

Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 91 (2000)
Heft: 6

Artikel: Solid phase micro-extraction (SPME) à détection directe, une nouvelle dimension analytique
Autor: Luisier, Jean-Luc / Villettaz, Jean-Claude / Azodanlou, Ramin
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-981891>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 15.05.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Solid Phase Micro-Extraction (SPME) à détection directe, une nouvelle dimension analytique*

Jean-Luc Luisier, Jean-Claude Villettaz, Ramin Azodanlou, Ecole d'ingénieurs du Valais, Sion

Renato Amadò, Ecole polytechnique fédérale, Institut des sciences alimentaires, Zurich

Résumé

Avec l'introduction de nouvelles structures chimiques actives, l'analyse des résidus de pesticides, en particulier les résidus de pesticides polychlorés,

Introduction

Dans un article récent nous avons proposé une méthode pour la mesure globale des composés volatils (1). Cette méthode utilise la SPME (Solid Phase Micro-Extraction) pour adsorber et concentrer les substances volatiles. La SPME, développée par Pawliszyn (2), a été largement utilisée comme technique de concentration pour l'analyse des denrées alimentaires, pour l'analyse environnementale ou dans l'industrie chimique (3). Dans ces méthodes les substances volatiles, concentrées sur la couche adsorbante de la fibre de SPME, sont transférées directement dans l'injecteur du chromatographe où elles sont séparées et détectées. Dans la méthode proposée ici, la colonne chromatographique est remplacée par un capillaire inerte et toute séparation des substances est évitée. On obtient ainsi un seul pic, dont la surface sera proportionnelle à l'ensemble des substances volatiles adsorbées sur la fibre. Or cette teneur est dans bien des cas un paramètre important pour la qualité d'une denrée alimentaire ou d'un produit quelconque.

En analyse alimentaire, il est fréquent de mesurer un paramètre global pour suivre un processus: l'indice de réfraction (teneur en sucre, anciens indices pour les graisses), la constante diélectrique (composants polaires dans les graisses), la conductivité d'une eau potable, l'absorbance UV, le pH, la viscosité sont des mesures globales qui permettent de caractériser un produit, mais toutes ces mesures concernent une propriété d'un liquide ou d'un solide et caractérisent un goût, une texture; aucune de ces techniques n'étudie de propriétés olfactives. La possibilité

* Conférence donnée le 1^{er} septembre 2000 à Muttentz lors de la 112^e assemblée annuelle de la Société suisse de chimie alimentaire et environnementale

d'analyser rapidement les substances volatiles est le but des recherches sur le «nez électronique», dont les succès sont pour l'instant limités (4). La méthode que nous proposons ici va dans la même direction; elle permet de doser quantitativement la teneur en substances volatiles globales. A la différence du «nez électronique», on n'utilise en principe qu'un seul capteur, une fibre SPME. Par contre, s'il s'avère nécessaire d'effectuer des analyses plus poussées, le processus d'échantillonnage développé pour le dosage global que nous proposons, peut être directement appliqué à une analyse chromatographique.

Partie expérimentale

L'appareil de mesure consiste en un injecteur de chromatographie en phase gazeuse dédié à une colonne «wide bore» et un détecteur conventionnel pour chromatographie en phase gazeuse (fig. 1). L'injecteur est équipé d'un septum et d'un insert de verre de 2 mm. Un capillaire de 0,32 mm de diamètre et de 30 cm de longueur relie l'injecteur au détecteur. Le détecteur et l'injecteur peuvent être amenés indépendamment l'un de l'autre à la température désirée. Un flux de gaz inerte entraîne les substances volatiles désorbées vers le détecteur.

