



Solutions d'évaporation à haut débit pour procédés de fractionnement sophistiqués

par Rob Darrington, Product Manager, Genevac Ltd., **Email** : rob.darrington@genevac.co.uk

Stephen Pickrahn*, Bureau d'études, International Flavors & Fragrances Inc., **email**: stephen.pickrahn@ifff.com

Introduction

Dans la recherche de nouveaux parfums naturels, un équipement à haute performance, capable de produire et de concentrer des fractions dérivées d'extraits naturels, est essentiel. D'habitude, beaucoup de cycles de fractionnement et d'évaluation sont nécessaires avant d'obtenir un composé suffisamment pur pour l'analyse structurale. International Flavors & Fragrances Inc. (IFF) a développé un système de pointe utilisant l'équipement le plus moderne disponible. Un élément clé de ce système est la Sepbox® fabriquée par Sepiatec GmbH (Allemagne) qui réalise le fractionnement préparatoire en deux dimensions à partir d'ingrédients naturels, par la chromatographie en phase liquide à haute performance et l'extraction sur phase solide (CLHP-EPS) en cycles séquentiels CLHP-EPS / CLHP-EPS ; ceci afin d'isoler chaque composé des préparations complexes.

Le point de départ

La demande croissante de produits « naturels » rend la recherche pour ces produits potentiellement très rentable. La vaste diversité des sources végétales et animales consommées depuis longtemps par les hommes impose de façon cruciale la sélection des matières premières, pour une approche efficace du point de vue du temps et des ressources.

Afin de réduire le nombre de sources potentielles soumises à l'extraction, la société IFF a conduit une grande consultation en interne et en externe. Elle emploie des chefs cuisiniers et des spécialistes en parfums

alimentaires qui ont identifié des denrées cibles. Ces chefs ont fourni des suggestions de denrées qui conviendraient comme échantillons, et ils ont préparé des plats pour l'extraction. En dehors des suggestions internes, IFF a aussi recherché des denrées provenant de toutes les traditions culinaires du monde et a consulté beaucoup d'autres professionnels de la cuisine.

Peu de choses sont connues concernant les propriétés requises pour qu'un composé ait bon goût. Néanmoins, à partir des recherches et des consultations, une extraction totale d'une large diversité de composés polaires semblait l'approche la plus prometteuse. Une série de trois techniques d'extraction successives a été utilisée ; un mélange froid et chaud de solvant organique-eau a été employé pour capter des composés à haute polarité. C'est un grand défi pour un chercheur, exigeant beaucoup de travail, d'isoler une molécule particulière parmi toutes les autres matières présentes à partir d'un flacon de « soupe » à l'état brut. C'est une situation difficile, car on ne veut ignorer aucun composé à grand potentiel, tout en évitant les pannes successives de l'équipement dues à l'encrassement provoqué par les échantillons. La littérature décrit plusieurs techniques pour retirer les composants indésirables tels que des chlorophylles et des lipides [1] qui s'avèrent utiles.

Le procédé de fractionnement

La conception de la Sepbox® (figure 1) permet l'injection de plusieurs grammes

d'un échantillon sec ou liquide. IFF utilise l'injection sèche. L'échantillon est greffé sur une matière porteuse en phase inverse. Le premier fractionnement se fait en fenêtre de temps, utilisant un gradient eau-méthanol et un détecteur ultra violet (UV). Cette première étape de séparation aboutit à 16 sous-fractions qui sont piégées sur des colonnes EPS. Chacune de ces sous-fractions initiales est à nouveau fractionnée par une deuxième séparation qui utilise un gradient eau-acétonitrile et un détecteur évaporatif à diffusion de lumière UV (DEDL) pour suivre la séparation. De là, on a l'option de fractionner à nouveau par fenêtre de temps ou par détection de pic, en envoyant la phase mobile aux déchets, et ainsi réduire le nombre de fractions exigeant une préparation/purification. Afin d'optimiser le procédé, le fractionnement par fenêtre de temps est utilisé, ce qui donne un nombre constant de fractions pour chaque échantillon. Cette deuxième séparation est organisée afin de produire 19 sous-sous-fractions. Pour des composés polaires, une autre configuration est utilisée, qui donne 31 fractions. Après le premier fractionnement, les composés sont séparés par un gradient eau-acétonitrile et récupérés directement par un collecteur de fractions. Un mélange de solvants organiques est utilisé pour l'élution de tous les autres composés piégés et les récupérer dans un collecteur de fractions.

