

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Projet de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de

LICENCE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Biochimie

Thème

**Etude et mise en marche d'un appareil de mesure
spectroscopique par CPG.**

Par :

Ben Saha Abla

Antar Sabrina

Jury :

M. Hadj Sayd A.K

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Encadreur

M. Moulai K

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Examinatrice

Année universitaire 2013/2014

Introduction

L'analyse chimique représente l'ensemble de procédures et de techniques utilisées pour identifier et quantifier la composition d'un échantillon de matière, elle se divise en deux types, qualitative et quantitative. L'analyse qualitative permet de déterminer la nature des éléments chimiques présents dans un composé, et l'analyse quantitative a pour but de doser un ou plusieurs de ses constituants (Encarta, 2009).

L'étude et l'analyse des molécules biochimiques posent deux questions fondamentales : quelle matière ? Quelle technique ? En effet, l'objet de l'étude étant l'organisme vivant, on peut envisager de travailler sur un animal entier, sur un organe, sur des cellules isolées ou bien sur des bactéries, virus, levures... ce matériel d'étude est l'échantillon celui-ci doit être prélevé, stabilisé, puis conservé. À partir de cet échantillon, on pourra alors extraire et isoler les biomolécules qui seront étudiées et dosées (Isabelle Calaverie, Mireille p. 2008)

Les méthodes de séparation et d'identification des composés chimiques ou biochimiques sont diverses, les plus utilisées d'entre elles sont celles faisant intervenir les techniques chromatographiques. Les appareils de chromatographie en phase liquide sont destinés à séparer des constituants liquides en solution, ceux de la chromatographie en phase gazeuse sont destinés à séparer les constituants volatils. Dans cette étude on s'est intéressé à étudier la mise en marche d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse CPG YL6500 acquis récemment dans notre laboratoire de chimie et l'essai des analyses de cet appareil par un exemple pratique de séparation des constituants d'une huile essentielle extraite d'une plante médicinale « *Devera scoparia* ».

Chapitre 1 : Méthode d'analyse

I. Méthodes spectroscopiques

Les mesures basées sur la lumière et d'autres formes de rayonnement électromagnétique s'utilisent largement en chimie analytique. Les interactions entre rayonnement et matière constituent l'objet d'une science spectroscopie. Les méthodes analytiques spectroscopiques se basent sur la mesure de la quantité de rayonnement émis ou absorbé par les espèces moléculaires ou atomique étudiées. On peut classer les méthodes spectroscopiques selon le domaine du spectre électromagnétique impliqué dans la mesure, comme les rayons gamma, les rayons X les rayonnements ultraviolet (UV), le visible, le rayonnement infrarouge (IR), les micro-ondes et les ondes radio. L'usage courant étend même le domaine des méthodes spectroscopique jusqu'à y inclure des technique qui n'implique pas de rayonnement électromagnétique comme l'acoustique, la spectrométrie de masse et la spectroscopie électronique. (Skoog ., *al* 2012)

La spectroscopie a joué un rôle essentiel dans le développement de la théorie atomique moderne. De plus, les méthodes spectrochimiques ont fourni les outils qui sont sans doute les plus utilisés pour l'élucidation de la structure moléculaire ainsi que pour l'analyse qualitative et quantitative de composés inorganique et organique (Skoog . *al* 2012)

II. Analyse par chromatographie

La chromatographie est une méthode d'analyse qui Permet de séparer les différent constituants d'un mélange par entrainement d'une phase mobile (liquide ou gaz) la longe d'une phase stationnaire (solide ou liquide fixé). (Isabelle Claverie. 2008)

les méthode chromatographiques permettant de séparer les éléments (molécules, ions...) d'un mélange en solution plus ou moins complexe .le mélange à chromatographie entraîné par une phase mobile circule au contact d'une phase stationnaire liquide ou solide .des interactions physiques ou chimiques s'établissent entre la phase stationnaire, qui possède une très grande surface de contact, et les molécules à séparer.des échanges rapides et réversibles se produisent dont la force dépende de la nature chimique des molécules à séparer. Celles-ci sont plus ou moins retenues selon l'importance de leur interaction avec la phase stationnaire .les molécule sont alors entrainées plus ou moins vite en fonction de leurs propriétés physicochimiques, ce qui permet leur séparation. Cette séparation peut être effectuée dans un but analytique quantitatif ou qualitatif ou dans un but préparatif.

(Isabelle Claverie. 2008)

1. Différents types de chromatographies

1.1. Chromatographie planaire:

on distingue deux types de chromatographie planaire en fonction du support utilisé:

-la chromatographie sur papier :

Qui utilise des feuilles de papier-filtre maintenues verticales dans une enceinte fermée (cuve à chromatographie);

-la chromatographie sur couches minces(CCM) :

Maintenant plus utilisée que le précédent. Elle est fondée sur les mêmes principes, mais la feuille de papier est remplacée par une couche de support adsorbant étalée sur une plaque de verre, d'aluminium ou de matière plastique à laquelle elle adhère. **(Bernard Hainque et al 2008)**

1.2. Chromatographie en phase gazeuse :

Dans la chromatographie en phase gazeuse (CPG) l'échantillon à analyser est vaporisé par chauffage après injection et il est entraîné par la phase mobile constituée par un gaz (azote, hélium, hydrogène, ect..).La colonne contenant la phase stationnaire est portée à haute température pour que les molécules à séparer à l'état gazeux et que les échanges se produisent entre la phase stationnaire liquide et la phase mobile gazeuse. **(Bernard Hainque et al 2008)**

1.3. Chromatographie en phase liquide :

Dans la chromatographie en phase liquide (CPL), l'échantillon à analyse est déposé au sommet de la colonne contenant la phase stationnaire.la colonne est parcourue par la phase mobile et des échanges ont lieu entre les deux phases conduisant à la séparation des solutés contenus dans l'échantillon à analyser. **(Isabelle Claverie. 2008)**

Chapitre 1 : Méthode d'analyse

2. principaux mécanismes de séparation chromatographique

Il existe cinq grands mécanismes de chromatographie. Ils se distinguent par la nature des interactions entre les différentes phases et les molécules du mélange à chromatographies.

2.1. Chromatographie d'adsorption :

Elle utilise une phase stationnaire solide sur laquelle vont s'adsorber les molécules à séparer par des liaisons hydrophiles ou des forces de van der Waals dont l'intensité dépend de la structure de la molécule. la grande surface d'échange fait que ces liaisons s'établissent facilement et que les molécules fixées peuvent aussi être aisément libérées. D'où la possibilité de leur séparation en fonction des forces de rétention. Ce phénomène se retrouve en CPG, en CPL en CCM. **(Bernard Hainque et al 2008)**

2.2. Chromatographie de partage:

La phase stationnaire est un liquide immobilisé sur un support inerte. Les molécules actives dans la séparation sont greffées sur le support inerte par formation de liaisons covalentes, ce qui permet d'assurer une durée de vie importante pour les colonnes correspondantes. la séparation repose sur le coefficient de partage K du soluté entre les deux phases, stationnaire et mobile. L'action est comparable à l'extraction par un solvant d'un composé présent dans une phase non miscible (ce que l'on pratique au laboratoire dans une ampoule à décanter). **(Gérard férey 2009)**

2.3. Chromatographie d'échange d'ions :

Elle est fondée sur phase stationnaire solide sur laquelle vont s'adsorber les molécules à chromatographie et le support, ou échangeur d'ions. Ce dernier est constitué de volumineuses molécules insolubles, hérissées de charges électriques toutes de même signe, ou de particules de silice sur lesquelles sont greffés les groupements échangeurs d'ions.

Les échangeurs de cations sont des supports anioniques chargés négativement et les échangeurs d'anions sont des supports cationiques chargés positivement. Les ions fixés sont appelés ions échangeables et, suivant leur nombre de charges et leur nature chimique, sont retenus avec plus ou moins de force. Cette chromatographie ionique est utilisée pour chromatographie aussi bien des molécules de petite et grande tailles que des ions (F^- Cl^- $.Br^-$) **(Bernard Hainque et al 2008)**

Chapitre 1 : Méthode d'analyse

2.4. Chromatographie d'exclusion stérique :

Également appelée chromatographie de filtration de gel (gel-filtration), ou encore de perméation de gel (pour la séparation de petites molécules, en phase organique).

Cette méthode utilise une phase stationnaire constituée par un polymère, qui donne un gel poreux dont le degré de réticulation va conditionner la taille des pores. Ce gel laisse pénétrer les molécules de taille inférieure à celle de ses pores, alors que les grosses molécules restent à l'extérieur. Les grosses molécules sont donc exclues du gel et peuvent être séparées des petites molécules qui ne sortent du gel que plus tardivement.