Les détecteurs utilisés pour les applications présentées ici sont un NPD (Nitrogen Phosphorus Detector, NPD 800, *Carlo Erba SpA., Milano, Italie*) et un FID (Flamme Ionization Detector, EL 980, *Carlo Erba*), les deux sont utilisés communément en chromatographie en phase gazeuse. Les contrôleurs de gaz pour l'hélium, l'air et l'hydrogène, sont des unités PCU/2 CH/BM UN (*Brechbühler AG, Schlieren Suisse*). Le NPD est utilisé à sa température optimale de 300°C avec les débits

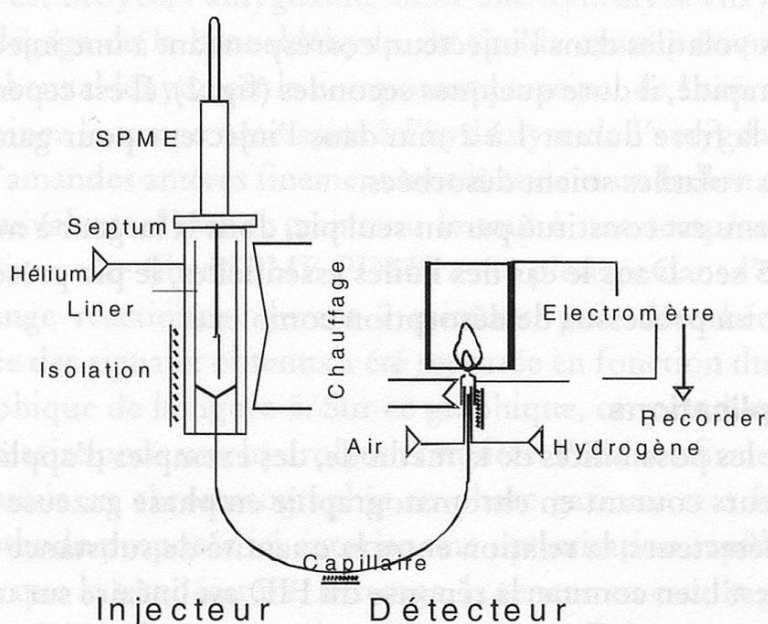


Figure 1 Appareil pour dosage par SPME à détection directe

suivants: hélium 4 ml/min; hydrogène 7 ml/min; air filtré sur piège supelpure HC 22446 (*Supelco, Bellafonte, USA*) 50 ml/min; hélium de make-up, 6 ml/min. Le courant de chauffage est de 2,8A et la tension de polarisation est 3,5V. Le FID est utilisé à 250°C avec les débits de gaz suivants: hélium 2 ml/min; hydrogène 25 ml/min; air filtré 275 ml/min.

Fibres d'extraction: Solid phase Microextraction (SPME): Polydiméthylsiloxane (PDMS) 7 µm No 57302, Carboxen/PDMS (Car/PDMS) No 57318 et PDMS/divinylbenzène (PDMS/DVB) No 57310U (*Supelco, Bellafonte, PA, USA*)

Pour le spectromètre de masse, nous avons utilisé un chromatographe en phase gazeuse HP5890 équipé d'un spectromètre de masse HP5971A (Hewlett Packard, Palo Alto, USA), donc la colonne est remplacée par un capillaire inerte. L'injecteur est utilisé en mode «splitless».

Le signal est interprété à l'aide du programme d'intégration Chromcard Version 1.19 (*Fison Instruments, Rodano, MI, It*).

Mode opératoire

Le mode opératoire est identique à celui appliqué pour les dosages par SPME. Il comprend les étapes suivantes:

- 1 Obtention d'un espace de tête reproductible. Une fiole contenant une quantité déterminée du produit à analyser permet l'utilisation d'un passeur d'échantillon et l'automatisation des analyses. Le temps d'équilibrage de l'espace de tête du récipient varie entre 10 et 60 min.
- 2 Adsorption sur fibre SPME des substances volatiles dégagées dans l'espace de tête. Cette opération prend entre 2 et 30 min selon les limites de détection à atteindre, la nature des substances volatiles et le type de phase stationnaire de la fibre.
- 3 Relargage des volatiles dans l'injecteur, correspondant à une injection en GC. Le relargage est rapide, il dure quelques secondes (fig. 2). Il est cependant nécessaire de maintenir la fibre durant 1 à 2 min dans l'injecteur pour garantir que toutes les substances volatiles soient désorbées.

