



INSTITUT
NATIONAL
des SCIENCES
APPLIQUÉES



Rapport de Projet d'étude
INSA de Rouen, 2007-2008



Amélie Leclercq

**Détermination de la teneur
en composés toxiques dégagés lors de la
combustion d'encens et de bougies
parfumées.**

07 Janvier 2008 – 07 Mars 2008

Sous la direction de M. Stéphane Marcotte, Responsable du
Laboratoire de Chimie analytique de l'INSA de Rouen
Laboratoire de chimie analytique
Place Emile Blondel
76131 Mont Saint Aignan cedex
www.insa-rouen.fr

À TAILLE
HUMAINE
À L'ECHELLE
DU MONDE



Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur Stéphane Marcotte, qui a accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire et de me confier ce sujet de projet d'étude. Sa patience et son aide m'ont permis d'exploiter au mieux les résultats de mon travail.

Je suis très reconnaissante envers Madame Fatima Mattiuz et Monsieur Pascal Mandin pour leur accueil et la précieuse aide qu'ils m'ont apporté durant ces semaines.

Je remercie le personnel des laboratoires de chimie organique et polymères ainsi que de chimie inorganique pour avoir mis du matériel à ma disposition et pour leur gentillesse.

Enfin, j'exprime ma gratitude au personnel de l'IRCOF et du Technicum qui m'ont fourni des produits et du matériel.

Note

Pour des raisons de confidentialité, les marques des encens étudiés dans ce rapport ont volontairement été masqués. Tous les encens ont été achetés dans des grandes surfaces.

Sommaire

Remerciements	2
Sommaire	4
Abréviations	5
Introduction	6
1. Partie bibliographique	7
1.1. Le rapport de l'UFC-Que Choisir sur les désodorisants d'intérieur	7
1.2. Les différentes molécules étudiées ainsi que leur dérivation	8
1.3. Préparation des échantillons d'encens	9
1.4. Méthode d'analyse chromatographique	10
2. Matériel et méthodes	11
2.1. Préparation des standards	11
2.2. Quantification des dérivés carbonylés par HPLC-UV	12
2.2.1. Appareillage	12
2.2.2. Vérification de la pureté des standards	13
2.2.3. Détermination des conditions chromatographiques optimales	13
2.2.4. Détermination des temps de rétention des composés	14
2.2.5. Etalonnage	14
2.2.5.1. Tracé des courbes d'étalonnage	14
2.2.5.2. Calculs statistiques sur les courbes d'étalonnage	16
2.3. Récupération et dérivation des composés carbonylés issus de la combustion d'encens	17
2.3.1. Montage expérimental initial	17
2.3.2. Amélioration du montage expérimental	18
2.3.3. Extraction des dérivés de composés carbonylés	19
2.3.4. Quantification	19
3. Résultats	20
3.1. Détermination de la quantité de dérivés carbonylés dans le cas de l'encens d'essai : encens n°1	20
3.2. Résultats d'analyses de divers encens	24
3.2.1. Encens n°2	24
3.2.2. Encens n°3	25
3.2.3. Encens n°4	25
3.2.4. Encens n°5	25
3.2.5. Encens n°6	26
3.2.6. Encens n°7	26
3.3. Récapitulation des résultats	27
3.4. Commentaires des résultats	27
3.5. Améliorations possibles de la méthode analytique	28
Possibilités de poursuite de projet	29
Conclusion	30
Références bibliographiques	31
Annexes	32

Abréviations

CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CPG-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse
CV	Coefficient de variation
DNPH	2,4-dinitrophénylhydrazine
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie liquide haute performance)
HPLC-UV	Chromatographie Liquide Haute Performance couplée à un système de détection UV
TCPH	2,4,6-trichlorophénylhydrazine
uA	Unité d'aire
UV	Ultra violet



Introduction

En décembre 2004, un rapport de l'UFC-Que Choisir (1) mettait en garde les consommateurs contre l'utilisation de désodorisants d'intérieur. Ce rapport s'intéressait à la combustion d'encens, de bougies mais aussi d'huiles essentielles ou encore de diffuseurs électriques et affirmait que la combustion de ces désodorisants libérait des substances chimiques dans l'air.

Afin de vérifier cette étude, le Laboratoire de Chimie analytique a décidé de s'intéresser aux encens et aux bougies parfumées et de quantifier les substances chimiques émises lors de leur combustion.

Ainsi, le but de ce projet était de détecter et de quantifier les composés toxiques issus de la combustion d'encens et de bougies parfumées en s'appuyant sur la méthode utilisée lors de l'étude de l'UFC-Que Choisir (1).

Pour cela, mon travail s'est déroulé en trois parties : tout d'abord, la synthèse des dérivés carbonylés à partir de DNPH, puis l'optimisation de la méthode d'analyse chromatographique et enfin la recherche et l'optimisation d'une méthode permettant de récupérer les carbonyles à partir d'encens.

La synthèse des dérivés carbonylés à partir de DNPH s'est avérée nécessaire afin de disposer de standards injectables en chromatographie liquide haute performance (HPLC). La synthèse ainsi que la purification ont été optimisées à partir d'un protocole afin d'obtenir des dérivés d'une grande pureté.

Ces dérivés ont ensuite été injectés en HPLC-UV pour d'une part vérifier leur pureté et de l'autre tracer des courbes d'étalonnage nécessaires lors de la quantification des carbonyles issus de la combustion d'encens.

A partir de diverses publications, une méthode de récupération et d'extraction des dérivés carbonylés à partir d'encens a été optimisée. Nous avons donc pu, grâce à cette méthode, analyser différents encens et tirer des premières conclusions sur la toxicité de ces produits.

1. Partie bibliographique

1.1. Le rapport de l'UFC-Que Choisir sur les désodorisants d'intérieur

En décembre 2004, l'UFC-Que Choisir, dans un de ces rapports sur les désodorisants d'intérieur, demandait d' « interdire l'usage de ces produits dans les lieux publics » ainsi que d' « étiqueter les produits susceptibles de provoquer des allergies ou libérant des substances cancérigènes » (1). Ainsi, les fabricants assurent respecter entièrement la législation qui cependant ne prend pas en compte les substances dégagées lors de la combustion.

Différents types de désodorisants d'intérieur ont été étudiés dans ce test : des bougies, des encens mais aussi des huiles essentielles ou encore des aérosols et vaporisateurs liquides.

Cette étude s'est particulièrement intéressée à différents composés organiques volatils sans pour autant spécifier lesquels ; pour d'une part les quantifier et de l'autre réaliser des mesures olfactométriques.

L'échantillonnage a été réalisé à partir du Protocole de test Beuc – European survey 2004. Il a consisté à utiliser des sacs en Tedlar ou différentes cartouches, notamment des cartouches à DNPH (2,4-dinitrophénylhydrazine, $C_6H_6N_4O_4$). Cette dernière méthode consiste à aspirer au moyen d'une pompe la fumée des désodorisants qui passe ensuite dans une cartouche contenant de la DNPH et de l'acide orthophosphorique pour produire des dérivés d'hydrazones stables.

Deux méthodes analytiques ont ensuite été utilisées : la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse (CPG-MS) ou la chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur ultra violet (HPLC-UV). Cette dernière méthode paraît cependant plus adaptée pour la quantification.

De cette publication, nous pouvons retenir pour notre étude, que le but de ce travail va être de quantifier des composés carbonylés qui seront dérivés en présence de DNPH et quantifiés par HPLC-UV.



1.2. Les différentes molécules étudiées ainsi que leur dérivation

Les molécules précédemment identifiées lors de différentes études (2) sont le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acroléine, le 2-furfural, le benzaldéhyde, le glyoxal et le méthylglyoxal. Ces molécules sont présentées ci-dessous en **figure 1**.

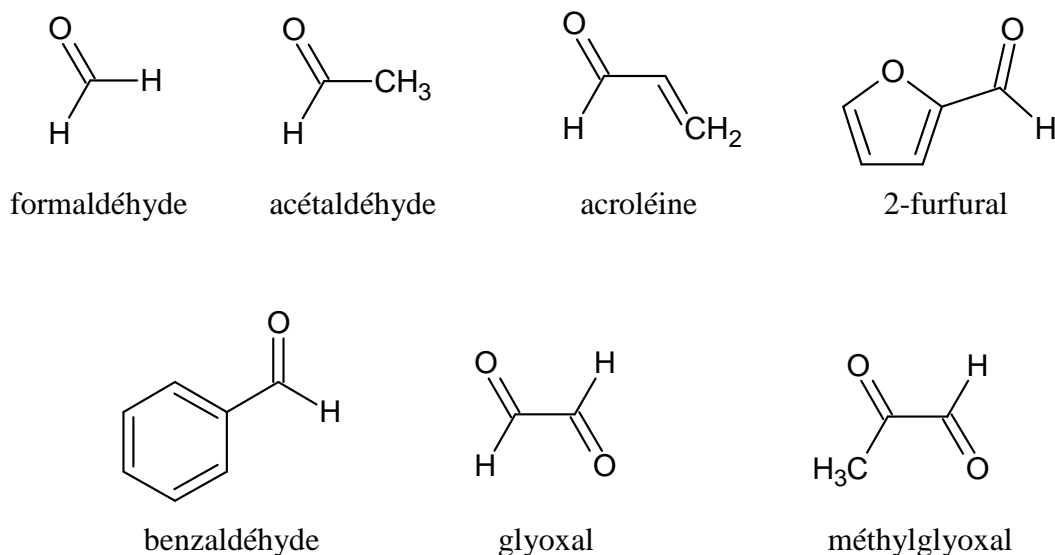


Figure 1: structures des différentes molécules analysées.

En **annexe 1**, nous présentons les fiches toxicologiques de ces différents produits. Pour la plupart, ces composés sont toxiques ou nocifs en cas d'inhalation. C'est notamment le cas pour l'acroléine qui est très toxique et pour le formaldéhyde et le 2-furfural qui sont toxiques.

Ces composés, cétones ou aldéhydes, étant peu stables, il est nécessaire de les dériver pour les analyser. Dans la majorité des publications, le réactif utilisé est la DNPH (1,2,3,4,5) mais il est possible d'utiliser de la TCPH (2,4,6-trichlorophénylhydrazine, $C_6H_5Cl_3N_2$) (6), conduisant à la formation d'hydrazones (7). Pour des raisons de coût, ces différents standards sont synthétisés au laboratoire plutôt qu'achetés. Des raisons pratiques de disponibilité de produits nous ont conduit à utiliser préférentiellement la méthode de dérivation réalisée à la DNPH plutôt que celle utilisant de la TCPH. La réaction générale de dérivation est présentée en page suivante (**figure 2**).

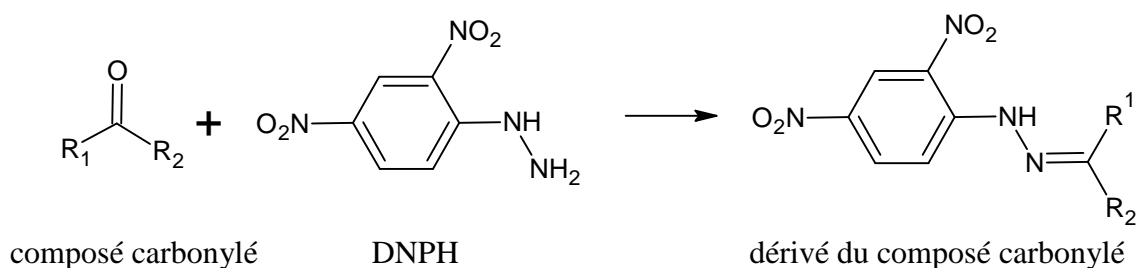


Figure 2: réaction de dérivation des composés carbonylés.

Cette réaction se déroule cependant en deux étapes selon le schéma de la **figure 3** (5) :

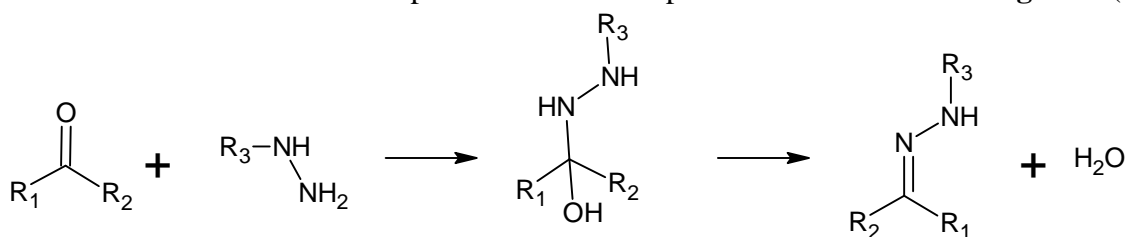


Figure 3: mécanisme réactionnel de dérivation des composés carbonylés.

La littérature (8) préconise de solubiliser 0,25 g de DNPH dans 5 mL de méthanol et d'ajouter lentement 0,4 à 0,5 mL d'acide sulfurique concentré puis de filtrer cette solution tiède. A cette solution sont ajoutés 0,1 à 0,2 g de composé carbonylé solubilisé dans un petit volume de méthanol ou d'éther. Après environ 10 minutes, le solide formé est filtré et lavé dans un petit peu de méthanol. En cas d'absence de solide, la solution est acidifiée par de l'acide sulfurique. Le précipité est ensuite recristallisé dans l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'acide acétique ou d'autres solvants.

Ainsi, nous pouvons obtenir les différents standards nécessaires à la quantification des composés toxiques présents dans les encens.

1.3. Préparation des échantillons d'encens

Dans la majorité des publications, l'échantillonnage de l'air ambiant ou des encens est réalisé en utilisant des cartouches de DNPH (1,2,4,5). Cependant, certaines littératures évoquent la possibilité de réaliser un système de barbotage (3,6). Ainsi, lors de l'analyse de fumées de cigarette (3), la méthode prévoit l'utilisation d'un barboteur contenant 80 mL d'une solution de DNPH. Dans le cas de l'utilisation de la TCPH (6), le système utilisé comprend trois barboteurs successifs contenant respectivement 30, 10 et 10 mL de solution de TCPH saturée dans 1 mol/L d'acide phosphorique.

Dans tous les cas, une pompe est utilisée afin d'attirer les fumées et de les collecter dans les barboteurs. Elle délivre un débit approximativement compris entre 1 et 1.5 mL/min (1,2). Dans la majorité des cas, une durée d'échantillonnage précise est utilisée, cependant, il est possible de se baser sur une quantité de bougie, d'encens... et de la/le laisser entièrement se consumer.

La solution de DNPH est ensuite extraite trois fois par 20 mL de dichlorométhane dans une ampoule à décanter de 250 mL. Les trois phases de dichlorométhane réunies peuvent ensuite éventuellement être séchées par du sulfate de magnésium anhydre puis elles sont évaporées à l'évaporateur rotatif (4). Dans le cas de la TCPH, il est possible d'utiliser du CS₂ (sulfure de carbone) comme solvant d'extraction (6)

1.4. Méthode d'analyse chromatographique

La publication du magazine UFC-Que Choisir (1) précise que pour l'étude des composés carbonylés, il est possible d'utiliser la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse (CPG-MS) ou la chromatographie liquide haute performance couplée à un système de détection UV (HPLC-UV). La CPG-MS est cependant réservée à l'analyse des traces individuelles de composés organiques volatils. Elle ne sert qu'à la semi quantification. Pour quantifier les composés, l'HPLC-UV est la méthode de choix. Des standards de haute pureté (99 %) sont utilisés pour la quantification.

Nous utiliserons donc pour notre étude l'HPLC-UV que nous pourrions mettre en œuvre sans difficulté au laboratoire.

M. Steven Sai Hang Ho et M. Jian Zhen Yu (2) (**figure 4**) utilisent, pour la séparation des hydrazones, une colonne HPLC phase inverse. Toutes les conditions chromatographiques sont reportées dans le tableau suivant :

Appareil	HP1100
Colonne	Hypersil ODS phase inverse (4,6 × 150 mm, 5 μm)
Détection	Détecteur UV à barrettes de diode, 360 nm
Phases mobiles	Solvant A: eau/ acétonitrile/tétrahydrofurane (60:30:10/ v:v) Solvant B : eau/acétonitrile (40 :60/ v:v)
Débit	1,5 mL/min
Injection	25 μL
Gradient	100 % de A pendant 1 min Gradient pendant 10 min jusqu'à 100 % de B

Figure 4: résumé des conditions chromatographiques utilisées par M. Steven Sai Hang Ho et M. Jian Zhen Yu.

