d'un constituant	20
<u>Relation 7</u> :Degré éthylique	32

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	i
Liste des figures	ii
Liste des tableaux.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Liste des réactions chimiques	iv
Liste des relations	iv
Introduction	1
Partie I : Etude Bibliographique et méthodologie Physico-chimique	2
I- Alcool et Toxicité.....	3
I-1 Généralités des Alcools.....	3
I-1-1 Propriétés physicochimiques	3
I-1-1-1 Acidité des alcools.....	4
I-1-1-2 Basicité et nucléophilie des alcools	4
I-1-2 Réactions chimiques avec les alcools	5
I-1-2-1 Déshydratation des alcools	5
I-1-2-2 Oxydation des alcools.....	5
I-1-3 Utilisations et normalisations des alcools	6
I-1-3-2 Normalisation des alcools.....	6
I-1-3-1 Utilisations des alcools	6
I-2 Toxicité des alcools.....	8
I-2-1 Définition de la toxicité	8
I-2-2 Produits toxiques dans les alcools	8
II-Méthodologies d'analyse Physico-chimiques.....	10
II-1 Chromatographie en Phase Gazeuse : CPG.....	10
II-1-1 Appareillage et matériel en CPG	10
II-1-2 Phase mobile et phase stationnaire	12
II-1-3 Méthode d'étalonnage interne	12
II-1-4 Indice de KOVATS en CPG.....	13
II-2 Chromatographie Liquide à Haute Performance : HPLC	14
II- 2-1 Appareillage et matériel en CPG	14
II-2-2 Phase stationnaire, phase mobile et phénomène d'adsorption	18
II-2-3 Indice de KOVATS en HPLC	19
II-2-4 Solvants utilisés en HPLC et Méthode d'étalonnage externe	19

II-2-5 Méthode d'étalonnage externe	20
Partie II : Travaux personnels	21
I-Conditions d'analyse pour CPG et HPLC.....	22
I-1-Analyse par CPG	22
I-1-1 Mode opératoire.....	22
I-1-2 Conditions chromatographiques en CPG.....	22
I-1-3 Choix d'Etalon interne.....	23
I-2 Analyse par HPLC	25
I-2-1 Mode opératoire en HPLC.....	25
I-2-2 Conditions chromatographiques en HPLC	26
I-2-3 Choix d'Etalon externe	26
I-2-4 Dosage Ethylique en HPLC.....	28
II- Etudes des échantillons.....	28
II-1 Résultats et interprétations des analyses chromatographiques	28
II-1-1 Etude de l'échantillon E1/NJR.....	28
II-1-1-1 Analyse de E1/NJR1 par CPG	28
II-1-1-2 Analyse de E1/NJR1 par HPLC.....	30
II-1-2 Etude de l'échantillon E2/NJR2	33
II-1-2-1 Analyse de E2/NJR2 par CPG	33
II-1-2-2 Analyse de E2/NJR2 par HPLC.....	35
II-1-3 Etude de l'échantillon E3/NJR3	36
II-1-3-1 Analyse de E3/NJR3 par CPG	37
II-1-3-2 Analyse de E3/NJR3 par HPLC.....	39
II-1-4 Etude de l'échantillon E4/NJR4	42
II-1-4-1 Analyse d'E4/NJR4 par CPG.....	44
II-1-4-2 Analyse de E4/NJR4 par HPLC.....	46
II-2 Discussions	47
II-2-1 Comparaison des résultats par CPG et HPLC	47
II-2-1-1 Reproductibilité des deux méthodes	48
II-2-1-2 Sensibilité des appareils	48
II-2-2 Pureté de l'éthanol dans chaque échantillon	49
Conclusion	51
Bibliographie	52
Annexes	
Types d'alcoolS.....	A
Méthodes de calculs et définitions.....	B

INTRODUCTION

En 1906, TSWETT, un Botaniste Russe a pu séparer pour la première fois un mélange de pigments végétaux (chlorophylles et xanthophylles) dans de l'éther de pétrole sur une colonne remplie de carbonate de calcium (CaCO_3) finement pulvérisé. Et il a nommé cette méthode « Chromatographie » [1].

Depuis des milliers d'années, de nombreuses sociétés, industries et des fabricants illicites se sont intéressés aux alcools pour s'enrichir. Tous essayèrent de les valoriser et de les exploiter. La fabrication industrielle des alcools à Madagascar vient de voir le jour. Tout le monde connaît l'éthanol car c'est ce qu'on appelle couramment l'alcool (Toaka). Celui-ci provient généralement de la fermentation de la canne à sucre. Mais étant donné le prix très concurrentiel du manioc, pourquoi ne pas envisager sa transformation en alcool ? [2]

En 2010, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a mis l'accent sur la mise au point de l'expérimentation d'évaluation et d'intervention rentables contre l'usage nocif de l'alcool ainsi que sur la production. La compilation, la diffusion d'informations scientifiques sur l'usage de l'alcool, la dépendance à l'égard de l'alcool et les conséquences sanitaires et sociales connexes faisant l'objet des revues journalières culturelles et scientifiques. [3]

La production d'Ethanol à Madagascar devient maintenant significative et envisageable. Mais, il faudrait encore qu'on remette en question le respect des normes internationales vis-à-vis de sa toxicité. La qualité des alcools à Madagascar s'avère encore très discutable.

C'est pourquoi notre présent mémoire s'intitule « **Contrôle de qualité des alcools à Madagascar par deux techniques chromatographiques CPG et HPLC** ».

Alors pour atteindre cet objectif, deux techniques d'analyse ont été utilisées : à savoir la Chromatographie en phase Gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide à Haute Performance (HPLC). Pour mener à bien notre étude, quatre échantillons d'alcool ont été choisis et comparés.

Ce Mémoire se subdivise en deux grandes parties. En premier lieu vient la partie théorique concernant l'étude bibliographique et la méthodologie physico-chimique. La deuxième partie concerne les travaux personnels où sont donnés les résultats, les interprétations et les discussions sur la toxicité des alcools. Une conclusion termine ce travail.

PARTIE I

Etude Bibliographique et Méthodologie Physico-chimique

I- Alcool et Toxicité [3] [4] [5]

I-1 Généralités des alcools

On appelle *alcool* un composé dans lequel un groupe caractéristique *hydroxyle* OH est lié à un *atome de carbone saturé*. C'est un liquide incolore et volatil.

L'atome de carbone qui porte le groupe -OH est appelé carbone fonctionnel et il définit **la classe d'alcool**. Ainsi :

- S'il n'est relié qu'à un atome de Carbone, l'alcool est **primaire**.
- S'il est relié à deux atomes de Carbones, l'alcool est **secondaire**.
- S'il est relié à trois atomes de Carbone, l'alcool est **tertiaire**.
- Si un noyau aromatique porte un -OH sur l'un de ses carbones, il s'agit d'un **Phénol**.

La figure 1 suivante montre les différentes classes d'alcool.

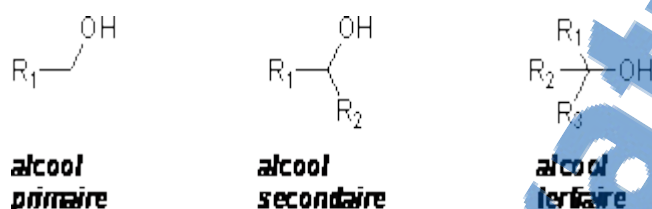


Figure 1 : Différentes classes d'alcools

L'énergie de liaison de la liaison C-O est élevée. Sa réactivité s'explique par sa **polarité** et sa **polarisabilité**. La présence de l'atome d'oxygène plus électronégatif (3,5 dans l'échelle de Pauling) que les atomes de carbone (2,5) et d'hydrogène (2,1) ainsi que la géométrie de la molécule sont à l'origine d'un moment dipolaire permanent de la molécule.

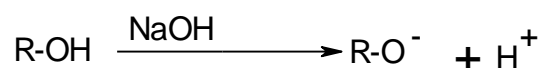
Beaucoup d'alcools existent à l'état naturel. Les plus courants sont le **méthanol** qui était autrefois obtenu par distillation du bois et **l'éthanol** qui était produit par fermentation des jus sucrés.

I-1-1 Propriétés physico-chimique des alcools

L'alcool est un bon solvant organique mais il manifeste une propriété amphotère. En effet, la présence d'un atome d'hydrogène lié à l'atome d'oxygène confère à l'alcool son propriété **acide**. L'existence des deux doublets non liants sur l'atome d'Oxygène est l'origine de son caractère **basique et nucléophile**.

I-1-1-1- Acidité des alcools

La polarisation forte de la liaison **O-H** donne une rupture hétérolytique. Les alcools constituent alors un Acide faible sous l'action d'une base forte comme NaOH et KOH avec libération d'un proton H^+ du groupe hydroxyle. Il y aura donc formation d'une base conjuguée appelée **ion alcoolate** ou **ion Alcoxyde** selon la réaction 1 suivante :

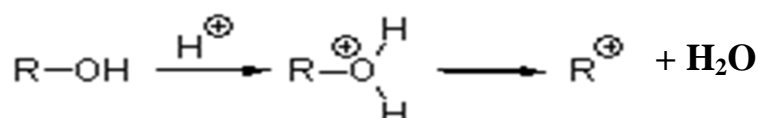


Réaction 1 : Deprotonation de l'alcool

Le méthanol est le plus acide des alcools. Le pK_a des alcools est de l'ordre de **16 à 18**. Les alcools primaires sont plus acides que les alcools secondaires et tertiaires.

I-1-1-2 Basicité et nucléophilie des alcools

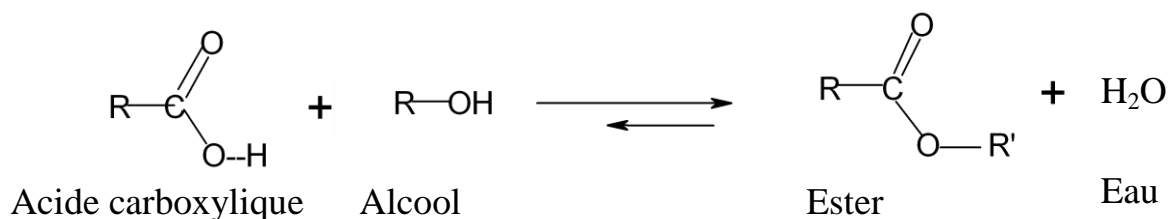
Les doublets électroniques de l'atome d'Oxygène sont capables de se protoner. On dit alors que l'alcool est une **Base de Bronsted**. La protonation de l'alcool donne un **ion alkyloxonium** selon la réaction suivante :



Réaction 2 Protonation de l'alcool

La réactivité des doublets électroniques de l'atome d'oxygène des alcools prouve qu'il se comporte comme **base de Lewis** et bon **nucléophile**.

Un exemple de cette réaction est l'estérification selon la réaction 2 suivante.



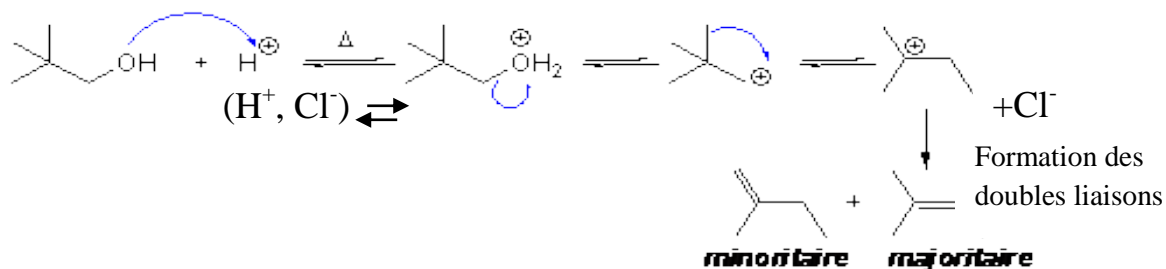
Réaction 3 Réaction d'Estérification

Ainsi on peut dire que « les alcools sont des amphotères c'est-à-dire à la fois des acides et des bases faibles »

I-1-2 Réactions chimique avec les alcools. [6] [7] [8]

I-1-2-1 Déshydratation des alcools

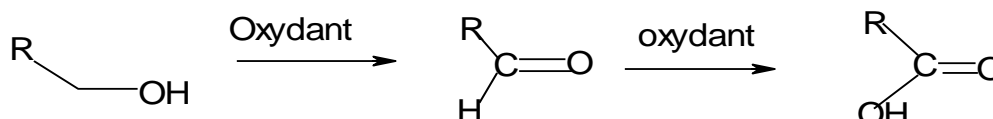
Un alcool peut facilement être déshydraté en présence d'acide à la température 160°C ou avec AlCl_3 à 400°C . Il y aura alors formation d'un carbocation (qui peut se réarranger) et on obtiendra alors un alcène : c'est une déshydratation intramoléculaire. Dans certaines conditions (AlCl_3 à 250°C ou H_2SO_4 à 140°C) deux molécules d'alcool peuvent se déshydrater afin de former une fonction éther : on parle alors de déshydratation intermoléculaire. Le mécanisme réactionnel est le suivant :



Réaction 4 Exemple Déshydratation de l'alcool

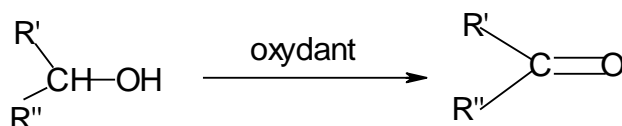
I-1-2-2 Oxydation des alcools.

-Les alcools primaires s'oxydent (Conditions de Jones : Acétone, CrO₃, H₂SO₄) en aldéhydes, puis facilement ils s'oxydent en acides carboxyliques. Pour éviter de former l'acide carboxylique, on utilise des conditions opératoires plus douces (Réactif de Collins: CrO₃, Pyridine). Il existe de nombreuses autres méthodes pour oxyder un alcool en aldéhyde. Le mécanisme est comme suit :



Réaction 5 Oxydation des alcools primaires

-Les alcools secondaires s'oxydent en fonction cétone dans les mêmes conditions (Acétone, CrO₃, H₂SO₄),



Réaction 6 Oxydation des Alcools secondaires

-Les alcools tertiaires ne s'oxydent pas

I-1-3 Normalisations et utilisations des alcools [9] [10]

I-1-3-1 Normalisation des alcools

La fabrication et l'utilisation des alcools ont des législations. Cependant, chaque pays a sa propre norme. C'est pourquoi la **normalisation** de l'alcool dépend essentiellement du pays producteur et utilisateur en question.

On se réfère par exemple aux quantités d'alcool acceptable dans le sang d'un humain, C'est à dire d'après quelques tests d'alcoolémie (*L'alcoolémie est la concentration d'alcool présente dans le sang*).

Selon la norme AFNOR 2013 :

En Allemagne, la concentration d'alcool dans le sang ne doit pas dépasser **0,446 g/l**. D'autres produits comme l'**Acétaldéhyde**, l'**Acétate d'éthyle** et les **alcools supérieurs** apparaissent souvent à faible taux.

En France, l'alcoolémie ne dépasse pas la concentration moyenne de 0,307 g/l sauf si l'alcool est à exporter, on peut forcer la dose jusqu'à une valeur 1,666g /l selon le pays importateur.

Pour les Hollandais, comme il n'y a pas encore de législation particulière, la référence est le degré éthylique.

