U N I V E R S I T E D E L I M O G E S

F A C U L T E D E P H A R M A C I E

Année 1991 THESE N°334

LA SPECTROSCOPIE PROCHE INFRA ROUGE DANS L'INDUSTRIE COSMETIQUE

APPLICATIONS A L'ANALYSE DES MATIERES PREMIERES

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le: 25 septembre 1991

PAR

Stéphanie **NADAL**

Née le 25 juillet 1965 à Villefranche de Rouergue.

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur Bernard **PENICAUT** Président.

Monsieur le Professeur Jean-Albert **NICOLAS** Juge.

Madame Dominique **ANTZENBERGER**, Pharmacien Juge.

ERRATA

- Page 14, ligne 8 : Lire "effet calorique".
- Page 14, ligne 26 : Lire "prismes de silice".
- Page 92, ligne 14 : Lire "3 lots".
- Page 92, ligne 16 : Lire "7 lots".

U N I V E R S I T E D E L I M O G E S

F A C U L T E D E P H A R M A C I E

- DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur **RABY**

- ASSESSEURS : Monsieur le Professeur **GHESTEM** (1er Assesseur)
  Monsieur **DREYFUSS**, Maître de Conférences (2e Assesseur)

PERSONNEL ENSEIGNANT

. PROFESSEURS DES UNIVERSITES

BENEYTOUT Jean-Louis	Biochimie
BERNARD Michel	Physique-Biophysique
BROSSARD Claude	Pharmacotechnie
BUXERAUD Jacques	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
CHULIA Albert	Pharmacognosie
CHULIA Dominique	Pharmacotechnie
DELAGE Christiane	Chimie Générale et Minérale
GALEN François Xavier	Physiologie
GHESTEM Axel	Botanique et Cryptogamie
GUICHARD Claude	Toxicologie
HABRIOUX Gérard	Biochimie
LEFORT des YLOUSES Daniel	Pharmacie Galénique
NICOLAS Jean Albert	Bactériologie et Virologie, Parasitologie
OUDART Nicole	Pharmacodynamie
PENICAUT Bernard	Chimie Analytique et Bromatologie
RABY Claude	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
TIXIER Marie	Biochimie

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

CELS René

A MES PARENTS, A MA SOEUR

A MON FIANCE

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

Qui de près ou de loin ont participé à ce travail,qu'ils veuillent trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le professeur Bernard **PENICAUT**

Professeur des Universités de chimie analytique et bromatologie.

Nous lui exprimons notre reconnaissance et le remercions pour l'honneur qu'il nous a fait de présider cette thèse.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur Jean-Albert **NICOLAS**

Professeur des Universités de bactériologie virologie parasitologie.

Pour nous avoir fait l'honneur de faire partie de notre jury,nous lui témoignons un profond respect.

Madame Dominique **ANTZENBERGER**

Pharmacien.

Nous lui exprimons toute notre reconnaissance d'avoir bien voulu juger ce travail.

A Monsieur Bruno **COQUEBLIN**

Responsable chimie industrielle des Laboratoires Industriels de Vichy.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre reconnaissance pour nous avoir accueillis dans son service et permis la réalisation de ce travail.

A NOTRE DOYEN DE LA FACULTE DE PHARMACIE

Monsieur Claude **RABY**

Professeur des Universités de pharmacie chimique et chimie organique.

Que ce travail lui apporte un gage de notre reconnaissance.

A TOUS NOS PROFESSEURS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

Qu'ils trouvent ici,l'expression de notre sincère gratitude et de notre admiration.

1ème partie : La spectroscopie proche infrarouge et ses appareils

1 - Historique

2 - Caractéristiques du proche infrarouge

2-1 - Domaine de travail
2-1-1 - Situation du domaine
2-1-2 - Energies de vibration
2-1-3 - Harmoniques et combinaisons
2-1-4 - Longueurs d'ondes utilisées

2-2 - Mode de travail utilisé

3 - Appareillage

3-1 - Généralités sur les appareils
3-1-1 - Systèmes à filtres
3-1-2 - Systèmes à réseau
3-1-3 - Appareils à transformée de Fourier