Le défi du séchage

Chaque double séparation produit 320 flacons d'échantillons, chacun d'un volume d'environ 45ml, dont 285 flacons contenant un mélange de solvants organiques ternaires avec environ 5% d'eau et 35 flacons contenant un gradient eau-acétonitrile de 0 à 100%. L'évaporateur Genevac HT-24 (figure 2) a été choisi pour sécher les échantillons, car il possède deux chambres capables de traiter simultanément un nombre important de flacons. Les flacons utilisés pour collecter les fractions n'étant pas de taille standard, Genevac a conçu un support spécial pour les insérer. Le système est capable d'évaporer 192 flacons à la fois (96 par chambre). En moins de 48 heures, toutes les fractions sont sèches et prêtes pour la manipulation et l'analyse. Les conditions d'évaporation doivent être douces, pour éviter la dégradation ou même la sublimation des composés cibles potentiels, ce qui serait très dommageable. Dans l'évaporateur, les conditions d'évaporation sont soigneusement contrôlées pour fournir une évaporation sûre



et rapide. Le système Dri-Pure® incorporé à l'évaporateur empêche les éjections (Ang. « bumping ») et la contamination croisée ; le logiciel intégré contrôle et affiche les pressions et les températures des échantillons. La température est mesurée avec un thermocouple placé dans le support d'échantillons, un autre thermocouple peut être introduit dans l'échantillon pour fournir une information supplémentaire sur le procédé d'évaporation.

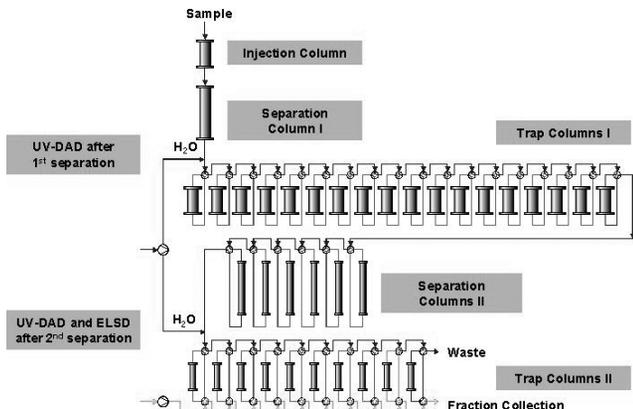
Conclusions

La recherche de nouveaux parfums dérivés de produits naturels est extrêmement complexe. Les produits naturels donnent des extraits complexes qui contiennent beaucoup de composés, qui ne se prêtent pas au traitement et à l'analyse par le matériel de laboratoire traditionnel. Sur la base d'une large consultation de spécialistes et de la littérature, les chercheurs d'IFF ont développé un procédé bien optimisé pour extraire, séparer, traiter et tester des parfums potentiels contenus dans des produits naturels. Chaque étape du procédé doit être soigneusement évaluée pour s'assurer que l'introduction d'un élément d'automatisation ne crée pas un goulet d'étranglement en aval.

* Stephen Pickrahn est un chercheur au bureau d'études d'International Flavors & Fragrances Inc. à Union Beach, New Jersey, USA.

Références

[1] Hostettmann et al., Preparative Chromatography Techniques, Springer 1998.



mōtōnomic.

Une nouvelle définition du pipetage...

Gilson présente pipetman® m

L'évolution la plus aboutie en terme d'ergonomie, de la gamme PIPETMAN — la pipette de référence depuis plus de 35 ans. PIPETMAN M offre le choix du mode de pipetage (dont répétitif), le réglage de la vitesse, et surtout un confort de travail exceptionnel avec des forces de pipetage proches de zéro !

Simple comme PIPETMAN...

Pour en savoir plus : www.pipetman.com/m

PIPETMAN® M, une nouvelle définition du pipetage, par Gilson

Gilson présente PIPETMAN® M, l'évolution la plus aboutie en terme d'ergonomie, de la gamme PIPETMAN® — la pipette de référence depuis plus de 35 ans.

Dotée des fonctions essentielles d'une pipette électronique tout en permettant de conserver la gestuelle associée à une pipette mécanique, PIPETMAN® M se démarque par sa simplicité d'utilisation, son design ergonomique et son mode de pipetage répétitif qui rendront votre travail plus agréable et toujours plus productif.

Pour recevoir une brochure ou pour toute demande d'information sur PIPETMAN® M, merci d'adresser votre demande sur : sales-fr@gilson.com ou de prendre contact avec Laurence RIBEAUX, **tél** +33 6 08 52 00 74, **email** : lribeaux@gilson.com.

GILSON INTERNATIONAL-FRANCE
Tél. (33) 1 48 17 53 80
Fax (33) 1 48 63 85 61
Email : sales-fr@gilson.com
Web : www.gilson.com