

DETERMINATION QUANTITATIVE DE 54 ALLERGENES DANS LES PARFUMS NATURELS PAR GCxGC-QMS/FID

La chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse et à la détection à ionisation de flamme : une approche fiable pour les laboratoires de routine

Introduction

La réglementation (CE) N°1223/2009 régit l'obligation d'informer les consommateurs de la présence de 24 substances parfumantes identifiées comme allergènes potentiels dans les produits cosmétiques. En 2011, le comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (SCCS/1459/11) a étendu la liste des allergènes potentiels à 57 substances parfumantes, dont certaines formes ou mélanges isomères.

Dans ce contexte et dans la perspective de la réglementation à venir sur cette liste élargie, l'élaboration de méthodes de quantification précises et efficaces est obligatoire.

En novembre 2016, le groupe de travail analytique de la "International Fragrance Association" (IFRA) a publié un ensemble de lignes directrices illustrant la procédure à suivre pour "... identifier et quantifier les composés volatils soupçonnés d'être allergènes dans les compositions parfumantes et matières premières utilisées dans les cosmétiques... les substances couvertes sont celles figurant dans le document de travail SCCS et dans la réglementation proposée par la Commission européenne".

https://www.google.it/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0ahUKewjugKvq2-vZAhWkj8AKHbeyC0cQFgg0MAI&url=http%3A%2F%2Fwww.ifraorg.org%2Fview_document.aspx%3FdocId%3D23754&usg=QvVaw1H1mJ0tlgHWx_Tfgl-0ThU

La présente note d'application illustre une méthode basée sur la GCxGC-QMS/FID visant à quantifier avec précision 54 allergènes dans les matières premières de parfum dans une gamme de concentrations de quatre ordres de grandeur, c'est-à-dire de 2 à 10 000 mg/kg.



Fig. 1 – GCxGC-MSD/FID, Agilent Technologies

La méthode analytique est basée sur la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (GC-MS) ; elle est capable de détecter et de quantifier environ 60 substances parfumantes et isomères majeurs à une concentration supérieure à 0,002 % (20 mg/kg) dans les matières premières parfumantes prêtes à injecter. Pour répondre aux exigences des laboratoires de contrôle en termes de rapidité et de fiabilité des résultats, la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée avec une spectrométrie de masse quadripolaire, robuste et peu coûteuse (GCxGC-QMS), représentent une valeur de choix stratégique.

DETERMINATION QUANTITATIVE DE 54 ALLERGENES DANS LES PARFUMS NATURELS PAR GCxGC-QMS/FID

Dans la présente étude, il a été choisi de travailler avec un modulateur thermique (KT 2004 Zoex Corporation, Houston, TX) avec de l'azote liquide comme fluide cryogénique ; les systèmes basés sur la même dynamique de modulation mais évitant les fluides cryogéniques sont équipés d'unités de refroidissement Zoex ZX2 . Ces solutions sont entièrement compatibles avec la volatilité des allergènes et permettent un piégeage efficace.

La technique GCxGC avec modulation cryogénique

Le cœur d'un système GCxGC est le modulateur ; le dispositif accumule, recentre et libère rapidement les fractions éluant de la première colonne (1D) dans la deuxième colonne (2D). Ces opérations sont exécutées dans un laps de temps fixe, appelé période de modulation (PM), et répétées pendant toute la durée de l'analyse chromatographique.

La période de modulation doit être suffisamment courte pour préserver la séparation 1D d'origine tandis que la séparation 2D doit être suffisamment rapide pour être terminée avant l'injection de la fraction suivante d'effluent 1D.

Une sélection appropriée des dimensions des colonnes, de la combinaison de phases stationnaires, de la période de modulation permet d'exploiter pleinement les potentiels du système, d'optimiser la capacité de pic et d'obtenir un transfert de masse fiable (précision dans les déterminations quantitatives) ainsi qu'une grande reproductibilité de distribution des pics 2D sur le plan chromatographique.

Un schéma de système GCxGC est illustré par la figure 3.