3-2 - L'infraalyzer 450
3-2-1 - Partie optique
3-2-2 - L'électronique

3-3 - Réalisation de la mesure

2ème partie : Travaux personnels

1 - Présentation du travail

1-1 - Organisation du contrôle des matières premières au laboratoire

1-2 - Objectifs

1-3 - Matériel utilisé

2 - Applications à l'analyse qualitative

2-1 - Principe de l'analyse discriminante
2-1-1 - Notions de distances
2-1-2 - Classification des échantillons
2-1-3 - Comparaison entre distance de Mahalanobis et distance normalisée
2-1-4 - Influence de la granulométrie

2-2 - Etablissement de l'équation discriminante
2-2-1 - Collecte des données
2-2-2 - Equation de calibration
2-2-3 - Paramètres statistiques

2-3 - Applications à l'identification des matières premières
2-3-1 - Cas des poudres
2-3-1-1 Collecte des échantillons
2-3-1-2 Calibration
2-3-1-3 Identification en routine
2-3-2 - Cas des matières premières pâteuses
2-3-2-1 Collecte
2-3-2-2 Identification en routine
2-3-3 - Produits en écailles et cires
2-3-3-1 Préparation de l'échantillon
2-3-3-2 Collecte
2-3-3-3 Identification en routine
2-3-4 - Cas des matières premières liquides
2-3-4-1 Matériel utilisé
2-3-4-2 Choix du solvant de rinçage

2-3-4-3 Collecte
2-3-4-4 Identification en routine
2-3-5 - Cas des produits visqueux
2-3-5-1 Collecte
2-3-5-2 Identification en routine

2-4 - Conclusion

3 - Applications à l'analyse quantitative

3-1 - Principe
3-1-1 - Méthode de calcul.
3-1-2 - La régression linéaire
3-1-3 - Tests statistiques
3-1-3-1 Tests graphiques
3-1-3-2 Tests numériques
3-1-3-3 Paramètres statistiques dans les conditions idéales
3-1-4 - Méthodologie de la calibration
3-1-4-1 Sélection des échantillons
3-1-4-2 Collecte des données
3-1-4-3 Equation de calibration

3-2 - Applications à l'analyse des matières premières
3-2-1 - Dosage du formol
3-2-1-1 Constitution de la gamme d'étalonnage
3-2-1-2 Résultats
3-2-1-3 Analyse en routine
3-2-2 - Dosage des stérols

3-2-2-1 Constitution de la gamme d'étalonnage
3-2-2-2 Résultats
3-2-2-3 Analyse en routine

3-3 - Conclusion

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES

Introduction

Au début du XIXe siècle, le célèbre astronome anglais Herschel découvrit fortuitement l'infrarouge, mais son utilisation en analyse chimique n'apparaît qu'environ cinquante ans plus tard.

Les premiers spectrophotomètres à infrarouges virent le jour vers 1950, pour l'analyse des spectres d'absorption de substances organiques.

L'intérêt de cette méthode réside dans le fait qu'il existe, pour une substance donnée, une spécificité des bandes d'absorption dans l'infrarouge en relation directe avec la structure moléculaire, permettant l'identification des molécules.

Cette technique reste largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique ou agro-alimentaire, car elle permet une identification de qualité par comparaison entre les spectres à analyser et des spectres de référence.

Récemment, une nouvelle utilisation de l'infrarouge s'est développée, il s'agit de la spectroscopie proche infrarouge.

Cette technique, utilisée dans l'industrie céréalière pour la détermination de l'eau et des protéines dans les céréales, présente de nombreux avantages :

- les bandes spécifiques ne se chevauchent pas.
- la précision est renforcée par des

détecteurs photoconducteurs au sulfure de plomb.
- elle permet de s'affranchir du problème du pastillage.
- elle permet la réalisation de mesures quelle que soit la nature des systèmes étudiés : opaques, pâteux, aqueux.

Ayant eu l'opportunité, grâce à un stage effectué aux laboratoires industriels de Vichy, de travailler sur un appareil proche infrarouge, nous avons pu étudier les possibilités d'applications de cette technique pour le contrôle des matières premières cosmétiques.

Dans une première partie, nous traiterons du domaine du proche infrarouge, et ferons la description des principaux appareils disponibles sur le marché.

Dans une seconde partie, nous aborderons nos travaux personnels par une présentation de notre travail. Nous étudierons ensuite les applications du proche infrarouge à l'analyse qualitative des matières premières, puis à l'analyse quantitative.

lère partie : La spectroscopie proche infrarouge et ses appareils

1 - Historique

Nous devons la découverte fortuite de l'infrarouge au début du XIXème siècle à l'astronome britannique W. Herschel.