En Italie, la concentration d'alcool dans le sang est comprise entre **0,666 g/l et 1,1g/l**. Tandis que la concentration moyenne du méthanol est de 0,02 g/l.

Madagascar n'a pas encore de législation de norme fixe. Les tests en vigueur sont presque inexistantes et unilatéraux.

On peut dire alors qu'il n'y a pas de norme fixe .Le taux d'alcool acceptable diffère d'un pays à l'autre. Les produits toxiques comme Acétaldéhyde ; Aldéhydes formiques et quelques alcools supérieurs qui sont souvent à l'état de trace dans les boissons alcooliques sont encore peu normalisés.

I-1-3-2 Utilisations des alcools

De nombreux domaines utilisent l'alcool soit en fonction de ses propriétés physico-chimiques suivant son degré éthylique soit en fonction de ses propriétés thérapeutiques. En général, ses utilisations sont classées en trois parties :

De sa valeur énergétique, l'Ethanol ou l'alcool absolu (degré éthylique > 85°) est le premier produit chimique utilisé en Allemagne pour la fabrication de carburant.

Cette utilisation de l'alcool comme carburant et combustible (kérosène) permet la réduction de l'émission des gaz à effet de serre. C'est pour cela que sa production prend une énorme ampleur même pour les pays développés.

A 90°, il brûle en donnant une flamme bleue et il est alors appelé combustible. Maintenant, on sait aussi que les appareils d'éclairage et les appareils de chauffage mobile fonctionnent par le biais de l'alcool dont la température de flamme peut dépasser 240 °C.

Médicalement, l'alcool joue le rôle d'antiseptique, d'anesthésie cutanée et solvant dans des médicaments volatils. Dans le domaine de cosmétologie, c'est un dissolvant et désodorisant. Il peut participer au lavage rapide des taches au niveau de notre visage. On le vend très peu dans les grandes surfaces en tant qu' « alcool pharmacie » à un degré variant de 75 à 90°. D'autre part certaines personnes l'utilisent à la place du Formol pour la conservation mortuaire.

Et enfin, il peut jouer son rôle de réactif dans des réactions chimiques. Et à notre époque, les travaux de textiles et de peinture sont à base d'alcool. En effet, c'est un désoxydant. C'est aussi un solvant qui sert à faciliter le phénomène d'adsorption en HPLC. En plus, la réaction d'estérification nécessite beaucoup d'alcool comme réactifs pour produire du savon. Les solvants des parfums sont en majorité des alcools.

En résumé, l'utilisation des alcools est très vaste dans plusieurs domaines. Mais on n'a cité que les grandes utilisations telles que industrielle, pharmaceutique et alimentaire selon la figure 2 suivante :

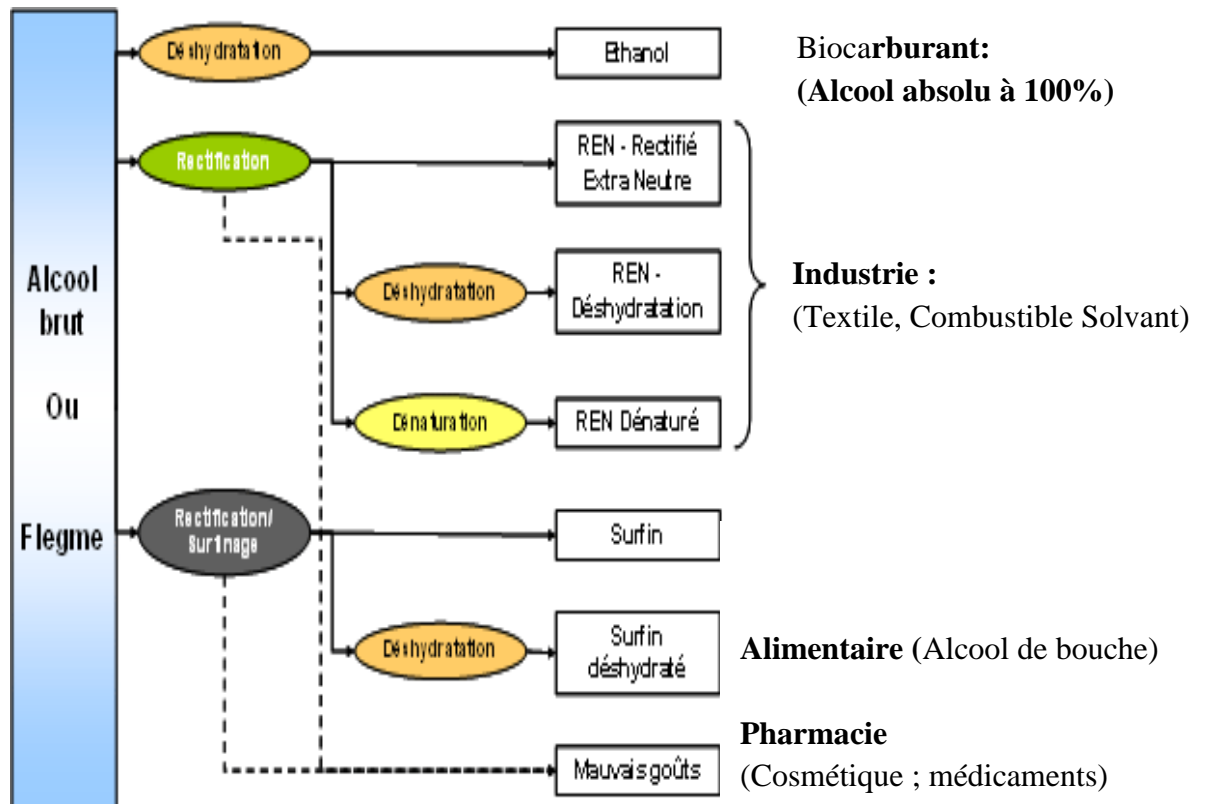


Figure 2 : Utilisation des alcools

I-2 Toxicité des alcools

[11]

I-2-1 Définition de la toxicité

La consommation abusive des alcools, l'ignorance des dangers des produits toxiques qui y sont présents entraînent des effets nocifs pour les consommateurs. Il faut alors considérer **la toxicité des alcools**.

La surconsommation des boissons alcoolisées induit des dégâts physiques et dérègle l'organisme surtout au niveau du *Cerveau, cœur, œsophage, foie, peau etc....*

La toxicité des alcools se manifeste de plusieurs manières. A savoir,

- a) **Toxicité directe** de l'alcool lui-même.
- b) **Toxicité des métabolites** de l'alcool (produits de sa dégradation par l'organisme)
- c) **Carences nutritionnelles** et déshydratation associées à l'alcoolisation.
- d) **Présence des additifs toxiques et produits secondaires** lors de la fermentation alcoolique.

I-2-2 Produits toxiques dans les alcools

Dans les alcools, il existe plusieurs constituants dont certains sont classés dangereux et toxiques comme le méthanol et les alcools supérieurs tels que l'isobutanol, le butanol, l'alcool isoamylique. Mais à part ces constituants, l'utilisation des additifs accentuent la toxicité des alcools de Madagascar lors de la fermentation.

Chaque constituant se caractérise par ses mauvaises conséquences.

➤ **ETHANOL**

Malgré que ce soit l'éthanol qui occupe le plus grand volume dans les boissons alcoolisées, sa dose devient mortelle dans le sang si celle-ci est supérieure à 0,05 %. Au niveau de notre système nerveux, l'éthanol provoque de la polynévrite ; des troubles neurologiques ; de la maladie de pathogénie incertaine ou ce qu'on appelle la dégénérescence cérébelleuse. Au niveau du foie, il engendre de la cirrhose qui entraîne alors le cancer du foie. A part cela, il entraîne aussi la nausée qui se terminera par un coma éthylique.

➤ **METHANOL**

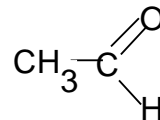
C'est un composé de formule semi-développée $\text{CH}_3\text{-OH}$. Sa dose mortelle dans le sang est supérieure à 0,118 % .Le méthanol attaque en général au niveau des nerfs optiques. Il perturbe la transmission de l'influx nerveux donc il y aura excitation puis dépression qui sera complétée par un état comateux pouvant aboutir à la mort.

➤ **PROPANOL**

Le propanol ou alcool propylique est un alcool primaire de formule semi-développée $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$. Il entraîne la toxicité neurologique, les troubles digestifs suivis par un vomissement et aussi un trouble de conscience. Il est deux fois plus neurotoxique que l'éthanol en provoquant alors une hypotension. Il est à l'état de trace dans les boissons alcooliques.

➤ **ACETALDEHYDE**

L'éthanal est aussi appelé acétaldéhyde, aldéhyde acétique, éthylaldéhyde ou oxoéthane, C'est un aldéhyde de formule chimique



Il irrite les muqueuses oculaires et respiratoires et entraîne la dermatose orthoergique et la bronchopathie chronique.

➤ **ACIDE ACETIQUE**

L'acide acétique ou acide éthanoïque est un acide carboxylique de formule chimique : $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ou CH_3COOH . L'acide acétique pur est aussi connu sous le nom d'acide acétique glacial. C'est un des plus simples acides carboxyliques. Il irrite les yeux, entraîne un vomissement, de la diarrhée et de la destruction de l'email dentaire, souvent quand l'alcool s'oxyde il donne un goût acide à la boisson.

➤ **LES ALCOOLS SUPERIEURS**

Les principaux alcools supérieurs sont l'alcool isobutylique (méthyl-2-propanol) et les alcools isoamyliques. Ils se forment par la décarboxylation des acides aminés. Ils entraînent la toxicité au niveau des systèmes respiratoire et digestif.

Par exemple, l'**alcool isoamylique** est un composé chimique de formule chimique $(\text{CH}_3)_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$: c'est un produit toxique. Il irrite les membranes muqueuses. A concentration élevée, il entraîne une dépression du système nerveux central.

II-Méthodologies d'analyse physico-chimique [13]

Les procédés d'analyse des alcools sont nombreux tels (RMN), SM, IR etc. Mais notre étude est basée sur les méthodes chromatographiques révélant un aspect quantitatif et qualitatif. Elles sont très rapides, sensibles et ne nécessitent pas une séparation des produits.

II-1 La Chromatographie en Phase Gazeuse : CPG

Cette méthode chromatographique permet de séparer des mélanges gazeux complexes ou liquides par une suite continue d'équilibres s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire liquide, ou parfois solide, placée à l'intérieur d'une colonne. Ce phénomène est poussé par un gaz dit **Gaz vecteur**.

II-1-1 Appareillage et matériel en CPG

La chromatographie en phase Gazeuse est une méthode de séparation des composés susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition c'est-à-dire à l'état gazeux.

Il comprend schématiquement 5 parties qui sont représentées dans la figure 3.

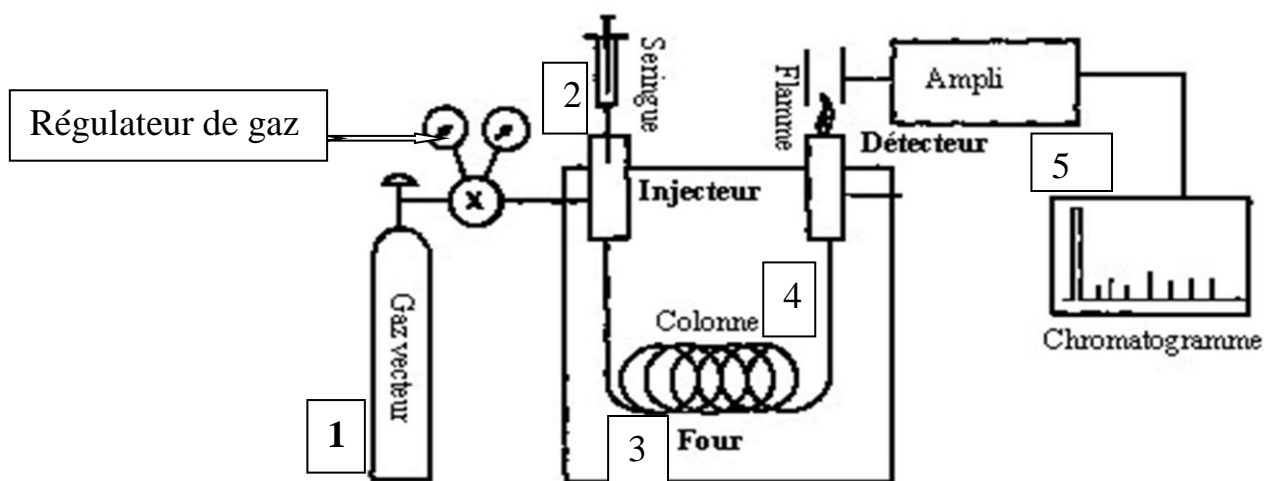


Figure 3 : Appareillage en CPG

II-1-1-1 Source de Gaz 1

Le gaz est conservé dans des bouteilles métalliques. La qualité de la chromatographie dépend du débit de ce gaz. De ce fait, la pression régnant dans le système chromatographique varie de **1 à 4 bars** et un régulateur de gaz est placé à la sortie de la bouteille à gaz pour contrôler et choisir la vitesse désirée. On doit utiliser des gaz à très grande **pureté**, **inerte** vis-à-vis des substances à éluer, ayant une très **faible viscosité** et ayant une conductibilité compatible au système de détection.

Les principaux gaz les plus sont l'azote, l'argon, l'hélium et l'hydrogène.

II-1-1-2 Chambre d'injection et procédés d'injection : 2

On injecte l'échantillon volatil à l'aide d'une micro-seringue avec un volume de l'ordre de 1 à 10 μl . Les solutions à injecter ne doivent pas être très concentrées et l'injection doit être rapide pour éviter l'élargissement des pics. Dans la chambre d'injection, la température doit être relativement élevée, par rapport à celle de la

colonne. Une technique appelée « **l'espace de tête** » (Head space) est mise en œuvre pour analyser les substances très volatiles comme les alcools et les essences afin de vaporiser au maximum la solution à injecter.

II-1-1-3 Four chromatographique : 3

Il est utilisé pour améliorer de manière efficace les séparations des substances. Pour cela, on lui adjoint fréquemment un dispositif permettant d'augmenter progressivement la température T qui peut atteindre 200 °C.

II-1-1-4 Colonne chromatographique : 4

La colonne est un tube étroit souvent en cuivre, aluminium ou plastique destinée à contenir la phase stationnaire. La plus usuelle est la colonne en **acier inoxydable, moins fragile ou en verre**. Sa longueur varie de 1 à 4 mètres, de forme spiralée ou largement courbée afin d'occuper des volumes restreints dans le four et son diamètre est compris entre 0,1 mm et 2 mm.

On distingue les **colonnes de type classique** dans lesquelles la phase stationnaire est fixée sur une phase support solide et les colonnes capillaires où la phase stationnaire est le plus souvent déposée sur la paroi elle-même.

II-1-1-5 Détecteurs et enregistreurs : 5

Les détecteurs sont placés à l'extrémité des colonnes. Ils décèlent la présence des substances dans le gaz vecteur au fur et à mesure de leur élution. Il y a modification de propriété physique ou parfois chimique du gaz et ces variations sont transformées en signaux électriques. L'enregistreur transcrit alors ces signaux en courbe sensiblement gaussienne. L'enregistrement qui se fait de manière continue, dans le sens de déroulement du papier puis en hauteur en fonction de la qualité des produits crée une ligne de base des pics. Ces pics sont enregistrés en fonction des **temps de rétention** des molécules séparés. On en obtient alors un **Chromatogramme**.