Le signal obtenu est constitué par un seul pic, dont la largeur à mi-hauteur est de l'ordre de 10 à 25 sec. Dans le cas des huiles essentielles, le pic présente des épaulements, indiquant un processus de désorption complexe.

Exemples d'applications

Pour illustrer les possibilités de la méthode, des exemples d'applications utilisant différents détecteurs courant en chromatographie en phase gazeuse sont donnés ci-après. Pour ces détecteurs, la relation entre la quantité de substance sous le signal et la surface du pic est bien connue: la réponse du FID est linéaire sur une large gamme de concentrations et peu influencée par l'eau, la réponse du NPD n'est pas linéaire en fonction de la concentration, mais cette réponse permet la quantification de substances azotées ou phosphorées de façon très spécifique. Le spectromètre de masse

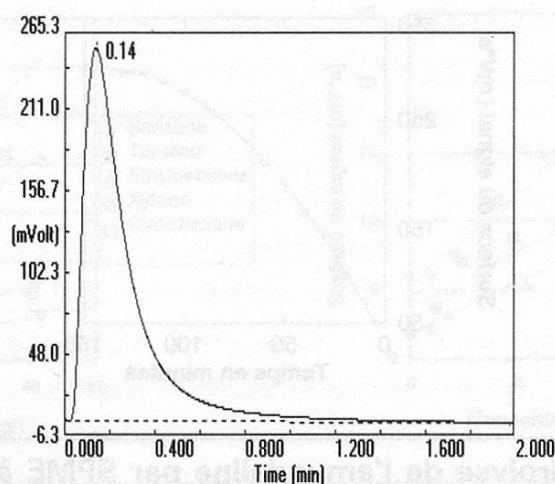


Figure 2 **Exemple de signal obtenu pour une solution aqueuse de toluène 100 µg/l (avec une détecteur FID)**

permettra non seulement un dosage quantitatif, mais également une détermination qualitative.

La reproductibilité des quantifications avec un passeur d'échantillons et des solutions standards (toluène, triméthylamine etc.) peut être considérée comme bonne, le coefficient de variation d'une série de mesure étant de l'ordre de 2%.

Suivi d'une réaction enzymatique

L'amygdaline est le glycoside cyanogénétique des amandes amères. Lorsque l'amande amère est broyée, l'amygdaline subit une hydrolyse enzymatique en présence d'eau et dégage de la benzaldéhyde, de l'acide cyanhydrique et un sucre, la gentiobiose. La benzaldéhyde est le composant principal de l'arôme du massepain.

Pour déterminer le temps nécessaire à l'hydrolyse de l'amygdaline, nous avons introduit 10 g d'amandes amères finement moulues dans un ballon de 250 ml, ajouté une quantité équivalente d'eau et maintenu le tout à une température de 40°C. A intervalles réguliers, une fibre SPME PDMS a été plongée dans l'espace de tête au dessus du mélange réactionnel durant 2 minutes, puis désorbée dans l'appareil décrit. La surface des signaux obtenus a été reportée en fonction du temps d'hydrolyse dans le graphique de la figure 3. Sur ce graphique, on peut lire qu'un temps de 130 min est nécessaire pour une hydrolyse complète. Pour confirmer ces résultats, la réaction a été suivie en chromatographie en phase gazeuse et a fourni les mêmes résultats. La méthode proposée ici autorise une optimisation rapide des conditions de réaction telle que la température, le temps, la teneur en eau, la granulométrie, le pH.