Celui-ci étudiait la relation entre la couleur et l'aspect calorique du rayonnement solaire décomposé par un prisme.

En promenant un thermomètre dans le spectre obtenu, il observa que l'aspect calorique qu'il recherchait, était maximum dans une région située au-delà du rouge, mais sans couleur visible. Il appela cette zone "l'Infrarouge".

Les premiers spectres d'absorption infrarouge furent enregistrés par Coblentz entre 1896 et 1905. Il est parvenu à démontrer que des groupements d'atomes identiques absorbaient un rayonnement infrarouge aux mêmes longueurs d'ondes, quelle que soit la nature de la molécule portant ce groupement.

Il fallut attendre 1950 pour voir apparaître sur le marché les premiers spectrophotomètres infrarouge. Leur domaine spectral était limité entre 700 et 1600 nm, on ne disposait à cette époque que de prismes de verre comme disperseurs et de plaques photographiques comme détecteurs.

Mais depuis ces vingt dernières années d'importants progrès ont été réalisés en ce qui concerne l'optique et l'analyse des spectres. L'optique traditionnelle a en effet été révolutionnée avec l'apparition des réseaux holographiques. Ces réseaux permettent d'explorer une plus large partie du spectre infrarouge.

Lorsque les instruments à réseaux apparurent aux USA, les spectroscopistes commencèrent à s'intéresser à la zone spectrale du proche infrarouge.

En 1963, Karl Norris travailla pour l'"USA Department of Agriculture" sur la mise au point de méthodes rapides de mesure de l'humidité des graines. Il étudia les propriétés du proche infrarouge et démontra que les mesures d'absorption lumineuse à certaines longueurs d'ondes du proche infrarouge permettaient de mesurer des teneurs en eau.

Les erreurs fréquentes dues aux interférences des protéines l'ont conduit par la suite à concevoir une technique de réflectance pour la détermination simultanée de l'humidité et des protéines dans les céréales.

En 1970, l'"Illinois Department of agriculture" permit la réalisation d'un spectrophotomètre proche infrarouge destiné aux analyses de routine dans les industries céréalières.

Dans les années quatre vingt, le développement informatique permit d'équiper ces appareils de programmes d'analyse et de traitement des données spectrales.

Il existe à l'heure actuelle un grand nombre d'applications de la spectroscopie proche infrarouge dans les domaines des industries alimentaires, chimiques, pharmaceutiques, cosmétologiques. Elle peut être utilisée aussi bien pour des analyses quantitatives -détermination de la concentration d'un constituant-, que qualitatives.

2 - Caractéristiques du proche infrarouge

2-1 - Domaine de travail

2-1-1 - Situation du domaine

Le domaine spectral du proche infrarouge se situe entre le visible et le moyen infrarouge à des longueurs d'ondes allant de 800 nm à 2500 nm (1250 cm^{-1} à 4000 cm^{-1}). C'est un domaine trois fois plus étendu que le visible.

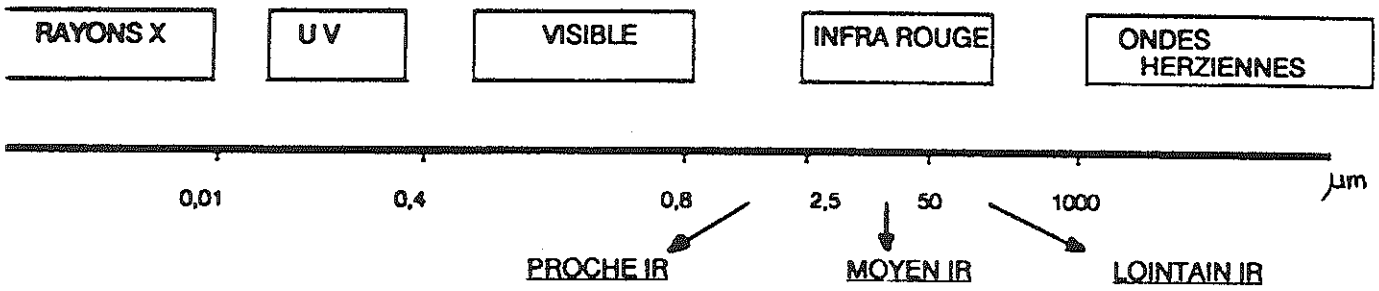
Dans le visible, on travaille sur les transitions électroniques, c'est-à-dire sur le passage d'un électron d'un niveau d'énergie à un autre. Ces transitions nécessitent un gros apport d'énergie, donc des fréquences élevées, ou des longueurs d'ondes courtes.