Mais si la colonne n'est pas bien conditionnée ou que le détecteur est instable, alors la ligne de base serait irrégulière et donnerait des petits pics plus ou moins important. Il y a plusieurs types de détecteurs selon le tableau 1 suivant.

Tableau1 : type de détecteurs en CPG

Type de détecteurs	Sélectivité et produits détectés	Sensibilité
Ionisation de flamme (FID)	La plupart des produits organiques tels que les alcools	10^{-10} g
Conductibilité thermique (TCD)	Universel	10^{-8} g
Capture d'électrons(ECD)	Produits halogénés, organométalliques	10^{-13} g
Thermo-ionisation (TID)	Produits azotés ou phosphorés	10^{-11} g
Photo-ionisation (PID)	Produits oxygénés, soufrés, organométalliques...	10^{-12} g
Photométrie(FPD)	Soufrés, phosphorés, organométalliques...	10^{-10} g

Le détecteur à Ionisation de Flamme (FID) peut détecter toutes molécules organiques avec une sensibilité 10^{-10} g. De ce fait, c'est le détecteur le plus utilisé en analyse quantitative et qualitative des alcools.

II-1-2 Phase stationnaire et phase mobile

II-1-2-1 Phase stationnaire

La phase stationnaire est celle qui contient les composés à analyser. Selon leurs polarités, on en distingue les phases apolaires et les phases polaires. Les premières sont à base d'hydrocarbures aliphatiques saturés ou de silicones (Squalane, Apiezon,...). Les secondes sont des polymères possédant des fonctions polaires: polyols, polyesters, polyamides.

En général, les phases polaires retiennent plus les composés polaires, alors que ceux-ci sortent plus rapidement des colonnes apolaires que les composés apolaires.

II-1-2-2 Phase mobile

La phase mobile gaz vecteur (H_2 , N_2 , etc.) entraîne les produits qui sont plus ou moins retenus par la phase stationnaire par phénomène d'adsorption. Ce qui permet de séparer les échantillons.

II-1-3 Méthode d'étalonnage Interne

La méthode d'étalonnage interne consiste à injecter des produits qu'on estime être présents dans l'échantillon et dont on connaît les grandeurs de rétentions.

Cette méthode nous permet de doser une espèce (P) dans un mélange lorsque le volume injecté n'est pas précis (fidélité supérieur à -1 %). Elle nécessite la réalisation d'un chromatogramme étalon (et) et l'ajout d'une espèce inerte appelée étalon interne (E) dans l'étalon et dans l'échantillon. Elle est basée sur l'exploitation de la relation 1 suivante :

$\rho_P = \rho_E \frac{\rho_P^{et}}{\rho_E^{et}} \cdot \frac{\%A_E^{et}}{\%A_P^{et}} \cdot \frac{\%A_P}{\%A_E}$	ρ_E	Concentration massique en étalon interne dans l'échantillon (fixée par l'opérateur)
	ρ_E^{et}	Concentration massique en étalon interne de l'étalon (fixée par l'opérateur)
	$\%A_E$	Pourcentage surfacique du chromatogramme en étalon interne de l'échantillon (déduit du chromatogramme échantillon)
	$\%A_E^{et}$	Pourcentage surfacique moyen du chromatogramme en étalon interne de l'étalon (déduit du chromatogramme étalon)

Relation 1 : Méthode Etalonnage interne

Cette méthode peut être aussi utilisée en HPLC lorsque le volume du boucle d'injection est mal calibré (source d'erreur : appareil) et en CPG. Elle détermine numériquement la quantité de chaque constituant dans l'échantillon analysé.

II-1-4 L'Indice de rétention de KOVATS

L'indice de rétention d'une substance est une grandeur calculée en référence par rapport à deux pics étalons.

KOVATS se base sur la relation linéaire existant entre le logarithme du volume de rétention spécifique ou du temps de rétention et le nombre de carbone dans une série homologue. La droite de KOVATS a comme équation :

Log V = An + B (Relation 2 :Equation de la droite de KOVATS)

Où A et B sont des constantes et **n** le nombre de carbone de la paraffine

Il a proposé la formule suivante en fonction des distances de rétention pour évaluer son indice noté I_i .

$$I_i = 100 \times \frac{\log d_{RX} - \log d_{Rmin}}{\log d_{Rmax} - \log d_{Rmin}} + 100n_{min} \text{ (Relation 3)}$$

Dans cette relation 3, d_{RX} désigne la distance de rétention de la substance étudiée, d_{Rmin} la distance de rétention d'une paraffine à nombre de carbone inférieur et d_{Rmax} représente le nombre de carbone supérieur quand $n_{max} = n_{min} + 1$.

II-2 Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance (HPLC) [14]

La chromatographie en phase liquide à haute performance possède un vaste champ d'application analytique et permet notamment d'analyser les molécules thermosensibles, de polarité élevée. Elle se caractérise par les phénomènes physiques qu'elle exploite comme l'adsorption, l'échange d'ions et l'exclusion-diffusion.

II-2-1 Appareillage et matériel en HPLC

L'appareil utilisé doit être capable de supporter les pressions élevées par la finesse granulométrique **des phases stationnaires**. Il est alors formé de matériaux en acier inoxydable résistant à la corrosion chimique, **des phases mobiles** qui sont **liquides**.

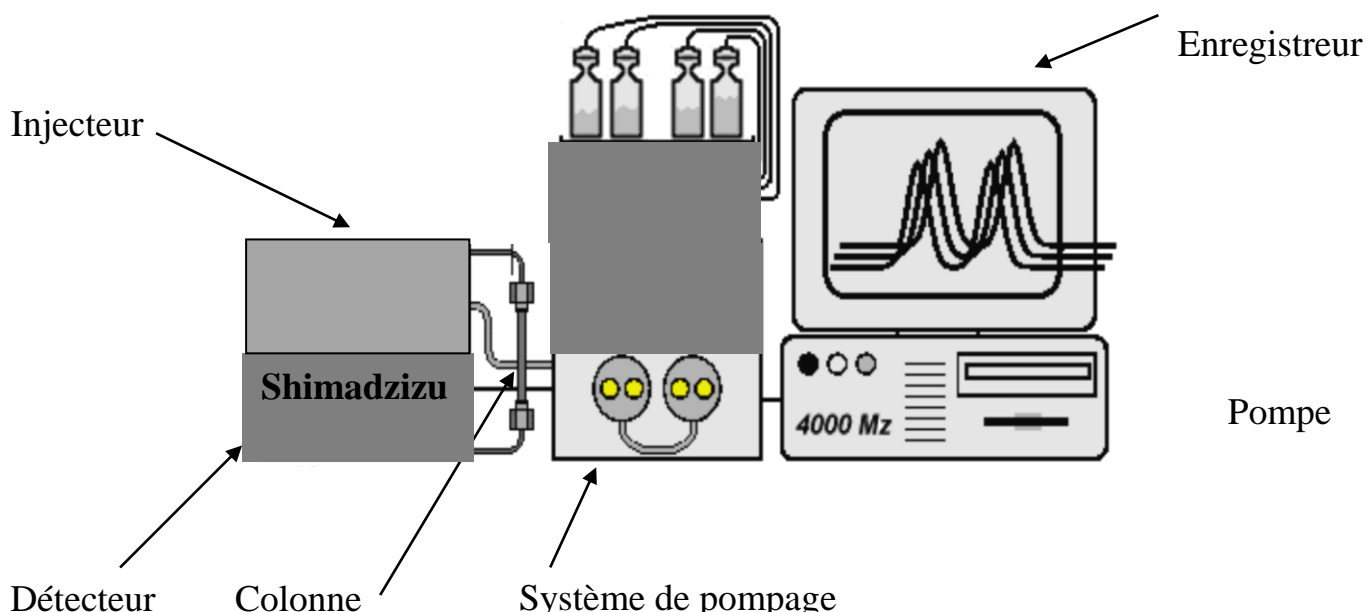


Figure 4 : Appareillage en HPLC

L'appareil comprend essentiellement :

II-2-1-1 Réservoirs de phase mobile.

Le volume de réservoir de phase mobile liquide nécessaire est de l'ordre de 20 à 50 ml. Ceci dépend des volumes suffisants pour effectuer une bonne séparation analytique. Ces réservoirs doivent être étanches afin d'éviter l'évaporation des solvants ou leur contamination par la vapeur d'eau de l'atmosphère.

S'il y a des gaz dissous dans les réservoirs, on doit les éliminer à l'aide des dispositifs de barbotage ou d'agitation magnétique.

II-2-1-2 Système de pompage

La pompe d'un chromatographe a pour rôle de provoquer dans la colonne un écoulement de la phase mobile compatible pour une meilleure séparation chromatographique.

Ces pompes doivent être très puissantes car la viscosité des solvants et la finesse des grains des phases stationnaires entraînent des différences de pression très importantes de **50 ou 100 bars**. C'est ce qu'on appelle **perte de charge** entre le sommet et l'extrémité des colonnes.

On distingue deux types de pompes :

II-2-1-2-1 Pompes à pression constante

Ce sont des pompes pneumatiques qui par l'intermédiaire d'un gaz inerte imposent une pression constante à la phase mobile. Comme elles ne peuvent pas corriger les modifications de débits dus aux changements de la perméabilité de la colonne ou aux variations de viscosité, on les utilise maintenant pour le remplissage de colonne.

II-2-1-2-2 Pompes à débit constant

Il s'agit de pompes à débit constant assujettissant la pression à la perméabilité des colonnes. Le débit varie entre **0,01 ml à 10 ml /mn**.

II-2-1-3 Système d'introduction des échantillons

L'injection est le fait d'introduire les échantillons à l'état liquide. Elle dépend des volumes précis de l'ordre de microlitre à des pressions auxquelles s'effectue la séparation. Il y a deux types de procédés d'injection :

II-2-1-2-1 Procédés par injection directe :

Ces procédés sont possibles lorsque les quantités sont moins importantes et les pressions inférieures à 150 bars. On introduit alors directement les échantillons à l'aide d'un micro-seringue.

II-2-1-2-2 Procédés par « boucles »

Elles permettent l'injection des volumes variables allant du **microlitre au millilitre**. On introduit alors l'échantillon dans une « boucle » isolée par la fermeture des vannes d'injection à une pression ordinaire. Ce système permet d'éviter un brusque changement de pression. En diminuant les irrégularités des injections et augmentant la reproductibilité, la quantité introduite doit être obligatoirement égale au volume de la boucle.

II-2-1-4 Colonne en HPLC

Elle est formée d'acier inoxydable, de longueur inférieure à 60 cm. Le diamètre **d** des colonnes varient selon les types de chromatographe.

- Si $d = 1 \text{ mm}$, On parle de chromatographie à micro-débit (vitesse linéaire constante).
- Si $d = 4,6 \text{ mm}$, on parle d'une chromatographie analytique classique.
- Si $d = 8 \text{ mm}$, il s'agit d'une chromatographie semi-préparative.

On peut avoir deux classes de phase dans une colonne.

II-2-1-4-1 Colonnes en phase normale

Ce sont des colonnes dont la phase stationnaire est polaire et acide permettant d'avoir une interaction entre soluté et solvant comme suit :

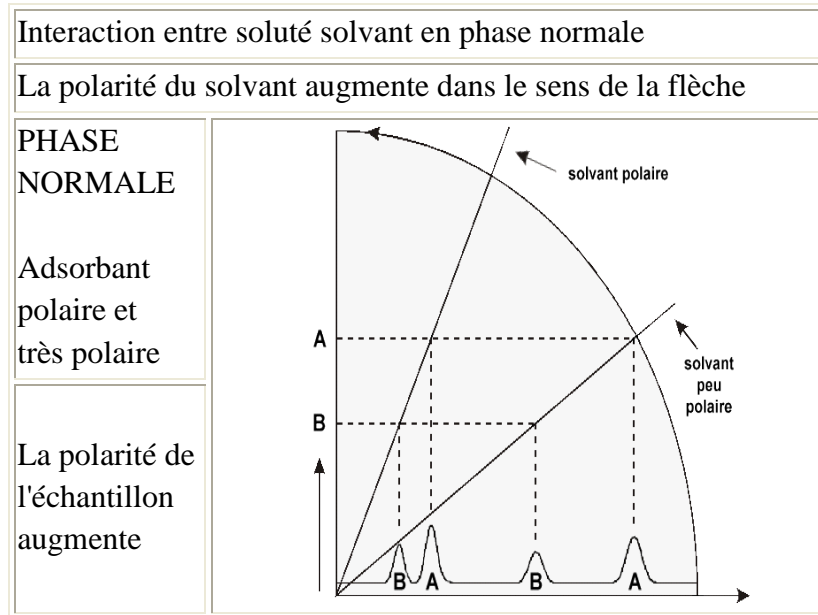


Figure 5 : Colonne en phase normal

II-2-1-4-2 Colonnes en phase inversée

Dans ce type, la séparation se fait sur une phase non polaire ou peu polaire par un solvant très polaire.

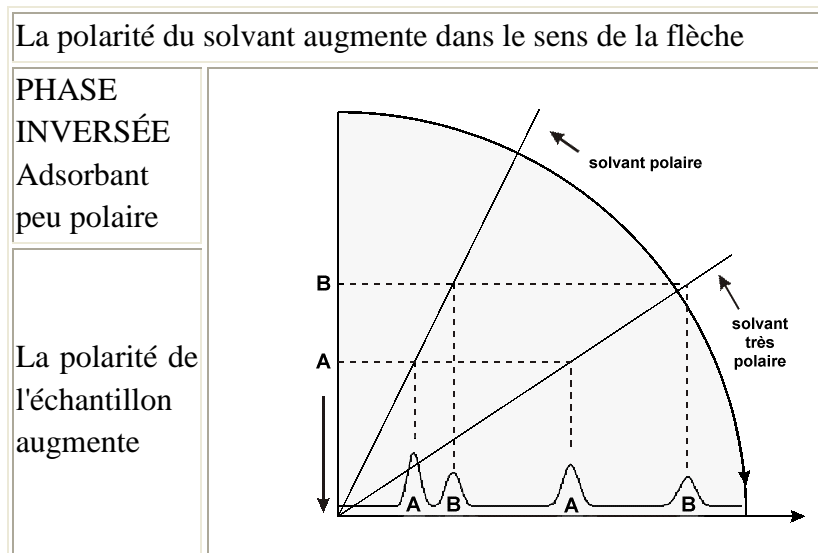


Figure 6 : Colonne en phase inversée

II-2-1-5 Système de détection et d'enregistrement.

Le Détecteur détecte un à un les constituants sortant de la colonne. Il mesure en continu l'absorbance du liquide à une longueur d'onde choisie en fonction de la molécule recherchée ce qui permet de suivre la sortie des différentes molécules de la colonne.

Les types de détecteur utilisés en HPLC sont :

- Ultra-violet** : le plus couramment utilisé, de manière quantitative
- Réfractométrie** : mesure universelle, peu pratique et peu sensible
- Fluométrie** : sélectif, sensible et quantitatif
- Electrochimie** : détection des substances oxydables, réductibles, très sensible, d'une manière quantitative.

Dans notre cas, nous avons utilisé un **détecteur Réfractomètre** qui mesure la variation de l'indice de réfraction du liquide à la sortie de la colonne. Cette mesure, extrêmement précise, dépend néanmoins de la température du liquide. On compare cet indice avec celui de la phase mobile pure : il y a donc une référence d'où le terme de variation de l'indice.