La norme EPA 8315 A (4) indique de même des conditions chromatographiques pour l'analyse des dérivés carbonylés qui sont les suivantes (**figure 5**):

Appareil	/
Colonne	Zorbax ou équivalent C18 (4,6 × 250 mm, 5 μm)
Détection	Ultra violet, 360 nm
Gradient	Acétonitrile/eau (70:30/ v:v) pendant 20 min Acétonitrile/eau (70:30/ v:v) jusqu'à 100 % acétonitrile en 15 min 100 % acétonitrile pendant 15 min
Débit	1.2 mL/min
Injection	20 μL

Figure 5: résumé des conditions chromatographiques utilisées dans la norme EPA 8315 A.

2. Matériel et méthodes

2.1. Préparation des standards

Dans un premier temps, des tests de synthèse ont été réalisés sur le benzaldéhyde à partir du mode opératoire trouvé dans la bibliographie (**annexe 2, figures 6, 7 et 8**). Ces essais ont eu pour but d'améliorer le procédé pour envisager la synthèse de tous les dérivés.

Tout d'abord, la recristallisation, difficile à mettre en œuvre puisque très coûteuse en temps et en solvant, a été éliminée du fait de son très faible impact sur l'amélioration de la pureté des dérivés. Cette recristallisation, permettant d'enlever une partie importante de la DNPH n'ayant pas réagi (pic sortant à 0,74 min sur les chromatogrammes), a été remplacée par 2 lavages au méthanol.

Afin de réaliser des synthèses quantitatives, la DNPH doit être placée en excès dans le milieu en tenant compte éventuellement du nombre de fonctions carbonyles. Nous avons pour cela choisi un excès de 2 en se basant sur la synthèse de 4 g de chaque dérivé.

Le protocole expérimental (sur l'exemple du benzaldéhyde) est donc le suivant (**figures 9 et 10**):

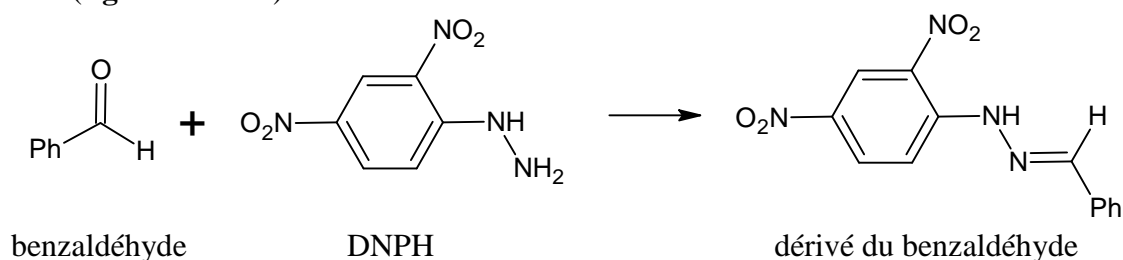


Figure 9: schéma de la réaction de dérivation dans le cas du benzaldéhyde.

Composé	Benzaldéhyde	DNPH	Dérivé du benzaldéhyde
Masse molaire (g/mol)	106	198	286
Masse théorique (g)	1,48	5,5	4
Nombre de moles (mol)	0,014	0,028	0,014
Nombre d'équivalent	1	2	1

Figure 10: tableau de matière utilisé pour la synthèse du dérivé du benzaldéhyde.

Le benzaldéhyde, liquide, est ajouté à la pipette graduée, soit 1,4 mL ($d = 1,044$).

11 mL d'acide sulfurique concentré sont ajoutés lentement à un mélange de 5,5 g de benzaldéhyde et 110 mL de méthanol. Le mélange est placé sous agitation pendant 10 minutes avant d'être filtré. 1,4 mL de benzaldéhyde sont ajoutés au filtrat et laisser 10 minutes sous agitation avant filtration du précipité. Deux lavages successifs du précipité sont réalisés en ajoutant 50 mL de méthanol au solide et en le laissant 10 minutes sous agitation avant filtration.

Après plusieurs essais (dessiccateur, dessiccateur sous vide), la méthode de séchage choisie consiste à dissoudre le précipité dans du dichlorométhane et à le sécher à l'évaporateur rotatif. Le mélange est laissé sur l'évaporateur pendant 30 minutes après

élimination de tout le liquide afin qu'il soit totalement sec. Les dérivés sont ensuite gardés dans un dessiccateur.

Les 7 dérivés sont synthétisés selon le protocole détaillé précédemment. Les quantités utilisées ainsi que les résultats obtenus sont présentés en **figure 11** :

Produit synthétisé	Volume carbonyle (mL)	Masse de DNPH (g)	Volume MeOH (mL)	Volume H ₂ SO ₄ (mL)	Masse de dérivé (g)	Rendement (%)
Dérivé benzaldéhyde	1,4	5,5	110	11	3,0277	77
Dérivé acétaldéhyde	1	7,1	142	14,2	1,2793	32
Dérivé formaldéhyde	0,55	7,5	150	15	0,2459	6
Dérivé 2-furfural	1,2	5,8	116	11,6	1,0843	27
Dérivé glyoxal	0,43	7,6	152	15,2	0,8878	13
Dérivé méthylglyoxal	0,55	7,3	146	14,6	0,5186	13
Dérivé acroléine	1,1	6,7	134	13,4	1,492	38

Figure 11: conditions opératoires utilisées et résultats des dérivations des composés carbonylés.

Les rendements de synthèse sont globalement assez faibles. Cela peut s'expliquer par de nombreuses petites pertes lors de la synthèse et de la purification. Dans le cas du formaldéhyde, il a été constaté que le dérivé est partiellement soluble dans le méthanol d'où une perte importante de rendement.

2.2. Quantification des dérivés carbonylés par HPLC-UV

2.2.1. Appareillage

Lors des différentes manipulations, nous avons utilisé trois colonnes différentes. La première a été changée parce qu'elle ne séparait plus les composés. La deuxième, utilisée lors de la majorité de l'étude, a fini par ne plus séparer les constituants de manière convenable et a donc été changée. Nous avons choisi de ne présenter que les caractéristiques de la troisième colonne (les 3 étant les mêmes mais éventuellement de marque différente).

Les caractéristiques de cette colonne sont regroupées dans le tableau suivant (**figure 12**):

Appareil	HPLC Varian Vista 5500
Colonne	OmniSpher 5 C18 (4,6 × 150 mm, 5 µm)
Détection	Ultra violet, 360 nm
Débit	1 mL/min
Injection	20 µL

Figure 12: résumé des conditions chromatographiques utilisées lors de cette étude.

2.2.2. Vérification de la pureté des standards

Chaque standard est injecté dilué dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v) à deux reprises. Nous utilisons pour cela un premier gradient de 6 minutes (de eau/acétonitrile (40:60/ v:v) à 100 % d'acétonitrile) avec un débit de 1 mL/min (**annexe 3 figures 13 à 19**).

Ces premières analyses nous permettent de vérifier la pureté de nos standards.

Nous pouvons constater que les dérivés du 2-furfural et de l'acroléine ne sont pas purs puisqu'ils présentent chacun deux pics importants dans leur chromatogramme. Faute de temps, ils n'ont pas été purifiés et n'ont donc pas été utilisés par la suite lors de l'optimisation et des manipulations sur les encens.

Les 5 autres dérivés paraissent suffisamment purs et vont donc être utilisés lors de l'optimisation et des manipulations suivantes.

2.2.3. Détermination des conditions chromatographiques optimales

En partant du gradient proposé par M. Steven Sai Hang Ho et M. Jian Zhen Yu (2), nous avons tout d'abord décidé, pour des raisons pratiques, de ne pas utiliser de THF (tétrahydrofurane). Les solvants sont donc l'eau et l'acétonitrile.

Les conditions optimales sont déterminées à partir d'une solution à 10 ppm des dérivés du benzaldéhyde, de l'acétaldéhyde, du formaldéhyde, du glyoxal et du méthylglyoxal. Comme nous l'avons vu précédemment, les dérivés du 2-furfural et de l'acroléine ne sont pas utilisés puisqu'ils ne sont pas purs. Ces chromatogrammes sont présentés en **annexe 4 figures 20 à 24**.

Différentes méthodes isocratiques ont été envisagées (notamment un mélange eau/acétonitrile (40:60/ v:v) avec un débit de 1,5 mL/min) suivies de plusieurs gradients durant de 6 à 20 minutes. Il s'est cependant avéré qu'un défaut de colonne ne permettait pas de séparer les dérivés de façon convenable.

Après changement de colonne, nous avons rapidement réussi à optimiser les conditions chromatographiques. Afin de ne pas détériorer la colonne, un débit de 1 mL/min a été fixé. Il s'avère que les conditions les meilleures pour séparer les composés dans un temps relativement court (8 min) sont un mélange isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v). Ces conditions ont été utilisées durant tout le projet afin de quantifier les dérivés carbonyles.

2.2.4. Détermination des temps de rétention des composés

Afin de déterminer l'ordre de sortie de nos dérivés, nous les injectons purs en solution (dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)) dans les conditions chromatographiques déterminées précédemment. Nous résumons dans le tableau suivant (**figure 25**) le(s) temps de rétention du(es) pic(s) (principaux) pour chacun des composés (ces temps de rétention variant légèrement selon la colonne utilisée):

Nom du composé	Temps de rétention 1 (min)	Temps de rétention 2 (min)	Temps de rétention 3 (min)
Dérivé benzaldéhyde	6,42	/	/
Dérivé acétaldéhyde	3,24	/	/
Dérivé formaldéhyde	2,71	/	/
Dérivé glyoxal	2,46	6,37	/
Dérivé méthylglyoxal	0,94	2,54	4,09

Figure 25: temps de rétention des différents dérivés analysés par HPLC-UV.

Nous pouvons constater que seuls trois dérivés sont quantifiables puisque ne sortant que sous forme d'un seul pic important en HPLC : les dérivés du benzaldéhyde, de l'acétaldéhyde et du formaldéhyde (**annexe 5, figures 26, 27 et 28**). Les deux autres paraissent muter au cours du temps. Dans le cas du méthylglyoxal, le chromatogramme contient de nombreux petits pics montrant le fait que le dérivé n'est pas pur. Pour expliquer ce problème, nous pouvons imaginer que les deux fonctions carbonyles de la molécule n'ont pas forcément entièrement réagi ou ne réagissent pas de la même façon, engendrant la synthèse de 3 dérivés.

Pour l'étude des encens, seuls 3 dérivés seront donc quantifiés : les dérivés benzaldéhyde, acétaldéhyde et formaldéhyde.

2.2.5. Etalonnage

2.2.5.1. Tracé des courbes d'étalonnage

Afin de rendre plus clair l'exposé, le tracé des courbes d'étalonnage est présenté avant l'extraction des composés provenant de l'encens. Ces courbes seront nécessaires lors de la suite de la manipulation afin de quantifier les différents carbonyles présents dans les encens. Cependant, un premier extrait d'extraction a été réalisé afin de savoir sur quelle gamme les courbes d'étalonnage devaient être tracées.

Les courbes sont tracées à partir des dérivés du benzaldéhyde, du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde entre 1 et 10 ppm. Nous préparons ainsi 6 standards ayant pour concentration 1, 2, 4, 6, 8 et 10 ppm. La préparation de 6 standards (au lieu de 5 nécessaires pour valider une courbe d'étalonnage) permet éventuellement de supprimer un point aberrant lors du tracé des courbes d'étalonnage. Ces standards sont préparés à partir d'une solution mère à 20 ppm dans de l'acétonitrile pur. Les solutions filles sont diluées à partir de la mère dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v). Chaque solution étalon est injectée 3 fois afin de vérifier la répétabilité de l'injection (CV < 5%).

Un exemple de chromatogramme obtenu est présenté ci-dessous en **figure 29** et en **annexe 6 figures 30 et 31**:

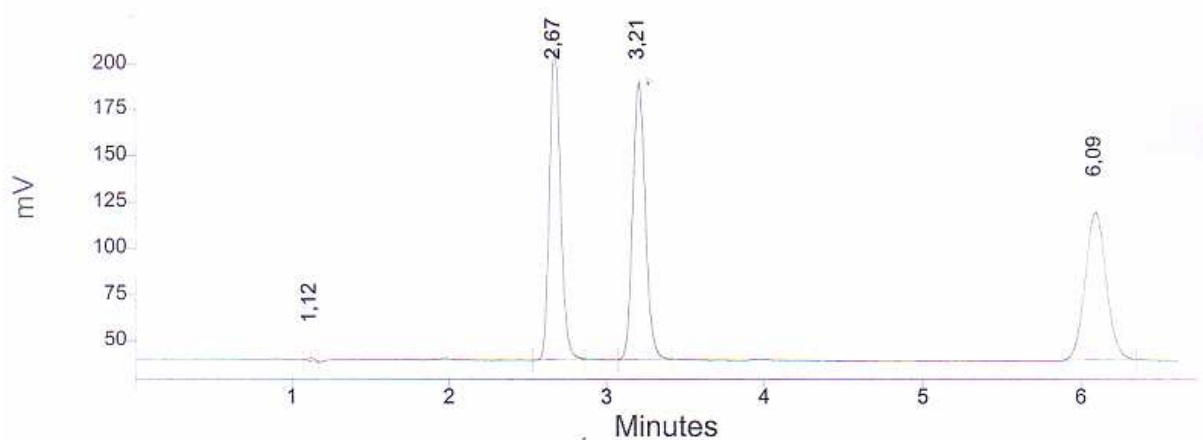


Figure 29: chromatogramme d'une solution d'étalonnage des dérivés du benzaldéhyde, du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde à 10 ppm.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Les courbes d'étalonnage obtenues sont présentées en **figure 32** :

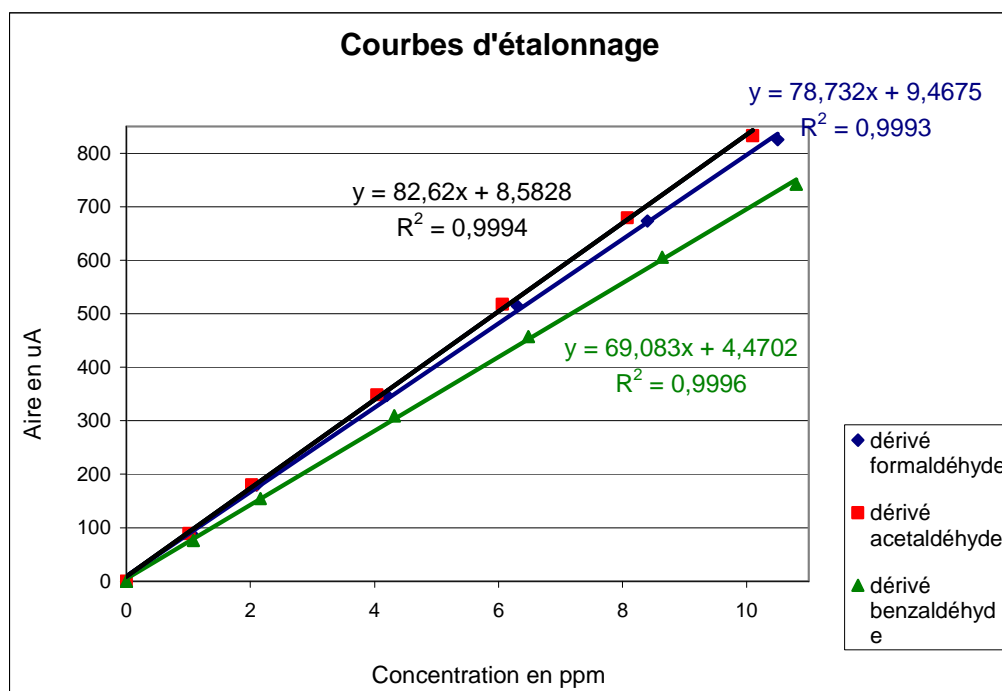


Figure 32: courbes d'étalonnage des trois dérivés (formaldéhyde, acétaldéhyde et benzaldéhyde) étudiés.

Les équations des droites d'étalonnage tracées sont les suivantes :

- Dérivé formaldéhyde
 $A_{DF} = 78,732 C_{DF} + 9,4675$
 $R^2 = 0,9993$
- Dérivé acétaldéhyde
 $A_{DA} = 82,620 C_{DA} + 8,5828$
 $R^2 = 0,9994$
- Dérivé benzaldéhyde
 $A_{DB} = 69,083 C_{DB} + 4,4702$
 $R^2 = 0,9996$

A_{DF} : Aire du pic du dérivé du formaldéhyde en unité d'aire (uA)

A_{DA} : Aire du pic du dérivé de l'acétaldéhyde en uA

A_{DB} : Aire du pic du dérivé du benzaldéhyde en uA

C_{DF} : Concentration du dérivé du formaldéhyde en ppm

C_{DA} : Concentration du dérivé de l'acétaldéhyde en ppm

C_{DB} : Concentration du dérivé du benzaldéhyde en ppm

Les coefficients de corrélation étant tous supérieurs à 0,995, nous pouvons considérer que toutes nos courbes sont bien des droites.