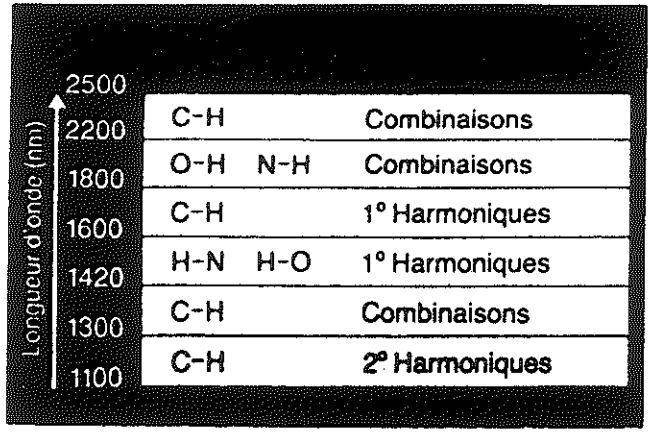
$$E = h\nu = h\frac{c}{\lambda}$$

En infrarouge, ce sont les énergies de rotation et de vibration des molécules qui sont concernées.

DOMAINE DU PROCHE INFRA ROUGE

800 nm - 2500 nm





GROUPEMENTS ATOMIQUES

2-1-2 - Energies de vibration

Les liaisons chimiques dans les molécules forment des oscillateurs naturels qui sont susceptibles de vibrer.

Une molécule absorbe une radiation lorsque sa vibration est en résonance avec la radiation incidente. Le rayonnement va pousser la molécule à vibrer plus vite, et augmenter son énergie de vibration.

En mécanique quantique, le passage aux coordonnées normales de la molécule permet de traduire les vibrations sous forme de mouvements simples élémentaires, les vibrations normales.

Une molécule linéaire constituée de N atomes présente un spectre pouvant comporter 3N-6 bandes d'absorption correspondant au nombre de degrés de liberté intramoléculaires. Les 6 autres sont associés aux mouvements de translation et à la rotation de la molécule. Il existe donc 3N-6 modes de vibration possibles, chacun caractérisé par une courbe d'énergie potentielle distincte.

On distingue deux modes de vibrations :

- les vibrations d'élongation ("stretching") qui peuvent être symétriques ou dissymétriques.
- les vibrations de déformation ("bending") :
  - soit dans le plan : rotation (rocking) ou cisaillement (scissoring)
  - soit hors du plan : balancement (wagging) ou torsion (twisting)

Le tableau 1 illustre les modes de vibration d'un groupement Ax2.

vibration de valence "stretching" ν		symétrique	dissymétrique
vibration de déformation "bending" b	dans le plan de la molécule δ		
	hors du plan de la molécule τ		

Tableau 1 : Modes de vibration d'un groupement AX_2

Les vibrations d'élongation demandent plus d'énergie que les vibrations de déformation, et donc l'absorption des radiations électromagnétiques se fait à des longueurs d'ondes plus courtes.

Chacun de ces mouvements s'effectue à une fréquence spécifique de la structure de la molécule et de son environnement, donc caractéristique du produit et du constituant à analyser.

2-1-3 - Harmoniques et combinaisons

Les fréquences fondamentales de ces vibrations apparaissent dans le moyen infrarouge.

Les absorptions observables dans le domaine du proche infrarouge proviennent de deux sources :

- les harmoniques, première, deuxième, troisième harmonique de la vibration fondamentale.

La première harmonique se produit lorsque son nombre d'onde est égal à 2 fois celui de la vibration fondamentale.

La deuxième harmonique se produit lorsque son nombre d'onde est égal à 3 fois celui de la vibration fondamentale.

- les bandes de combinaison, qui se produisent lors des interactions de deux vibrations.

La valeur du nombre d'onde des bandes de combinaison est égale à la somme ou la différence de deux ou plusieurs fréquences fondamentales.