-**L'enregistreur** est celui qui recueille les pics chromatographiques, leurs surfaces et les temps de rétention des constituants. On obtient un chromatogramme qui est représenté comme suit :

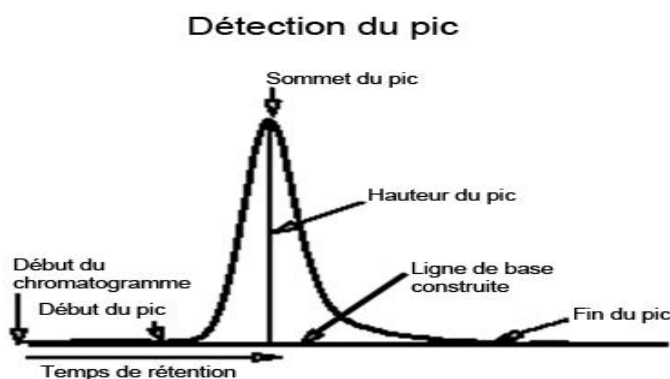


Figure 7: Description d'un chromatogramme

Un pic chromatographique commence par « le début de pic » puis passe par « le « sommet du pic » issu d'une « ligne de base » et se termine par la « fin du pic ». Le tout forme une courbe Gaussienne enregistrée en fonction du temps.

II-2-2 Phase stationnaire, phase mobile et phénomène d'adsorption

II-2-2-1 Phase mobile

Elle constitue le système d'élution par les solvants de la phase stationnaire . C'est au niveau de la phase stationnaire que les molécules de la phase mobile entrent en compétition avec les molécules de solutés. Le passage de la phase mobile ne doit pas modifier la phase stationnaire. Ceci implique une inertie chimique et aussi une insolubilité rigoureuse des deux phases.

II-2-2-2 Phase stationnaire

Cette phase est immobilisée à l'intérieur de la colonne et retenue par un disque poreux en acier inoxydable fritté dont la porosité est suffisamment faible pour retenir les plus fines particules. Ces phases sont constituées par de très fines particules (silice ou

alumine), de forme irrégulière ou homogène. Cette phase ne doit pas réagir par le passage de la phase mobile.

II-2-2-3 Phénomène d'adsorption

L'adsorption est un phénomène physique (équilibre entre vaporisation et condensation) afin de fixer les molécules sur la surface d'un solide. Il y a une force d'interaction intermoléculaire entre deux molécules. De ce fait, on dit que l'adsorbant adsorbe de manière réversible l'adsorbat. Il existe un équilibre dynamique d'adsorption entre les solutés et la phase stationnaire. Dans ce phénomène, lorsque les substances sont très retenues, les opérations seront longues

II-2-3 Indice de KOVATS en HPLC [15]

L'objectif est de caractériser la rétention de différents solutés sur une phase stationnaire. Pour un alcane linéaire : $I = 100n$, avec n : le nombre d'atomes de carbones. La droite de **KOVATS** est établie sur une série **d'homologues** et dans des conditions opératoires fixées en **régime isotherme et isobare**.

La droite de KOVATS a comme équation $\text{Log } t_R' = an+b$ (Relation 4)

Pour un composé X : $I_X = 100\alpha$, avec α le nombre fictif d'atomes de carbone de l'alcane linéaire équivalent.

L'indice de KOVATS noté ici I_X s'écrit comme suit :

$$100n+100 \frac{\log TR_x - \log TR(n)}{\log TR_{n+1} - \log TR(n)} \quad (\text{Relation 5})$$

II-2-4 Solvants utilisés en HPLC [16]

Selon leurs polarités, les solvants que l'on utilise ont chacun leurs utilisations. Le tableau 2 suivant montre la classification **des solvants suivant leurs polarités** :

Tableau 2 : solvants utilisés en HPLC.

	Noms des solvants	<u>Polarités</u>
Solvants polaires	-EAU	10
	- DMSO	7
	- ACIDE ACETIQUE	6
	- ACETONITRILE	6
Solvants de polarité moyenne	- METHANOL	5
	- ETHANOL	4
	- CHLOROFORME	4
	- PROPAN-2-OL	4
	- THF	4
	(TETRAHYDROFURANE)	4
	- PROPANOL	4

L'eau est donc le solvant courant le plus polaire tandis que le cyclohexane est le plus apolaire. Les solvants sont donc classés selon leur force qui va dans le même sens que leur polarité.

II-2-5 Méthode d'étalonnage externe

L'étalonnage externe consiste à préparer une gamme étalon avant injection des échantillons. De ce fait, il est possible de se référer aux proportions des étalons. Il se peut qu'on ne trouve pas des temps de rétention semblable entre échantillon et étalon. Si la différence de temps de rétention entre le pic étalon et le pic de l'échantillon est prise entre 10 à 40 secondes, on peut affirmer que l'échantillon n'est autre que l'étalon proposé. Cette méthode permet de doser au moins une espèce (P) dans un mélange et s'emploie lorsque le volume injecté est précis (fidélité $< \sim 0,5\%$). Elle nécessite la réalisation d'au moins deux chromatogrammes étalons 1 (et) et est basée sur l'exploitation de la relation suivante :

$\rho_P = \rho_P^{et} \cdot \frac{\%A_P}{\%A_P^{et}}$	ρ_P	Concentration massique à déterminer
	ρ_P^{et}	Concentration massique moyenne de l'étalon (fixée par l'opérateur)
	$\%A_P$	Pourcentage surfacique du chromatogramme du produit P de l'échantillon (déduit du chromatogramme échantillon)
	$\%A_P^{et}$	Pourcentage surfacique moyen du chromatogramme du produit P de l'étalon (déduit du chromatogramme étalon)

Relation 5 : Méthode d'étalonnage externe

Ce calcul implique l'utilisation de valeurs de ρ_P^{et} et de $\%A_P^{et}$ validée par un test de concordance (fidélité de l'ordre de 0,5-1% selon le dosage, ce qui permet d'estimer une incertitude $\Delta\rho_P$). De même, le calcul ρ_P doit être confirmé par deux valeurs concordantes. On exprime le résultat sous la forme :

$$\rho_P = \rho_{P,moy} \pm \Delta\rho_P$$

Relation 6 : Concentration massique d'un constituant

Cette méthode peut être utilisée en CPG lorsque le volume de liquide présent dans la Seringue est correctement estimé (source d'erreur : précision de la seringue, opérateur).

Partie II
Travaux personnels

I- Conditions d'analyse pour CPG et HPLC

Un des critères pour le choix de l'échantillon est la provenance impliquant une qualité spécifique. Une comparaison des qualités nous permet de normaliser, de déduire son degré de toxicité. Les échantillons d'alcools sont numérotés: E1/NJR1, E2/NJR2, E3/NJR3/ et E4/NJR4.

A chaque échantillon analysé, on a essayé d'interpréter les résultats des analyses et d'en tirer une conclusion partielle concernant sa toxicité.

I-1-Analyse par CPG

L'analyse a été faite au laboratoire de la protection des végétaux (GTZ). Les analyses ont été faites sur un chromatographe CPG dont les caractéristiques sont données dans le tableau 3

I-1-1 Mode opératoire

Les matériaux tels les verreries, seringue, etc. ont été rincés avec de l'Ethanol pour éviter la présence des produits indésirables. On a mesuré un volume précis de **10µl** de l'échantillon que l'on a déposé dans un récipient sec et bouchonné afin de ne plus faire varier le volume à analyser. Pour ne pas interrompre l'analyse, on doit vérifier le fonctionnement du chromatographe, le débit de gaz nécessaire et le choix de solvant adéquat.

Ainsi on peut effectuer la première injection de la gamme étalon puis respectivement les volumes des échantillons mesurés au préalable. ces mêmes opérations sont refaites autant que nécessaires.

I-1-2 Conditions chromatographiques en CPG

Les conditions chromatographiques pendant toutes les analyses sont résumées dans le suivant.

Tableau 3: Conditions chromatographiques de l'analyse par CPG

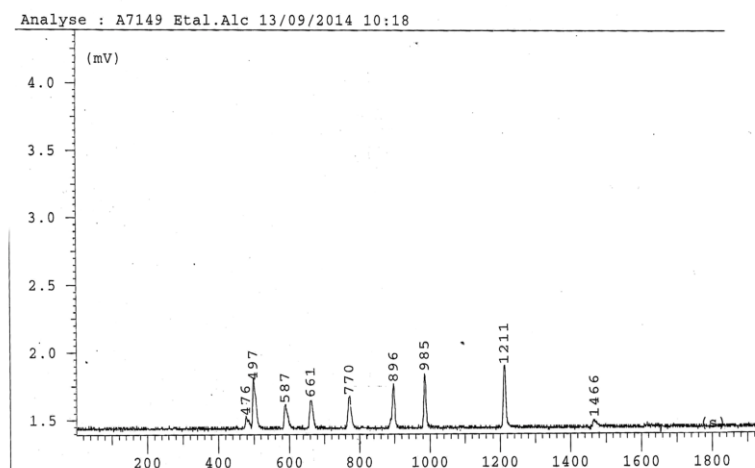
Chromatographe	SHIMADZU GC 14 A
Détecteur	FID ou Détecteur à ionisation de flamme de température 260 °C
Colonne	colonne capillaire, BP 20 (Polyéthylène glycol) (30m x 0,32 mm x0,25µm)
Four	45° à C 230 °C (3°C/mn)
Injecteur	240 °C
Volume utilisé	10 µl
Gaz vecteur	Azote N ₂ dont débit 3ml/mn et fuite 50 .1
Intégrateur	5mm/mn
Durée d'analyse estimée	environ 30 mn

I-1-3 Choix d'Etalon interne

Lors des différents essais chromatographiques sur les échantillons, nous avons remarqué qu'aucun pic ne se présente au temps de rétention du pentanol sur les

chromatogrammes obtenus. Ce dernier a été choisi alors comme référence interne. Une gamme d'étalon a été injecté afin d'identifier les pics de l'échantillon.

L'injection de la gamme étalon nous permet d'obtenir le chromatogramme suivant.



```

A7149S Etal.Alc 13/09/2014 10:18
RESULTATS D'INTEGRATION
-----
FICHER : A7149 Etal.Alc
METHODE : MI982
TEMPS SURFACE CB
476 1038 z1
497 3825 z2
587 2086 z1
661 2315 z1
770 2536 z1
896 2962 z1
985 2931 z1
1211 3689 z1
1466 644 z1
TOTAL: 22026
    
```

Figure 8 : Chromatogramme étalon CPG

Ce chromatogramme de la figure 8 nous permet de déterminer les temps de rétention des produits qui serviront de référence afin d'interpréter les résultats des injections des échantillons en CPG. Les temps de rétention y sont exprimés en secondes.

Tableau 4: Propriétés des produits de la gamme étalon en CPG

Pics	temps de rétention	Surfaces	Produits
1	476	1038	METHANOL
2	497	3825	ETHANOL
3	587	2086	ISOPROPANOL
4	661	2315	BUTANOL-1
5	770	2536	ISOBUTANOL
6	896	2962	ALCOOL ISOAMYLIQUE
7	985	2931	PENTANOL (STANDARD)

8	1211	3689	HEXANOL
9	1466	644	ACIDE ACETIQUE

Nous avons constaté que les molécules facilement volatiles sont détectées et sortent les premières de la colonne d'un appareil de CPG. Dans cette gamme d'étalon, à 644 secondes apparaît le premier le pic d'acide acétique du à l'existence de deux atomes d'Oxygène qui rendent la molécule plus vaporisable. Puis après, les pics des alcools sortent un à un selon leurs temps de rétention respectifs

I-2 Analyse par HPLC

L'analyse par HPLC a été faite au LIA ou Laboratoire International Associé (Université d'Antananarivo – Université Lyon 1) à Ampasapito.

Cette analyse consiste à réaliser la chromatographie les produits à l'état liquide sans être vaporisés.

I-2-1 Mode opératoire en HPLC

Nous avons injecté le même volume de 10 µl pour chaque échantillon puis fait des dilutions à 6 % en précisant bien les mesures des volumes

L'atténuation de l'appareil est réglée à 1 pour avoir un chromatogramme net. Mais souvent on la varie pour saturer la courbe gaussienne dans le but de faire apparaître les petits pics. Comme l'appareil est très sensible, il est nécessaire de le conditionner et de faire des dilutions en cascade.

I-2-2 Conditions chromatographiques en HPLC

Les conditions chromatographiques sont données dans le tableau 5 suivant.

Tableau 5 : Conditions chromatographiques en HPL

Injecteur	Caractéristiques
Volume injecté	10 µl
Pompe	LC-10A Shimadzu (50 à 100 bars)
Colonne	RP-18 5 micromètre
Détecteur	Refractomètre Shimadzu RID-10 A
Enregistreur	Shimadzu C-R6A dont l'atténuation est réglée à 4
Durée d'analyse estimée	15 mn /échantillon

Remarque : les analyses ont été effectuées à température ambiante, en utilisant l'eau comme phase mobile avec un débit de 0,6 ml par minute

I-2-3 Choix d'Etalon externe

Des solutions de références de **méthanol, de fructose, de glucose et de sucrose** de concentrations connues ont été injectées et ont permis d'obtenir les chromatogrammes de la figure 9 suivante.

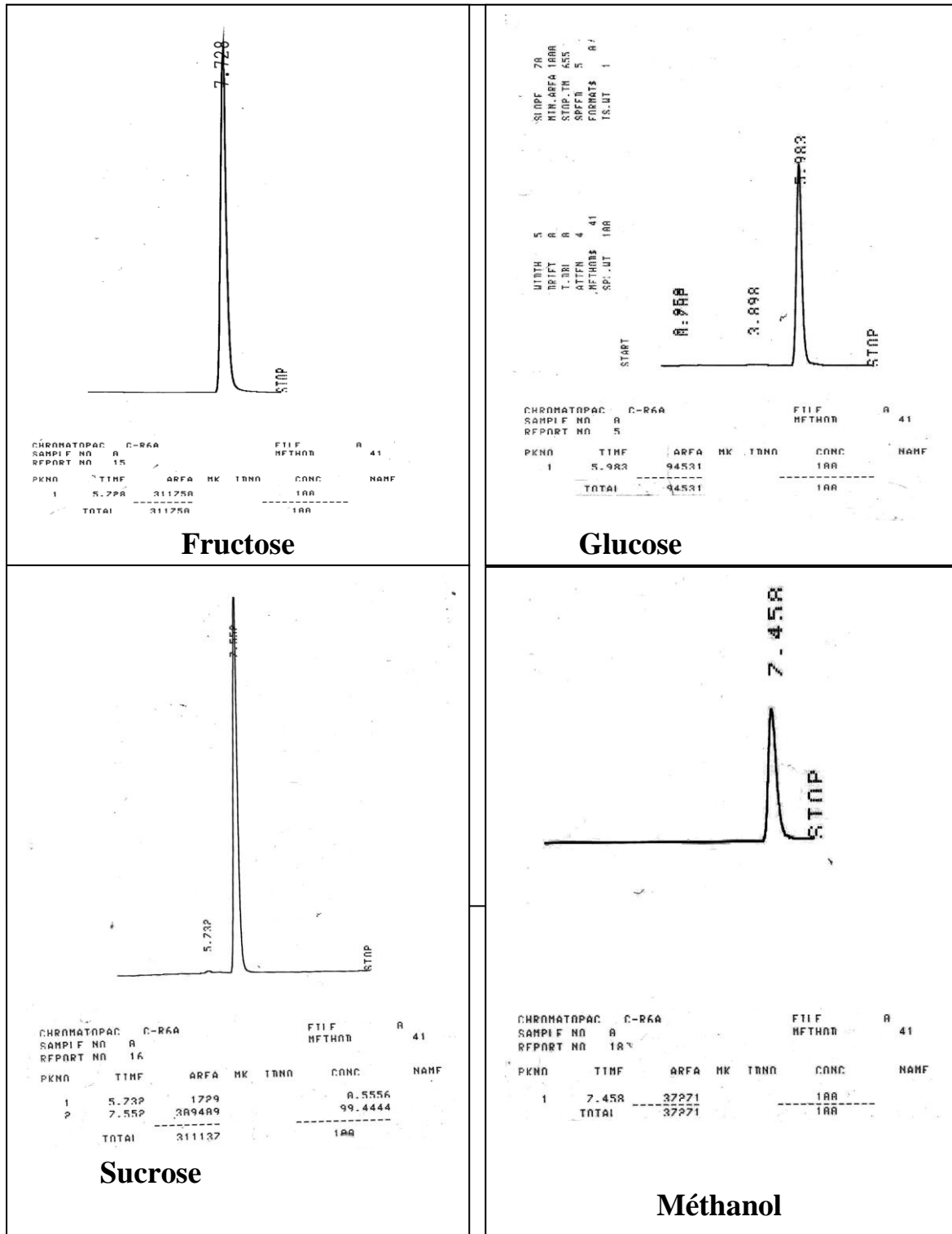


Figure 9 : Etalons externe en HPLC

On a choisi les conditions auxquelles les pics de l’Ethanol et du Méthanol sont parfaitement séparés et élués respectivement vers 12.01 min et 7.45 min. Les autres références Glucose, fructose et sucrose ont alors été élué respectivement vers 5.56, 5.72, et 7.55.