Cette méthode permet la séparation de molécules de masse moléculaire élevée (protéines, ADN, particules virales, hauts polymères...). Si l'élution est réalisée par une phase mobile constituée par un tampon non dénaturant, cette méthode peut être utilisée dans les protocoles d'isolement et de purification. **(Bernard Hainque et al 2008)**

2.5. Chromatographie d'affinité:

Cette méthode utilise des interactions comme les liaisons enzyme-substrat ou antigène-anticorps, l'un des deux membres du couple, par exemple un anticorps attaché à un support poreux, sert à adsorber spécifiquement, à partir d'un mélange, l'autre membre, l'antigène spécifique. Elle est surtout utilisée pour la purification de protéines et d'acides nucléiques, donc dans un but de préparation. **(Bernard Hainque et al 2008)**

I. Définition

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique très utilisée en laboratoire de chimie et biologie elle présente beaucoup d'avantages tel que sa grande sensibilité ; sa polyvalence, sa rapidité et à la possibilité d'automatisation. La séparation des analytes au niveau de la colonne se faisant à partir d'espèces chimique à l'état gazeux, l'échantillon doit être vaporisée, par chauffage, en tête de colonne. C'est sans doute sur ce point que la CPG trouve ses limites puisque seules les composées suffisamment volatiles et thermiquement stables peuvent être analysées. Cette technique est associée à des modes de détection très sensibles, le pictogramme pouvant être facilement attient avec certains détecteurs. Son couplage avec la spectrométrie de masse permet d'obtenir, outre le chromatogramme, des informations utiles pur identifier les solutés. Les applications sont très nombreuse dans tous les domines et les développements de la chromatographie à grande vitesse ou multidimensionnelle rendent cette technique toujours très attractive (Gérard férey, 2009)

II. Principe d'une installation de CPG:

Un appareil de CPG réunit dans un bâti unique, outre les trois modules classiques, injecteur, colonne et détecteur, un four thermostaté qui permet de porter, si nécessaire, la colonne à une température élevée (**figure -1**). La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans les colonnes est un gaz, appelé gaz vecteur. Les débits. Contrôlés avec permettent une grande répétabilité des temps de rétention.

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon, sous forme liquide ou gazeuse. Dans l'injecteur. qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne. Celle-ci se présente comme un tube de faible section enroulé sur lui-même, de 1 à plus de 100m de longueur suivant les cas et contenant la phase stationnaire. Cette colonne est placée dans une certains modèles de chromatographes ont une alimentation autonome ainsi qu'une taille réduite pour faciliter l'emploi en milieu extérieur, sur le terrain. (**Figure -1**) (francis Rouessac ,al 2009)

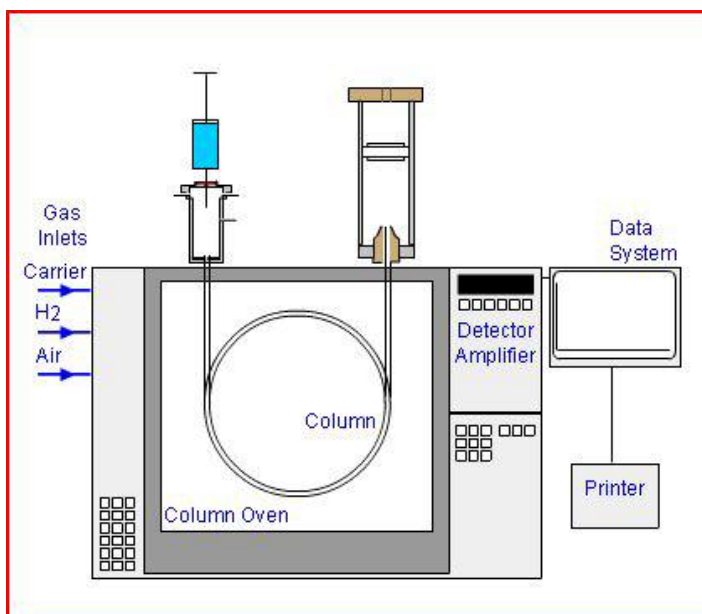


Figure 01 : le chromatographe en phase (V.JACOB, 2010)

III. Principe et appareillage

La chromatographie en phase gazeuse ou CPG s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être volatilisés par élévation de la température. Cette technique s'applique donc aux molécules de bas poids moléculaires ($PM < 500 \text{ g mol}^{-1}$) et aux composés stables avec la température. Pour les composés thermolabiles ou peu volatils, l'analyse ne sera possible qu'après des réactions de transformation (dérivatisation). (V.JACOB, 2010)

Dans cette technique chromatographique :

- **la phase stationnaire** : est soit un liquide soit un solide.
- **la phase mobile** : est un gaz qui balaie en permanence la colonne et qui est encore appelé gaz vecteur. (V.JACOB, 2010)

1. L'alimentation en gaz vecteur

En chromatographie gazeuse, la phase mobile est appelée le gaz porteur (ou gaz vecteur) et doit être chimiquement inerte. L'hélium est le gaz porteur le plus courant, bien que l'on utilise aussi l'argon, l'azote et l'hydrogène. Ces gaz sont fournis en bonbonnes pressurisées. Pour contrôler la vitesse d'écoulement du gaz, on a besoin de régulateurs de pression, de jauges et de débitmètres.

Les vitesses d'écoulement sont généralement contrôlées par un régulateur de pression à deux étages qui équipe la bonbonne de gaz et une sorte de régulateur le chromatographe. Les pressions d'admission sont usuellement comprises entre 10 et 50 psi au dessus de la pression ambiante, avec des débits de l'ordre de 25 à 150 ml/min pour les colonnes capillaires. En général, on admet que le débit est constant si la pression d'entrée reste constante le débit peut-être mesuré par un rotamètre au sommet de la colonne, mais ce dispositif n'est pas aussi exact que le simple appareil à bulle de Von habituellement le débitmètre est situé à la fin de la colonne. On forme de savon sur le trajet et du gaz en comprimant une poire en caoutchouc qui contient une solution aqueuse de savon au de détergent, le temps nécessaire pour que ce film se déplace entre deux graduations de la burette est mesuré et converti en débit (voir figure-2) notez que les débits linéaires. (Skoog, *al* 2012)

2. Colonne

Placée dans un four thermostat, elle est la partie essentielle du système. En générale, la température de la colonne est inférieure à celle de l'injecteur et du détecteur. Il faut distinguer deux types de colonnes : (J- P. GRAMOND. *al* 2008)

1.1 Colonnes remplies

En acier inox ou en verre, elles ont une longueur moyenne de 2 m et un diamètre interne de 1/8^e de pouce (3 mm). La phase stationnaire est répartie sur un support poreux inerte toutes les phases connues sont disponibles pour l'emploi avec ce type de colonne. On peut aisément préparer une colonne de ce type : la phase stationnaire est dissoute dans un solvant, puis mélangée avec le support selon le taux d'imprégnation choisi (de l'ordre de 1 à 5% ou plus si les composés sont très volatils). Le support désactivé doit présenter une surface spécifique adaptée au taux choisi (élevée pour les taux importants afin d'éviter le bouchage des pores). Le solvant est évaporé et l'on peut procéder au remplissage de la colonne.

Les colonnes remplies, malgré leur efficacité moindre que celle des colonnes capillaires, gardent un intérêt pour des analyses très spécifiques et notamment en chromatographie gaz/solide ou lorsque la phase n'est pas disponible sur colonne capillaire. Elles peuvent aussi être utilisées en chromatographie semi-préparative (J- P. GRAMOND. *al* 2008)

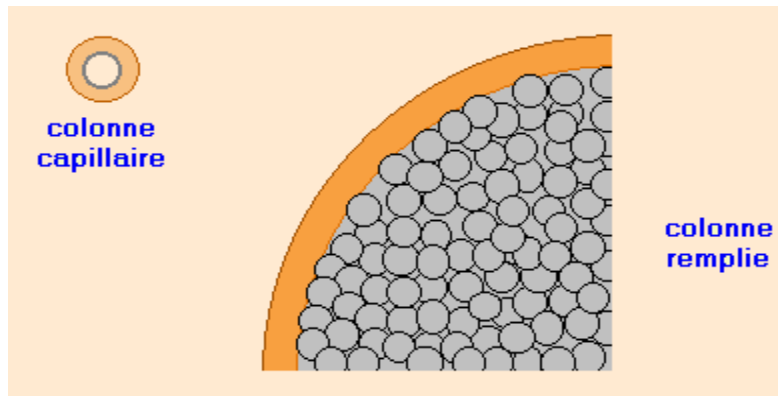
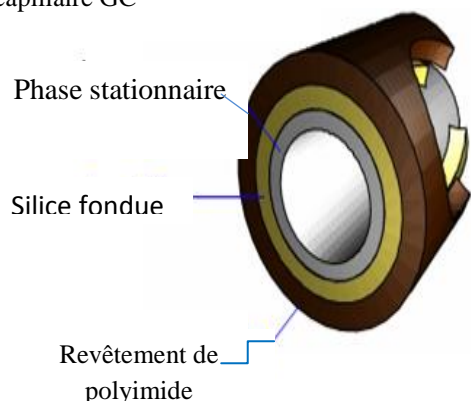


Figure 02 : colonne remplie (V.JACOB, 2010)

2.2 Colonnes capillaires

Elles sont actuellement les plus employées. Leur diamètre va de 0,10 à 0,53 mm ; la phase stationnaire d'épaisseur moyenne de $1\mu\text{m}$ est fixée sur la paroi interne. Leur longueur varie de 10 à 100 m. elles sont en silice recouverte d'un durcissant (polyimide) pour les rendre aisément manipulables ; pour certaines analyses à température élevée, il existe des colonnes à revêtement d'acier spécialement traité. Le dépôt de phase stationnaire est réalisé par greffage ou par réticulation. Le greffage est effectué par l'intermédiaire d'agents de couplage, les silanes, après une préparation de la surface destinée à fournir un nombre élevé de silanols ; cela produit des films parfaitement étalés et un masquage total des silanols (Si-OH) qui pourraient former des liaisons hydrogènes avec les composés polaires et conduire à des pics trainants. Cette méthode convient pour les phases polysiloxanes mais non pour les phases polaires car on fait apparaître des groupements Si-CH_3 en surface qui ne peuvent fixer des groupes polaires ; on procède alors à la désactivation de la surface ou du support par traitement alcalin ou par du polyéthylène glycol. La réticulation consiste à produire des liaisons croisées (cross – linking) in situ dans le film de phase stationnaire qui se transforme en un polymère très stable vis – à – vis des solvants ; on peut ainsi obtenir des films épais. Les peroxydes ou le rayonnement gamma générateurs de radicaux libres servent de moyens de réticulation. (J- P. GRAMOND. *al* 2008)