2.2.5.2. Calculs statistiques sur les courbes d'étalonnage

Les différents calculs statistiques permettant de déterminer l'intervalle de confiance sur a_0 , l'ordonnée à l'origine, et a_1 , la pente sont réalisés à partir des formules suivantes et sont regroupés dans tableau **figure 33**.

Equation de la courbe d'étalonnage : $y = a_1x + a_0$

$$\text{Calcul de la variance liée : } s^2 = \frac{\sum_i (y_i - \bar{y})^2 - a_1^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}{n - 2}$$

$$\text{Ecart type sur } a_1 : sa_1 = \frac{s}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Ecart type sur } a_0 : sa_0 = s \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$\text{Intervalle de confiance sur } a_0 : a_0 \pm t\left(1 - \frac{\alpha}{2}, n - 2\right)sa_0$$

$$\text{Intervalle de confiance sur } a_1 : a_1 \pm t\left(1 - \frac{\alpha}{2}, n - 2\right)sa_1$$

Avec $\alpha = 1 - P$ et $P = 0,95$

$$\text{D'où, } t\left(1 - \frac{\alpha}{2}, n - 2\right) = t(0,975, 5) = 2,571$$

	a_1	a_0	s^2	sa_1	sa_0	Incertitude sur a_1	Incertitude sur a_0
Dérivé formaldéhyde	78,7321	9,4675	76,4168	0,9099	5,3684	$a_1 \pm 2,3394$	$a_0 \pm 13,8021$
Dérivé acétaldéhyde	82,6200	8,5828	65,3992	0,8751	4,9663	$a_1 \pm 2,2499$	$a_0 \pm 12,7684$
Dérivé benzaldéhyde	69,0829	4,4702	36,4558	0,6110	3,7079	$a_1 \pm 1,5709$	$a_0 \pm 9,5331$

Figure 33: résultats des calculs statistiques réalisées sur les courbes d'étalonnage.

Ces calculs statistiques nous ont permis de vérifier la conformité de nos courbes d'étalonnage. De plus, nous avons pu montrer que nos 3 courbes passaient bien par l'origine du repère.

2.3. Récupération et dérivation des composés carbonylés issus de la combustion d'encens

Afin d'isoler et de quantifier les dérivés carbonylés présents dans l'encens, nous avons réalisé un montage permettant de récolter les fumées. Ce montage a été modifié à plusieurs reprises afin de récupérer un maximum de fumées. Dans cette partie, nous présentons les différentes étapes de ces recherches jusqu'au montage final ainsi que l'extraction et la quantification des dérivés carbonylés.

2.3.1. Montage expérimental initial

En tenant compte des différentes méthodes trouvées lors des recherches bibliographiques, nous avons tout d'abord réalisé un montage regroupant 3 barboteurs successifs contenant chacun une solution de DNPH à saturation dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 2 mol/L.

Une pompe, placée après les 3 barboteurs permet d'aspirer les fumées d'encens. Un quatrième barboteur est ajouté afin de neutraliser les vapeurs acides et d'éviter qu'elles ne détériorent la pompe.

Deux bâtons d'encens sont placés dans un tube à essai et sous un entonnoir afin de récupérer un maximum de fumées.

Du fait de la taille de nos barboteurs, il n'a pas été possible de respecter les volumes trouvés dans la bibliographie (soit respectivement 30, 10 et 10 mL) (6). Le premier barboteur contient 80 mL de solution de DNPH, et les deux autres 100 mL.

La solution de soude est réalisée de la façon suivante :

- 250 mL de solution aqueuse de soude à 450 g/L
- quelques gouttes de solution de bleu de bromothymol (BBT) (100 mg de BBT dans 50 mL d'un mélange eau/éthanol (50:50/ v:v).

Le débit de la pompe est réglé à l'aide d'un rotamètre placé entre le barboteur 4 et la pompe. Ce débit est réglé afin de pouvoir obtenir des bulles assez importantes dans la solution. Il est choisi de 7,15 L/min pour les premiers essais.

Après 30 minutes de combustion, les deux bâtons sont entièrement consumés.

Le schéma de ce premier montage est le suivant (**figure 34**) :

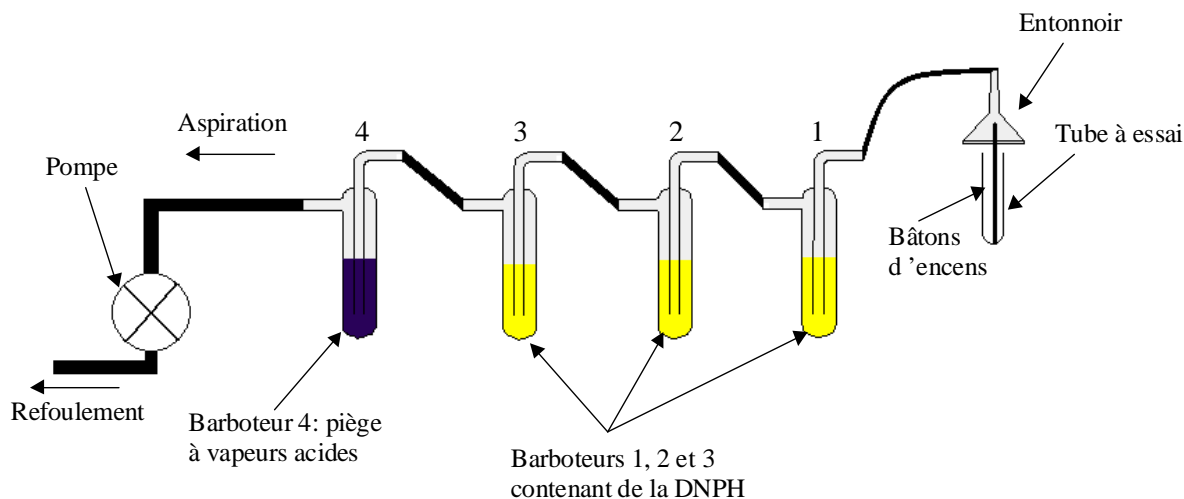


Figure 34: montage initial permettant de collecter les fumées d'encens.

2.3.2. Amélioration du montage expérimental

Le premier essai de combustion d'encens a laissé apparaître des défauts dans notre montage.

Le premier problème réside dans le fait que les échanges entre la solution de DNPH et les fumées d'encens ne sont pas optimisés (de trop grosses bulles se forment dans les barboteurs). Nous cherchons donc un système permettant de créer de plus petites bulles. Pour cela, nous avons tout d'abord placé au bout des barboteurs des filtres à solvant en gomme. Ceux-ci se sont avérés efficaces pour améliorer la surface de contact entre la DNPH et la fumée mais la gomme a été détruite par l'acide chlorhydrique ou bien par les lavages à l'acétonitrile.

Un nouveau système en métal a été utilisé sans succès, ces filtres à solvant retenant nos composés.

Finalement, diverses solutions ont été envisagées et celles des billes de verre placées dans les barboteurs contenant la DNPH a été retenues.

Nous avons de plus constaté que, même avec un débit important, de nombreuses fumées étaient perdues. Les bâtons d'encens ont donc été placés dans une bouteille d'eau fermée, reliée directement au premier barboteur par un tuyau.

Les extractions des dérivés carbonylés présents dans les 3 barboteurs nous ont de plus permis de limiter le montage. En effet, il s'est avéré qu'une quantité très négligeable de composés se trouvaient dans le barboteur 2.

Le montage final, présenté en **figure 35**, ne possède donc plus qu'un barboteur contenant 100 mL de solution de DNPH ainsi que le piège à vapeurs acides.

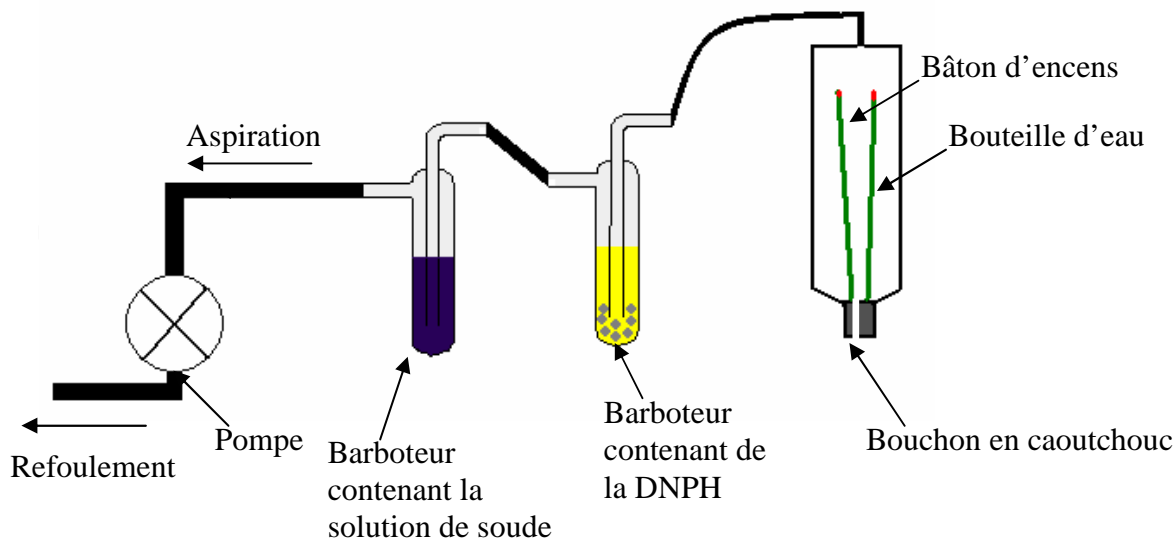


Figure 35: montage expérimental amélioré et utilisé pour l'étude des divers encens.

2.3.3. Extraction des dérivés de composés carbonylés

La solution de DNPH est placée dans une ampoule à décanter de 250 mL et extraite de la façon suivante :

- Trois extractions successives sont réalisées par 20 mL de dichlorométhane.
- Les trois extraits sont regroupés, placés dans un ballon de 250 mL et évaporés sous évaporateur rotatif jusqu'à 2 mL (la solution n'est pas évaporé à sec pour éviter toute perte de composés lors de l'évaporation de la dernière goutte).
- Le solide formé dans le ballon est solubilisé dans 50 mL d'acétonitrile et placé dans une fiole jaugée.

Cette méthode d'extraction, rapide, nous permet de récupérer les dérivés carbonylés.

2.3.4. Quantification

Nos composés sont quantifiés dans les conditions déterminées lors de l'optimisation. Afin de pouvoir utiliser avec précision nos courbes d'étalonnage, les solutions sont diluées 80 fois dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v).

De plus, pour pouvoir quantifier les dérivés, les bâtons d'encens sont pesés avant et après combustion. Une quantité d'encens assez semblable est utilisée à chaque essai pour que la manipulation soit répétable.

3. Résultats

Nous présentons dans cette partie les différents résultats de nos manipulations. Nous détaillerons les calculs dans le cas de l'encens n°1 sur lequel nous avons fait les essais.

3.1. Détermination de la quantité de dérivés carbonylés dans le cas de l'encens d'essai : encens n°1

Après dilution d'un facteur 80, les échantillons sont injectés en HPLC-UV dans les conditions présentées lors de l'optimisation. Nous présentons en **figure 36** un exemple de chromatogramme obtenu pour l'encens n°1. Le pic important sortant à 1,96 min correspond à la DNPH n'ayant pas réagit.

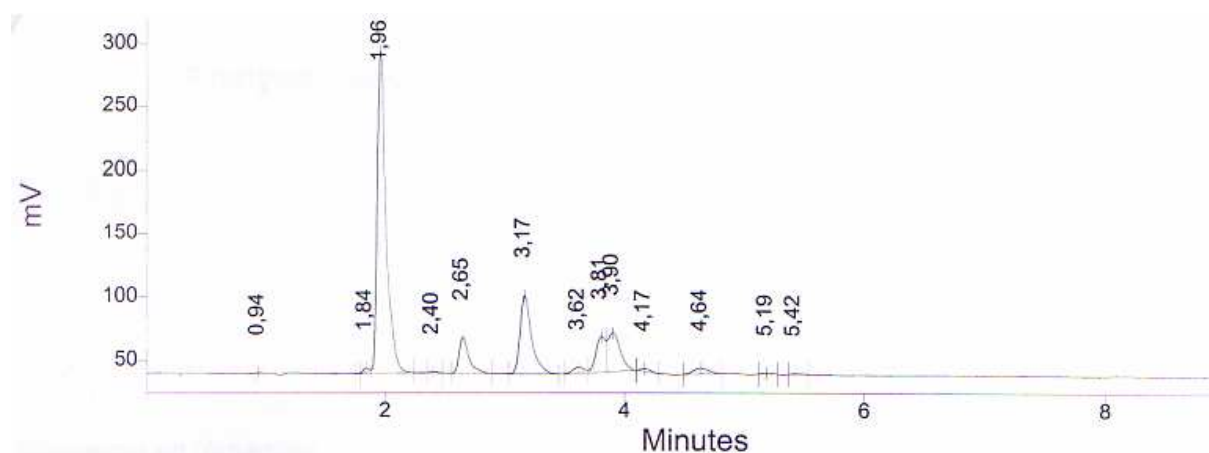


Figure 36: chromatogramme de l'encens n°1 dilué 80 fois.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Chaque échantillon est injecté à trois reprises afin de vérifier la répétabilité des temps de rétention et des aires. Pour ce premier encens, trois manipulations identiques sont réalisées afin de vérifier la reproductibilité des extractions.

Dans cet encens, seuls 2 des 3 dérivés étudiés sont présents : il s'agit des dérivés du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde.

Les résultats de répétabilité sur les temps de rétention et les aires sont présentés ci-dessous (**figure 37 et annexe 7 figures 38, 39 et 40**) sous forme de tableau pour améliorer la lisibilité et uniquement dans le cas d'un seul essai (essai 1):

	Dérivé formaldéhyde	Dérivé acétaldéhyde
Moyenne Tr (min)	2,63	3,14
Ecart type (min)	0,0058	0,0058
CV (%)	0,22	0,18
Moyenne aire (uA)	135,32	310,03
Ecart type (uA)	1,3798	2,6496
CV (%)	1,02	0,85

Figure 37: résultats de répétabilité des injections obtenus lors de l'essai 1 avec l'encens n°1.

Pour chaque manipulation, nous calculons, à partir des courbes d'étalonnage, les concentrations en aldéhyde des solutions diluées d'encens. Nous présentons le calcul pour le formaldéhyde dans le cas de l'essai précédent.

Nous avons obtenu une aire moyenne de 135,32. Grâce à l'équation de la courbe d'étalonnage $A_{DF} = 78,732 C_{DF} + 9,4675$, nous obtenons la concentration en dérivé formaldéhyde :

$$C_{DF}(\text{diluée}) = \frac{135,32 - 9,4675}{78,732} = 1,5985 \text{ ppm}$$

Les résultats des trois essais sont regroupés dans le tableau suivant (**figure 41**):

	C_D (diluée) essai 1 (ppm)	C_D (diluée) essai 2 (ppm)	C_D (diluée) essai 3 (ppm)	Moyenne C_D (diluée) (ppm)
Dérivé formaldéhyde	1,5985	1,9108	2,1630	1,8908
Dérivé acétaldéhyde	3,6486	4,8053	3,7714	4,0751

Figure 41: concentrations des solutions diluées injectées en HPLC-UV pour les 3 essais sur l'encens n°1.

Intervalle de confiance sur le résultat de l'analyse :

$$x_{\text{calculé}} = \frac{\bar{y}_{\text{calculé}} - a_0}{a_1}$$

$$x_{\text{calculé}} \pm \frac{t(1 - \frac{\alpha}{2}, n - 2)}{|a_1|} s \sqrt{\frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_{\text{calculé}} - \bar{x})^2}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Les résultats de ces calculs statistiques, réalisés sur les trois essais et sur la moyenne, sont regroupés dans le tableau **figure 42** :

	C_D (diluée) essai 1 (ppm)	C_D (diluée) essai 2 (ppm)	C_D (diluée) essai 3 (ppm)
Dérivé formaldéhyde	$C_{D \text{ (diluée)}} \pm 0,2026$	$C_{D \text{ (diluée)}} \pm 0,2131$	$C_{D \text{ (diluée)}} \pm 0,2104$
Dérivé acétaldéhyde	$C_{D \text{ (diluée)}} \pm 0,1751$	$C_{D \text{ (diluée)}} \pm 0,1739$	$C_{D \text{ (diluée)}} \pm 0,1747$

Figure 42: incertitudes sur les concentrations des solutions injectées en HPLC pour l'encens n°1.