Harmoniques et combinaisons sont en nombre limité dans le proche infrarouge, ce qui explique qu'il n'y ait plus les chevauchements gênants observés dans l'infrarouge moyen (notamment ceux dus aux nombreuses bandes de l'eau). Ceci permet donc de mieux sélectionner les vibrations optimales en vue d'une détermination quantitative.

2-1-4 - Longueurs d'ondes utilisées

Dans le proche infrarouge, il est possible d'étudier les faibles énergies de transition électronique, les harmoniques et les combinaisons des vibrations d'élongation et de déformation des molécules avec un H (C-H,

N-H, O-H). Les vibrations de l'hydrogène sont très importantes, car ses bandes spectrales ont de grandes amplitudes.

Les groupes C-H sont caractérisés par les bandes d'absorption entre 1600 et 1800 nm pour la première harmonique de vibration d'élongation et entre 1100 et 1300 nm pour la deuxième harmonique.

Les vibrations d'élongation des groupes N-H sont caractérisées par une première harmonique à 1500 nm, une seconde harmonique vers 1000 nm.

Les groupes O-H ont une première harmonique à 1450 nm et une deuxième à 1000 nm.

Quelques bandes spectrales du proche infrarouge :

Longueurs d'ondes	constituant	liaison	vibrations
1200	lipides	C-H	2e harmonique
1450	eau, hydrates de carbone	O-H	1e harmonique
1510	protéines	N-H	1e harmonique
1730	lipides	C-H	1e harmonique
1940	eau	O-H	2e harmonique
1980	protéines	N-H	combinaison
2080	hydrates de carbone	O-H	allongement, déformation
2180	protéines	C=O.N-H	combinaison

2-2 - Mode de travail utilisé

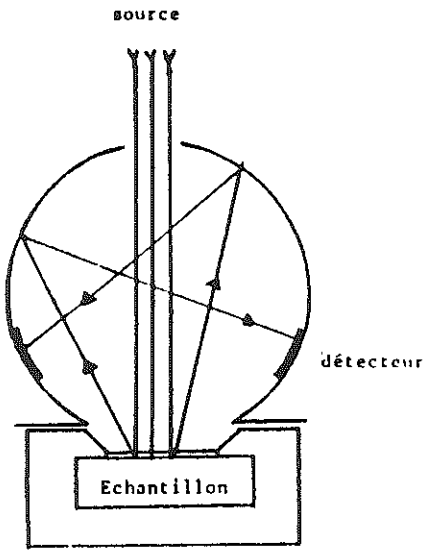
Dans le moyen infrarouge on utilise essentiellement le mode de transmission, alors que dans le proche infrarouge on

travaille soit en réflexion pour les produits pulvérulents, soit en transflexion pour les produits liquides (fig 2). Le but est d'envoyer un rayonnement sur le produit à analyser et de recueillir le rayonnement refléchi ou transmis.

Le rayonnement est en partie absorbé et la mesure de cette absorption permet de donner la concentration du constituant ou du produit. La quantité d'énergie absorbée à chaque longueur d'onde caractéristique est proportionnelle au nombre de liaisons chimiques en vibration, donc à la concentration de ces molécules.