Section transversale typique d'un mur recouvert colonne tubulaire ouvert capillaire GC



Section d'une colonne de 30 m capillaire sur un hangar (forme) pour permettre l'utilisation d'un four de taille raisonnable de GC



Figure 03 : colonne capillaire (V.JACOB, 2010)

3. Système d'injection :

Pour qu'une colonne soit efficace, il faut que l'échantillon ait un volume adéquat et soit introduit sous forme d'un "bloc" de vapeur en écoulement piston ; une injection trop lente ou un échantillon trop volumineux cause un élargissement des pics et réduit la résolution. On utilise des micros seringues étalonnés, pour injecter l'échantillon liquide ou gazeux à travers un diaphragme, ou septum en élastomère dans une chambre à vaporisation instantanée située au sommet de la colonne. La chambre injection est habituellement maintenue à environ 50°C au-dessus du point d'ébullition du constituant le moins volatil de l'échantillon. Pour les colonnes remplies, les volumes d'échantillon varient de quelque dixième de microlitre à 20 μL . Les colonnes capillaires nécessitent des échantillons au moins 100 fois plus petits : on utilise un diviseur d'échantillon pour n'injecter qu'une petite fraction (1:100 à 1:500) de l'échantillon dont le reste est rejeté. Les chromatographes gazeux commerciaux prévus pour l'utilisation de colonnes capillaires intègrent ces diviseurs; ils permettent aussi de diviser l'injection quand on utilise des colonnes remplies.

Pour les travaux quantitatifs, pour les liquides comme pour les gaz, on obtient des tailles d'échantillon plus reproductibles à l'aide d'une simple vanne d'échantillonnage. Avec ce dispositif, les tailles d'échantillon sont reproductibles à mieux que 0.5%. Les échantillons solides sont introduits sous forme de solutions, ou encore scellés dans ampoule à paroi mince qui est insérée au sommet de la colonne et écrasée de l'extérieure. (Skoog. *al* 2012)

3.1. Systèmes d'injection pour colonnes remplies :

3.1.1. Injection directe :

Dans ce système, l'injecteur est constitué par un tube métallique dont l'une des extrémités est obturée par un septum et l'autre est raccordée à la colonne (figure 04). Cet injecteur est en permanence chauffé à une température préréglée et balayé par le gaz vecteur l'échantillon est introduit à l'aide d'une seringue à travers le septum et instantanément vaporisé et entraîne vers la colonne. **(Bernard Hainque et al 2008)**

Dans ce type d'injecteur, la totalité de l'échantillon par vers la colonne, avec les risque de surcharge en soluté et de surpression que cela comporte. **(Bernard Hainque et al 2008)**

Ce système a l'avantage d'être simple, bon marché quantitatif, mais a l'inconvénient d'entraîner une pollution de la tête de colonne. De plus, ce procédé put éventuellement conduire à des dégradations pour des molécules thermiquement instables : on effectuera de préférence une injection on – column (en tête de colonne) ; ainsi l'échantillon n'est- il jamais placé au – dessus de sa température d'élution **(Bernard Hainque et al 2008)**

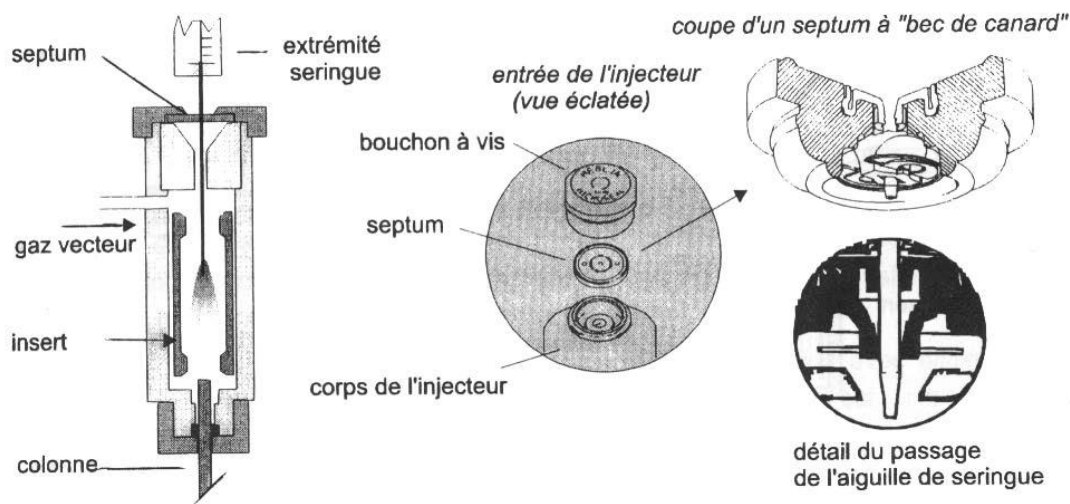


Figure 04 : injecteur a vaporisation directe **(V.JACOB. 2010)**

3.1.2. Injection froide, dite on-Column :

Dans cette injection, le prélèvement est directement introduit dans le remplissage en tête de colonne, où il est immédiatement pour partie vaporisé et pour l'autre partie dissous dans la phase stationnaire (figure 05)

L'avantage de cette méthode est que le volume de vapeur produit est faible, et le risque d'avoir une augmentation de pression est ainsi diminuée. Il y a moins d'interruption du flux du gaz vecteur et moins de risques que les vapeurs remontent vers les parties froides de l'injecteur et s'y condensent. D'autre par, la température atteinte dans la zone d'injection peut provoquer une détérioration plus rapide de la phase stationnaire, de même que des particules de remplissage peuvent bouche l'aiguille de la seringue. (Bernard Hainque et *al* 2008).

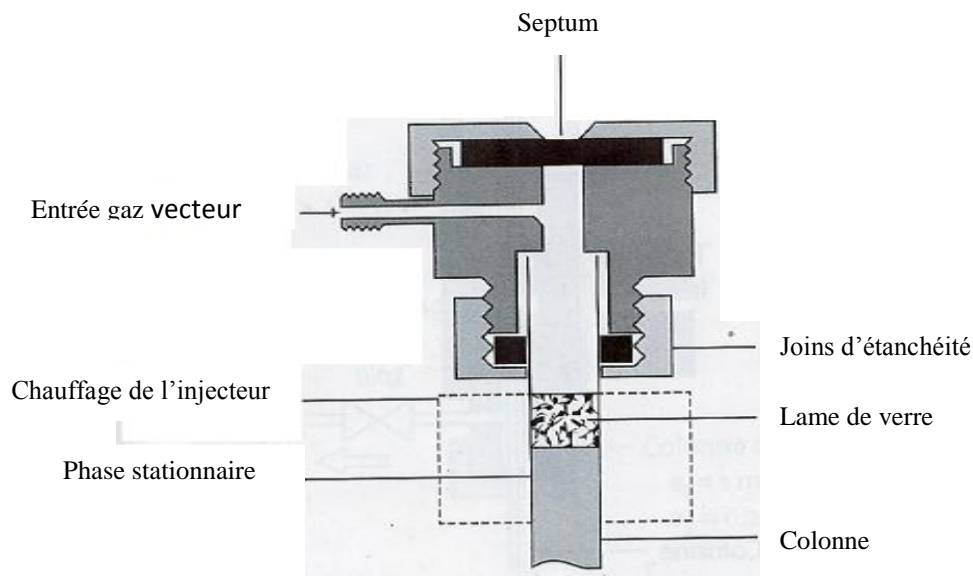


Figure 05 : Injecteur on-colonne

3.1.3. Injection à l'aide de vannes :

Les gaz peuvent être injectés à l'aide de seringue, mais la colonne, d'une partie d'échantillon restée dans l'espace morte de l'aiguille peut conduire à un manque de précision inacceptable en analyse quantitative. Dans ce cas, une vanne à plusieurs voies et une boucle d'échantillonnage apportent des avantages (figure 06)

Lorsque le rotor de la vanne est en position 1, la boucle d'échantillonnage calibrée est remplie avec l'échantillon gazeux à la température atmosphérique. Le rotor est ensuite mis en position 2 et l'échantillon est introduit dans la colonne par le courant de gaz vecteur. A' part l'analyse par la méthode de l'espace de tête en mode statique : quand un flacon étanche est partiellement rempli avec une solution de composés volatils, la composition du mélange de vapeurs au-dessus de la solution est telle qu'elle est en équilibre avec la solution. Si le flacon est correctement thermo régulé.