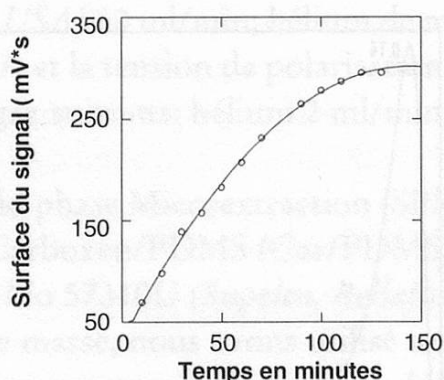


Figure 3 **Suivi de l'hydrolyse de l'amygdaline par SPME à détection directe sur détecteur FID**

Solvants et hydrocarbures dans l'eau

Le dosage des hydrocarbures illustre bien les avantages et limitations de la méthode proposée. Les méthodes classiques sont relativement longues, la méthode officielle exigeant une extraction au CCl_4 et une mesure par IR. La méthode développée (5) est rapide: pipetter un volume déterminé d'eau à analyser dans un fiole de 22 ml, laisser s'établir l'équilibre dans l'espace de tête de la fiole durant au moins 20 min, adsorber durant 2 min sur une fibre SPME PDMS/DVB et mesurer à l'aide de l'appareil décrit ci-dessus. Cette méthode permet d'analyser en routine 12 échantillons à l'heure. La figure 4 présente les courbes de calibrage d'une série de solvants organiques.

Cette méthode permet d'obtenir des limites de quantification de l'ordre des 10 à 20 $\mu\text{g/l}$ pour les BTEX (benzène, toluène, ethylbenzène et xylène), ceci après une extraction de 2 min. Une amélioration de ces limites de quantification est possible, mais elle exige une l'utilisation d'une fibre SPME différente, des temps d'adsorption plus longs et l'optimisation des conditions de travail. La figure 5 décrit le dosage des BTEX à l'aide d'une fibre Carbowax polydiméthylsiloxane (CAR-PDMS) et un temps d'adsorption de 30 min.

Cet exemple met en évidence les caractéristiques de la méthode proposée: le signal obtenu permet de quantifier les hydrocarbures dans l'eau, les limites de détection des différents hydrocarbures sont semblables, le mode opératoire est simple, mais il ne permet pas d'identifier les différents hydrocarbures. S'il est nécessaire d'identifier les hydrocarbures donnant lieu à un signal, la technique d'adsorption utilisée peut être directement appliquée à une analyse chromatographique classique, qui permet l'identification et offre une limite de quantification inférieure à celle obtenue par notre technique.