MODE DE MESURE / INFRAALYZER

REFLEXION Echantillons Solides ou Pâteux



TRANSFLEXION Echantillons Liquides ET VISQUEUX

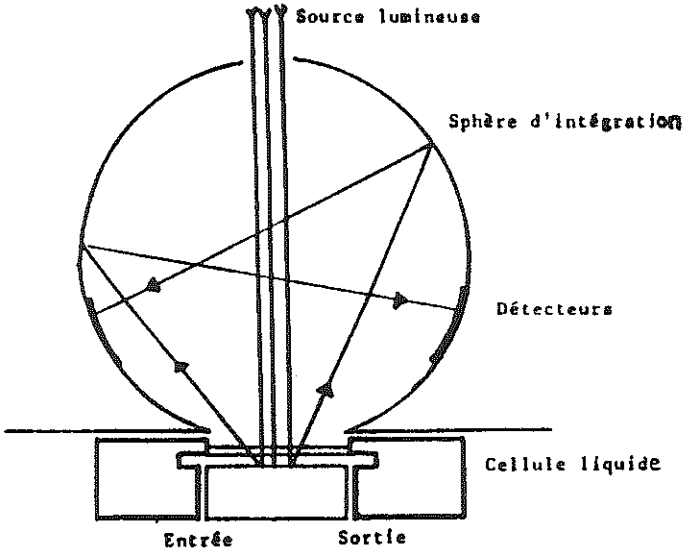


FIGURE N° 2

Lorsque le milieu est transparent aux infrarouges (cas des liquides transparents), et si l'échantillon est placé sur une surface hautement réfléchissante (fond doré) le faisceau lumineux traverse l'échantillon, est réfléchi par le fond doré, et peut alors entrer à nouveau en interaction avec l'échantillon pour être ensuite capté par les détecteurs. C'est le phénomène de transflexion ou transflectance.

Lorsque le milieu est opaque, les photons du faisceau incident pénètrent dans les couches superficielles de l'échantillon, sont partiellement absorbés puis sont réfléchis de façon diffuse.

C'est le phénomène de réflexion ou réflectance diffuse, rencontré lorsque la surface de réflexion est mate.

En ce qui concerne la dispersion, la lumière pénétrant dans l'échantillon est dispersée dans celui-ci par tous les microédifices qui le constituent. En effet, les photons ne sont pas tous réfléchis de façon identique, car ils rencontrent un nombre variable de particules dispersantes, leurs trajets au sein de l'échantillon sont donc différents.

Une partie du faisceau lumineux est donc directement réfléchie par la surface du grain, une autre pénètre dans l'échantillon et subit de multiples réflexions sur d'autres grains avant d'être recueillie à la sortie. Il y a perte d'énergie à cause de ces réflexions successives.

Ceci explique le fait que la taille, le nombre et la forme des particules, influent sur la quantité de lumière dispersée.

Par exemple, une diminution de la taille des particules augmente le phénomène de dispersion.

Un dernier phénomène intervient, celui de la réflexion spéculaire.

Le rayonnement incident frappe l'échantillon perpendiculairement à sa surface, une partie des photons sont réémis également perpendiculairement à la surface.

Le rayonnement traverse la sphère puis sort par l'orifice d'entrée sans être capté.

Dans le cas de produits pulvérulents, l'interface est constituée de microsurfaces ayant toutes les orientations possibles. Il en résulte que la réflexion spéculaire, qui représente environ 4 % de l'énergie incidente, est diffusée dans toutes les directions de l'espace et se retrouve indissociablement mêlée à la réflexion diffuse profonde. Lors de mesure en transmission de solutions, il est souhaitable, afin de minimiser la réflexion spéculaire, de prendre comme référence l'énergie qui traverse la cellule de mesure, vide ou remplie de solvant. Dans le cas des spectromètres du proche infrarouge, la cellule de référence utilisée est en céramique.

Dans le proche infrarouge, on applique auusi la loi de Beer-Lambert :

$$I = Ioe^{-Klc}$$

avec Io = intensité incidente
I = intensité réfléchie
K = coefficient d'absorption spécifique
l = largeur de la cellule

c = concentration

$$\text{soit } Abs = \log \frac{Io}{I} = Klc$$

Pour la réflexion:

$$Abs = Klc$$

$$Abs = \log \frac{Io}{I} = - \log R$$

$$\text{d'où } Abs = \log \frac{1}{R}$$

Pour la transmission :

$$Abs = Klc$$

$$Abs = \log \frac{Io}{I} = - \log T$$

$$\text{d'où } Abs = \log \frac{1}{T}$$

3 - Appareillage

3-1 - Généralités sur les appareils

A l'heure actuelle, il existe trois principaux types d'appareils d'analyse proche infrarouge :

- les systèmes à filtres

Ils sont de deux types :
les systèmes à filtres oscillants
les systèmes à disque

- les appareils à réseau holographique
- les appareils à transformée de Fourier.

3-1-1 - Les sytèmes à filtres

Un filtre interférentiel est constitué d'une succession de couches colorées semi-transparentes. C'est l'épaisseur de la couche centrale qui détermine la longueur d'onde. Dans la mesure où le rayon principal est perpendiculaire aux filtres, un filtre donné correspondra à une longueur d'onde et une seule. Il faut donc autant de filtres que de longueurs d'ondes nécessaires.

Cependant il est possible de diminuer le nombre de filtres en utilisant des filtres oscillants.