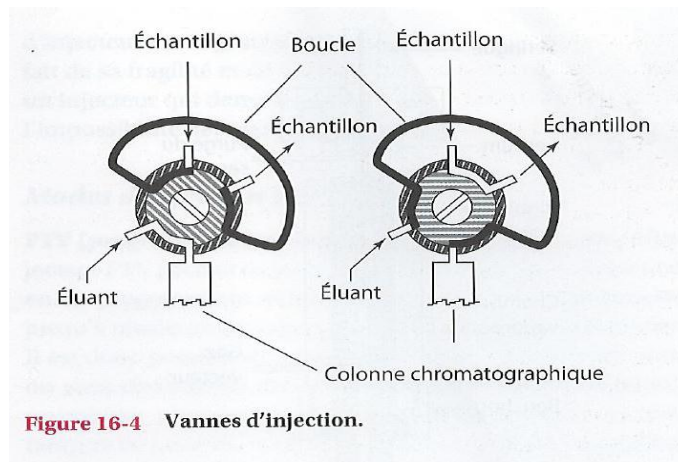


Figure 06 : vannes d'injection

L'analyse du mélange de vapeurs permet de déterminer la composition de la solution : c'est l'analyse de l'espace de tête. Après un calibrage approprié, elle peut offrir une précision comparable à celle obtenue en analyse conventionnelle de la phase liquide et a l'avantage de permettre une automatisation plus facile de l'injection ainsi que de ne pas contaminer la colonne par les composés non volatils de la solution. **(Bernard Hainque et al 2008)**

3.2. Systèmes d'injection pour colonnes capillaires

L'injection sur des colonnes capillaire pose un double problème : la saturation de la colonne par des quantités de solutés trop importantes et l'introduction de grands volumes de solvant. Pour remédier à ces problèmes, plusieurs systèmes ont été mis au point, et le premier est de vaporiser rapidement le solvant par un chauffage rapide. **(Bernard Hainque et al 2008)**

3.2.1. Injection directe :

le principe de cet injecteur est le même que pour les colonnes remplies et il s'agit en général du même appareil dans lequel un insert en silice a été placé pour réduire le volume de la chambre d'injection (figure 07). Ses autres avantages sont d'utiliser une plus faible quantité d'échantillon et de permettre l'analyse des traces. Ce système présente les mêmes problèmes que les colonnes remplies. **(Bernard Hainque et al 2008)**

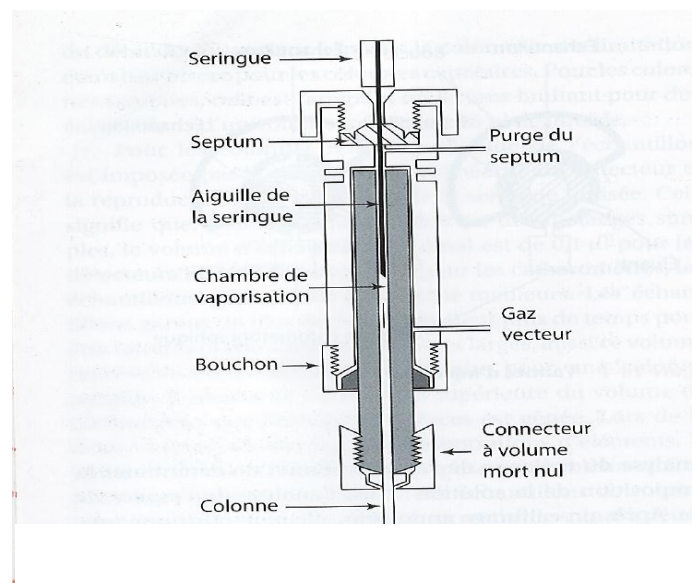


Figure 07 : Injection directe

3.2.2. Injection on - column :

Les injecteurs on-column sont fondés sur le principe du dépôt direct de l'échantillon à l'intérieur de la colonne à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille très fine. Les avantages en sont l'absence de discrimination, la possibilité d'analyse de traces, l'absence de fuites du septum, l'injection possible de grands volumes et l'obtention de bandes d'injection étroites. Les inconvénients sont la contamination facile de la colonne et l'impossibilité d'effectuer des analyses isothermiques. **(Bernard Hainque et al 2008)**

3.2.3. Injecteur-diviseur (split) :

Quel que soit le type de seringue utilisé, des volumes de $0.1\mu\text{l}$ peuvent saturer une colonne capillaire. Ce problème peut être contourné en utilisant un injecteur – diviseur (figure08).

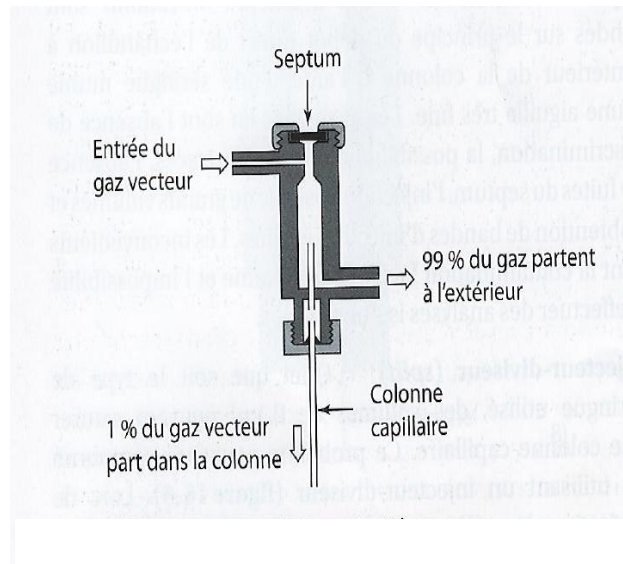


Figure 08 : injecteur-diviseur (split)

Lors de l'injection, le prélèvement est introduit dans un injecteur Chaud de taille similaire à celle des injecteurs utilisés pour les colonnes remplies, le débit de gaz vecteur dans le détecteur et les quantités injectées sont également comparables à ceux utilisés avec les colonnes remplies. Mais dans ce type d'injecteur, le courant gazeux est divisé en deux : 1 à 5% pénètrent dans la colonne alors que l'excédent est éliminé à l'extérieur. L'injection ainsi réalisée répond aux trois impératifs d'une injection :

- l'échantillon injecté est représentatif de l'échantillon analyser
 - la quantité injectée est compatible avec la quantité de phase stationnaire.
- Endépassant pas la capacité de la colonne, on évite l'élargissement des pics par effet isotherme, le balayage de l'injecteur est suffisamment rapide pour éviter l'élargissement des pics à l'entrée de la colonne. **(Bernard Hainque et al 2008)**

Cet injecteur , qui est parmi les plus utilisés, est le plus facile à manier car il permet de travailler en isotherme et d'injecter n'importe quel type de produit, y compris les gaz. La difficulté majeure pour travailler de façon quantitative est que le fractionnement peut ne pas être homogène, soit en raison d'un mauvais mélange avec le gaz vecteur à l'étage de dilution,

soit parce que les composés de masse moléculaire relativement basse diffusent vers l'évacuation plus rapidement que ceux de masse moléculaire élevée. On dit que le diviseur montre une discrimination.

(Bernard Hainque et al 2008)

3.2.4 Injecteurs split splitless :

Ces injecteurs sont utilisés pour les colonnes capillaires à faible débit car les volumes introduits avec la micro seringue sont souvent trop importants pour ce type de colonne et peuvent les saturer. On utilise alors des injecteurs pouvant fonctionner avec deux modes :

➤ **En mode split :**

Le gaz vecteur arrive avec un grand débit dans la chambre de vaporisation. Une vanne de fuite sépare le courant gazeux en deux parties dont la plus petite est la seule à pénétrer dans la colonne. Un dispositif règle le débit de fuite (généralement entre 50 et 100 ml/min) et le facteur de division varie entre $1/20^{\text{ème}}$ et $1/500^{\text{ème}}$ (95 à 99,8%). **(V.JACOB, 2010)**

➤ **En mode splitless :**

Ce mode d'injection est réservé à l'analyse de traces.

On injecte l'échantillon avec la vanne de fuite fermée durant 0,5 à 1 minute afin que les composés vaporisés en même temps que le solvant se concentrent sur les premiers centimètres de la colonne. Puis l'ouverture de la vanne de fuite élimine ensuite de l'injecteur les composés moins volatils qui nuiraient à l'analyse. (CPG) **(V.JACOB, 2010)**

4. Le Four :

La température de la colonne est un paramètre important qui doit être contrôlée à quelques dixièmes de degré. C'est pourquoi on place la colonne dans un four qui est une enceinte thermo statée. L'atmosphère de ce four d'inertie thermique faible, est agitée en permanence par une ventilation forcée. Le four peut fonctionner :

- Soit en isotherme avec une régulation de température de 40 à 450°C stabilisée au 1/10ème de degré,

- Soit en programmation de température pour l'analyse d'échantillons contenant une gamme étendue de points d'ébullition ou des produits au temps de rétention différents. (V.JACOB, 2010)

5. Les détecteurs

Les détecteurs décèlent la présence des substances chromatographiées dans le gaz vecteur au fur et à mesure de leur élution. Ils sont toujours placés en sortie de colonne. Ces substances modifient une propriété chimique ou physique du gaz et ces variations sont transformées par le détecteur en signaux électriques qui sont amplifiés et transcrits sous forme d'un graphique. On peut répartir les détecteurs en trois groupes : (V.JACOB, 2010)

5.1 Les détecteurs non spécifiques :

5.1.1 Le détecteur à conductibilité thermique (TCD) :

Ce détecteur universel, mis au point dès les débuts de la CPG peut être utilisé aussi bien pour les colonnes remplies que pour les colonnes capillaires. De sensibilité moyenne, il présente une gamme dynamique étendue son principe repose sur la mesure des variations de conductibilité thermique des mélanges gazeux en fonction de leur composition. Il s'agit d'un cathétomètre comportant deux thermistances identiques, placés dans deux minuscules cavités d'un bloc métallique thermostaté à une température supérieure à celle de la colonne. L'un d'eux est baigné par le gaz vecteur prélevé en amont de l'injecteur et l'autre par le gaz vecteur en aval de la colonne (Francis Rouessac *al* 2009)