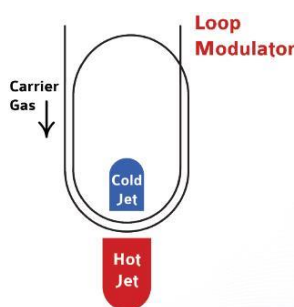
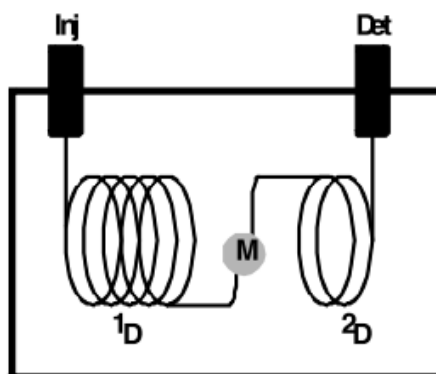


Fig. 2 – Modulateur thermique - Zoex



Inj : Injecteur
Det : Détecteur
M : Modulateur
¹*D* : Première colonne
²*D* : Deuxième colonne

Fig. 3 – Schéma de principe d'un système GC bidimensionnel

Détection parallèle MS/FID

La "troisième" dimension du système est représentée par la détection MS ; la spectrométrie de masse est indispensable pour les formulations complexes de parfums, donnant lieu à plusieurs coélutions. Elle permet également de répondre aux exigences réglementaires d'identification des espèces allergènes.

La combinaison de la GCxGC et du QMS à balayage rapide apporte de grands avantages en termes de robustesse et de rentabilité pour les laboratoires de contrôle qualité.

La plage de quantification sur quatre ordres de grandeur (2 - 10000 mg/kg) est obtenue par détection FID parallèle.

DETERMINATION QUANTITATIVE DE 54 ALLERGENES DANS LES PARFUMS NATURELS PAR GCxGC-QMS/FID

La liste des allergènes quantifiés est présentée dans le tableau ci-dessous avec les ions cibles et les ions qualifiants utilisés à des fins de confirmation.

| Analyte - Chemical name | CAS # number | Purity (FID) | Ti | Q1 | Q2 |
|--|--------------|--------------|-----|-----|-----|
| Amylcinnamic alcohol alpha | 101-85-9 | >99% | 133 | 91 | 204 |
| Anethole trans | 4180-23-8 | >99% | 148 | 147 | 117 |
| Anise alcohol | 105-13-5 | >99% | 138 | 109 | 121 |
| Benzyl alcohol | 100-51-6 | 100% | 79 | 108 | 107 |
| Caryophyllene beta | 87-44-5 | 99% | 91 | 133 | 204 |
| Cinnamyl alcohol | 104-54-1 | 98% | 92 | 134 | 115 |
| Citronellol | 106-22-9 | >99% | 69 | 41 | 156 |
| Ebanol® E | 1067999-31-8 | 45% | 149 | 83 | 93 |
| Ebanol® Z | 1237530-53-8 | 45% | 149 | 69 | 55 |
| Eugenol | 97-53-0 | 100% | 164 | 149 | 131 |
| Farnesol (E, E) | 106-28-5 | 99% | 69 | 81 | 93 |
| Geraniol | 106-24-1 | 99% | 69 | 138 | 123 |
| Isoeugenol E | 5932-68-3 | >99% | 164 | 149 | 103 |
| Isoeugenol Z ^e | 5912-86-7 | <1% | 164 | 149 | 103 |
| Limonene | 138-86-3 | >99% | 68 | 67 | 136 |
| Linalool | 78-70-6 | >99% | 71 | 93 | 121 |
| Menthol | 89-78-1 | >99% | 81 | 71 | 95 |
| Pinene alpha | 80-56-8 | >99% | 93 | 91 | 136 |
| Pinene beta | 127-91-3 | 99% | 93 | 79 | 69 |
| Santalol alpha | 115-71-9 | 52% | 93 | 202 | 107 |
| Santalol beta | 77-42-9 | 23% | 94 | 122 | 79 |
| Sclareol | 515-03-7 | 99% | 69 | 191 | 177 |
| Terpinene alpha | 99-86-5 | 90% | 121 | 93 | 136 |
| Terpineol alpha | 98-55-5 | 92% | 136 | 121 | 93 |
| Trimethylbenzene propanol (Majantol®) | 103694-68-4 | >9% | 106 | 178 | 91 |
| Propylidene phthalide-3 (E) | 56014-72-3 | 95% | 159 | 174 | 104 |
| Propylidene phthalide-3 (Z) ^e | 94704-89-9 | 4% | 159 | 174 | 104 |
| Acetylcedrene (Vertofix®) | 32388-55-9 | 73% | 161 | 147 | 119 |
| Isoeugenyl acetate | 93-29-8 | >99% | 164 | 149 | 206 |
| Amylcinnamaldehyde alpha (Fiosal®) (E) | 122-40-7 | 93% | 202 | 129 | 115 |
| Amyl salicylate | 2050-08-0 | 100% | 120 | 138 | 208 |

DETERMINATION QUANTITATIVE DE 54 ALLERGENES DANS LES PARFUMS NATURELS PAR GCxGC-QMS/FID

La liste des allergènes quantifiés est présentée dans le tableau ci-dessous avec les ions cibles et les ions qualifiants utilisés à des fins de confirmation.