Ces calculs nous permettent de connaître la concentration moyenne des trois solutions injectées avec leurs incertitudes. Pour déterminer la concentration moyenne de ces 3 solutions, nous utilisons l'incertitude maximale déterminée précédemment, soit :

$$C_{\text{dérivé formaldéhyde (diluée)}} = (1,89 \pm 0,22) \text{ ppm}$$

$$C_{\text{dérivé acétaldéhyde (diluée)}} = (4,1 \pm 0,2) \text{ ppm}$$

Pour chaque manipulation, nous calculons par la suite les teneurs en aldéhyde en fonction de la quantité d'encens. Nous présentons les calculs pour le formaldéhyde dans le cas de l'essai 1 :

Nous avons obtenu précédemment la concentration de la solution diluée, soit :

$$C_{DF \text{ (diluée)}} = 1,5985 \text{ ppm}$$

Cette solution ayant été diluée par 80, sa concentration est la suivante :

$$C_{DF} = C_{DF \text{ (diluée)}} \times 80 = 127,8792 \text{ ppm}$$

Dans cette solution, la quantité de matière est la même que celle dans le barboteur. La masse de dérivé formaldéhyde est donc calculée de la façon suivante :

$$m_{DF} = C_{DF} \times 50 = 6393,95895 \text{ } \mu\text{g} = 6,3940 \text{ mg}$$

Cette quantité est rapportée à la masse d'encens brûlé, soit dans ce cas 1,0072 g. D'où la teneur T:

$$T_{DF} = \frac{m_{DF}}{m(\text{encens})} = \frac{6,3940}{1,0072} = 6,34825 \text{ mg/g}$$

Cette teneur correspondant au dérivé du formaldéhyde (dérivation du formaldéhyde par la DNPH), nous transformons cette valeur en teneur en formaldéhyde, soit :

$$T = T_{DF} \times \frac{MF}{MDF} \quad \text{où MF : masse molaire du formaldéhyde (g/mol)}$$

$$MDF : \text{masse molaire du dérivé du formaldéhyde (g/mol)}$$

$$T = 6,34825 \times \frac{30}{210} = 0,9069 \text{ mg/g}$$

Pour chaque essai, nous calculons donc les teneurs en formaldéhyde et en acétaldéhyde. Ces valeurs sont regroupées dans le tableau de la **figure 43** en incluant les calculs de reproductibilité :

	Formaldéhyde	Acétaldéhyde
Teneur essai 1 (mg/g)	0,9069	2,8463
Teneur essai 2 (mg/g)	0,9466	3,2732
Teneur essai 3 (mg/g)	1,1718	2,8093
Moyenne des essais (mg/g)	1,0084	2,97625
Ecart type	0,1429	0,2578
CV (%)	14,2	8,7

Figure 43: teneurs en carbonyles des différents essais sur l'encens n°1 et incertitudes.

La manipulation étant complexe et pouvant présenter des erreurs à de nombreuses étapes, nous acceptons une variation de 20 % pour considérer que la méthode est reproductible. Cette variation est ici totalement respectée sur la teneur en formaldéhyde et en acétaldéhyde. Nos manipulations sont donc reproductibles.

Sur ces résultats, nous calculons un intervalle de confiance. Les résultats des analyses statistiques sont présentés en **figure 44** :

	Teneur _{essai 1} (mg/g)	Teneur _{essai 2} (mg/g)	Teneur _{essai 3} (mg/g)
Formaldéhyde	$T \pm 0,1150$	$T \pm 0,1056$	$T \pm 0,1140$
Acétaldéhyde	$T \pm 0,1366$	$T \pm 0,1184$	$T \pm 0,1301$

Figure 44: incertitudes sur les teneurs en carbonyles pour les 3 essais de l'encens n°1.

De même que précédemment, nous utilisons l'incertitude maximale calculée pour déterminer les teneurs en carbonyle dans l'encens n°1, soit :

Teneur en formaldéhyde : $T = (1,0 \pm 0,2) \text{ mg/g}$

Teneur en acétaldéhyde : $T = (3,0 \pm 0,2) \text{ mg/g}$

Ces teneurs restent toutefois assez approximatives du fait des coefficients de variation importants déterminés lors de la vérification de la reproductibilité de la méthode (14,2 et 8,7 %).

3.2. Résultats d'analyses de divers encens

Afin d'étudier divers encens et de mettre en pratique le protocole opératoire déterminé précédemment, nous analysons six autres encens. Ces analyses nous permettront de tirer des conclusions sur les encens et de vérifier que notre mode opératoire est facile à mettre en œuvre et reproductible.

Pour chaque encens étudié, nous réalisons deux manipulations successives et vérifions la reproductibilité des extractions en calculant le coefficient de variation sur la teneur en aldéhyde ($CV < 20\%$).

Afin que les manipulations soit le plus reproductible possible, nous essayons d'utiliser des quantités d'encens les plus proches possibles de celles utilisées avec l'encens n°1, ce qui justifie le fait que nous n'avons utilisé qu'un seul bâton pour tous les encens à l'exception de l'encens n°7.

Nous présentons dans cette partie les résultats et incertitudes sur les différents essais ainsi que les calculs de reproductibilité sur les teneurs en aldéhyde issus de la combustion de chacun des encens. Nous acceptons, comme dans la partie précédente, une erreur de 20 % sur le résultat final. Les erreurs sur le résultat final étant assez faibles, elles ne seront pas calculées. Nous garderons l'incertitude maximale déterminée lors des analyses sur l'encens n°1, soit plus ou moins 0,2 mg/g.

3.2.1. Encens n°2

Un exemple de chromatogramme est présenté en **annexe 8 figure 45** et nous présentons les résultats dans le tableau ci-dessous (**figure 46**):

	Formaldéhyde	Acétaldéhyde
Teneur essai 1 (mg/g)	3,6676	2,0536
Teneur essai 2 (mg/g)	3,4659	2,4024
Moyenne des essais (mg/g)	3,5667	2,2280
CV (%)	4,0	11,1

Figure 46: teneurs en carbonyles de l'encens n°2.

Nous pouvons constater, à partir de ces résultats, que la méthode est une nouvelle fois reproductible puisque les coefficients de variation sont inférieurs à 20 %, et pour le formaldéhyde, inférieur à 5 %, donc très bon.

Les teneurs en carbonyles déterminées sont les suivantes :

Teneur en formaldéhyde : $T = (3,6 \pm 0,2)$ mg/g

Teneur en acétaldéhyde : $T = (2,2 \pm 0,2)$ mg/g

3.2.2. Encens n°3

Les résultats sont présentés en **figure 47 et annexe 9 figure 48**:

	Formaldéhyde	Acétaldéhyde
Teneur essai 1 (mg/g)	2,7268	2,1629
Teneur essai 2 (mg/g)	2,8202	2,2116
Moyenne des essais (mg/g)	2,7735	2,1872
CV (%)	2,4	1,6

Figure 47: teneurs en carbonyles de l'encens n°3.

Soit les teneurs suivantes :

Teneur en formaldéhyde : $T = (2,8 \pm 0,2)$ mg/g

Teneur en acétaldéhyde : $T = (2,2 \pm 0,2)$ mg/g

3.2.3. Encens n°4

Les résultats sont les suivants (**figure 49 et annexe 10 figure 50**) :

	Formaldéhyde	Acétaldéhyde
Teneur essai 1 (mg/g)	2,1890	2,0455
Teneur essai 2 (mg/g)	2,0384	1,8383
Moyenne des essais (mg/g)	2,1137	1,9419
CV (%)	5,0	7,5

Figure 49: teneurs en carbonyles de l'encens n°4.

Les résultats des dosages sont les suivants :

Teneur en formaldéhyde : $T = (2,1 \pm 0,2)$ mg/g

Teneur en acétaldéhyde : $T = (1,9 \pm 0,2)$ mg/g

3.2.4. Encens n°5

Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant et en annexe (**figure 51 et annexe 11 figure 52**) :

	Formaldéhyde	Acétaldéhyde
Teneur essai 1 (mg/g)	3,7084	3,1821
Teneur essai 2 (mg/g)	4,5971	3,0400
Moyenne des essais (mg/g)	4,1528	3,1110
CV (%)	15,1	3,2

Figure 51: teneurs en carbonyles de l'encens n°5.

Soit les teneurs suivantes :

Teneur en formaldéhyde : $T = (4,15 \pm 0,20)$ mg/g

Teneur en acétaldéhyde : $T = (3,1 \pm 0,2)$ mg/g

3.2.5. Encens n°6

Les teneurs sont reportées dans le tableau 53 (**figure 53 et annexe 12 figure 54**):

	Formaldéhyde	Acétaldéhyde
Teneur essai 1 (mg/g)	6,1201	3,1954
Teneur essai 2 (mg/g)	5,8912	2,9507
Moyenne des essais (mg/g)	6,0056	3,0730
CV (%)	2,7	5,6

Figure 53: teneurs en carbonyles de l'encens n°6.

Les teneurs en carbonyles sont les suivantes :

Teneur en formaldéhyde : $T = (6,0 \pm 0,2)$ mg/g

Teneur en acétaldéhyde : $T = (3,1 \pm 0,2)$ mg/g

3.2.6. Encens n°7

Pour l'encens n°7, nous regroupons les résultats des analyses dans le tableau **figure 55 et l'annexe 13 figure 56** :

	Formaldéhyde	Acétaldéhyde
Teneur essai 1 (mg/g)	1,7735	1,8291
Teneur essai 2 (mg/g)	1,5954	2,0977
Moyenne des essais (mg/g)	1,7735	1,8254
CV (%)	7,5	9,8

Figure 55: teneurs en carbonyles de l'encens n°7.

Les teneurs en carbonyles sont les suivantes :

Teneur en formaldéhyde : $T = (1,8 \pm 0,2)$ mg/g

Teneur en acétaldéhyde : $T = (1,8 \pm 0,2)$ mg/g

3.3. Récapitulation des résultats (figure 57)

Afin d'améliorer la lisibilité des résultats et d'en faciliter le commentaire, nous les regroupons dans le tableau suivant :

Encens	Teneur en formaldéhyde (mg/g)	Teneur en acétaldéhyde (mg/g)
N°1	1,0	3,0
N°2	3,6	2,2
N°3	2,8	2,2
N°4	2,1	1,9
N°5	4,15	3,1
N°6	6,0	3,1
N°7	1,8	1,8

Figure 57: récapitulatif des teneurs en carbonyles dans les encens.

3.4. Commentaires des résultats

Nous pouvons tout d'abord constater que seuls 2 (formaldéhyde et acétaldéhyde) des 3 composés carbonylés recherchés (formaldéhyde, acétaldéhyde et benzaldéhyde), sont présents en quantité détectable dans les encens. Ainsi, nous pouvons conclure qu'il n'y a pas ou qu'il y a très peu de benzaldéhyde dans les encens étudiés.

Dans tous les encens, nous avons détecté et quantifié du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde. Les teneurs en acétaldéhyde sont assez voisines dans chacun des encens puisque comprises entre 1,8 et 3,1 mg/g. Pour le formaldéhyde, ces teneurs sont plus variées, comprises entre 1,0 et 6,0 mg/g.

En **annexe 1**, nous avons présenté les fiches Risques et Sécurité des composés étudiés et notamment celles du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde. Nous pouvons retenir de ces fiches que le formaldéhyde est toxique, peut entraîner des effets irréversibles et est suspecté cancérigène. L'acétaldéhyde est très inflammable et nocif. Comme le formaldéhyde, il est suspecté cancérigène et peut entraîner des effets irréversibles.

Les encens étudiés rejettent donc des substances toxiques lors de leur combustion.

Sur le site Internet de l'UFC-Que Choisir (9), une partie des résultats des analyses est répertorié. Ainsi, « les bâtons d'encens XXX émettent (...) 69 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (microgrammes par mètre cube d'air) de formaldéhyde (pour un seuil recommandé par l'OMS de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) ».

En s'inspirant de ces résultats, nous allons essayer de comparer approximativement leurs résultats aux nôtres.

Nous partons de l'hypothèse que le bâton d'encens est mis à brûler dans un salon de 20 m² et de hauteur de plafond de 3 m, soit un volume de 60 m³. Nous ne traitons pas le cas des bâtons d'encens n°1 ou n°7 du fait de leur poids inférieur à celui des autres encens. Dans le cas des 5 autres encens, la quantité d'encens brûlée pour un bâton est d'environ 1 g. La quantité minimale de formaldéhyde dégagée par la combustion d'un bâton d'encens est donc de 2,1 mg et celle d'acétaldéhyde est de 1,9 mg. Soit, dans notre pièce de 60 m³, une teneur en formaldéhyde et en acétaldéhyde de :

Teneur en formaldéhyde : 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ d'air
Teneur en acétaldéhyde : 32 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ d'air

Nous constatons que nous trouvons une teneur en formaldéhyde deux fois inférieures à celle déterminée par l'UFC-Que Choisir, mais toutefois du même ordre de grandeur. Notre calcul comprend cependant de nombreuses incertitudes.

Cependant, nous pouvons en partie conclure sur la nocivité des encens. En effet, d'après la publication de l'UFC-Que Choisir et selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), la masse volumique de formaldéhyde à ne pas dépasser est de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, or, pour notre encens contenant le moins de formaldéhyde (excepté l'encens n°1), la teneur est 3,5 fois supérieure à ce seuil et peut atteindre 60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, soit 6 fois le seuil recommandé. Ces calculs ne tiennent cependant pas compte des éventuels courants d'air, portes ouvertes, ventilation...

3.5. Améliorations possibles de la méthode analytique

Une première amélioration de la méthode analytique consisterait à étalonner l'HPLC chaque jour avant toute manipulation. Cela permettrait de limiter les effets de dérive de la lampe sur les résultats obtenus.

Une autre possibilité serait d'augmenter le nombre de manipulations sur chaque encens. En effet, nous avons dans chaque cas, réalisé des manipulations jusqu'à ce que nous ayons deux résultats variant au maximum de 20 %. Afin d'affiner ces résultats, nous pourrions envisager de fixer comme objectif de réaliser 3 ou 4 manipulations avec une variation maximum plus faible (10 % par exemple).

De plus, il serait intéressant de vérifier si réellement après 3 extractions au dichlorométhane, la majorité des dérivés carbonylés ont été extraits ou si une quatrième extraction ne serait pas nécessaire.



Possibilités de poursuite de projet

Grâce aux résultats exposés précédemment, nous pouvons dire que l'objectif de ce projet d'étude a été mené à bien même si nous n'avons pas étudié de bougies parfumées. Il n'en demeure pas moins qu'il est possible de poursuivre cette étude, en reprenant le rapport de l'UFC-Que Choisir et en réalisant leurs analyses complémentaires. Dans cette partie, nous allons répertorier les différentes pistes de poursuite de projet.

Tout d'abord, lors de notre étude, seuls 3 des 7 composés carbonylés prévus au départ ont été analysés. Ces quatre produits n'ont pas été quantifiés, soit parce que les dérivés synthétisés n'étaient pas purs (2-furfural et acroléine), soit parce qu'ils ne paraissaient pas stables en solution (glyoxal et méthylglyoxal). Une poursuite de projet pourrait donc être la recherche d'une méthode de purification de ces deux dérivés (2-furfural et acroléine), par exemple en réalisant une séparation sur colonne.

Pour les deux autres dérivés, une étude plus précise pourrait être menée en étudiant l'évolution de ces dérivés en solution au cours du temps par HPLC afin de vérifier si réellement ils ne sont pas quantifiables. Il serait éventuellement possible de synthétiser plus de dérivés afin de pouvoir réaliser une courbe d'étalonnage chaque jour et ainsi éviter la dégradation des solutions.

Avec ces 4 composés, l'étude pourrait être reprise sur chacun des encens afin de quantifier ces 4 autres composés.

Une autre possibilité de poursuite consisterait à étudier d'autres encens afin d'obtenir un panel plus large de résultats. De plus, nous pourrions élargir l'étude, comme l'a réalisé l'UFC-Que Choisir (1), à d'autres désodorisants comme des bougies parfumées, des huiles essentielles, des aérosols, des diffuseurs électriques....