En régime stationnaire il s'établit un équilibre de température, donc de résistance fonction de la conductibilité thermique du gaz vecteur et de l'intensité électrique. Lorsqu'un soluté est élué, le changement de composition de la phase gazeuse modifie sa conductibilité. L'équilibre thermique est rompu, d'où il résulte une variation de la résistance du filament, proportionnelle à la concentration du composé dans le gaz vecteur (Francis Rouessac. *al* 2009)

5.1.2 Le détecteur à ionisation de flamme (FID) :

Considéré comme pratiquement universel pour les composés organiques, c'est le détecteur par excellence de la CPG actuelle. Le courant gazeux issu de la colonne pénètre dans la flamme d'un petit brûleur alimentée par un mélange de dihydrogène et d'air. Ce détecteur détruit l'échantillon dont la combustion produit des ions et particules chargées, responsables du passage d'un courant ionique extrêmement faible ($10 - 12 \mu\text{A}$) entre deux électrodes (ddp de 100 à 300 V). L'extrémité du brûleur sert d'électrode de polarisation (masse). La seconde électrode, de forme annulaire, entoure la flamme. Le signal est amplifié par un électromètre en une tension mesurable (figure 09). Pour les composés organiques, l'intensité du signal est sensible au débit massique de l'échantillon, sachant bien que la présence de certains hétéro - élément, tels les halogènes peuvent modifier notablement la réponse. L'aire du pic reflète donc la masse du composé élué .le FID est donc à l'abri des variations de débit qui peuvent conduire à des erreurs avec les détecteurs du type TCD. (francis Rouessac, *al* 2009)

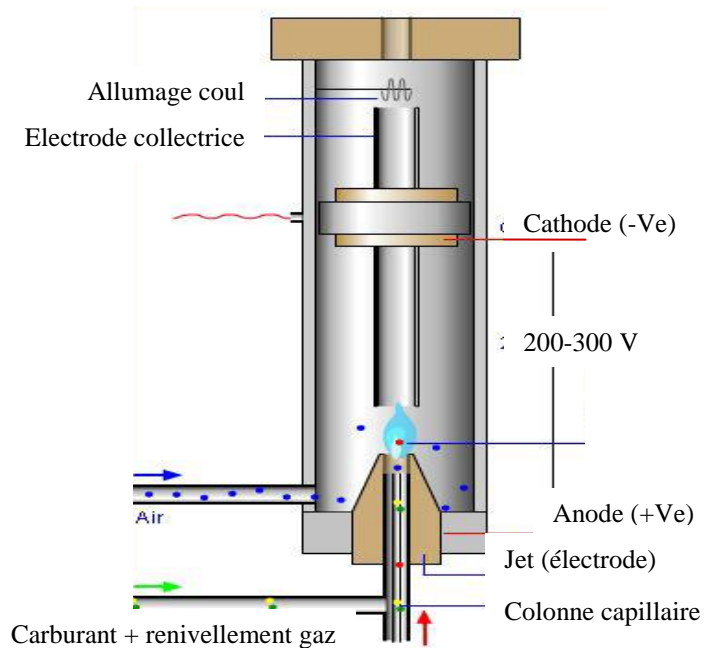


Figure 09 : Détecteur FID (V.JACOB, 2010)

5.2 Les détecteurs spécifiques

5.2.1 Détecteur thermoïonique (NPD) :

Ce détecteur est un détecteur sélectif qui est très sensible pour les composés organiques azotés ou phosphorés. Son principe est le même que celui du FID. L'effluent sortant de la colonne est mélangé avec l'hydrogène et est brûlé dans une flamme. Le gaz chaud circule sur une pastille en céramique (en silicate de rubidium ou de césium) chauffée électriquement. Cette pastille sert d'électrode et on lui applique une tension de 180V par rapport au collecteur. A cette température de 600 à 800°C, il se forme au voisinage de la pastille et sans que l'on puisse expliquer le phénomène, un plasma d'ions lorsque les molécules étudiées contiennent de l'azote ou du phosphore. Il résulte un courant ionique important (**francis Rouessac. al 2009**)

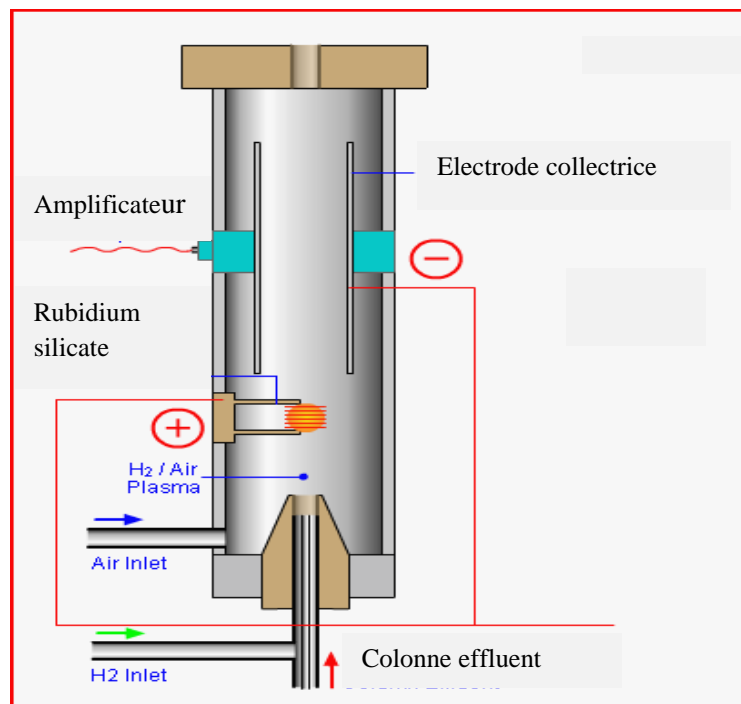


Figure 10 : Détecteur NPD (V.JACOB, 2010)

5.2.2 Détecteur à capture d'électrons (ECD) :

Ce détecteur est un détecteur sélectif qui permet d'analyser les composés électrophiles et plus particulièrement les composés halogénés. Ce détecteur décèle également, mais avec une sensibilité beaucoup plus faible, les substances susceptibles de capter des électrons comme les composés poly aromatiques, les composés avec groupements carbonyles

conjugués, nitrite, nitrate et certains Composés soufrés ou phosphorés. Il est par contre insensible aux hydrates de carbone aux alcools et aux carbures saturés. (V.JACOB, 2010)

5.2.3 Le détecteur a photométrie de flamme

Le détecteur à photométrie de flamme a été largement appliqué à l'analyse des polluants de l'air et de l'eau avec des applications pour l'analyse des pesticides et des produits d'hydrogénation de la houille. C'est un détecteur sélectif qui est particulièrement sensible aux composés contenant du soufre et du phosphore (V.JACOB, 2010)

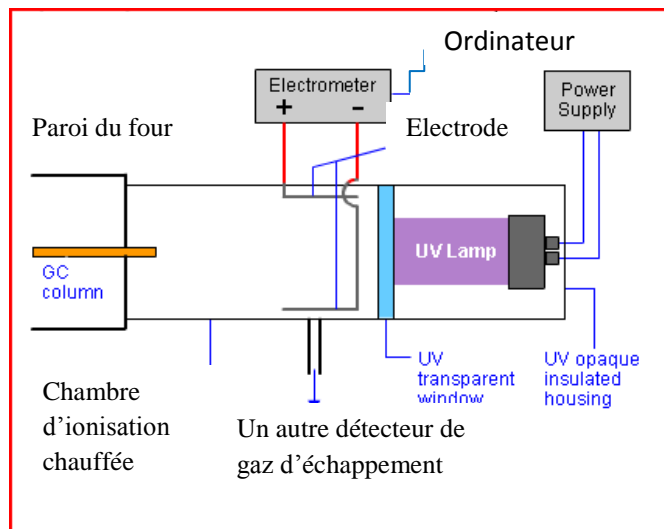


Figure 11 : détecteur PID (V.JACOB, 2010)



Figure 12 : L'appareil YL6500 GC

I. Caractéristiques de l'appareil YL6500 GC

L'YL6500 GC est une boîte rectangulaire, d'environ 605 mm de largeur, 455 mm de hauteur, 550 mm de profondeur. Le poids est de 55 kg. Il dispose d'un panneau de commande pour un fonctionnement sur le côté droit.

Le panneau de contrôle dispose d'un écran LCD pour l'entrée des conditions de fonctionnement et d'affichage de données d'entrée une DEL pour l'affichage de l'état de l'équipement, et un clavier pour le fonctionnement de l'équipement et des variables d'entrée. Il existe un bouton d'alimentation au-dessous du panneau de commande et un four de colonne sur le côté gauche de celui-ci. le four peut être facilement ouvert en appuyant sur un bouton qui est en dessous.