| Analyte - Chemical name | CAS # number | Purity (FID) | Ti | Q1 | Q2 |
|--|---------------------------------|--------------|-----|-----|-----|
| Benzaldehyde | 100-52-7 | 100% | 105 | 106 | 77 |
| Benzyl benzoate | 120-51-4 | >99% | 105 | 212 | 91 |
| Benzyl cinnamate | 103-41-3 | 99% ° | 131 | 192 | 91 |
| Benzyl salicylate | 118-58-1 | 100% | 91 | 228 | 65 |
| Butylphenyl methylpropional (Lilial) | 80-54-6 | 98% | 189 | 204 | 147 |
| Camphor | 76-22-2 / 464-49-3 | 99% ° | 95 | 152 | 108 |
| Carvone | 99-49-0 / 6485-40-1 / 2244-16-8 | >99% | 82 | 150 | 93 |
| Cinnamaldehyde | 122-40-7 | 96% | 131 | 132 | 103 |
| Neral = Citral (Z) | 106-26-3 | 49% | 69 | 41 | 134 |
| Geranial = Citral E | 5392-40-5 | 50% | 69 | 152 | 84 |
| Coumarin | 91-64-5 | 100% | 146 | 118 | 89 |
| Damascenone beta (rose ketone-4) | 23696-85-7 | >99% | 177 | 192 | 107 |
| Damascone alpha | 024720-09-0 | 97% | 192 | 123 | 69 |
| Damascone beta E | 23726-91-2 | 96% | 69 | 121 | 190 |
| Damascone delta (rose-ketone-3) | 57378-68-4 | 94% | 192 | 123 | 69 |
| Dimethylbenzylcarbinyl acetate (DMBCA acetate) | 151-05-3 | >99% | 132 | 117 | 91 |
| Eugenyl acetate | 93-28-7 | 98% | 164 | 206 | 149 |
| Hexamethylindanopyran (Galaxolide® 1) ^d | 1222-05-5 | 44% | 213 | 228 | 128 |
| Hexamethylindanopyran (Galaxolide® 2) ^d | 1222-05-6 | 44% | 213 | 228 | 128 |
| Geranyl acetate | 105-87-3 | >99% | 69 | 136 | 121 |
| Hexadecanolactone / Dihydroambrettolide | 109-29-5 | 99% | 55 | 236 | 41 |
| Hexylcinnamaldehyde alpha (Jasmonal®) | 101-86-0 | >99% | 216 | 129 | 117 |
| Hydroxycitronellal | 107-75-5 | 96% | 59 | 71 | 95 |
| Lyril (minor) ° | 51414-25-6 | 26% | 136 | 93 | 59 |
| Lyril (major) | 31906-04-4 | 73% | 136 | 93 | 59 |
| Isomethylionone alpha | 127-51-5 | 88% | 135 | 107 | 150 |
| Linalyl acetate | 115-95-7 | 98% | 93 | 136 | 121 |
| Methyl salicylate | 119-36-8 | 100% | 120 | 92 | 152 |
| Folione | 000111-12-6 | >99% | 95 | 123 | 79 |
| Salicylaldehyde | 90-02-8 | 100% | 122 | 121 | 65 |
| Terpinolene | 586-62-9 | 95% | 93 | 121 | 136 |
| ISO E® alpha | 68155-66-8 | 63% | 191 | 119 | 43 |
| ISO E® beta ° | 54464-57-2 | 31% | 191 | 119 | 43 |
| ISO E® gamma ° | 68155-67-9 | 5% | 191 | 119 | 43 |
| Vanillin | 121-33-5 | 100% | 151 | 81 | 152 |
| 1,4-dibromobenzene (ISTD1) | 106-37-6 | 97% | 236 | 238 | 234 |
| 4,4'-dibromobiphenyl (ISTD2) | 92-86-4 | 97% | 310 | 152 | 76 |

DETERMINATION QUANTITATIVE DE 54 ALLERGENES DANS LES PARFUMS NATURELS PAR GCxGC-QMS/FID

Le chromatogramme 2D du mélange étalon d'allergènes à 10 mg/L acquis par QMS est présenté en figure 4. Les cercles noirs indiquent les pics des étalons internes tandis que les cercles verts correspondent aux allergènes.