Dans son étude, l'UFC-Que Choisir (1) précise que les essais ne tiennent pas compte des effets à long terme, notamment l'absorption et la réémission par les murs, les meubles.... Nous pourrions donc envisager d'étudier cet effet sur le bois. Pour cela, de l'encens serait consommé près d'un morceau de bois et après combustion, l'air environnant le bois serait analysé par HPLC.

Conclusion

Le travail que j'ai effectué sur les encens est venu en partie vérifier le rapport de l'UFC-Que Choisir (1). En effet, à partir de ce rapport, nous avons décidé de vérifier une partie de leur manipulation en nous intéressant à divers encens achetés dans le commerce. Cette étude a débuté par des recherches bibliographiques ayant permis de centrer l'étude sur 7 carbonyles. Ces carbonyles, une fois dérivés par la DNPH, ont été analysés en HPLC pour vérifier leur pureté. Il s'est avéré que seuls 3 de ces 7 dérivés ont pu être étudiés par la suite, les autres n'étant pas purs ou pas stables en solution.

Ces dérivés nous ont permis d'optimiser une méthode de séparation en HPLC et de tracer des courbes d'étalonnage. Une grande partie du projet a consisté à imaginer et à optimiser un montage permettant de récupérer les fumées d'encens sans perte. Les carbonyles issus de ces fumées, après barbotage dans une solution de DNPH, ont été extraits et quantifiés.

7 encens différents ont été analysés et nous permettent de tirer quelques conclusions sur les encens. Dans chacun, nous avons trouvé du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde dans des concentrations du même ordre de grandeur mais pas de benzaldéhyde. Grâce à un calcul très approximatif, nous avons pu montrer que dans une pièce comme un salon et en l'absence de ventilation, les concentrations volumiques d'encens dans l'air étaient supérieures à celles préconisées par l'OMS.

Comme conclu dans le rapport de l'UFC-Que Choisir (1), la combustion d'encens rejette donc bien dans l'air des composés toxiques en quantité non négligeable.

D'un point de vue personnel, ce projet m'a permis de confirmer mon goût pour la chimie analytique. Ce sujet m'a permis d'avoir un aperçu de la façon dont un problème de chimie analytique devait être traité, en commençant par des recherches bibliographiques pour finir par des dosages après avoir optimisé toute la méthode.

J'ai ainsi pu améliorer mes connaissances en chimie analytique, notamment grâce à la préparation d'échantillon et l'utilisation de l'HPLC. Ce sujet m'a permis de sortir du contexte des Travaux Pratiques où le travail est prévu et où tout fonctionne bien. J'ai en effet dû faire face à des problèmes de manipulation qui m'ont permis de voir qu'une méthode analytique issue d'une publication pouvait ne pas être reproductible au laboratoire et nécessitait de nombreuses améliorations.

Références bibliographiques

1. www.quechoisir.org, Désodorisants d'intérieur : UFC-Que Choisir confirme! , 14 janvier 2004
2. Steven Sai Hang Ho and Jian Zhen Yu. (2002) Concentrations of formaldehyde and other carbonyls in environments affected by incense burning.
3. www.hc-sc.gc.ca, Determination of Selected Carbonyls in Mainstream Tobacco Smoke, 29 novembre 2007
4. Method EPA 8315 A, Determination of carbonyl compounds by high performance liquid chromatography (HPLC), décembre 1996
5. Ji-Zhou Dong, Serban C. Moldoveanu (2004) Gas chromatography-mass spectrometry of carbonyl compounds in cigarette mainstream smoke after derivatization with 2,4-dinitrophenylhydrazine, *Journal of Chromatography A*, 1027 (2004) 25-35.
6. Karamatollah Rezaei, Tong Wang and Lawrence A. Johnson, Combustion Characteristics of Candles Made from Hydrogenated Soybean Oil, Journal Paper N₀. J-19568 of the Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station, Ames, IA. Project N₀ 0178, and supported by Hatch Act and State of Iowa funds and a grant provided by the Iowa Soybean Promotion Board.
7. Johnson, D.C., and E.G. Hammond, A Sensitive Method for the Determination of Carbonyl Compounds, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 48:635-656 (1971).
8. VOGEL'S, Textbook of PRATICAL ORGANIC CHEMISTRY fifth edition.
9. www.quechoisir.org, Désodorisants d'intérieur : à proscrire de toute urgence !, 22 novembre 2004.
10. www.acros.com

Annexes

Annexe 1 : Fiches toxicologiques des produits dérivés (10).

Annexe 2: Préparation des standards, influence de la recristallisation et des lavages.

Annexe 3 : Vérification de la pureté des dérivés à partir d'un premier gradient.

Annexe 4 : Optimisation de la méthode HPLC.

Annexe 5 : Recherche des temps de rétention et de l'ordre de sortie des dérivés du benzaldéhyde, de l'acétaldéhyde et du formaldéhyde après optimisation de l'HPLC.

Annexe 6 : Exemples de chromatogrammes utilisés pour la courbe d'étalonnage.

Annexe 7 : Encens n°1, vérification de la répétabilité.

Annexe 8 : Chromatogramme de l'encens n°2.

Annexe 9 : Chromatogramme de l'encens n°3.

Annexe 10 : Chromatogramme de l'encens n°4.

Annexe 11 : Chromatogramme de l'encens n°5.

Annexe 12 : Chromatogramme de l'encens n°6.

Annexe 13 : Chromatogramme de l'encens n°7.

Annexe 1 : Fiches toxicologiques des produits dérivés.

FORMALDEHYDE

Symbole : T = toxique

Phrases de risque :

- Inflammable (R10).
- Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion (R23/24/25).
- Provoque des brûlures (R34).
- Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion (R39/23/24/25).
- Effet cancérogène suspecté. Risque possible d'effets irréversibles (R40).
- Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau (R43).

Phrases de sécurité :

- Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles. Ne pas fumer (S16).
- En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement consulter un ophtalmologiste (S26).
- Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage (S36/37/39).
- En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette (S45).
- Utiliser seulement dans des zones bien ventilées (S51).

ACETALDEHYDE

Symboles : F+ = extrêmement inflammable

Xn = nocif

Phrases de risque :

- Extrêmement inflammable (R12).
- Irritant pour les yeux et les voies respiratoires (R36/37).
- Effet cancérogène suspecté. Risque possible d'effets irréversibles (R40).

Phrases de sécurité :

- Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles. Ne pas fumer (S16).
- Eviter l'accumulation de charges électrostatiques (S33).
- Porter un vêtement de protection approprié et des gants appropriés (S36 /37).

ACROLEINE

Symboles : F = facilement inflammable

T+ = très toxique

N = dangereux pour l'environnement

Phrases de risque :

- Facilement inflammable (R11).

- Toxique par contact avec la peau et par ingestion (R24/25).
- Très toxique par inhalation (R26).
- Provoque des brûlures (R34).
- Très toxique pour les organismes aquatiques (R50).

Phrases de sécurité :

- Ne pas respirer les gaz/fumées/vapeurs/aérosols (terme(s) approprié(s) à indiquer par le fabricant) (S23).
- En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement consulter un ophtalmologiste (S26).
- Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec ... (produits appropriés à indiquer par le fabricant) (S28).
- Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage (S36/37/39).
- En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette (S45).
- Eviter le rejet dans l'environnement. Consulter les instructions spéciales/la fiche de données de sécurité (S61).

2-FURFURAL

Symboles : T = toxique

Phrases de risque :

- Nocif par contact avec la peau (R21).
- Toxique par inhalation et par ingestion (R23/25).
- Irritant pour les yeux et les voies respiratoires (R36/37).
- Effet cancérigène suspecté. Risque possible d'effets irréversibles (R40).

Phrases de sécurité :

- En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement consulter un ophtalmologiste (S26).
- Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage (S36/37/39).
- En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette (S45).

BENZALDEHYDE

Symboles : Xn = nocif

Phrases de risque :

- Nocif en cas d'ingestion (R22).

Phrases de sécurité :

- Eviter le contact avec la peau (S24).

GLYOXAL

Symboles : Xn = nocif

Phrases de risque :

- Nocif par inhalation (R20).
- Irritant pour les yeux et la peau (R36/38).
- Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau (R43).
- Possibilité d'effets irréversibles (R68).

Phrases de sécurité :

- Porter un vêtement de protection et des gants appropriés (S36/37).

METHYLGLYOXAL

Symboles : C = corrosif

Phrases de risque :

- Inflammable (R10).
- Nocif en cas d'ingestion (R22).
- Provoque de graves brûlures (R35).
- Risque de lésions oculaires graves (R41).
- Possibilité d'effets irréversibles (R68).

Phrases de sécurité :

- Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles. Ne pas fumer (S16).
- En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement consulter un ophtalmologiste (S26).
- Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage (S36/37/39).
- Porter un appareil de protection des yeux/du visage adapté (S39).
- En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette (S45).

Annexe 2 : Préparation des standards, influence de la recristallisation et des lavages.

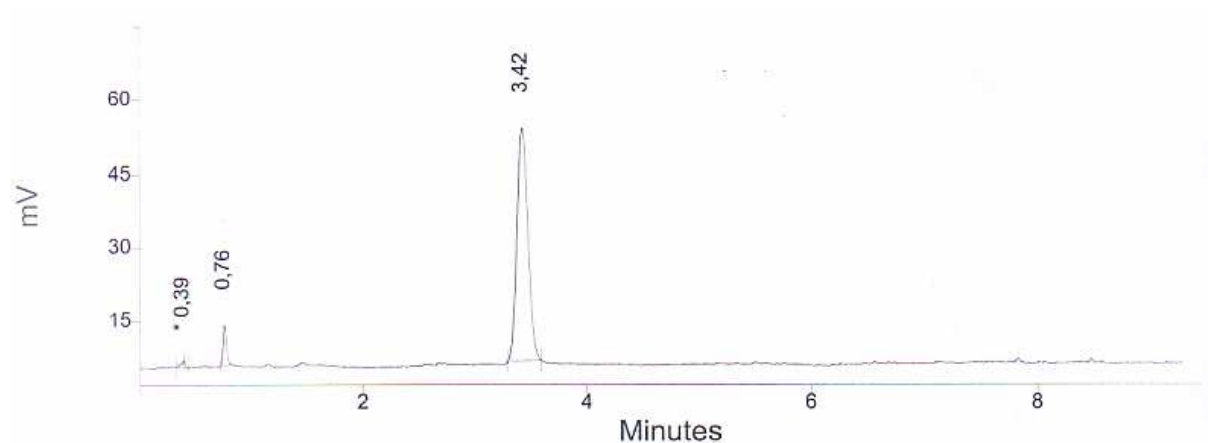


Figure 6: chromatogramme du dérivé du benzaldéhyde recristallisé à l'éthanol.
(360 nm ; 1,5 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (40:60/ v:v) ; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

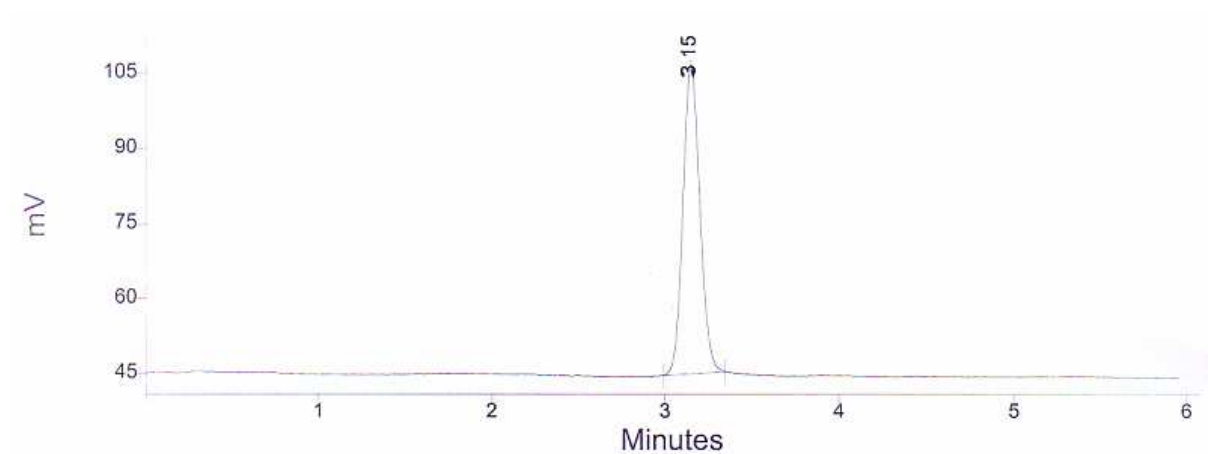


Figure 7: chromatogramme du dérivé du benzaldéhyde recristallisé à l'éthanol et lavé au méthanol.

(360 nm ; 1,5 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (40:60/ v:v) ; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

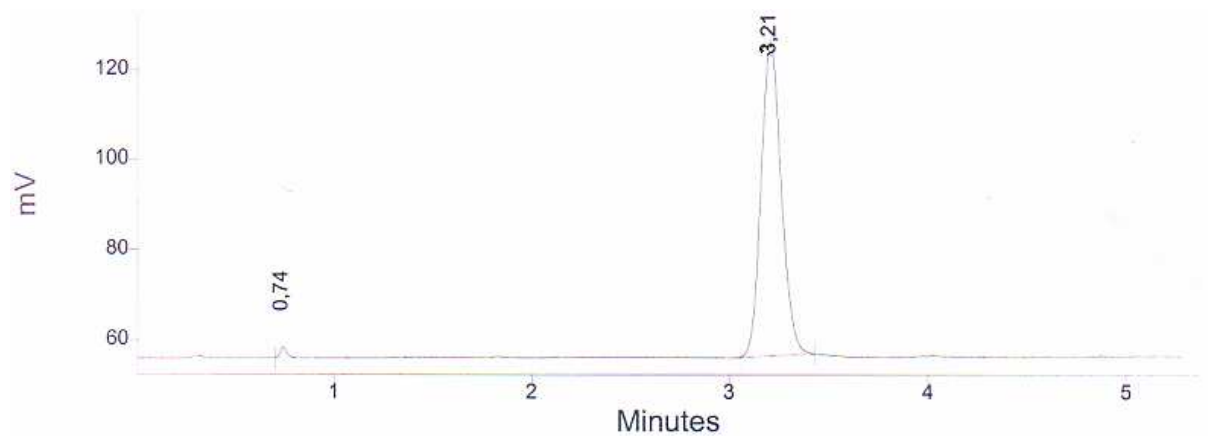


Figure 8: chromatogramme du dérivé du benzaldéhyde lavé 2 fois avec 50 mL de méthanol pendant 10 minutes.

(360 nm ; 1,5 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (40:60/ v:v) ; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

Annexe 3 : Vérification de la pureté des dérivés à partir d'un premier gradient.