L'orifice d'entrée est sur le côté gauche de l'appareil. peut être connecté avec l'échantillonneur automatique. Les détecteurs sont sur le côté supérieur droit. Les quatre chiffres suivants sont les schémas de l'YL6500 GC. Vous pouvez installer tous les trois entrées et des détecteurs et quatre soupapes à manipuler des échantillons de gaz. Vous pouvez également régler le volume de gaz en utilisant le système de commande pneumatique avancée (APC), qui est relié avec les orifices d'entrée et de détecteurs. L'APC est sur le côté droit de retour de l'équipement (Young, 2014)

II. spécifications d'YL6500 GC:

Configuration requise

Electricité: 220 VAC 60 Hz, 3,5 kW

Chromatographe en phase gaz YL6500 GC Module de système de four

- Volume utile : 14L
- Refroidissement automatique sous le contrôle du processeur
- gamme de température de fonctionnement: (ambiante à 450 °C ou plus) -80 °C ~ 450 °C (avec refroidissement cryogénique LN2) -55 °C ~ 450 °C (avec LCO2 refroidissement cryogénique)
- Température de consigne Résolution: 1
- Programmation: 25 rampes, programme de température 26 étapes
- Taux maximal de chauffage de consigne: 100 °C / min
- Durée: Maximum 9999 min
- taux de Refroidissement: 6,5 minutes à partir de 450 °C à 50 °C
- Méthode de programme de température: Maximum de 20
- Stabilité de la température: $\pm 0,01$ °C (isotherme), $\pm 0,1$ °C (Gradient)
- Amélioration de la fonction de conditionnement de la colonne: jeu automatique de la scission de s'écouler jusqu'à 5 ml / min sur colonne conditionné
- Prévention de dysfonctionnement du four (Plus de chauffage)
- Dispositifs chauffants: 10 zones chauffées norme
 - A. 1 zone four chauffé
 - B. 3 zones d'injection chauffée
 - C. 3 zones de détection chauffée
 - D. Zone de vanne chauffée 2
 - E. 1 zone de méthaniseur chauffée

ISnjecteur (de pas maximale de l'installation d'entrée: Trois)

Paniers entrée

-Température maximale: 450 ° C

- plage de réglage de la pression: 0,01 ~ 100 psi
- Total plage de réglage de débit: 0,1 ~ 100 ml / min 4)
- Stabilité des écoulements $<\pm 0.05\text{ml/min}$
- la stabilité de la pression $<\pm 0.05\text{psi}$
- La température de consigne: 1 °C (Young, 2014)

-La stabilité de température $<\pm 0,1$ °C

Capillaire entrée (Split/Splitless)

- Température maximale: 400 ° C
- plage de réglage de la pression: 0,01 ~ 100 psi
- Total plage de réglage de débit: 0,1 ~ 400 ml / min N 20 ~ 1000ml/min He
- temps Splitless consigne: 0.01min
- Total des flux de stabilité $<0.05\text{ml/min de } \pm$
- la stabilité de la pression $<\pm 0.05\text{psi}$
- Température de consigne: 1 °C
- la stabilité de la température $<\pm 0,1$ °C

L'entrée colonne

- Température maximale: 450 ° C
- plage de réglage de la pression: 0,01 ~ 100 psi
- Total plage de réglage de débit: 0.1 ~ 100 ml/min
- Stabilité des écoulements $<\pm 0.05\text{ml/min}$
- la stabilité de la pression $<\pm 0.05\text{psi}$
- Température de consigne: 1 °C
- La stabilité de température $<\pm 0,1$ °C
- la programmation de la température jusqu'à 5 étapes

Commande pneumatique avancée

- Jusqu'à 6 blocs APC pour les entrées, les détecteurs ou des auxiliaires du gaz
- Augmentation de la précision et de l'exactitude de la pression et du débit
- : Augmentation du nombre de fois où l'échantillonnage de débit et de pression
- : Augmentation du nombre de fois où le contrôle des vannes
- : Antichoc APC
- : Compensation automatique de la température et la pression en état d'installation
- Jusqu'à 6 APC peut être installé et jusqu'à 18 canaux d'APC

- point de consigne de débit: 0.1ml/min
- la consigne de débit: 0.1ml/min
- Tous les flux de gaz contrôlé par APC
- gaz disponibles: N₂, He, H₂, Air, Ar/CH₄
- Conseil pour l'utilisation du contrôle APC: APC principal B / D (**Young, 2014**)
- Débit constant
- à pression constante
- programme Débit: 5 étapes
- programme Pression: 5 étapes
- Détection de fuites
- Après une alarme pour une pénurie de gaz, il enregistre automatiquement la méthode à pas. 0 et arrête
- Gaz de veille

Détecteur

- Nombre maximum. De l'installation du détecteur: trois
- Débit de données Acquisition: 200 Hz
- détecteur à ionisation de flamme
- la température de fonctionnement maximale de 450 ° C
- l'allumage de la flamme automatique
- Température de consigne: 1 °C
- Un message d'allumage: message d'alarme comme «flamme out »

- MDL: 2,0 pg carbone / sec

- gamme dynamique linéaire: 10⁷
- stabilité de température: ± 0,1 °C
- Air: 0 ~ 500 ml / min
- H₂: 0 ~ 100 ml / min
- Make-up gaz: 0 à 100 ml / min
- détecteur de conductivité thermique
- température de fonctionnement maximale de 400 ° C

- écoulement à travers la cellule: 4 filaments de tungstène de rhénium-
- MDL: 2, 5 ng / ml (standard), 400 pg / ml (uTCD)
- protection du filament
- Température de consigne: 1 °C
- Micro-cellule (en option)
- Ref: 0 ~ 100 ml / min (**Young, 2014**)
- Make-up: 0 ~ 100 ml / min
- détecteur azote-phosphore
- température de fonctionnement maximale de 400 ° C
- MDL: <0,4 pg N / sec (Azobenzene) <0,2 pg P / sec (malathion)
- la gamme dynamique N :> 10⁴
- la gamme dynamique P :> 10⁴
- Détecteur à photométrie de flamme
- température de fonctionnement maximale de 300 ° C

- limite de détection minimale pour S: <20 pg S /

- limite de détection minimale P: <0,5 pg P / sec

- la gamme dynamique S:> 10³
- la gamme dynamique P:> 10⁴
- S / C Sélectivité: 10⁵
- P / C Sélectivité: 10

- Détecteur de décharge pulsée
- température de fonctionnement maximale de 400 ° C
- PDHID, le mode peut être sélectionné PDECD
- APC n'est pas supporté
- mode d'ionisation d'hélium (PDHID): linéarité - 10⁵

MDL (de composé organique: ppb)
(Gaz permanent: faible ppm)

Mode de capture d'électrons (PDECD): linéarité - 105 MDL - 10-15

Gaz dopant: 3% Xe dans l'hélium

-détecteur électronique de capture

-Température de fonctionnement: 400 °C

-Limite de détection S: 10 fg / sec

-Rage dynamique linéaire:> 10⁴ (**Young, 2014**)

III. Installation :

1. Environnement pour l'installation

Il faut vérifier l'environnement de l'installation avant d'ouvrir la boîte de l'YL6500 GC.

1-1. environnement de l'installation

L'YL6500 GC est d'environ 605 mm de largeur, 550 mm de profondeur, et pèse 55 kg. Bien qu'on peut généralement utiliser un bureau expérimental ordinaire, il vaut mieux de vérifier si elle supporte

La YL6500 GC ou pas. Pour faire fonctionner le YL6500 GC normalement, il est recommandé de maintenir la température intérieure entre 15°C et 25 °C, et de l'humidité entre 50% et 60%. (**Young, 2014**)

1-2. sortie du four :

Le four de la colonne de l'YL6500 GC évacue l'air chaud par l'arrière de l'équipement. Par conséquent, on peut installer l'équipement d'un mur d'au moins 30 cm, et de garder quelque chose qui peut être lésé par de l'air chaud loin de la face arrière.

1-3. Signe de sécurité :

Certaines consignes de sécurité sur la surface de l'équipement doivent être respecté il faut bien lire les messages affichés lors de l'utilisation ou la réparation de l'équipement

Lorsqu'on ouvre le couvercle de l'appareil, on doit être sûr qu'il n'est pas activé.

Il ne faut pas garder des choses chaudes tels que des fils, des conduites de gaz et des produits chimiques à l'extérieur de la face arrière, parce que le four évacue l'air chaud par l'arrière. Aussi, il ne faut pas toucher les entrées chaudes et des détecteurs (Young, 2014)

2. Puissance :

2-1. La tension d'alimentation

L'YL6500 GC est ajustée pour être utilisé dans 220 VAC (5%), 60 Hz, et la tension consommation est de 3,5 KW. Il est recommandé d'installer le régulateur de tension automatique (AVR) - capacité 5.0 KW - dans un endroit où le changement de tension est sévère.

2-2. sol

Par mesure de sécurité, la CEI (la Commission électrotechnique internationale) recommande à prise de terre de l'équipement. Par conséquent, on doit vérifier la connexion de sol avant d'installer l'équipement S'il n'ya pas de ligne de terre dans une prise de courant, on doit connecter une ligne au sol supplémentaire à la partie de terre de la fiche

2-3. Vérification de l'alimentation

- 1) Ne pas mettre le parafoudre, si elle n'est pas sur le lieu normal.
- 2) Vérifiez le commutateur d'alimentation situé sur le côté droit en bas de l'équipement si elle est «OFF» ou pas.
- 3) Allumez l'équipement.
- 4) Lorsqu'on allume l'appareil, on peut vérifier l'état du contrôleur de système sur l'écran LCD, car l'YL6500 GC fonctionne à l'aide d'une fonction d'auto-contrôle.
- 5) Suivre à l'écran si il ya un message d'erreur ou pas.