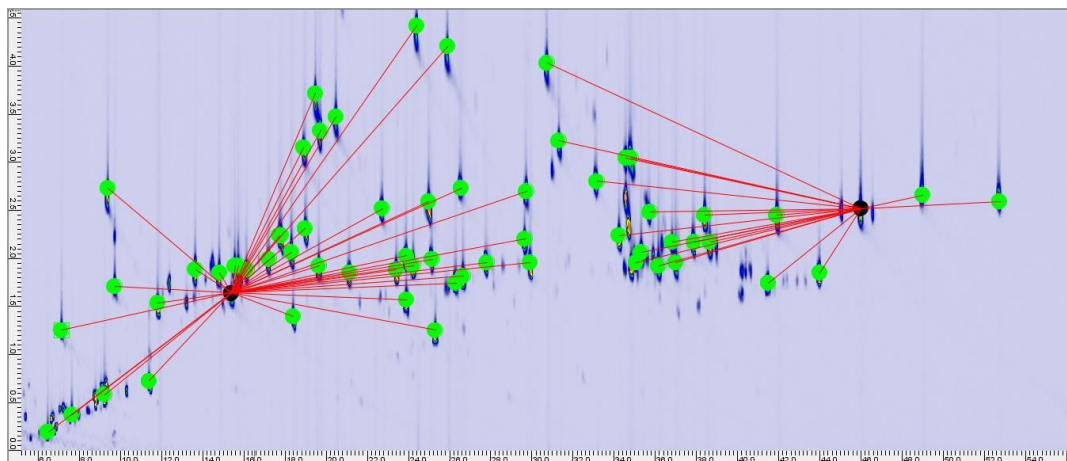


Fig. 4

Les points forts de la méthodologie comprennent une bonne répétabilité et une précision intermédiaire (écart-type relatif – RSD) sur les descripteurs quantitatifs des pics 2D (Volumes de pics normalisés) et une bonne précision [réf. Belhassen et al. Flavour Fragr J.2018;33:63-74].

La figure 5 montre le RSD en % sur les volumes de pics 2D provenant de la détection FID à 1 et 25 mg/L. Les critères d'acceptabilité ont été fixés en accord avec la décision 657/2002 de la Commission.