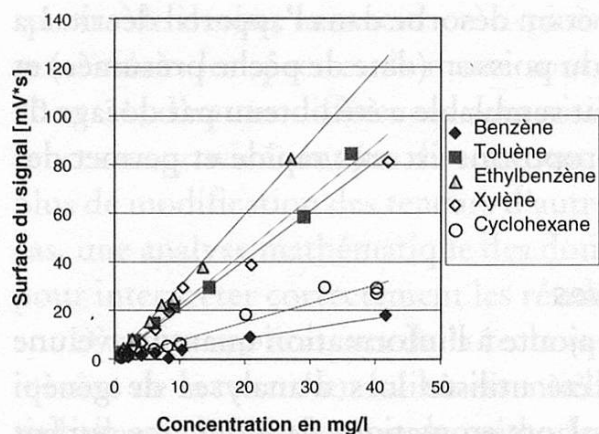


Figure 4 **Dosage d'hydrocarbures dans l'eau**

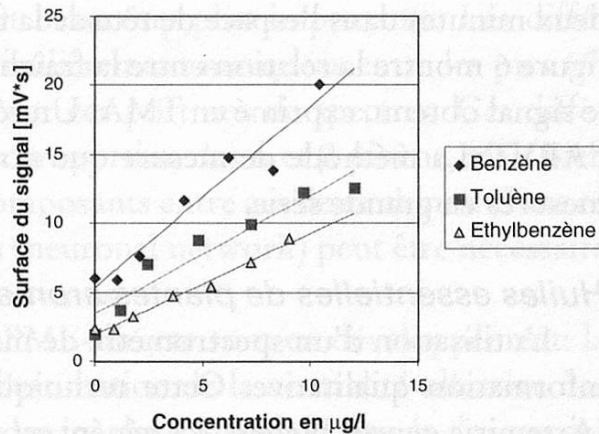


Figure 5 **Dosage de traces d'hydrocarbures dans l'eau**

Fraîcheur du poisson

Dès après la pêche, le poisson commence à dégager de la triméthylamine (TMA) et de la diméthylamine (DMA) (6). La teneur en amines est un bon indicateur de la fraîcheur du poisson (7) et ce dosage est codifié dans des méthodes officielles comme dosage de l'azote basique volatile total (ABVT). Pour suivre ce phénomène, nous avons choisi un détecteur sélectif des amines organiques et insensible à l'eau, le NPD. Nous avons ainsi suivi l'évolution d'échantillons de saumon conservés à 2°C sur de la glace durant 20 jours (8).

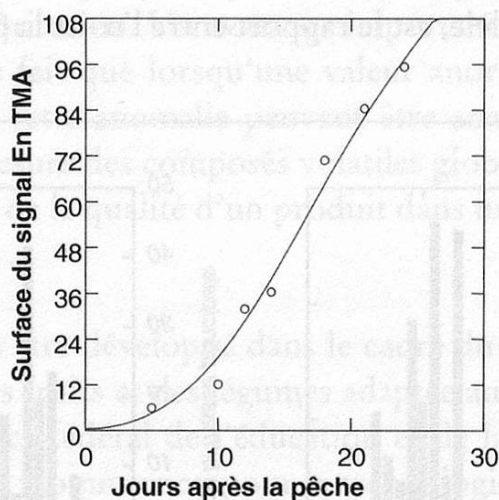


Figure 6 **Evolution d'un filet de saumon suivi par SPME à détection directe et un détecteur NPD**

Pour le dosage, 1 g de filet de saumon est placé dans un fiole de 22 ml. On ajoute 2 ml de NaOH 40% et on maintient la fiole bien fermée à 70°C durant 15 min.

Lorsque l'échantillon est refroidi, on plonge une fibre SPME (PDMS-DVB) durant deux minutes dans l'espace de tête de la fiole et on désorbe dans l'appareil décrit. La figure 6 montre la relation entre la fraîcheur du poisson (date de pêche présumée) et le signal obtenu, exprimé en TMA. Un résultat semblable a été obtenu par dosage de l'ABVT. La méthode de mesure que nous proposons est très rapide et permet des mesures en grande série.

Huiles essentielles de plantes aromatiques

L'utilisation d'un spectromètre de masse ajoute à l'information quantitative une information qualitative. Cette technique a été utilisée lors d'analyses de génépi (*Artemisia genépi* Weber). Le génépi est une plante aromatique de montagne qui fait l'objet d'une sélection clonale (9) pour en augmenter la teneur en huile essentielle, tout en maintenant faible la teneur en thuyone. En parallèle au dosage des huiles essentielles, nous avons étudié la possibilité de déterminer le chémotype des génépis par SPME à détection directe et un détecteur MS.

Le mode opératoire est le suivant: 100 mg de génépi finement broyé et homogénéisé ont été pesés dans une fiole de 22 ml. Après ajout de 2 ml d'eau, la solution a été maintenue à 90°C durant 1 heure. L'espace de tête a été extrait avec une fibre SPME-PDMS durant 2 min et désorbé dans le spectromètre de masse d'un chromatographe en phase gazeuse muni d'un capillaire sans phase stationnaire de 30 cm. Le signal obtenu consiste en un seul pic, proportionnel à la teneur en huiles essentielles. La technique proposée permet une concentration des substances volatiles suffisante pour obtenir un spectrogramme de masse interprétable. La figure 7 reproduit une partie des spectrogrammes de masse obtenus avec deux clones. La différence principale entre ces deux clones, qui ressort d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse effectuée en parallèle, est le rapport entre l' α - et la β -pinène. Dans le spectre