6) S'il n'ya pas de message d'erreur lorsque on allume l'appareil, il faut l'éteindre à nouveau, puis continuer à installer. (Young, 2014)

I. Colonne :

La colonne joue un rôle important dans la séparation de composants dans un échantillon. Elle est installée entre une entrée et un détecteur il faut utiliser la colonne selon les normes parce que la colonne est choisie en fonction de la distance entre un orifice d'entrée et un détecteur. Plusieurs types de colonnes peuvent être utilisés :

1. colonne garnis :

Une colonne à garnissage est en acier inoxydable, en verre, en nickel, etc. La longueur moyenne est d'environ 6 ~ 20 ft. Normalement, le diamètre extérieur (OD) est de 1/8 pouce, 3/16 pouce, ou 1/4 pouce et l'intérieur de diamètre (ID) est de 2mm ~ 4mm. La phase stationnaire qui est emballé dans cette colonne est un lui-même solide ou un solide sur laquelle le liquide non volatile est revêtu. En général, la résolution est faible. Les phases stationnaires sont en silicium de méthyle, des tamis moléculaires, polymère poreux, etc. et d'autres matériaux spéciaux sont utilisés pour la phase stationnaire. (Young, 2014)



Figure 13 : Emballé colonne (Young, 2014)

2. Colonne capillaire :

En général, le diamètre intérieur (ID) d'une colonne capillaire est d'environ 0,1- 0,53 mm, et le film très mince est revêtu à l'intérieur de la colonne. Etant donné que la dépression de la pression de gaz selon la longueur n'est pas très importante dans le cas d'une colonne capillaire, la colonne peut être très longue (10 à 100m). Par conséquent, le nombre de plateaux théoriques est très grand. Mais, la quantité d'un échantillon qui peut être injecté est très faible Une colonne capillaire est principalement composée de silice fondue et aussi exceptionnellement faite d'acier inoxydable.



Figure 14 : Colonne capillaire (BENSAHA A, ANTAR S, 2014)

3. La CGC :

Cette colonne est garnie avec une phase stationnaire solide et principalement utilisé pour la séparation de gaz inorganique ou d'un hydrocarbure ayant une faible masse moléculaire par absorption à température ambiante. La phase stationnaire utilisée est du charbon de bois, le gel de silice, zéolite, tamis moléculaire, d'un polymère poreux, etc.

4. GLC :

Si la phase stationnaire est liquide, le liquide est enduit sur un support solide, qui est emballé dans une colonne. La quantité de liquide doit être suffisante pour être appliquée sur le support solide. Mais, trop réduire l'efficacité de la colonne. (Young, 2014)

IV. Four :

Un four est un dispositif qui permet d'améliorer la précision et la confiance d'un résultat d'analyse par le contrôle de température de la colonne exactement pour une analyse. Les normes de la GC YL6500 sont les suivants.

- température maximale de 450 °C
- Température minimale -80 °C (Utilisation liq. N2)
- taux de rampe maximum de 100 °C / min
- programmation de température de 25 étapes
- temps de fonctionnement maximum 9999 min

1. Structure d'un four :

Un contrôle la température du four au moyen d'un dispositif de chauffage et un ventilateur lorsqu'une trappe à l'arrière du four est ouverte ou fermée. Il refroidit jusqu'à 5 °C supérieure à la température ambiante, sans dispositif de refroidissement supplémentaire. La température du four est mesurée à l'aide d'un RTD en platine (détecteur de température de résistance). Si l'analyse d'un échantillon à température ambiante, il faut utiliser un dispositif de refroidissement supplémentaire tel que l'azote liquide (-80 °C) ou de la glace sèche (-50 °C). Programmation de la température est disponible jusqu'à 25 étapes et le temps de fonctionnement maximum est 9999min. Pour ouvrir la porte du four, il suffit de pousser un bouton sur le côté droit vers le bas de la porte du four. Ce four est conçu pour s'arrêter de fonctionner lorsque la porte du four est ouverte pendant la course afin de protéger l'utilisateur et l'équipement. (Young, 2014)



Figure 15: Four (BENSAHA A, ANTAR S, 2014)

VI. Gaz utilisés :

Tableau 01 : Les gaz utilisé

détecteur	gaz	usage	pureté
TCD	Hélium	gaz Porteur	99.995%
	N2 ou Ar	Porteur gaz	99.995%
FID	Nitrogène	Porteur gaz	99.995%
	Hélium	Porteur gaz	99.995%
	Hydrogène	gaz Soutien	99.995%
	Air (dry)	Soutien gaz	Meilleure note
ECD	Nitrogène	Porteur gaz	99.9995%
	Ar/CH4	Porteur gaz	Meilleure note
NPD	Hélium	Porteur gaz	99.9995%
	Nitrogène	Porteur gaz	99.995%
	Hydrogène	Soutien gaz	99.995%
	Air (dry)	Soutien gaz	Meilleure note
PDD	He	Porteur gaz	99.995%
	3% Xe/He	Dopant	Meilleure note

VII. Détecteurs:

l'appareil YL6500 GC peut être muni de 2 types de détecteurs, un détecteur en avant ou un détecteur TCD à l'arrière.

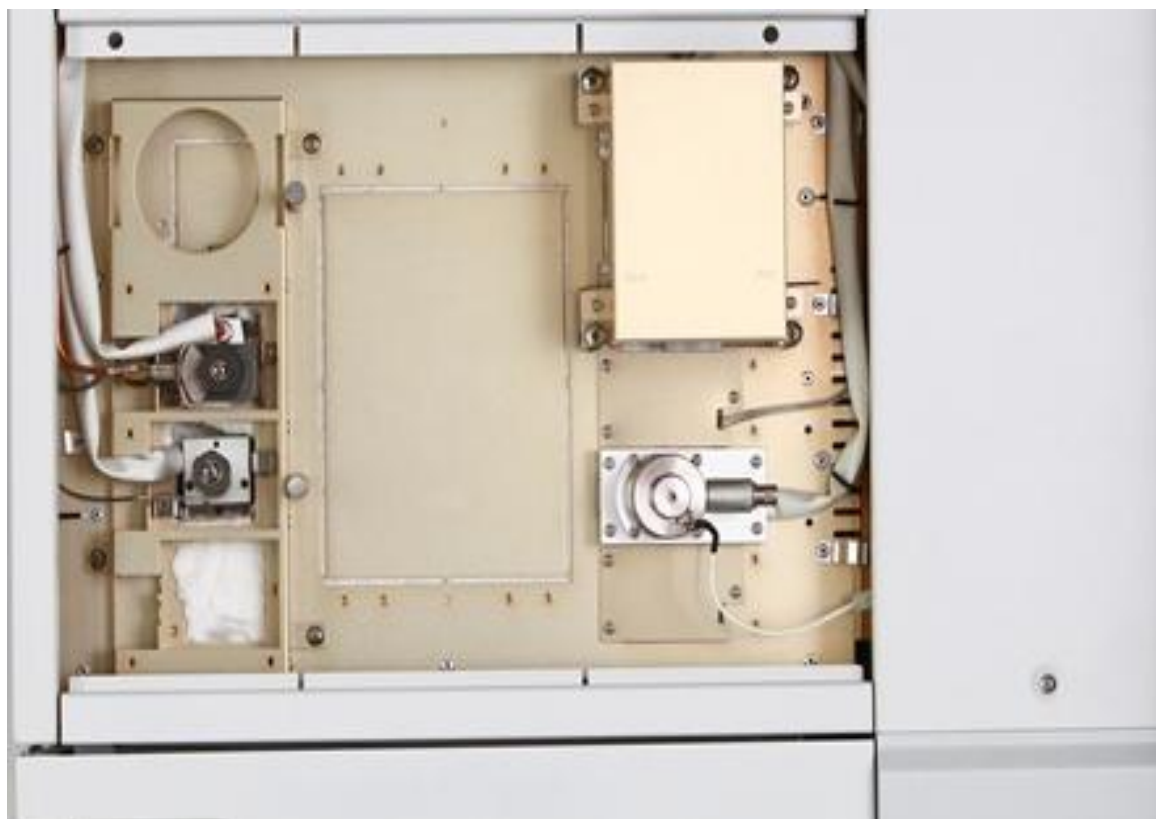


Figure 16: Sommet de GC équipé FID/TCD

cependant on peut installer d'autres types de détecteurs tel que:

- NPD: détecteur azote-phosphore
- ECD: détecteur à capture d'électron
- FPD: détecteur à photométrie
- AED: détecteur d'émission atomique

ou d'autre type tel que : FTIRD, MS (Young .2014)

1. Décomposition des huiles aromatiques:

L'une de séparation les plus effectuées au laboratoire de chimie est la décomposition des huiles essentielles d'une plante par méthode chromatographie en phase gazeuse en raison de leur volatilité c'est une méthode détente d'analyse et des séparations très précis.

L'huile essentielle est injecté dans une colonne ou elle est séparé ces différents constituant sont repéré de deux façon.

Dans notre étude nous avons utilisé la deuxième méthode d'analyse aussi un spectromètre de masse couplé à l'appareil de chromatographie, nous a permis de séparé avec succès 47 composés dans un huile essentielle.