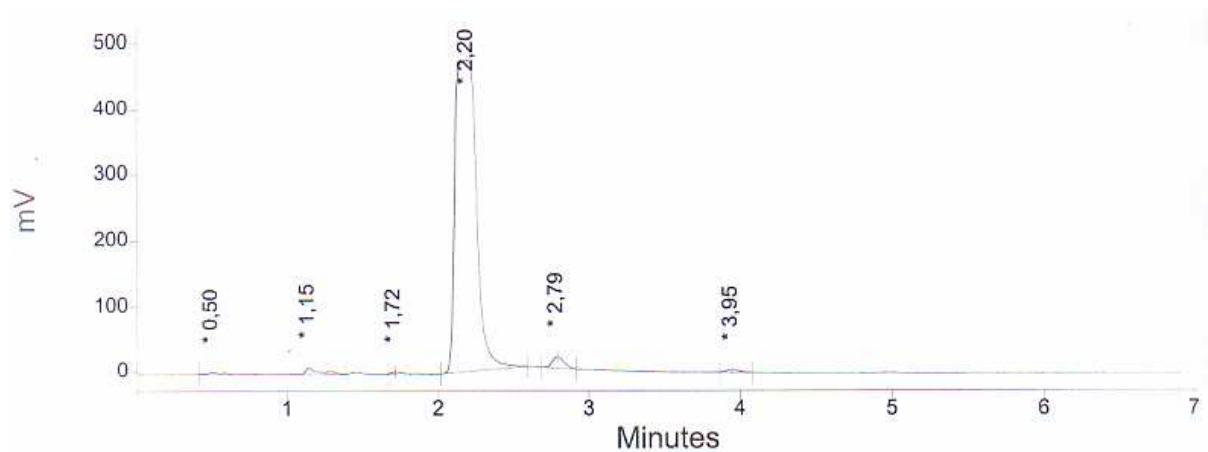


Figure 13: chromatogramme du dérivé de l'acétaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; gradient de eau/acétonitrile (40:60/ v:v) à 100 % acétonitrile en 6 minutes; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

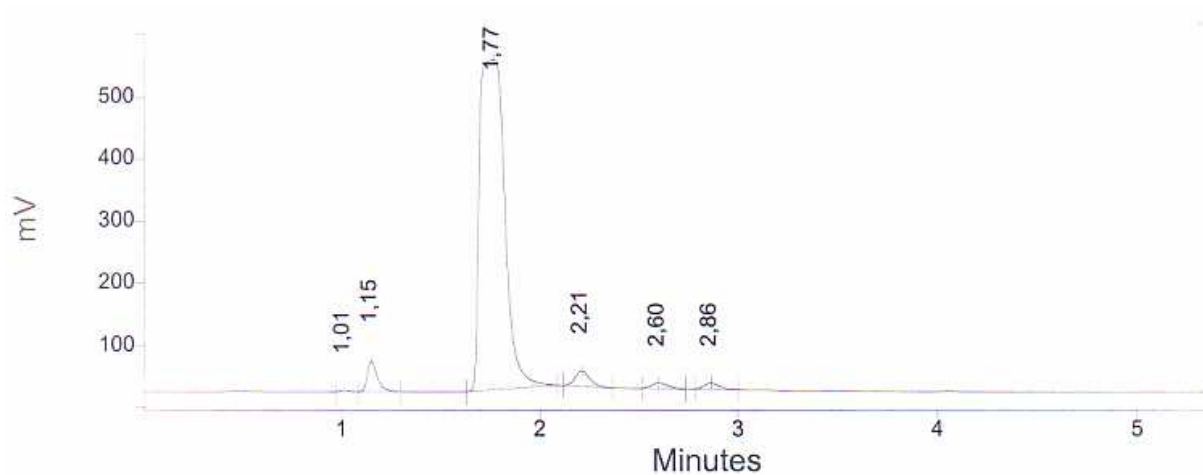


Figure 14: chromatogramme du dérivé du formaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; gradient de eau/acétonitrile (40:60/ v:v) à 100 % acétonitrile en 6 minutes; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

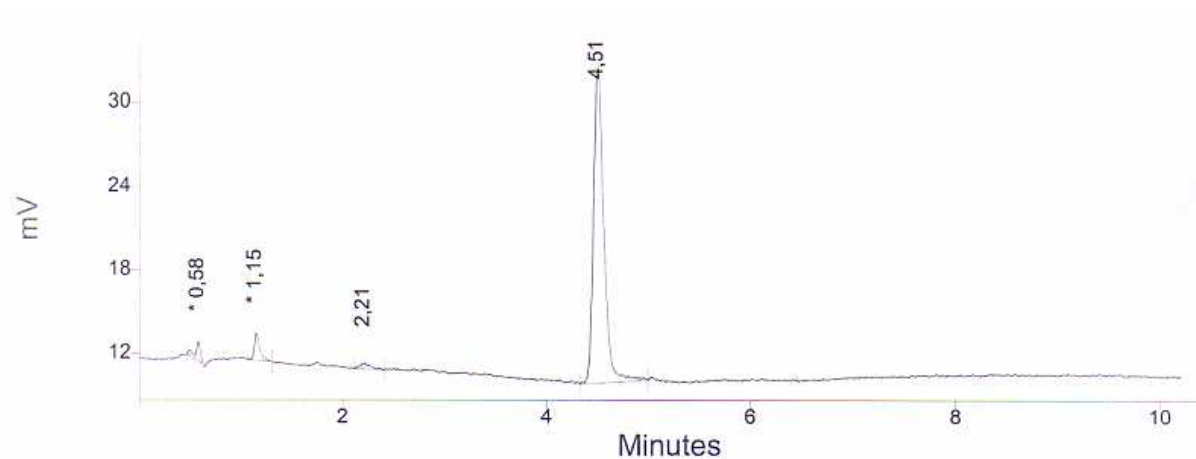


Figure 15: chromatogramme du dérivé du benzaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; gradient de eau/acétonitrile (40:60/ v:v) à 100 % acétonitrile en 6 minutes; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

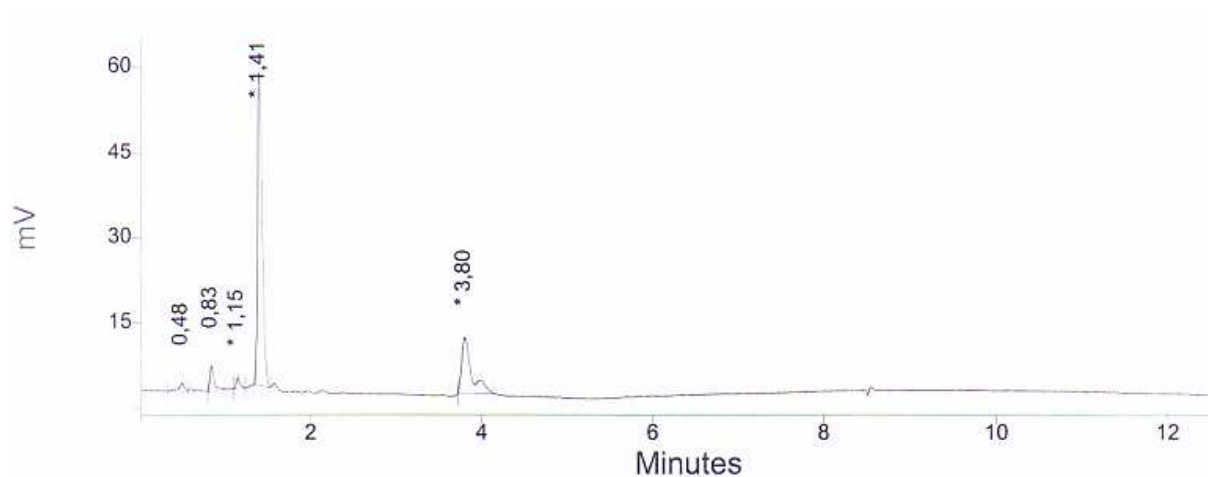


Figure 16: chromatogramme du dérivé du gloxal.

(360 nm ; 1 mL/min ; gradient de eau/acétonitrile (40:60/ v:v) à 100 % acétonitrile en 6 minutes; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

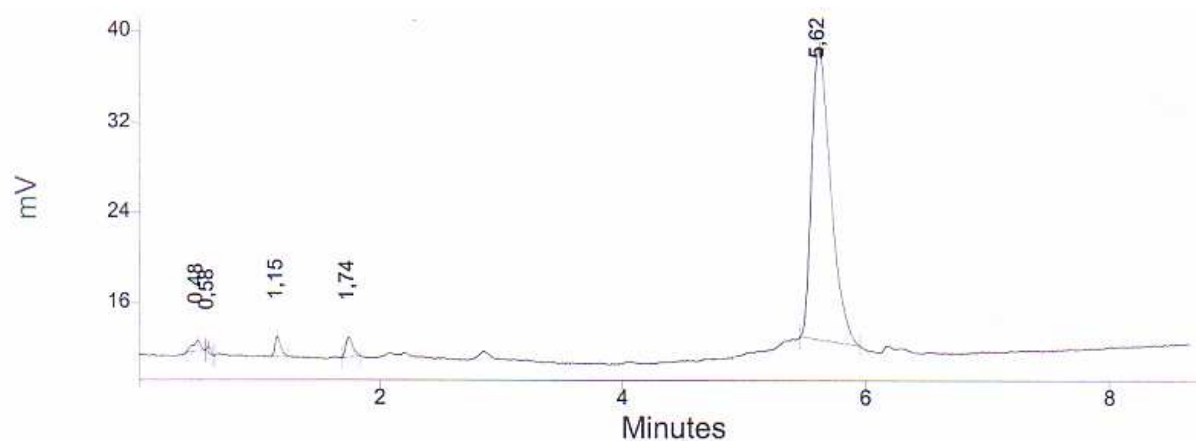


Figure 17: chromatogramme du dérivé du méthylglyoxal.

(360 nm ; 1 mL/min ; gradient de eau/acétonitrile (40:60/ v:v) à 100 % acétonitrile en 6 minutes; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

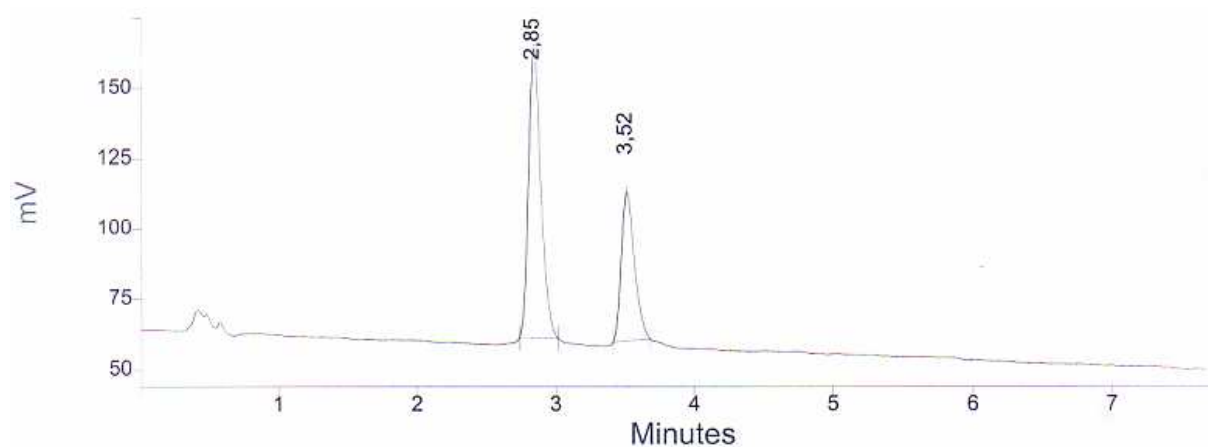


Figure 18: chromatogramme du dérivé du 2-furfural.

(360 nm ; 1 mL/min ; gradient de eau/acétonitrile (40:60/ v:v) à 100 % acétonitrile en 6 minutes; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

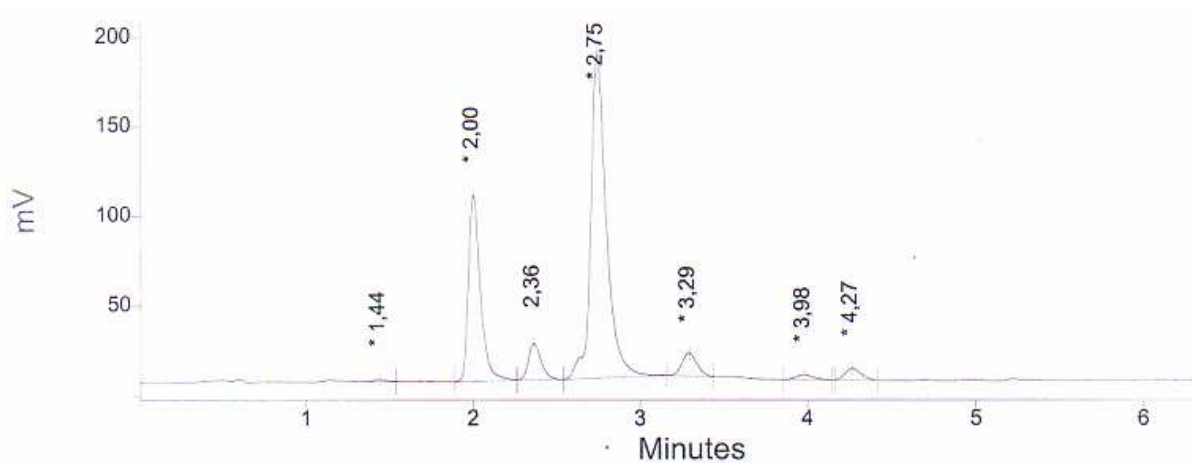


Figure 19: chromatogramme du dérivé de l'acroléine.

(360 nm ; 1 mL/min ; gradient de eau/acétonitrile (40:60/ v:v) à 100 % acétonitrile en 6 minutes; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

Annexe 4 : Optimisation de la méthode HPLC.

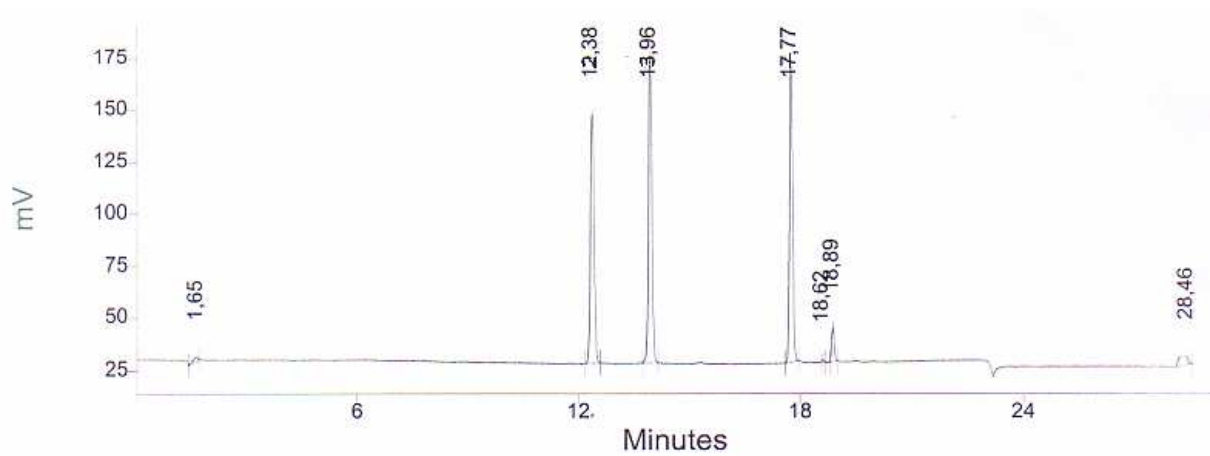


Figure 20: chromatogramme d'une solution à 10 ppm des dérivés du formaldéhyde, glyoxal, méthylglyoxal, acétaldéhyde et benzaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique pendant 3 minutes puis gradient de eau/acétonitrile (70:30/ v:v) à 100 % acétonitrile de 3 à 20 minutes; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

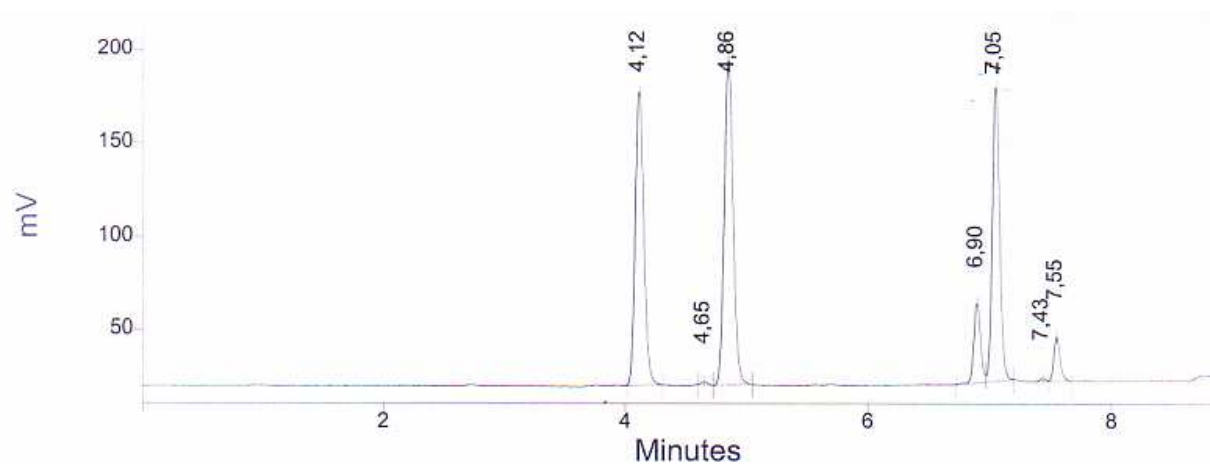


Figure 21: chromatogramme d'une solution à 10 ppm des dérivés du formaldéhyde, glyoxal, méthylglyoxal, acétaldéhyde et benzaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; gradient de eau/acétonitrile (50:50/ v:v) à 100 % acétonitrile puis isocratique pendant 5 minutes à 100 % acétonitrile; solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/ v:v)).