Pour avoir plus de précision, une nouvelle gamme étalon a été préparée : étalon d'alcool éthylique à 38 %, 40 %, 42 %, 43 %, 44 %, 45 % et 46 %.

I-2-4 Dosage Ethylique en HPLC

On sait que l'éthanol est toujours en grande quantité dans un échantillon d'alcool. Ainsi par définition, cette méthode consiste à déterminer le rapport entre le volume d'éthanol à une température T dans un mélange eau-alcool et le volume total de ce mélange à la même température.

II- Etudes des échantillons

II-1 Résultats et interprétations des analyses chromatographiques

II-1-1 Etude de l'échantillon E1/NJR1

E1 /NJR1 est un alcool combustible dénaturé et industriel de couleur bleue dont l'origine est l'usine Madagascar Energy Combustible (MEC) situé à Ranomafana qui peut produire 1000 litres d'alcool par jour. Son degré éthylique est étiqueté à 90°. Il brûle en donnant une flamme bleue. Il a été conservé dans un bidon plastique jaune. Il est donc probable qu'il soit contaminé par le naphthalène. Sa couleur bleue est due à l'addition de bleu de méthylène.

II-1-1-1 Analyse de E1/NJR1 par CPG

Le chromatogramme suivant (figure 9) montre 6 pics chromatographiques. Les temps de rétention et leurs surfaces d'intégration respectives sont donnés directement par l'appareil.

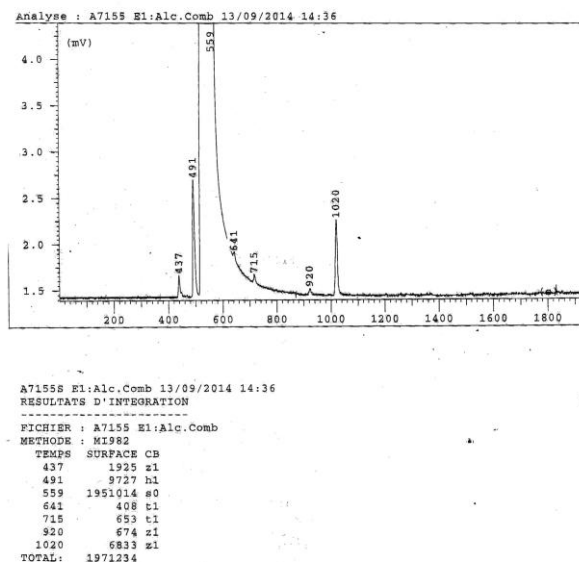


Figure 10 : Chromatogramme de E1/NJR1 par CP

Ce chromatogramme nous amène à dresser le tableau 6 des résultats suivant.

Tableau 6 : Résultats de l'analyse de E1/NJR1 par CPG

I

Pics	TR [seconde]	Surfaces des p i c s	Produits correspondants	Pr [%]
1	437	1925	Acétaldéhyde	0,0976
2	491	9727	Méthanol	0,4930
3	559	1951014	Ethanol	98,9700
4	641	408	Butanol	0,0200
5	715	653	Isobutanol	0,0330
6	920	674	Alcool Isoamylique	0,0230
7	1020	6833	Pentanol (standard)	0,3460
<u>Total</u> 1971234				

En premier lieu, on observe d'après le chromatogramme qu'il n'y a aucun chevauchement de pics. Cela veut dire que les produits sont bien séparés et que les conditions chromatographiques sont respectées.

Le pic de l'éthanol est le plus grand mais son pied n'est pas symétrique donc il se peut qu'il renferme d'autres produits. Etant donné qu'il y est le produit majoritaire, le pourcentage en quantité relative est la plus forte à 98,97%. Mais afin de détecter les autres produits, il faut augmenter le rapport du signal sur bruit.

A part l'éthanol et le méthanol nous avons constaté la présence des **4 alcools supérieurs** de pourcentage assez faibles mais non négligeables étant donné que ces produits sont responsables du goût de l'alcool et de sa toxicité. Le méthanol est le deuxième produit majoritaire avec le pourcentage relatif 0,2651. Mais étant donné que son pourcentage ne dépasse pas 0,5 %, sa consommabilité est encore acceptée. Pourtant, la présence de ce constituant affirme encore la toxicité d'E1/NJR1.

L'échantillon E1/NJR1 est ensuite analysé par HPLC afin de comparer les proportions des constituants et les produits d'analyse

II-1-1-2 Analyse de E1/NJR1 par HPLC

Comme précédemment, on a obtenu aussi un chromatogramme (figure 9) montrant les pics de E1/NJR1 qui sont regroupés dans le suivant tableau 7 suivant.

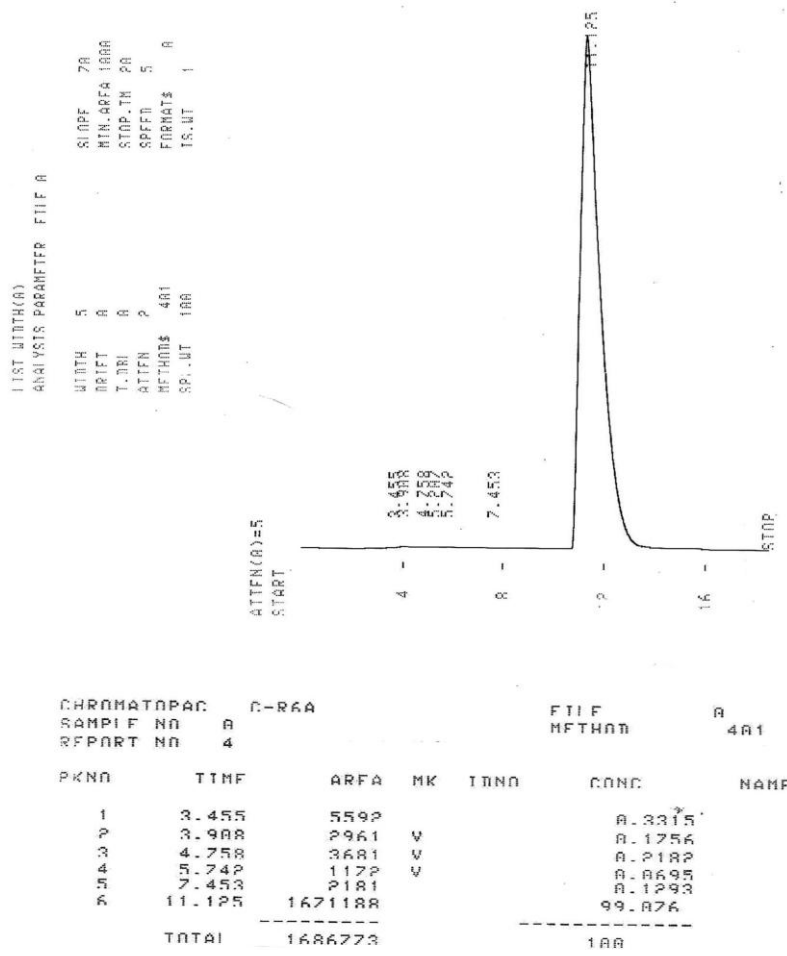


Figure 11 : Chromatogramme de E1/NJR1 par HPLC

Tableau 7 : Résultats de l'analyse de E1/NJR1 par HPLC

Pics	Produits	Temps de rétention (en min)	Surfaces	Pourcentage des constituants par rapport aux pics	Degré éthylique
1	Inconnu	3,455	5592	0,313	90°.00 ± 0.24
2	Inconnu	3,908	2961	0,175	
3	Inconnu	4,758	3681	0.218	
4	Glucose	5,742	1172	0,069	
5	Méthanol	7,453	2181	0.129	
6	Ethanol	11,125	1671188	99,076	
Surface totale 1686773					

En premier lieu, ce chromatogramme indique la présence des produits suivants : **éthanol ; méthanol et glucose** qui sont des alcools et du sucre provenant du reste de la fermentation et trois produits inconnus de pourcentage non négligeable.

L'existence des groupes chromophores C-O a permis de détecter le glucose à $T_R = 5.742$ mn. C'est un sucre soluble dans l'eau qui est le solvant vecteur (éluant). Par

contre on remarque qu'il n'a pas été détecté en phase gazeuse. Ainsi seule la méthode HPLC a permis de révéler sa présence dans l'échantillon.

En second lieu, l'analyse nous montre que c'est toujours l'éthanol qui est en le produit majoritaire avec un pourcentage de 99,076 %. On se réfère à ce dernier pour calculer le degré Ethylique de l'échantillon.

Le calcul du degré éthylique est donné par la formule suivante :

$$D = \frac{V \text{ cm}^3 \text{ d'alcool}}{100\text{cm}^3 \text{ de la solution}} \text{ (Relation 7)}$$

D'après la relation 6, on a trouvé que notre échantillon possède un degré éthylique $D = 90^\circ \pm 0,24$ au lieu de l'estimer 55° . Ce qui correspond bien à l'étiquette indiquée du fabricant. Cette valeur de degré éthylique prouve que E1/NJR1 est bien un très bon alcool combustible (degré supérieur à 85%).

Trois produits restent inconnus avec leurs T_R respectifs 3,455min – 3,908min - 4,758 min mais leurs pourcentages demeurent infimes.

On remarque que les alcools présents en HPLC sont seulement **l'éthanol** et le **méthanol**, les autres alcools et produits détectés en CPG ne sont pas visibles en HPLC. Seul le sucre (glucose) est trouvé en HPLC.

Ainsi, on constate qu'il y a une certaine complémentarité entre les deux méthodes CPG et HPLC pour analyser les alcools et les sucres.

II-1-2 Etude de l'échantillon E2/NJR2

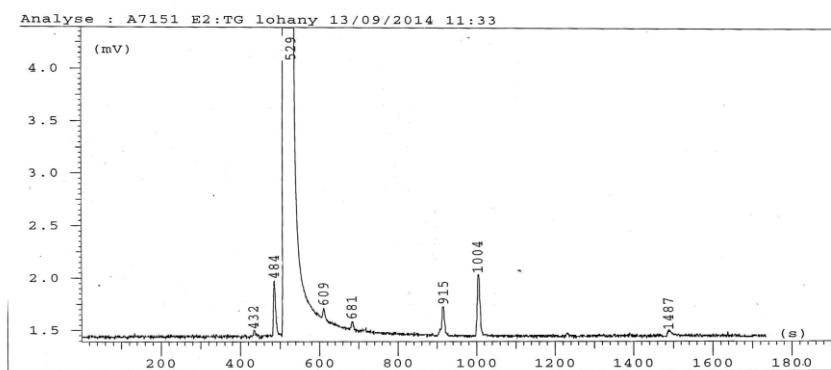
E2/NJR2 est une **tête d'alcool de bouche locale** (Lohana Toaka Gasy) récolté dans la Province de Fianarantsoa, à Ambositra, dans le lieu dit Imady. Le degré éthylique est estimé à 55° . Il est incolore et fort. Mais en présence d'une flamme, il donne une flamme rougeâtre au lieu de bleue. Ceci nous incite à dire qu'il contient de l'eau et d'autres produits. Les fabricants confirment qu'ils ont utilisé du SEVABE (*Solanum auriculatum*) comme additif (LARO) pendant la fermentation alcoolique.

Afin d'étudier sa qualité, les deux méthodologies introduites précédemment seront utilisées.

Les modes opératoires, les conditions chromatographiques et le choix d'étalon dans l'analyse précédente sont gardés pour obtenir une certaine uniformité.

II-1-2-1 Analyse de E2/NJR2 par CPG

Les pics chromatographiques sont enregistrés dans le chromatogramme de la figure 10 suivante.



```

A7151S E2:TG lohany 13/09/2014 11:33
RESULTATS D'INTEGRATION
-----
FICHER : A7151 TG loh E2
METHODE : MI982
TEMPS SURFACE CB
432 622 z2
484 3100 z4
529 736384 s0
609 664 t1
681 602 t2
915 1979 z2
1004 4528 z1
1487 584 z1
TOTAL: 748463

```

Figure 11 : Chromatogramme d'E2/NJR2 par CPG

On a obtenu les résultats donnés dans le tableau ci-après

Tableau 8 : Résultats de l'analyse de E2/NJR2 par CPG

pics	T _R	Surface des pics	Produits séparés	Pourcentage par rapport aux pics
1	432	622	Acétaldéhyde	0,0831
2	484	3100	Méthanol	0,4120
3	528	736384	Ethanol	98,939
4	609	664	Isopropanol	0,0850
5	681	602	Butanol-1	0,0801
6	915	1979	Alcool isoamylique	0,2630
7	1004	4528	Pentanol (standard)	0,6020
8	1487	584	Acide acétique	0,0771
Surface totale				748463

Tout d'abord, on constate les épaulements des pics de l'isopropanol et du butanol qui sont à l'état de trace avec le pic de l'éthanol. Ainsi ce dernier ne donne pas une bonne forme Gaussienne. Son pourcentage par rapport aux autres pics est de 98,939 %. C'est donc le produit majoritaire dans cet échantillon.

Le méthanol vient en second plan avec un taux de 0,4120. Cette valeur de pourcentage implique que E2/NJR2 est impropre à la consommation et peut provoquer une certaine intoxication.

On remarque aussi la présence des alcools supérieurs comme l'isopropanol à (t = 664 s) et l'alcool isoamylique (à t = 915s,) qui malgré leurs quantités assez faibles (respectivement 0,0850 et 0,2630) rendent aussi cet échantillon assez toxique.