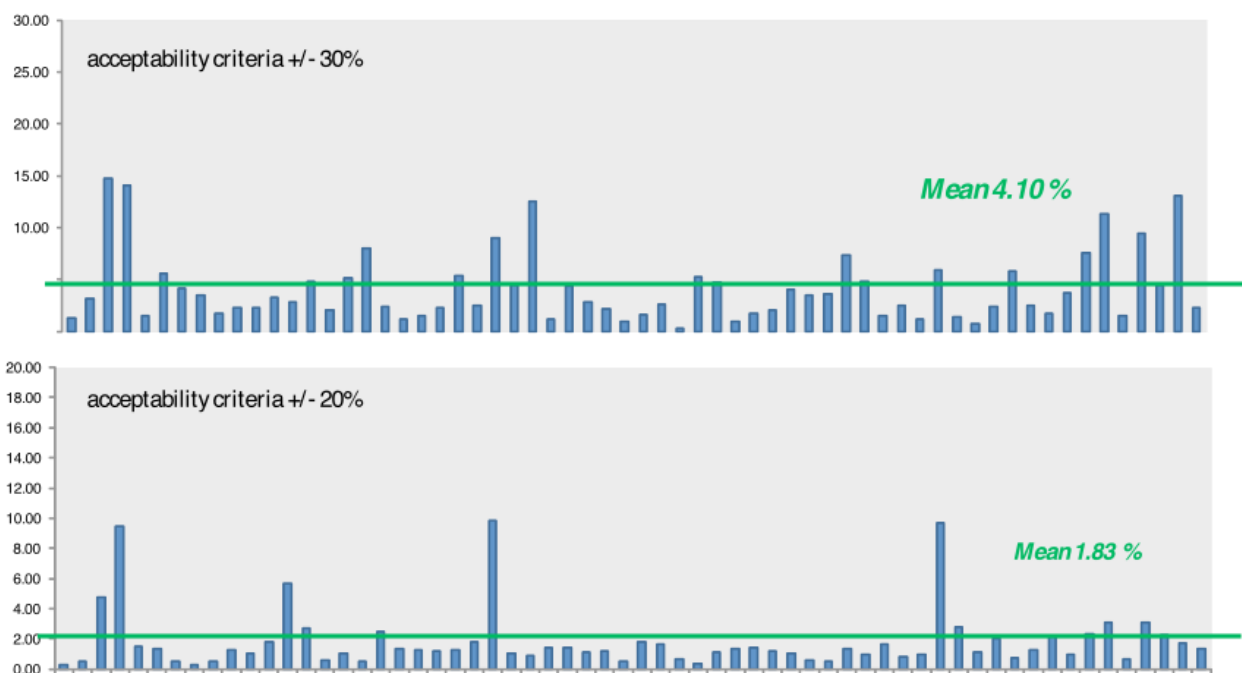


Fig. 5

DETERMINATION QUANTITATIVE DE 54 ALLERGENES DANS LES PARFUMS NATURELS PAR GCxGC-QMS/FID

Les matrices complexes de parfums compliquent l'identification et la quantification des analytes. Les problèmes de coélution peuvent être facilement surmontés en exploitant pleinement toutes les dimensions informatives du système, comme l'illustre la Figure 6 où certains analytes (phtalide de propylidène, lyrals, alcool cinnamique, alcool amylique et alpha-Z-santalol) sont masqués par des composés majeurs du parfum. Dans ces cas, les outils logiciels de GC Image permettent de dissocier et d'isoler la réponse des analytes à partir de leurs réponses ioniques spécifiques.

Remerciements :

Chiara Emilia Cordero et Carlo Bicchi au Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Université de Turin ont contribué au développement et à la validation de la Note d'application.

Les travaux ont été réalisés en collaboration avec Firmenich SA (Genève) et font l'objet d'une publication : Belhassen et al Flavour Fragr J. 2018;33:63-74

Pour plus de détails sur les expériences et les réimpressions de publications, veuillez contacter directement l'auteur correspondant: chiara.cordero@unito.it

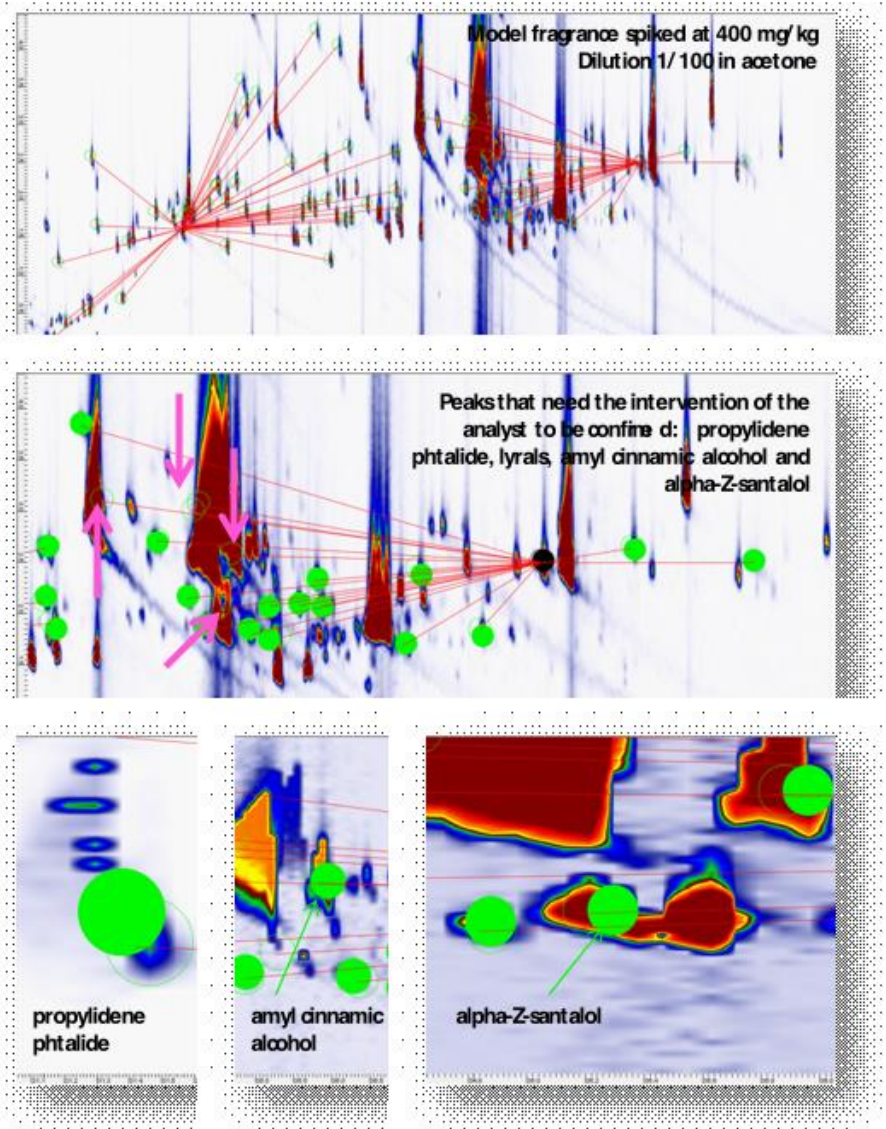


Fig. 6