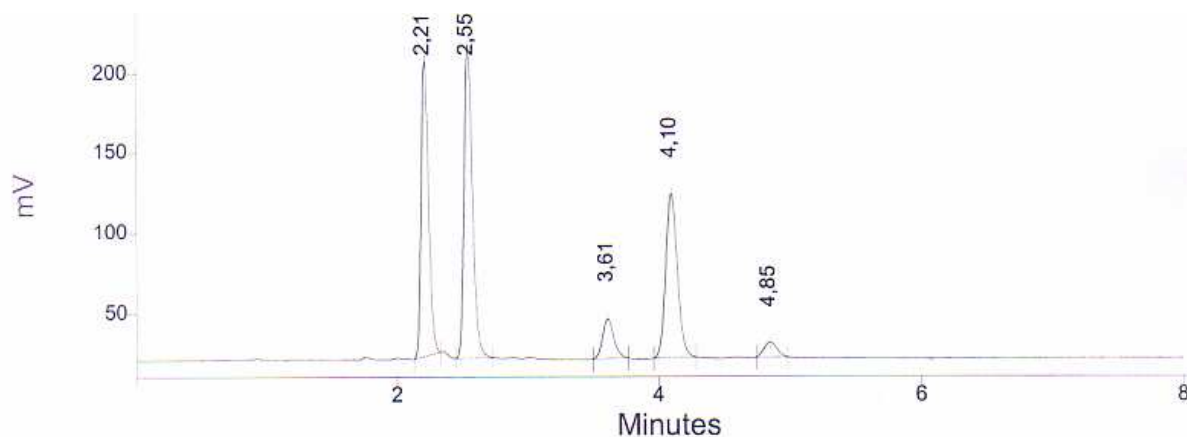


Figure 22: chromatogramme d'une solution à 10 ppm des dérivés du formaldéhyde, glyoxal, méthylglyoxal, acétaldéhyde et benzaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (25:75/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

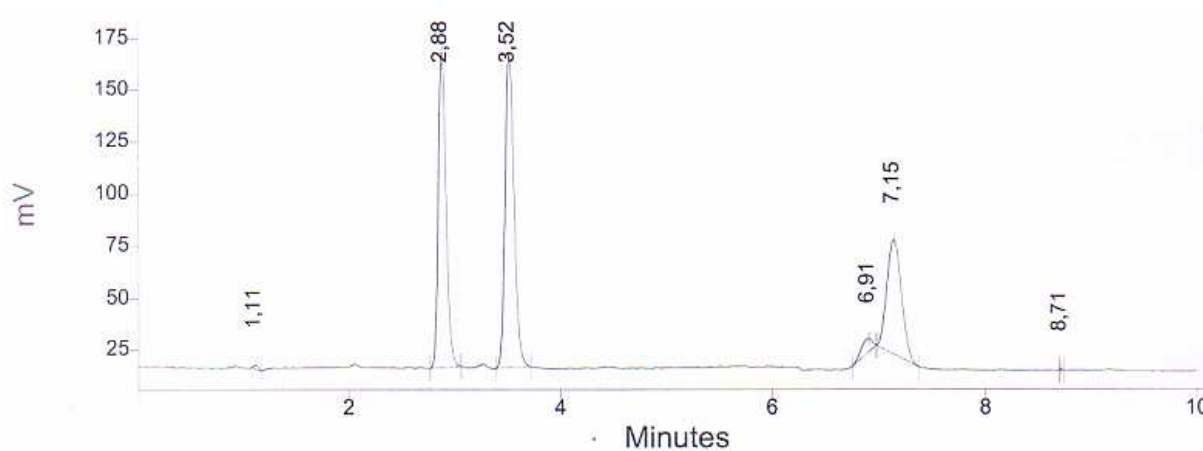


Figure 23: chromatogramme d'une solution à 10 ppm des dérivés du formaldéhyde, glyoxal, méthylglyoxal, acétaldéhyde et benzaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (35:65/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

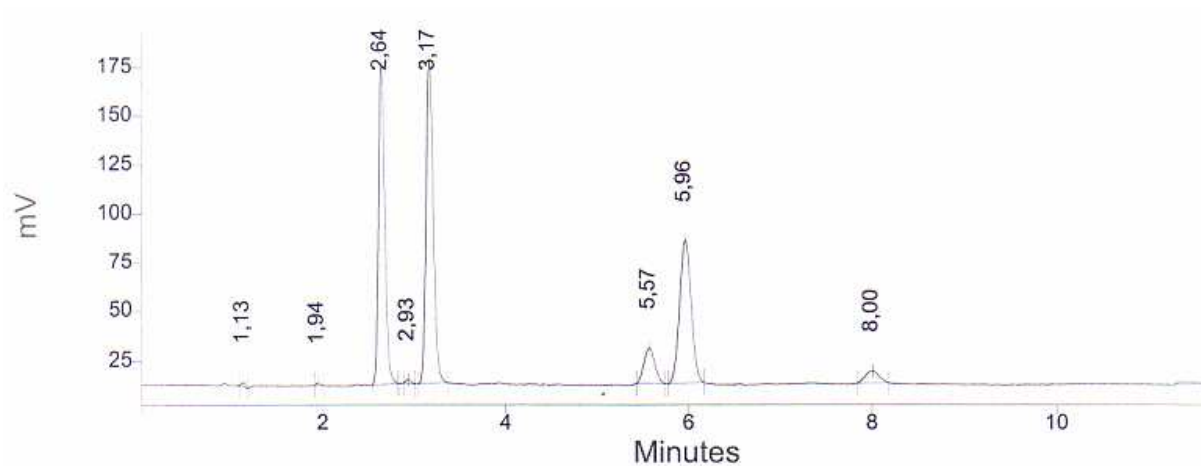


Figure 24: chromatogramme d'une solution à 10 ppm des dérivés du formaldéhyde, glyoxal, méthylglyoxal, acétaldéhyde et benzaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 5 : Recherche des temps de rétention et de l'ordre de sortie des dérivés du benzaldéhyde, de l'acétaldéhyde et du formaldéhyde après optimisation de l'HPLC.

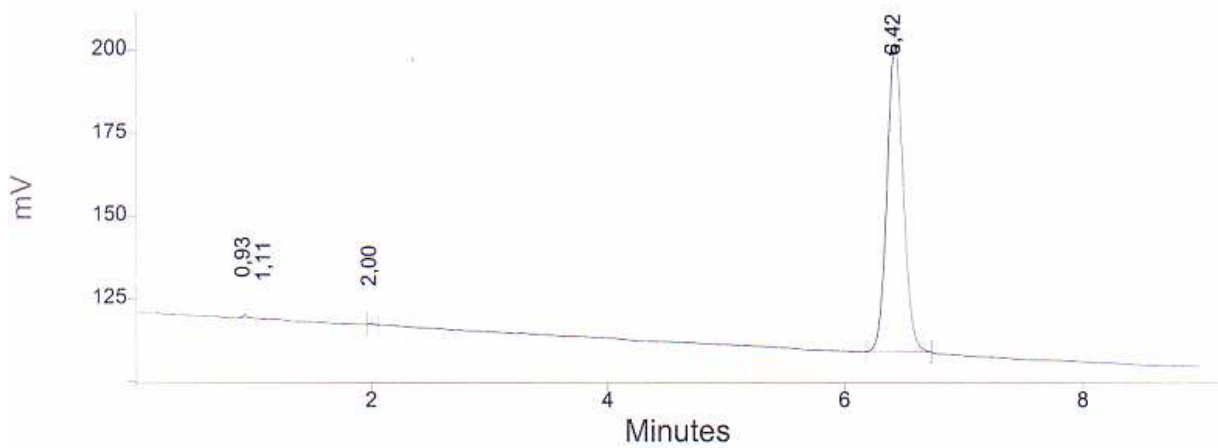


Figure 26: chromatogramme du dérivé du benzaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

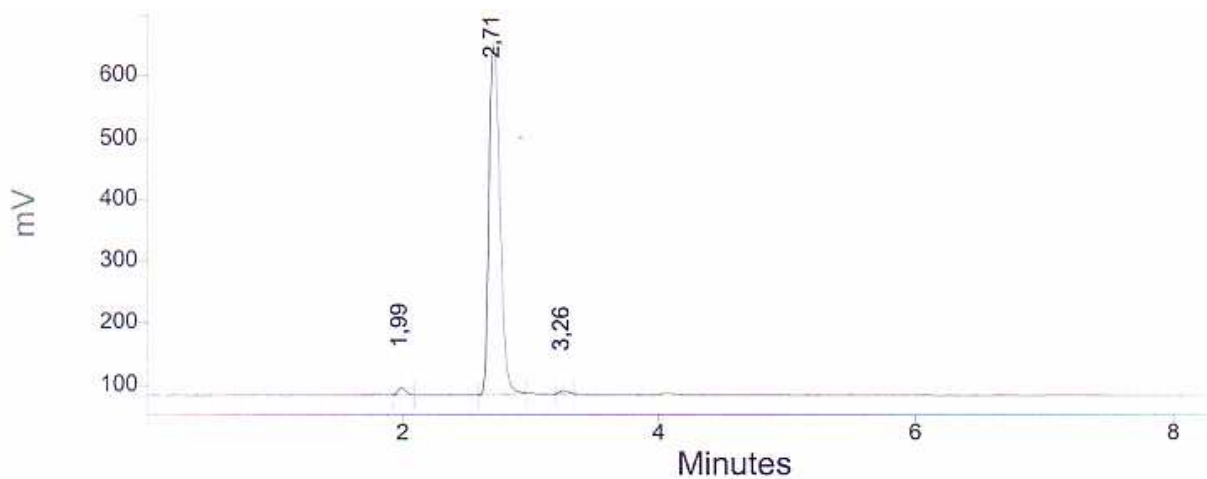


Figure 27: chromatogramme du dérivé formaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

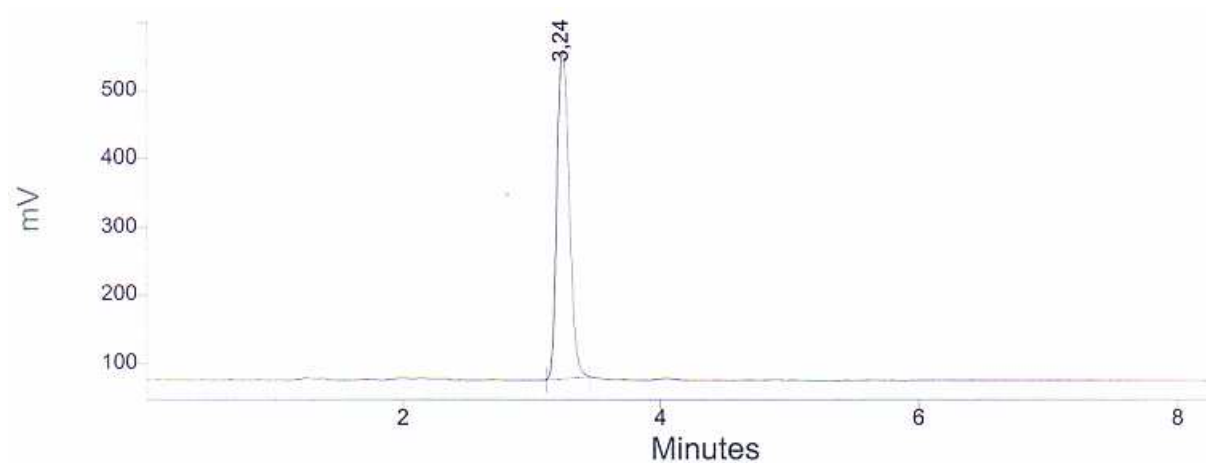


Figure 28: chromatogramme du dérivé de l'acétaldéhyde.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 6 : Exemple de chromatogrammes utilisés pour la courbe d'étalonnage.

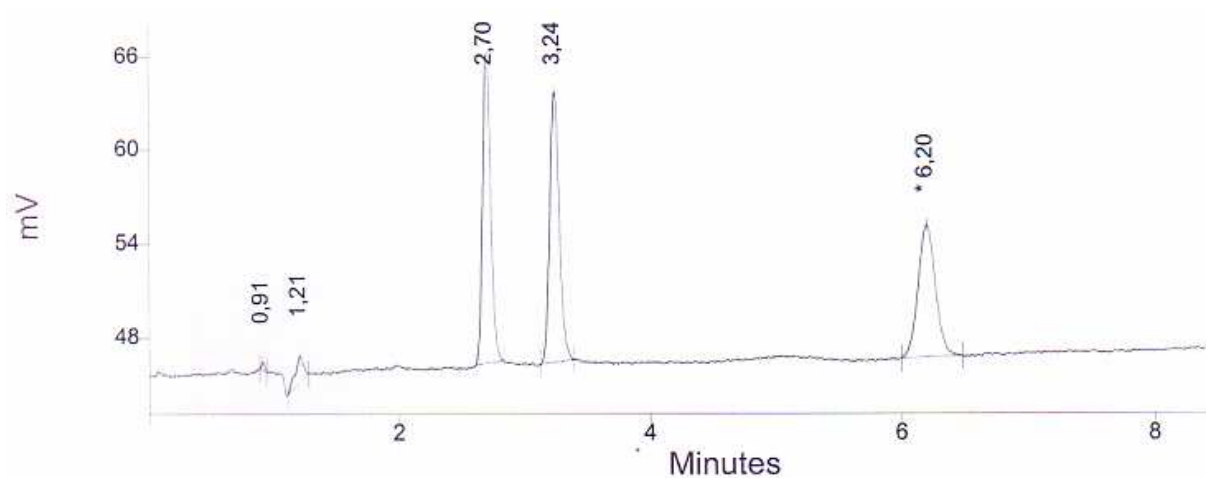


Figure 30: chromatogramme d'une solution d'étalonnage des dérivés du benzaldéhyde, formaldéhyde et acétaldéhyde à 1 ppm.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

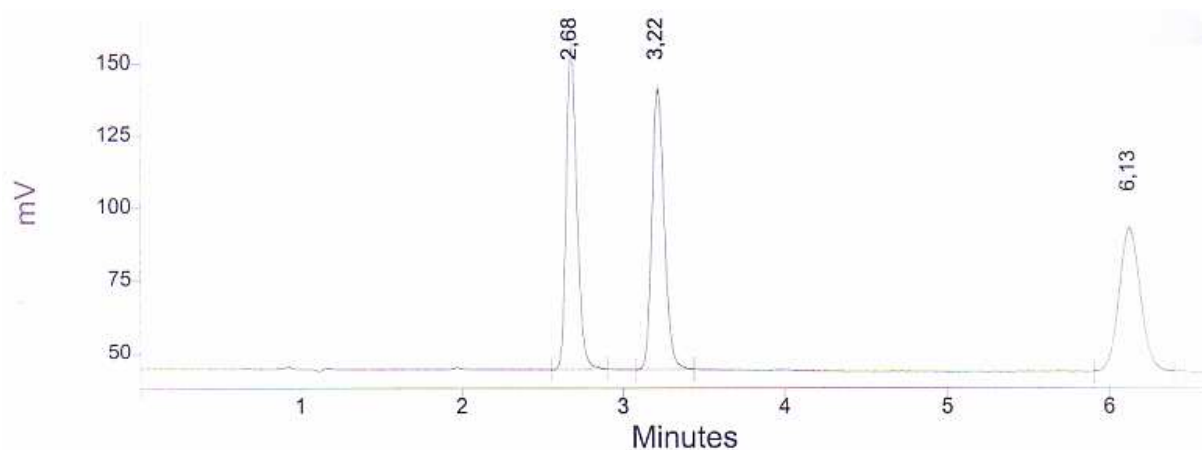


Figure 31: chromatogramme d'une solution d'étalonnage des dérivés du benzaldéhyde, formaldéhyde et acétaldéhyde à 6 ppm.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); solubilisé dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 7 : Encens n°1, vérification de la répétabilité.