2. Résultats et discussion :

Extraite de la plante (*Devera scoparia*) l'analyse des résultants obtenu d'après le chromatogramme GC /MS identifie bien ces composés dont la majorité sont des terpènes le tableau 2 ci-dessus illustre la liste nominature de ces composés, leur formule, les temps de rétention minute réussi que l'abondance de chaque composé des huile analysée

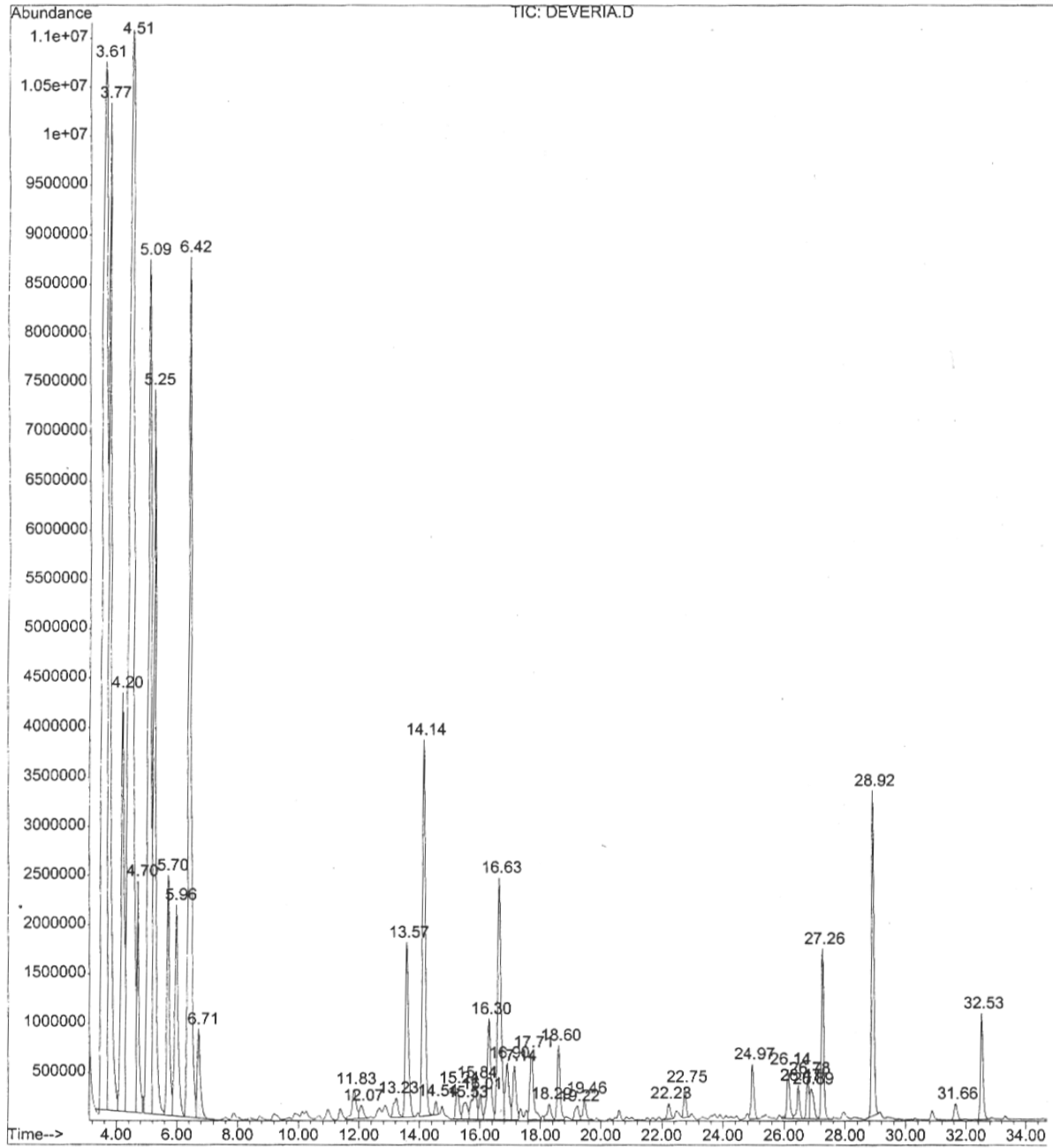

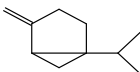
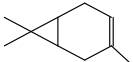
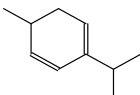
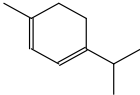
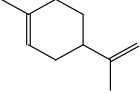
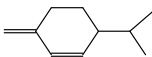
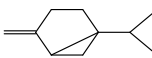
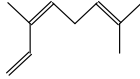


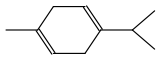
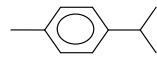
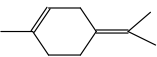
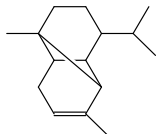
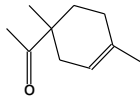
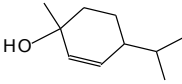
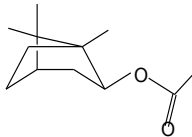
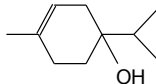
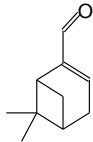
Figure 16 : analyse de la CPG / MS pour l'usine pilote d'huile étudié

Chapitre2 : Exemple de séparation

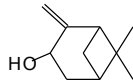
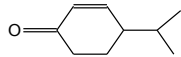
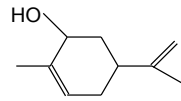
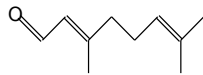
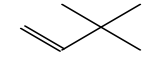
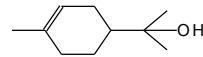

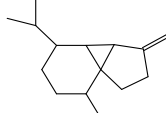
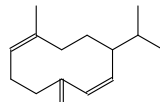
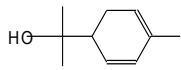
Tableau 02 : Illustre les composants de l'huile essentielle de Besbas sauvages

Composé	Abondance %	Temps	Formule
2-B-pinene.	16.92	3.61	
Sabinene.	8.6	3.77	
3-Carene.	4.17	4.20	
α -phellandrene.	18.24	4.51	
(+)-2-Carene	1.55	4.70	
Limonene.	9.22	5.09	
β - phellandrene.	5.81	5.25	 
β -Ocimene.	2.03	5.70	


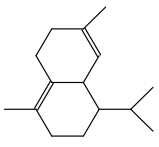


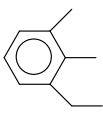
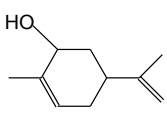
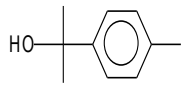

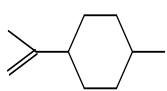
Chapitre2 : Exemple de séparation

γ -Tepinen.	2.31	5.96	
P-Cymene	8.26	6.42	
Terpinolene.	0.89	6.71	
α -Copaene.	0.41	11.84	
1-(1',4'dimethyl cyclohex-3'-en-1'-yl) ethanone.	0.17	12.07	
-4-isopropyl -1-methyl cyclohex-2-en-1-ol.	0.28	13.24	
Bornylacetate.	1.82	13.57	
(-)-Terpinen-4-ol.	3.53	14.14	
Myrtenal .	0.1	14.54	

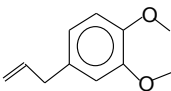
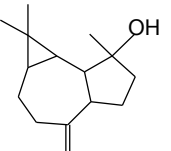
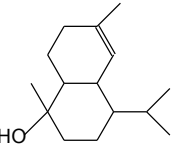
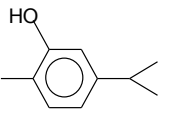
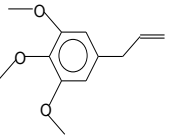
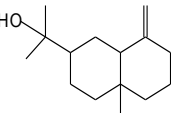
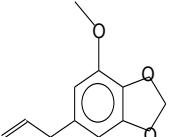
Chapitre2 : Exemple de séparation

Pinocarveol	0.32	15.24	
Crypton	0.26	15.52	
Carveol.	0.54	15.84	
Citral.	0.22	16.01	 
α -Terpineol.	1.14	16.30	
Camphene.			
B-Cubene.	2.71	16.63	
Germacrene-D.			
1,5-P-menthadien-8-ol	0.66	16.90	

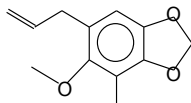
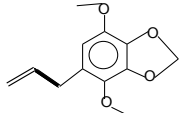
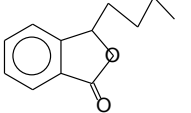
Chapitre2 : Exemple de séparation

1,2-dimethyl cyclopent-1,3-diène			
Bicyclogermacrene	0.58	17.14	/
Cadinène.	0.82	17.71	
Myrtenol.	0.2	18.29	
Benzène butyl	0.7	18.61	
1,2-diméthyl -3-éthyl benzène			
Carveol.	0.18	19.22	
P-cymène-8-ol.	0.23	19.45	
P-Cymène-7-ol.			
Isolimonène.	0.15	22.23	

Chapitre2 : Exemple de séparation

Methyl eugenol.	0.23	22.76	
(+)Spathulenol.	0.47	24.97	
Muurolol.	0.45	26.14	
Carvacrol.	0.28	26.47	
Elemicin.	0.32	26.79	
B-Eudesmol.	0.38	26.86	
Myristicin.	1.33	27.27	

Chapitre2 : Exemple de séparation

Dillapiol.			
Apiol-5-allyl.	2.47	28.92	
Butylidene phthalide	0.17	31.66	/
Butylphthalide	0.85	32.52	

Il est bien évident que les composés ayant le plus faible poids moléculaire tel que 2.β. Pinène, sabinène, sont obtenus après 3 minutes le premier a une abondance de 16,92%

Par contre le muurolol, moins abondance a été repérés après min de temps de séparation

Conclusion

conclusion

Dans ce travail on a mise en exergue la mise en marche de l'appareil d'analyse par chromatographie en phase gazeuse (YL6500 GC).

Nous avons ainsi présenté d'une manière détaillé l'appareil, ses différentes constituants et son utilisations.

Enfin nous avons pris un exemple de la littérature relatif à la séparation des constituants d'une huile essentielle extraite d'une plante médicinale.

L'analyse de chromatogramme obtenu révèle l'existence de plus de 41 composés chimiques dont la pluparts des composés terpéniques obtenus à des différentes temps de rétention différentes allant de 3 min jusqu'à plus d'une deux heurs avec des proportions et abondances différentes dans cette huile.