En conclusion partielle, on peut dire alors que la qualité de E2/NJR2 n'est pas conseillée à la consommation. Il renferme beaucoup d'éléments toxiques avec un pourcentage assez élevé comme les alcools supérieurs (butanol, alcool isoamylique, etc.) et possédant d'autres produits toxiques dangereux pour la santé (méthanol, acide acétique et acétaldéhyde). Remarquons l'existence de l'acide acétique qui pourrait provenir de l'oxydation de l'éthanol du glucose restant lors de la fermentation.

Comme cet alcool possède une grande quantité de produits non désirables, il est alcool fort, piquant mais très recherché par les buveurs. Lors de la fermentation des Toaka Gasy, les fabricants rajoutent des feuilles comme additifs (LARO) dont les plus utilisées sont mentionnées dans le tableau suivant.

Tableau 9 : Liste des additifs (LARO) [18]

Noms vulgaires	Noms scientifiques	Familles
FOTONA	<i>Leptolaena multiflora ou Shizolaena sp</i>	SARACOLAENACEAE
HAZO MAFAIKA	<i>ICassinopsis madagascariensis</i>	ICACINACEAE
KATRAFAY	<i>Cedrelopsis grevei</i>	RUTACEAE
SEVABE	<i>Solanum auricularitum</i>	
BELAHY	<i>Arrophyllum- Urophyllum lyalii</i>	RUBIACEAE
ZAMBORIZANO	<i>Eugenia zambos</i>	COMBRETACEE
ROTRALA	<i>Eugenia sakalavarum</i>	COMBRETACEAE
MANTALIA	<i>Terminalia mantaly</i>	COMBRETACEAE
AFATRAIN-DRAZANA	<i>Evodia fatraina</i>	RUTACEAE
SOHIHY	<i>Adina microcephala</i>	RUBIACEAE

D'un côté, ces additifs pourront faire l'objet d'une recherche approfondie afin de confirmer leur rôle dans la fermentation et dans l'alcool. Mais de l'autre côté, les fabricants veulent toujours rendre leurs Toaka Gasy le plus fort possibles en cherchant à trouver des additifs (feuilles) spécifiques.

Bref, même à faible quantité, cet alcool enivre assez vite. Son prix est assez élevé par rapport à la fraction milieu de Toaka Gasy (deux fois plus élevé que le Toaka Gasy normal) car l'offre de ce dernier est plus faible que la demande.

Pour obtenir plus d'information concernant la qualité de cet échantillon, la méthode HPLC permet de donner les constituants non détectés à l'état gazeux.

II-1-2-2 Analyse de E2/NJR2 par HPLC

Dans ce paragraphe, en respectant les mêmes conditions opératoires pendant l'analyse précédente concernant E1/NJR1, on obtient le chromatogramme de la figure 12 avec leurs grandeurs de rétention de chaque constituant.

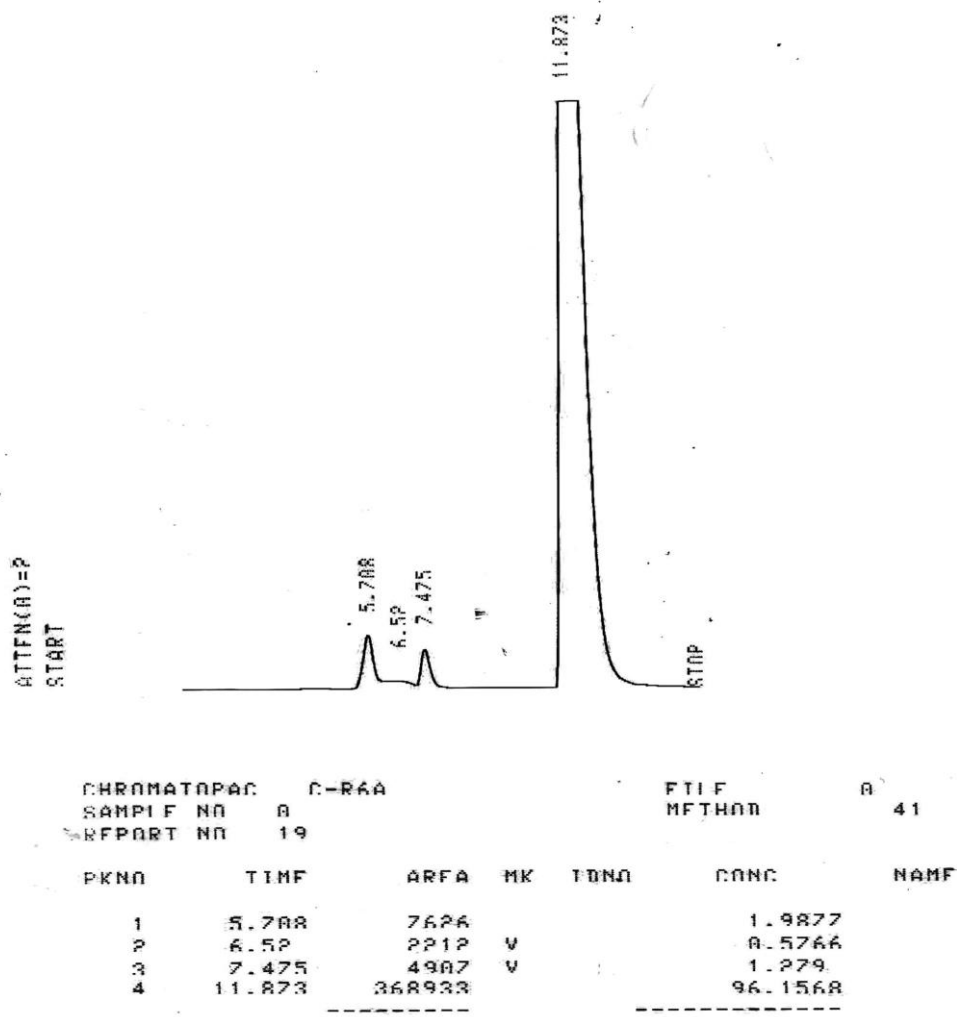


Figure 12 : Chromatogramme de E2/NJR2 par HPLC

Les résultats sont mentionnés dans le tableau 9 suivant.

Tableau 9 : Résultats de l'analyse de E2/NJR2 par HPLC

Pics	Produits	Temps de rétention (en min)	Surfaces	Pr (%)	Degré éthylique
1	Ethanol	11,87	368679	96,1540	44,23 °
2	Méthanol	7,47	4907	1,2801	
3	Fructose	5,78	7626	1,9820	
4	Cannabis	6,52	2212	0,575	
Total : 383424				100	

On retrouve l'éthanol à 11,87 min et le Méthanol à 7,47min et un autre produit apparaît à 5,78 mn.

Pourtant, à 6,52min, pour une surface de 2212 correspondant à un pourcentage de 0,5769 % qui est non négligeable, il apparaît un pic autre que les sucres et les alcools. Il semble que c'est un produit additif.

➤ **Identification du pic à $T_R=6,52\text{min}$**

Pour rendre fort et enivrant l'alcool, les fabricants n'hésitent pas à rajouter des produits forts comme les drogues. Ce pic est soupçonné comme celui du Cannabis ce qui est très courant. Ainsi nous avons préparé une solution de feuille de cannabis broyé en l'insérant pendant 48 h dans l'eau.

Après une injection du substrat à l'HPLC, on a trouvé que son temps de rétention est **6,63 min** comme le montre le chromatogramme de la figure suivante.

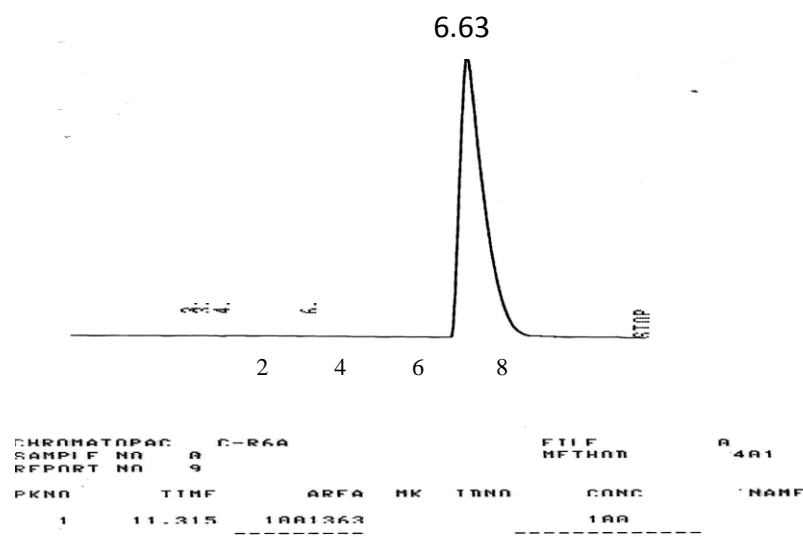


Figure 13 Chromatogramme du THC par HPLC

Malgré le petit décalage $\Delta T_R = 11\text{s}$, cette analyse nous permet d'affirmer l'hypothèse que le pic à 6,52 min n'est autre que celui du cannabis dont le constituant le plus abondant est le **TetraHydroCannabinol (THC)** de formule brute $C_{21}H_{30}O_2$ et dont la formule semi-développée est la suivante.

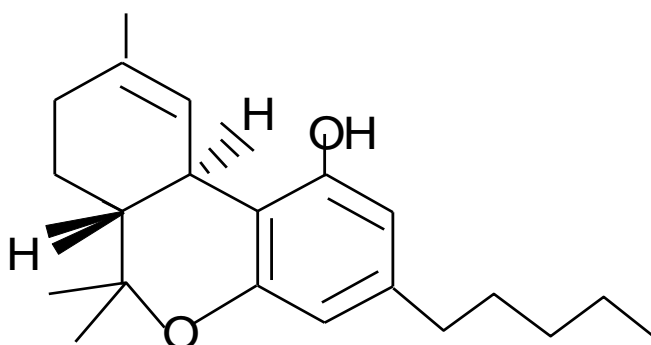


Figure 14 : Formule semi-développée du THC

On voit que l'éthanol et le méthanol sont les produits majoritaires. Mais un sucre apparaît à $t = 5,78$ mn. Il s'agit du fructose qui peut être un produit résiduel de la fermentation, il vient en troisième position. C'est le Cannabis qui vient à la fin avec une quantité non négligeable (0,575 %), ce qui rend dangereux et très toxique cet échantillon.

Le calcul du degré éthylique est donné par la *relation 7* mentionnée précédemment. Il en résulte que cet échantillon d'alcool possède un degré éthylique $D = 44,23^\circ$ au lieu de 55° (valeur estimée).

En guise de conclusion partielle, vu ses constituants, cet échantillon est très toxique. Les additifs utilisés par les fermenteurs permettent à cet alcool d'avoir un effet **euphorique** que les buveurs apprécient beaucoup. E2/NJR2 peut être considéré, à la limite, comme une drogue.

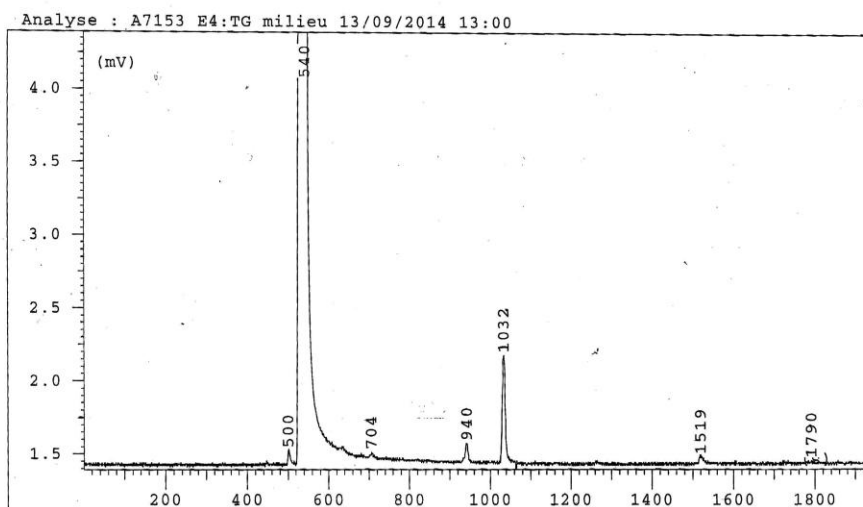
II-1-3 Etude de l'échantillon E3/NJR3

E3/NJR3 est une **fraction milieu d'alcool de bouche local** appelé « Vatana Toaka Gasy ». Il est incolore mais pleine de particules en suspension. Son odeur difficile à cacher est très caractéristique. C'est le plus répandu dans les petites épiceries non patentées. Les vendeurs les ont camouflés dans des bidons plastiques jaunes derrière leurs magasins au lieu de les montrer sur leurs étalages. Il faut demander discrètement pour en avoir. Cet échantillon a été récolté dans la région d'Itasy, à 60 km au Nord de la commune Urbaine d'Arivonimamo. Les fabricants ont dit d'avoir utilisé le Fotona comme additif (LARO). Il est très populaire et pas cher. On estime son degré éthylique à 43° donc non combustible (degré éthylique inférieur à 85°).

En premier lieu, nous avons commencé notre étude par la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) et en deuxième lieu l'HPLC.

II-1-3-1 Analyse de E3/NJR3 par CPG

Pour cet échantillon, nous gardons toujours les conditions opératoires précédentes pour obtenir des manipulations identiques. L'injection nous permet d'obtenir les pics regroupés dans le chromatogramme de la figure suivante. Les grandeurs de rétentions ainsi que les pourcentages calculés sont mentionnés dans le tableau 10 ci-dessous.



A7153S E4:TG milieu 13/09/2014 13:00
 RESULTATS D'INTEGRATION

FICHER : A7153 E4:TG milieu
 METHODE : MI982

TEMPS	SURFACE	CB
500	779	z1
540	469689	s0
704	300	t1
940	1282	z1
1032	5881	z1
1519	817	z1
1790	352	z2

Figure 15 : Chromatogramme de E3/NJR3 par CPG

Tableau 10 : Résultats de l'analyse de E3/NJR3 par CPG

Pics	Temps de rétention	Surface des pics	Produits séparés	Pourcentage par rapport aux pics
1	500	779	Méthanol	0,1620
2	540	469689	Ethanol	97,6951
3	704	300	Butanol	0,0624
4	940	1282	Alcool isoamylique	0,2661
5	1032	5881	Pentanol	1,2230
6	1519	817	Acide acétique	0,169
7	1790	352	Inconnu	0,0730
Total				486115

A $T_R = 500$ s, l'éthanol est apparu en grande proportion et c'est encore le produit majoritaire de cet échantillon. Vu son allure, on peut dire qu'il peut cacher d'autres produits. Vient après le **méthanol** qui est le second produit majoritaire avec un taux moindre que celui dans E2/NJR2 mais non négligeable car il pourrait être retenu dans la fraction tête pendant la distillation.

Les autres produits tels que le **butanol**, l'**alcool isoamylique**, l'**acide acétique** et les produits non reconnus sont présents à des quantités assez faibles mais montrent le caractère toxique de cet échantillon.

Pour conclure, la provenance des échantillons jouent un grand rôle sur la qualité et la toxicité des alcools. Ceci vient du fait que lors de la fermentation, les fabricants ont utilisé des additifs (LARO) qui diffèrent d'une région à l'autre. Et le mode de distillation conduit à faire passer des produits spécifiques non désirables.