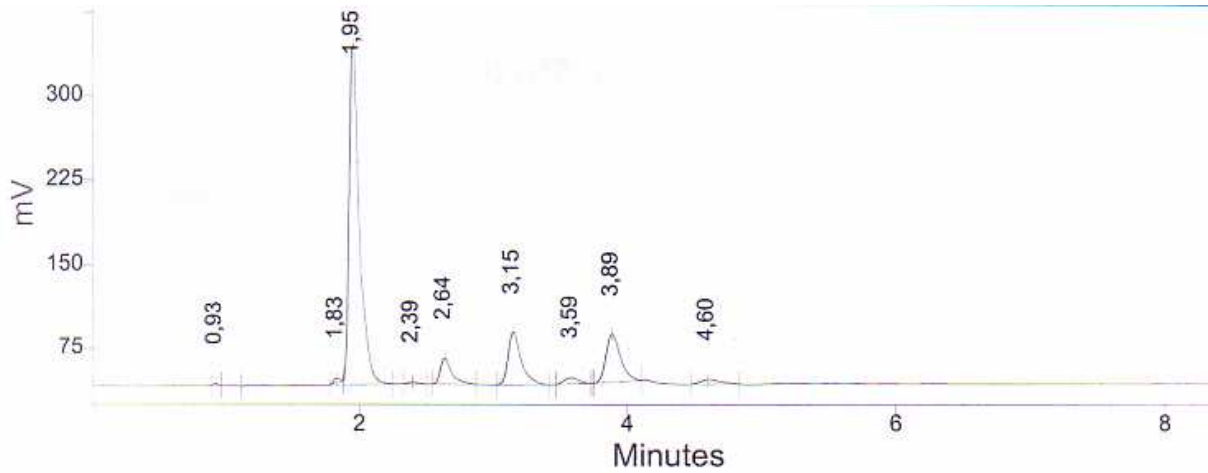


Figure 38: chromatogramme de l'encens n°1 dilué 80 fois, 1^{ère} injection.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

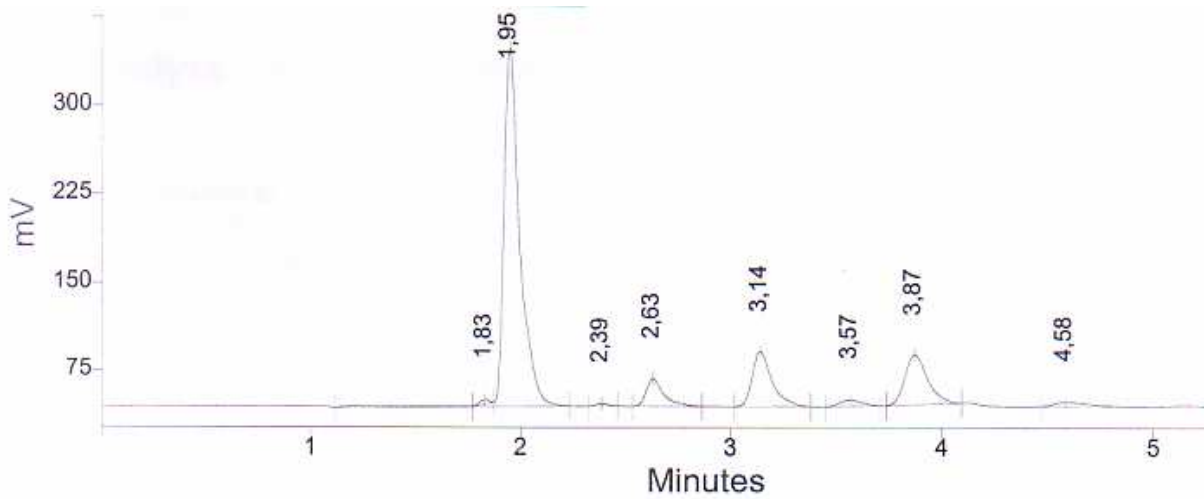


Figure 39: chromatogramme de l'encens n°1 dilué 80 fois, 2^{ème} injection.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

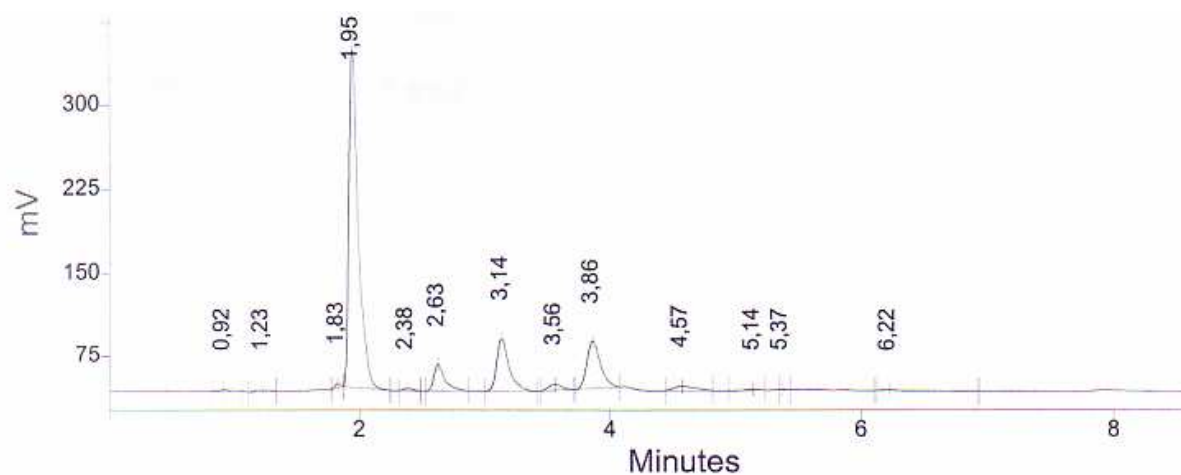


Figure 40: chromatogramme de l'encens n°1 dilué 80 fois, 3^{ème} injection.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 8 : Chromatogramme de l'encens n°2.

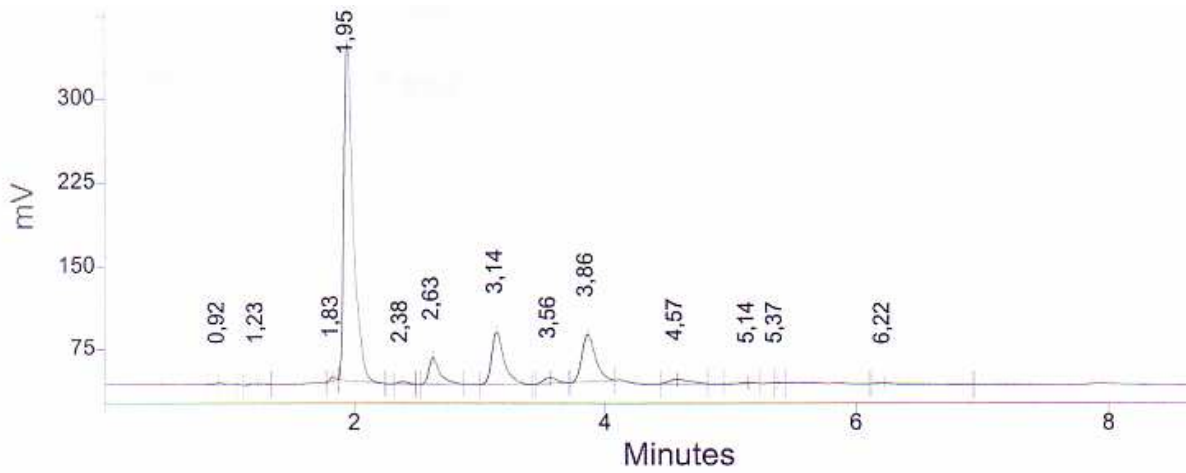


Figure 45: chromatogramme de l'encens n°2 dilué 80 fois.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 9 : Chromatogramme de l'encens n°3.

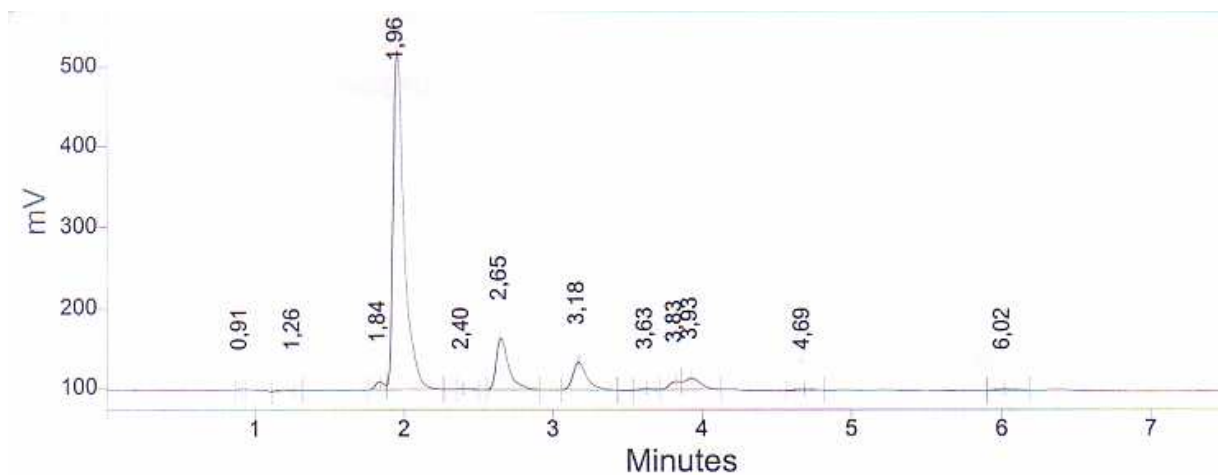


Figure 48: chromatogramme de l'encens n°3 dilué 80 fois.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 10 : Chromatogramme de l'encens n°4.

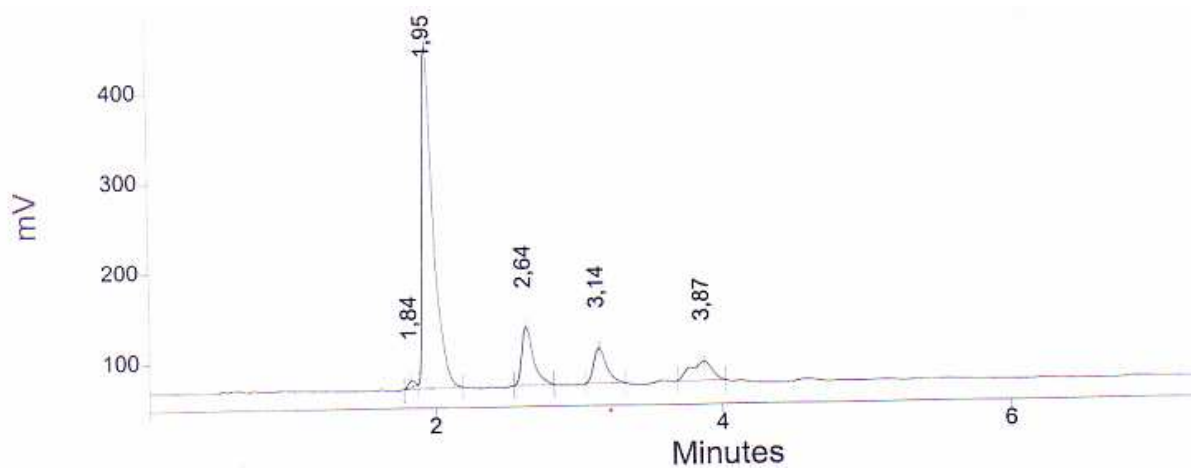


Figure 50: chromatogramme de l'encens n°4 dilué 80 fois.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 11 : Chromatogramme de l'encens n°5.

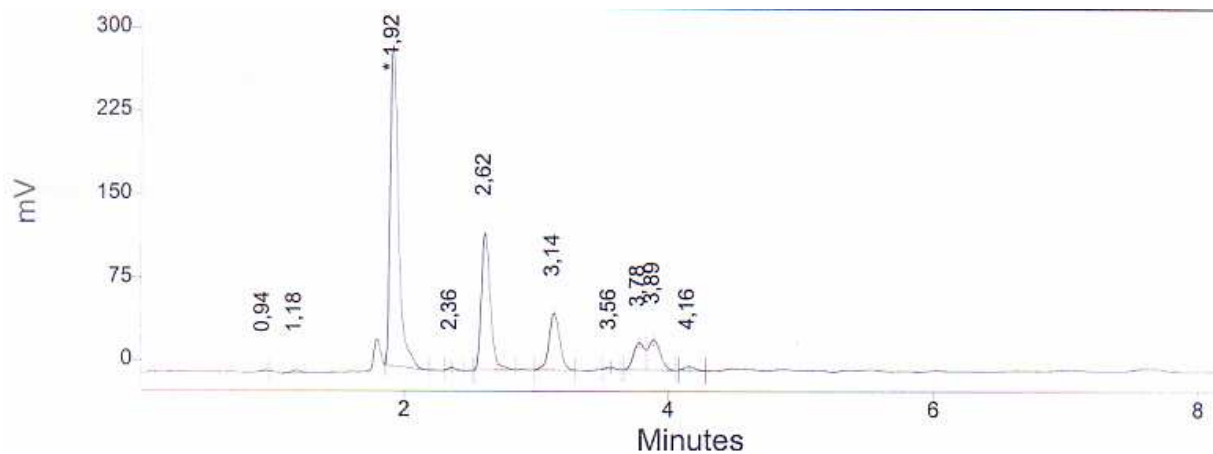


Figure 52: chromatogramme de l'encens n°5 dilué 80 fois.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 12 : Chromatogramme de l'encens n°6.

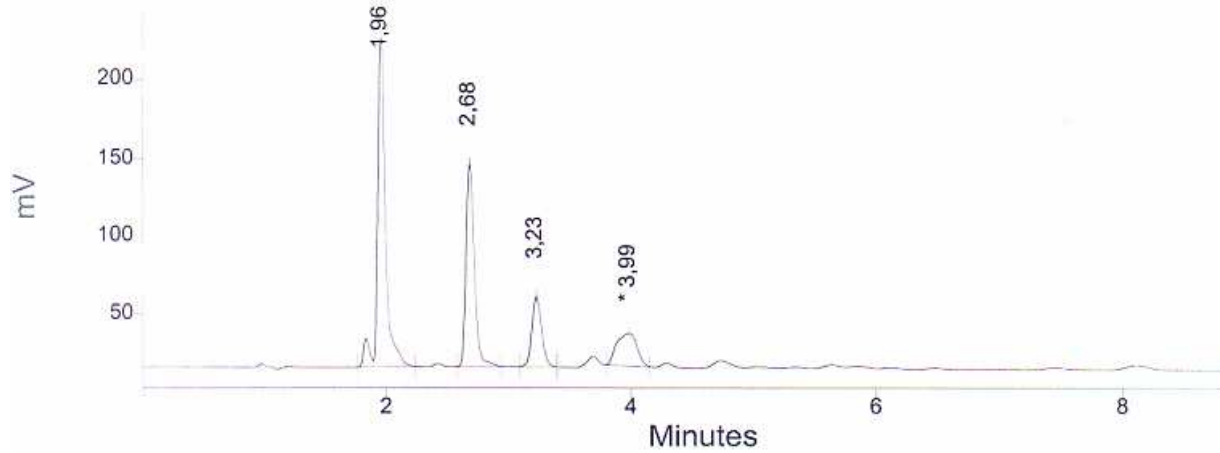


Figure 54: chromatogramme de l'encens n°6 dilué 80 fois.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).

Annexe 13 : Chromatogramme de l'encens n°7.

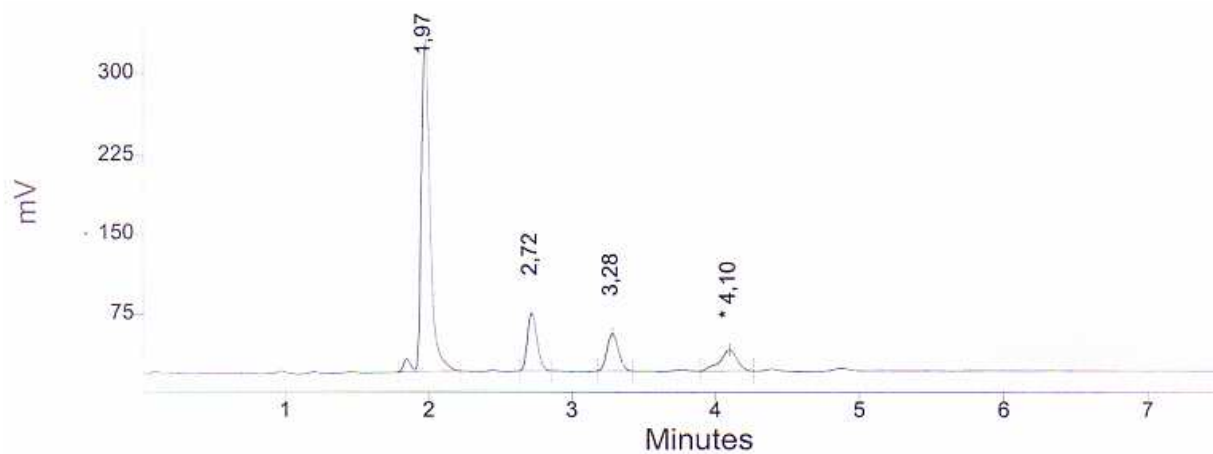


Figure 56 : chromatogramme de l'encens n°7 dilué 80 fois.

(360 nm ; 1 mL/min ; isocratique eau/acétonitrile (32:68/ v:v); dilué par 80 dans un mélange eau/acétonitrile (50:50/v:v)).