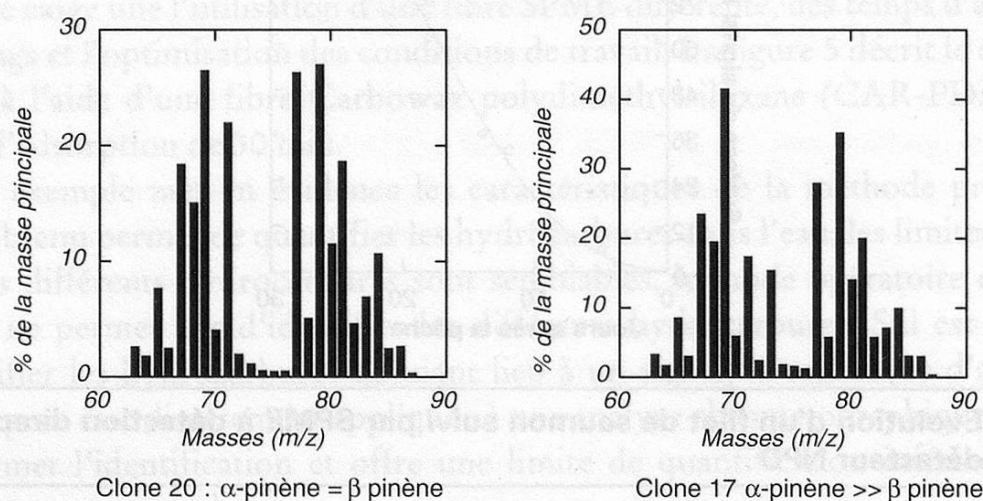


Figure 7 Spectrogramme de masse de deux génépis obtenu par SPME-MS direct

de gauche, les deux composés sont en concentrations semblables, tandis que dans le spectre de droite, la teneur en α -pinène est beaucoup plus importante. Les différences dans les spectres de masse sont particulièrement marquées entre les pics 69, 70 et 71; d'autres différences sont visibles sur ces portions de spectres. Ces différences ne proviennent pas directement de la proportion des α et β pinène, mais bien plus de modification des teneurs d'autres composants entre ces deux clones. Dans ce cas, une analyse mathématique des données (neural network) peut être nécessaire pour interpréter correctement les résultats obtenus.

D'autres applications de la technique SPME-directe sont en développement: la mesure de la teneur en huiles essentielles, l'estimation de la neutralité olfactive des emballages, l'optimisation de méthodes de dosage des espaces de tête, le dosage des solvants dans les produits pharmaceutiques etc.

Conclusions

La technique d'analyse proposée permet une analyse quantitative rapide des teneurs en substances volatiles globales dégagées par un processus ou par un produit quelconque. Cette technique se distingue des autres méthodes d'analyses globales qui mesurent la plupart du temps les propriétés d'une solution. Elle se différencie nettement du «nez électronique» par le fait qu'il s'agit d'une simple quantification des substances volatiles et qu'il est possible, au besoin, de doser par des méthodes chromatographiques classiques les composés chimiques responsables du signal obtenu.

Cette technique trouve ses applications principales dans le suivi d'un processus aussi bien dans l'industrie agro-alimentaire, dans l'industrie chimique, que dans les sciences de l'environnement. Par sa simplicité de mise en œuvre, elle se prête bien à des tâches de suivi de fabrication. Un avantage important par rapport au «nez électronique» réside dans le fait que lorsqu'une valeur anormale est décelée, les substances responsables de cette anomalie peuvent être analysées en laboratoire. En outre, très souvent, la mesure des composés volatiles globaux telle que nous proposons permet une mesure de la qualité d'un produit dans un processus.

Remerciements

Cette recherche a pu être développée dans le cadre du projet COST-915 «Amélioration de la qualité des fruits et des légumes adaptée aux besoins des consommateurs» financé par l'Office fédéral de l'éducation et de la science, puis sur la base d'un projet financé par la Commission pour la technologie et l'innovation (CTI).