La seconde méthode consiste à faire passer E3/NJR3 en HPLC

II-1-3-2 Analyse de E3/NJR3 par HPLC

L'analyse d'E3/NJR3 par cette méthode nous permet d'obtenir un chromatogramme (figure 16) contenant deux grands pics et deux petits pic

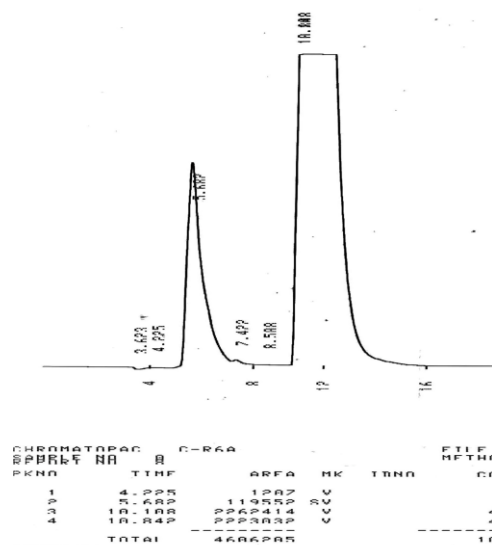


Figure 16 : Chromatogramme de E3/NJR3 par HPLC

Le tableau 11 suivant donne les grandeurs de rétention et les pourcentages relatifs des produits par rapport aux autres pics.

Tableau 11 : Résultats de l'analyse de E3/NJR3 par HPLC

Pics	Produits	Temps de rétention	Surfaces	Pourcentage par rapport aux pics	Degré éthylique
1	Inconnu	3,623	Trace	Non calculé	39,95°
2	Acroléine	4,225	1207	0,050	
3	Fructose	5,682	119552	5,009	
4	Sucrose	7,422	Trace	Non calculé	
5	Inconnu	8,508	Trace	Non calculé	
6	Ethanol	10,808	2262414	94,795	
Total			4686285	100	

On constate que vu la largeur des pics du méthanol et de l'éthanol, les pics des autres produits sont bien noyés dans ces deux pics. Le chromatogramme nous indique l'existence de deux sucres : fructose et fructose de temps de rétention respectifs **5,68 min** et **7,42 min**. Ce sont les produits résiduels de la fermentation.

➤ D'un côté, à $T_R = 4,225\text{min}$ apparaît un pic qui possède un pourcentage relatif non négligeable. Ce qui nous amène à procéder à son identification.

➤ Identification du pic à $T_R=4\text{m}$

L'étude bibliographique et la banque des données des temps de rétention nous permettent de dire qu'un produit à $t = 4,30\text{ min}$ (figure 17) correspond à l'acroléine.

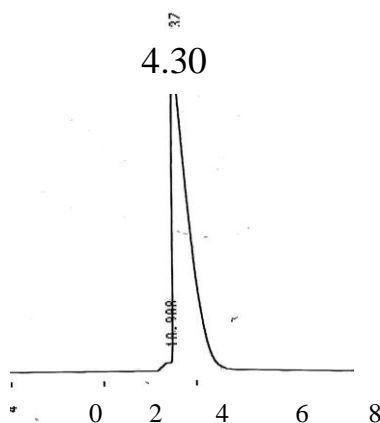


Figure 17 : Chromatogramme de l'Acroléine par HPLC

Malgré la légère différence de $\Delta T_R = 8$ s, nous concluons que ce produit n'est autre que l'acroléine de formule semi-développée :

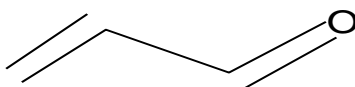
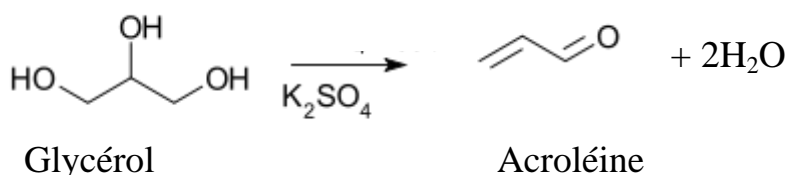


Figure 18 : Formule semi-développée de l'Acroléine

La bibliographie nous indique que c'est un produit toxique qui peut bien être présent dans les alcools. Il est obtenu :

- Soit par *déshydratation* du glycérol en présence du sulfate de potassium.



Réaction 7 : Déshydratation du Glycérol

- Soit en brûlant des matières plastiques à une température élevée qui peut entraîner aussi la présence de naphthalène.
- Soit à partir des cannes pourrissantes.
- Soit par décomposition des matières grasses.

De l'autre côté, souvent un alcool buvable n'est meilleur que si les additifs sont forts. Dans cet échantillon, on constate que le méthanol avait disparu. Ceci provient peut être du fait qu'il passe dans la fraction tête de la distillation. Le calcul du degré éthylique conduit à une valeur **39,85** °.

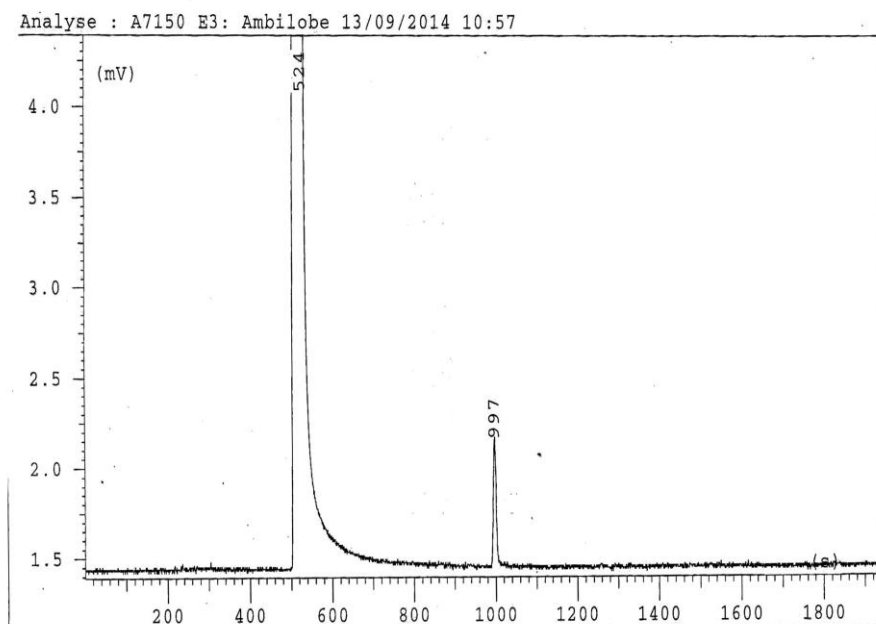
En conclusion partielle, aux temps de rétention 3mn6s, 7mn4s et 8mn5s correspondent des constituants inconnus qui étaient en état de trace. Ne sont-ils pas des produits toxiques? Malgré le non existence de méthanol, ce produit reste toujours toxique vu qu'il y renferme des produits très dangereux qui pourraient être nocifs à la santé.

II-1-4 Etude de l'échantillon E4/NJR4

E4/NJR4 est un **alcool commercial** incolore, limpide, étiqueté à 45° et indiquant son nom et son fabricant. On l'a acheté dans une grande surface à Antananarivo. Il est embouteillé dans une bouteille en verre bien bouchonnée. L'étiquette nous indique seulement le nom commercial de la boisson mais non sa provenance. Donc il est difficile connaître la qualité de l'alcool et surtout son mode de fermentation. Mais toujours est-il que cet alcool est supposé être contrôlé afin d'être livré à la consommation ? Mais l'analyse physico-chimique nous indiquera s'il est dans la norme ou non. Les analyses par CPG et HPLC donnent les résultats suivants.

II-1-4-1 Analyse d'E4/NJR4 par CPG

L'analyse nous a permis d'obtenir un chromatogramme avec les pics et de dresser un tableau des grandeurs de rétention.



A7150S E3: Ambilobe 13/09/2014 10:57
 RESULTATS D'INTEGRATION

 FICHER : A7150 Ambilobe
 METHODE : MI982

Figure 19 : Chromatogramme de E4/NJR4 par CPG

On a les résultats suivants :

Tableau 12 : Résultats d'analyse d'E4/NJR4 par CPG

Pics	Temps de rétention (s)	Surface des pics	Produits correspondants	Pourcentage par rapport aux pics	Degré éthylique
1	524	677970	Ethanol	99,187	43.43°±0.15
2	997	5553	Pentanol	0,810	

Le chromatogramme indique que le grand pic autre que celui de l'étalon (le pentanol) est le pic de l'éthanol. Donc cet échantillon est assez pur, ne renfermant pas d'autres produits comme le méthanol, les alcools supérieurs ou les additifs. D'après la Relation 6, son degré éthylique est $D = 43,43^\circ \pm 0,15$ alors que son étiquette indique 45° . Cette différence est normale pour avoir un meilleur système de marketing.

En première conclusion, il est donc bien commercialisable, pur mais reste toujours dangereux seulement à cause de l'éthanol.

Pour vérifier si les sucres existent ou non, il faut utiliser la seconde méthode c'est-à-dire l' HPLC.

II-1-4-2 Analyse de E4/NJR4 par HPLC

On a obtenu le chromatogramme suivant

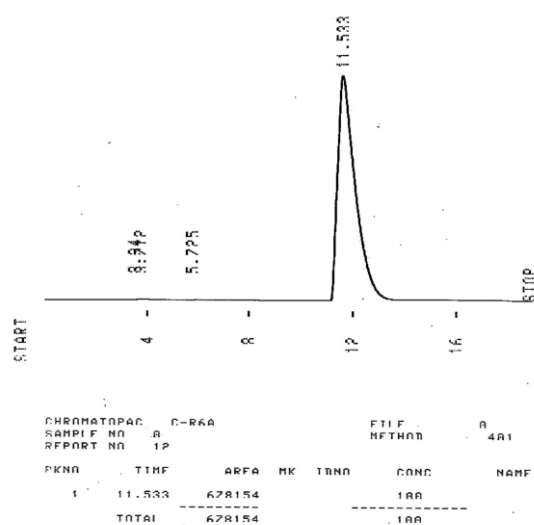


Figure 20 :_Chromatogramme de E4/NJR4 par HPLC

Le chromatogramme précédent nous donne le tableau suivant

Tableau 13 : Résultats de l'analyse de E4/NJR4 par HPLC

Pics	Temps de rétention en min	Surface des pics	Produits correspondants	Pr [%]
1	11,533	394625	Ethanol	Sensiblement égale à 100

2	5,725	Trace	Fructose	
---	-------	-------	----------	--

D'après ce chromatogramme de la figure 20, nous constatons alors par HPLC que cet alcool commercial ne contient que deux constituants dont l'éthanol qui apparaît au temps de rétention **11,75 min** et le fructose à l'état de trace avec un temps de rétention de **3,6mn**.

On ne retrouve plus les additifs et les alcools supérieurs ou même les autres sucres tels que le glucose et le sucrose. Cela veut dire que les alcools commerciaux sont bien distillés, réglementés et ne renferment pas de produits toxiques autres que l'éthanol.

En conclusion partielle, E4/NJR4 est bien un alcool commercialisable dont le goût et le parfum peuvent être donnés par le Fructose spécifique de l'alcool mère.

II-2 Discussions

II-2-1 Comparaison des résultats par CPG et HPLC

Afin de comparer ces deux méthodes, on a récapitulé les pourcentages et les masses de chaque constituant des produits dans le **tableau 14** suivant. Ces masses sont calculées à partir de la formule donnée en **Annexes**.

Tableau 14 : Comparaison des résultats par CPG et HPLC

Echantillons	CPG/HPLC					
	Constituants	P _r	Masses(g)	Constituants	Pr (%)	Masses(g)
E1/NJR1	Acétaldehyde	0,0976	77 10 ⁻¹⁰	Inconnu	0,313	24 10 ⁻⁹
	Méthanol	0,4930	39 10 ⁻⁷	Inconnu	0,175	79 10 ⁻⁹
	Ethanol	98,97	78 10 ⁻⁶	Inconnu	0,218	17 10 ⁻⁹
	Butanol	0,0200	15 10 ⁻¹⁰	Fructose	0,069	54 10 ⁻¹⁰
	Isobutanol	0,0330	26 10 ⁻¹⁰	Méthanol	0,129	10 10 ⁻⁹
	Alc.Isoamyl	0,0230	18 10 ⁻¹⁰	Ethanol	99,076	78 10 ⁻⁷
	Pentanol	0,3460	27 10 ⁻⁹			
E2/NJR2	Acétaldehyde	0,0831	66 10 ⁻¹⁰	Ethanol	96,1540	76 10 ⁻⁷
	Méthanol	0,4120	32 10 ⁻⁹	Méthanol	1,2801	102 10 ⁻⁹
	Ethanol	98,939	78 10 ⁻⁷	Fructose	1,9820	15 10 ⁻⁸
	i-propanol	0,0850	67 10 ⁻¹⁰	Cannabis	0,575	46 10 ⁻⁹
	Butanol	0,0801	63 10 ⁻¹⁰	-	-	-
	Alc. Isoamyl	0,2630	20 10 ⁻¹⁰	-	-	-
	Pentanol	0,6020	47 10 ⁻⁹	-	-	-
	Acide acétique	0,0771	61 10 ⁻¹⁰			
	Méthanol	0,1620	12 10 ⁻⁹	Inconnu	Non calculable	Non

E3/NJR3						calculable
	Ethanol	97,69	$78 \cdot 10^{-7}$	Acroléine	0,050	$37 \cdot 10^{-8}$
	Butanol	0,0624	$49 \cdot 10^{-10}$	Fructose	5,009	$37 \cdot 10^{-5}$
	Alc. Isoamyl	0,2661	$21 \cdot 10^{-9}$	Sucrose	Non calculable	Non calculable
	Pentanol	0,6020	$48 \cdot 10^{-9}$	Inconnu	Non calculable	Non calculable
	Acide acétique	0,169	$13 \cdot 10^{-9}$	Ethanol	94,795	$71 \cdot 10^{-5}$
	Inconnu	0,0730	$58 \cdot 10^{-10}$	-	-	-
E4/NJR4	Acide acétique			-	-	-
	Inconnu			-	-	-
	Ethanol	99,187	$69 \cdot 10^{-7}$	Ethanol	~100	$70 \cdot 10^{-7}$
	Méthanol	0,810	$64 \cdot 10^{-9}$	Fructose	Non calculable	-

En premier lieu, à part l'échantillon E1/NJR1, les valeurs des masses données dans le tableau 14 nous révèlent qu'il y a :

II-2-1-1 Reproductibilité des deux méthodes

Pour l'échantillon E2/NJR2, d'un côté, le pourcentage relatif de l'éthanol est de 98,939 %. De l'autre côté, en HPLC ce pourcentage relatif diminue jusqu'à 96,154 %. Ceci provient du fait que les pics obtenus sont différents car les produits détectés dans chaque méthode ne sont pas les mêmes. Ainsi ce pourcentage est plus faible en HPLC qu'en CPG. Par contre, si on détermine la masse d'éthanol et des autres produits selon la méthode de calcul donnée en **Annexe 2**, on obtient pour l'éthanol, respectivement les valeurs $78 \cdot 10^{-7}$ g et $76 \cdot 10^{-7}$ g. Ces deux valeurs représentent les mêmes masses d'éthanol contenu dans la même quantité injectée de 10 μ l.

Ceci nous conduit à affirmer qu'il y a une reproductibilité des méthodes quel que soit l'appareillage. Cette constatation est aussi vérifiée par les calculs pour les échantillons E3/NJR3 et E4/NJR4.

Cette reproductibilité et l'exactitude des mesures sont aussi vérifiées avec le méthanol. Pendant l'échantillon E1/NJR1 diffère des trois autres échantillons.

➤ Cas particulier de E1/NJR1

Pour cet échantillon, nous avons constaté que les résultats obtenus ne sont pas conformes à cette reproductibilité étant donné les masses différentes du méthanol et de l'éthanol. Cette non reproductibilité peut être due à des erreurs de manipulation (volume mort, non reproductibilité lors des injections, instabilité de la pression et problème d'appareillage).

II-2-1-2 Sensibilité des appareils

Pour l'échantillon E4/NJR4, l'appareil CPG a pu détecter le méthanol avec un pourcentage de (0,810 %) en masse tandis que l'HPLC ignore cette existence. Ce qui signifie que la méthode CPG est plus sensible que l'HPLC.

Par contre l'inconvénient en CPG est qu'il faut faire varier la température pour faire sortir de la colonne les autres produits non détectés.

Mais l'HPLC a l'avantage d'être rapide. Il est assez sélectif car seuls les produits possédant des Indices de Réfraction sont détectés comme les cas des alcools et des sucres. En effet, rappelons que le détecteur utilisé est un refractomètre.

Deuxièmement, le **tableau 14** nous conduit à confirmer la pureté de l'alcool vu les pourcentages relatifs de l'éthanol dans les quatre échantillons.

II-2-2 Pureté de l'éthanol dans chaque échantillon

- Pour E1/NJR1, le pourcentage en éthanol est compris entre 98,97 % et 99,076 %. Cet échantillon est dit moyennement pur. Il contient encore d'autres produits. Il n'est ni commercialisable ni buvable surtout que son degré éthylique est supérieur à 85°, on le qualifie d'être un bon combustible.
- Pour E2/NJR2, Cette valeur varie entre 96,15% et 98,93 %. Cet échantillon est de mauvaise qualité. Ainsi on doit le redistiller ou le rectifier pour améliorer sa qualité.
- Pour E3/NJR3, les valeurs sont comprises entre 94,79 % et 97,69 %. Cet échantillon est vraiment impur donc il doit être rectifié pour être accepté à la consommation. C'est le sucre fructose qui donne le goût et l'odeur de l'alcool.
- L'échantillon E4/NJR4 possède un pourcentage entre 99,18 % et 100 % en taux d'éthanol. Cet échantillon est donc considéré le plus pur. Mais l'analyse par HPLC montre encore l'existence d'un sucre comme le fructose à état de trace.

Pour conclure, il y a donc une certaine reproductibilité d'analyse par HPLC et par CPG. Ceci est confirmé par les valeurs des masses dans E2/NJR2, E3/NJR3 et E4/NJR4 pour l'éthanol et le méthanol.

On a prouvé d'un autre côté que la CPG reste la technique la plus sensible mais les deux méthodes sont complémentaires.

De l'autre côté l'HPLC a permis de détecter les sucres et l'**acroléine** et de confirmer l'existence d'un produit dangereux qui est le **Cannabis**.

Enfin, nos analyses révèlent que nos produits sauf E4/NJR4 renferment tous du méthanol, des alcools supérieurs et des additifs qui sont des produits toxiques. La différence de qualité des échantillons provient surtout du mode de distillation et de la fermentation selon les fabricants et la région.

CONCLUSION

La qualité des alcools à Madagascar s'avère encore être très discutable et loin des normes spécifiques internationales. Les résultats d'analyse par CPG, à cause de sa sensibilité, montrent l'existence des produits secondaires qui sont nocifs à la santé et classés dangereux : à savoir le méthanol, l'acétaldéhyde et des alcools supérieurs. L'analyse par HPLC confirme la présence des produits de départ (les sucres) comme le glucose, le fructose et le sucrose non fermentés.

Les deux techniques CPG et HPLC sont très performantes, rapides, sensibles à 10^{-10} g près. Elles sont complémentaires surtout vis-à-vis des analyses des alcools et de leurs familles.

Mais analyser les sucres en CPG, n'est pas possible. Par contre en HPLC, tout se passe une fois qu'ils sont solubles dans le solvant vecteur qui est l'eau et que le produit détecté possède les conditions requises par le détecteur.

D'après notre analyse, les échantillons les plus remarquables sont l'E2/NJR2 ou bien la fraction tête de Toaka Gasy et E3/NJR3 qui est le « Vatana Toaka Gasy ».

Les identifications en CPG et les études bibliographiques et suite à des expériences montrent que E2/NJR2 possède un ingrédient considéré comme drogue : **le Cannabis**. Il s'agit d'une drogue très répandue à Madagascar.

C'est un produit très toxique qui trouble le système nerveux des buveurs. En cas d'excès, il entraîne ce qu'on appelle toxicité neurologique.

L'échantillon E3/NJR3 renferme aussi un produit dangereux qui est l'acroléine mais ceci n'est pas volontaire car il peut provenir selon les conditions d'emballages et de stockage.

Le bioéthanol a pris un grand essor pendant ces décennies. Ainsi, l'utilisation d'éthanol se multiplie fortement. Par contre la qualité des produits est loin d'être normalisée. En effet l'éthanol devient un produit très recherché comme combustible en remplacement du charbon de bois et permet une meilleure gestion de l'environnement (pas de déforestation, réduction de gaz à effet de serre, santé des ménages, source de revenus des paysans).

L'utilisation de l'ETHANOL est maintenant très répandue, que ce soit industrielle ou commerciale. En effet, l'Ethanol peut remplacer les gaz combustibles et peut être utilisé comme carburant des moteurs à essences. Cependant, beaucoup reste à faire telle que la plantation des cannes à sucres en grande quantité, la rectification des alcools à Madagascar et la mise en place de nos propres normes .

BIBLIOGRAPHIES

- [1] P. Rendle, M. V. Vokins, P. Davis, 1989, Experimental Chemistry.
- [2] D. R. PAULSON, 1973, Journal of Chemical Education, 50, , p 34.
- [3] Office National pour l'Environnement (ONE),Paris, 2004. « La réduction de l'effet de serre nécessite la production de gaz combustible »..
- [4] AFNOR, Paris 2013 : « Contrôle de la qualité des produits alimentaires. Méthodes d'analyses officielles : boissons alcoolisés, sucres, miels, produits diététique, additifs alimentaires, matériaux au contact ». P
- [5] Cours de G. Myers,1979, University of Harvard ,Chapitre complet sur les alcools.
- [6] J. C. Collins and W. W. Hesse ,British,1965,Aldehydes from primary alcohols.
- [7] Manuel d'experiences de chimie - UNESCO Société chimique de France Université de Montpellier. (Montpellier 2001).
- [8] Organisation mondiale de la santé (OMS),2010. Production et commerce de l'alcool, Projet éthanol.
- [9] J.-J KIRKLAND,1973. « Chromatographie en phase Liquide et Gazeuse. Ed. Gauthier- Villars,
- [10] RABAKOARIJAO Désiré 1995,« contrôle de qualité de la distillerie de Madagascar » Mémoire de Diplôme d'Etude Approfondies de chimie minérale et Chimie Appliquée. Département de chimie minérale et chimie appliquée. Faculté des sciences Antananarivo.
- [11] www.google.com,13 décembre 2014,,Danger des Alcools
- [12] G. MAHUZIER, M.HAMON, Paris,1990 « Abrégé de chimie analytique ». Tome 2 méthodes de séparation, 2^e édition .
- [13] RAZAFINDRAZAKA Sylvain, 1999,« les principaux constituants chimique des Rhum de rhum. Analyse des alcools supérieurs par Chromatographie en phase gazeuse produits en distillerie de mélasse de canne à Madagascar. Mémoire de fin d'Etude en vue de l'obtention de Diplôme d'Ingénieur Agronome. Ecole Supérieur des Sciences Agronomiques à Antananarivo.
- [14] RASOLONJATOVO Ando Johary, Antananarivo,2002, « Contribution à la production d'Ethanol Absolu en vue de son utilisation comme biocarburant et méthode

HPLC » . Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur Agronome.

[15] www.google.com, 01 janvier 2015, Méthode linéaire de KOVATS.

[16] www.google.com, 08 février 2015, les solvants en phase liquide.

[17] Tinarivelo RAMAROKOTO , Antananarivo ,07 Novembre 1996 « Contrôle de qualité de rhum traditionnel (Toaka Gasy).Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies de chimie Minérale et Chimie Appliquée. Département : chimie minérale et chimie appliquée. Faculté des sciences

[18] RAZAFINDRAKOTO Romuald,1992, « Contribution à l'étude de la fermentation alcoolique artisanale à Madagascar, étude de l'utilisation de LARO Option : industries agricoles et Alimentaires. Promotion SAINA.

ANNEXES

ANNEXE A : TYPES D'ALCOOLS

Selon les méthodes de fabrications et les utilisations, il existe différents types d'alcool.

Alcool brut ou flegme On appelle alcools bruts des alcools non raffinés obtenus à partir de vins, de moûts ou de jus fermentés. On trouve des bruts de betteraves, des bruts de mélasse et des bruts de vin. Leurs teneurs en éthanol sont variables (70 à 95 %) et ils contiennent des impuretés (0,2 à 1 %).

Alcool déshydraté L'alcool qui a un degré de pureté supérieur à 99,7 % est appelé alcool déshydraté, le restant étant essentiellement de l'eau.

Alcool Rectifié Extra Neutre (REN) Il s'agit d'un alcool épuré, fabriqué directement à partir de moût fermenté, de titre alcoométrique supérieur à 96,4 %. Le vin est traité d'abord sur une colonne dite épuratrice qui élimine les impuretés volatiles ; esters, aldéhydes. Le vin sortant en pied de cette colonne épuratrice gagne ensuite une colonne dite « distillatrice-rectificatrice ».

Alcool surfin Cet alcool a une composition analytique voisine de l'alcool rectifié extra-neutre. Cependant, le fait de travailler en deux temps: production de bruts puis épuration des bruts confère à cet alcool des qualités organoleptiques supérieures au REN. L'alcool surfin est souvent dénommé alcool de bouche.

Bioéthanol : Il s'agit d'un Alcool brut déshydraté destiné comme carburant automobile.

Dénaturation : Les alcools destinés à des usages industriels bénéficient de la franchise des droits d'accises quand ils ont été dénaturés suivant un procédé autorisé et sous surveillance des douanes. Les alcools dénaturés par le procédé général circulent librement. Il en va de même pour les alcools dénaturés par un procédé spécial dans l'industrie pharmaceutique. Les formules de dénaturation spéciales sont nombreuses et répondent aux exigences propres à chaque type d'utilisation.

ANNEXE B : CALCULS ET DEFINITIONS

a) **Méthode de calcul de la concentration en HPLC**

Cette concentration est calculée à l'aide de la formule

$$C = \frac{K \cdot A}{V} \quad \text{Relation 8 Concentration d'un constituant en HPLC}$$

Dans cette relation, C désigne la concentration d'un constituant séparé à partir de l'échantillon, A étant la surface du pic correspondant au constituant séparé à partir de l'échantillon, V le volume de la solution injectée et K est le coefficient de réponse du constituant.

Par exemple, pour l'éthanol et le méthanol, les coefficients de réponse respectifs sont $K_{\text{EtOH}} : 10,94 \pm 0,38$ et $K_{\text{MeOH}} : 0,107 \pm 0,013$. et les autres termes (C, K et V) sont déterminés à partir de la manipulation et du chromatogramme.

Remarque : Calcul d'erreur

Quand on analyse des données normalement distribuées, on peut utiliser l'écart type parallèlement à la moyenne pour calculer les erreurs.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n}}$$

Relation 9 : Calcul d'erreur du calcul de concentration

Soit \bar{x} = moyenne, S = écart-type et x une valeur incluse dans l'ensemble de données, alors environ 95 % des données se situent à l'intérieur de l'intervalle $\bar{x} - 2S < x < \bar{x} + 2S$.

b) Calcul des masses relatives

Sachant que la densité ou bien la masse volumique de l'éthanol pur est $d = 0,789$ g/l, on en peut tirer les masses de tout les produits sortant de la chromatographie en phase gazeuse et liquide.

Soient :

- $m(i)$ la masse du constituant i [g]
- % (i) le pourcentage relatif de ce constituant.
- % (Eth) le pourcentage d'éthanol déterminé dans le chromatogramme.
- V_{inj} le volume d'échantillon injecté [μ l]

On peut démontrer que la masse $m(i)$ est donnée par la formule :

$$m(i) = \frac{\% (i) \times d_{eth} \times V_{inj}}{\% (Eth)}$$

Relation 10 : Masses relatives des constituants

Auteur : MIARANTSOA ANJARAMALALA Rolland Fidèle

Adresse : LOT IV A 16 Arivonimamo Nord

Tél : 034 14 234 00

E-mail : miaranjaramalala@gmail.com

Titre : « **Contrôle de qualité des alcools à Madagascar par deux techniques
Chromatographiques CPG et HPLC** »

Nombre de pages :..... 52

Nombre de tableaux :..... 15

Nombre de figures :..... 21

Nombre de réaction chimique :... 7

Nombre de relation :..... 10

Annexes :..... 3

RESUME

Actuellement, le terme « Alcool » est en vogue. Des industries et des fabricants illicites sont tous attirés par ses utilisations thérapeutiques ou énergétiques (carburant, combustible). Malgré ces atouts, les alcools à Madagascar sont peu normalisés. En effet, d'un côté, on a constaté l'existence des produits dangereux (Méthanol, Alcools supérieurs, Cannabis et Acroléine) qui les rendent fort mais toxiques. De l'autre côté, aucune norme ni décret n'y sont appliquées. Par contre, on a vu qu'il est possible de contrôler la qualité des éthanols avec deux méthodes chromatographiques CPG et HPLC. Particulièrement, l'analyse en phase gazeuse nécessite une température assez élevée pour déterminer des sucres provenant de la fermentation alors que l'analyse en phase liquide à haute pression (50 à 100 bars) révèle les pics des sucres et des alcools. Elles se caractérisent par leurs sensibilités (de l'ordre de 10^{-10} g) et leurs fiabilités. Un autre grand objet à atteindre est alors la rectification de nos alcools (Toaka Gasy et Alcool combustible etc.)

Mots clés : Alcools, éthanol, CPG, HPLC.

ABSTRACT

Nowadays, the word « Alcohol » is becoming famous and used in industry or by some simple producers. It is known by its applications and values as in medicine or as a fuel. But Madagascar's Alcohol is meeting several problems as the absence of applied rules and the existence of product's toxicity. During these experiences with two chromatographic methods (GC and HPLC), we can check, first, the presence of dangerous products as Methanol, high alcohol, drug and Acrolein what make toxic our Alcohol. Secondly, there is always no Alcohol's rules for us and the Ethanol production is without decree. So, one other goal is to rectify our "Toaka Gasy" by trying to draw our self-rules.

Key words: *Alcohol, GC, HPLC.*

Encadreur : RAJERISON Wilson

Professeur Titulaire

(e-mail: raj.dol.laposte.net)