Résumé

Une nouvelle technique analytique permettant de doser rapidement les substances volatiles est proposée. Selon cette technique, les substances volatiles sont adsorbées sur une fibre SPME et désorbées directement dans un détecteur de chromatographie en phase gazeuse, sans séparation. Différentes applications utilisant un

détecteur à ionisation de flamme, un détecteur azote phosphore et un détecteur à spectrométrie de masse sont présentées: suivi de l'hydrolyse de l'amygdaline, hydrocarbures dans l'eau, odeur du poisson et typisation de l'huile essentielle de génépi.

Zusammenfassung

Eine neue Analysetechnik für die Bestimmung flüchtiger Stoffe wird vorgeschlagen. Bei dieser Technik werden die flüchtigen Substanzen auf eine SPME-Faser adsorbiert und in einem gaschromatographischen Detektor, ohne vorherige Trennung der einzelnen Substanzen, global bestimmt. Anwendungen mit verschiedenen Detektoren werden vorgeschlagen. Es sind: die Optimierung der Hydrolyse der Amygdalin und die Bestimmung von Kohlenwasserstoffen in Wasser mit FID, die Entwicklung von Aminen aus einem Fischstück mit NPD und die Unterscheidung essentieller Öle der *Artemisia Genepi* mit einem massenspektrometrischen Detektor.

Summary "Measurement by SPME without Chromatographic Separation, a new Analytical Dimension"

A new analytical technique allowing for a rapid determination of volatile compounds is presented. This technique makes use of the adsorption of the volatiles with SPME and a direct injection in a gaschromatographic detector without chromatographic separation. Applications are presented using different detectors: a flame ionization detector for measuring the hydrolysis of amygdalin and hydrocarbons in water, a nitrogen-phosphorous detector for estimating the freshness of fish and a mass-spectrometric detector for the differentiation of the essential oils of *artemisia genepi*.

Key words

Benzaldehyde, VOC, Trimethylamine, Fish, SPME, Sensors

Bibliographie

- 1 Azodanlou, R., Darbellay, C., Luisier, J.-L., Villettaz, J.-C. and Amadò, R.: A new concept for the measurement of total volatiles of foods. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. A* 208, 254–258 (1999).
- 2 Arthur, C.L., Potter, D.W., Buchholz, K.D., Motlagh, S. and Pawliszyn, J.: Solid-phase microextraction for the direct analysis of water: Theory and practice. *LC/GC* 10, 656–661 (1992).
- 3 Pawliszyn, J.: Application of solid phase microextraction, Royal Society of Chemistry, Turpin Distribution Services LTD, Blackhorse Road, Letchworth, Hertfordshire, SG6 1HN, UK.
- 4 Schaller, E., Bosset, J.-O. and Escher, F.: Electronic nose and their application to food, *Lebensmittelwissenschaft- und Technologie* 31, 305–316 (1998).
- 5 Béné, A., Luisier, J.-L. and Fornage, A.: Monitoring organic volatile compound in water and air at low level by the SPME-direct method (en préparation).

- 6 Oehlenschläger, J. and Soerensen, N.-K.: Criteria of seafish freshness and qualities aspects in methods to determine the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness", p. 30. Paris, France 1997.
- 7 Fiddler, W., Doerr, R. and dan Gates, R.A.: Gas chromatographic method for the determination of dimethylamine, trimethylamine and trimethylamine oxide in fish-meat Frankfurter. J. Assoc. Off. Anal. Chem 74, 400–403 (1991).
- 8 Béné, A., Hayman, A., Reynard, E., Luisier, J.-L. and Villettaz, J.-C.: A new method for the rapid determination of volatile substances: the SPME-direct method Part II: Determination of the freshness of fish. Sensors and Actuators (to be published).
- 9 Rey, Ch. et Slacanin, I.: Domestication du génépi blanc. Revue Suisse. Vitic. Arboric. Hortic. Vol. 29, I–VIII (1997).

Adresse du correspondant: Dr Jean-Luc Luisier, Ecole d'ingénieurs du Valais,
Route du Rawyl 47, 1950 Sion 2, E-mail: jluc.luisier@eiv.ch