Les systèmes à filtres oscillants sont formés de trois à sept filtres montés sur une came tournant à très grande vitesse. (fig 3). En faisant varier l'angle d'incidence du rayon sur le filtre, ce dernier pourra produire plusieurs longueurs d'onde différentes.

Les systèmes à disque sont constitués de filtres (1 par longueur d'onde) disposés sur un disque rotatif, perpendiculairement au faisceau incident (fig 4). Ces appareils ne permettent pas d'obtenir un spectre continu.
Exemple : Infraalyzer 450

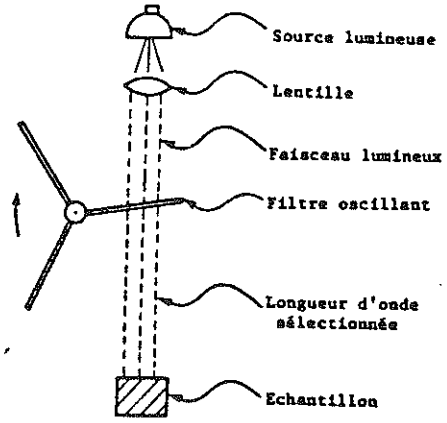


fig 3 : Représentation schématique d'un système à filtres oscillants.

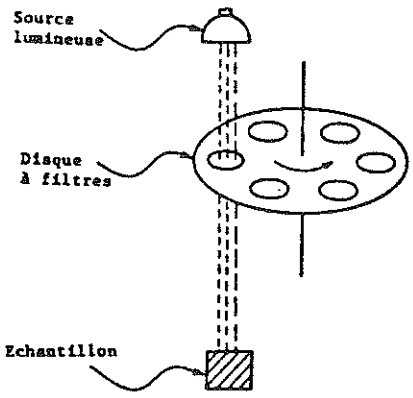


fig 4 : Représentation schématique d'un système à disque

3-1-2 - Les systèmes à réseau holographique

Un réseau holographique est constitué d'un support réfléchissant, recouvert d'un vernis photosensible qui a été exposé au champ d'interférences de deux ondes cohérentes. Les franges sont ensuite révélées en relief par dissolution dans une cuve de développement.

Les différentes longueurs d'ondes sont obtenues par ce réseau holographique oscillant qui, joint à une série de filtres, permet de disperser la lumière en un spectre continu. Il est de forme concave, ce qui donne un meilleur centrage du faisceau lumineux sur les fentes de sortie (fig 5).

Exemple : Infraalyser 500

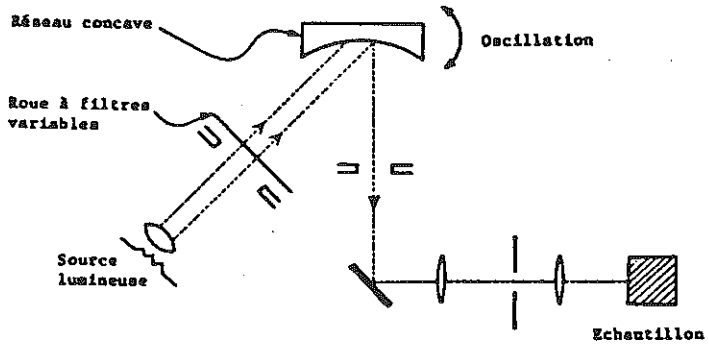


fig 5 : Représentation schématique d'un appareil à réseau holographique

3-1-3 - Les appareils à transformée de Fourier.

Le principe de ces appareils repose sur l'obtention de spectres à partir de franges d'interférences produites par un interféromètre de Michelson.

Un traitement mathématique par une transformation de Fourier conduit à l'élaboration d'un spectre identique à celui obtenu par absorption ou réflexion.

Le dernier appareil de ce type sur le marché est l'Infraprover de Bran et Luebbe.

Il utilise une sonde de mesure reliée à l'appareil par l'intermédiaire d'un faisceau de fibre optique. Le système optique utilise le changement d'indice de réfraction lors du passage de la lumière à travers l'optique cristalline, ce qui évite l'utilisation de miroirs mobiles.

3-2 - L'infraalyzer 450

Ayant utilisé ce type d'appareil pour notre étude, nous allons en faire une description plus détaillée.

L'infraalyzer 450 est un instrument comportant :

- un bloc optique
- un panneau de contrôle et d'affichage
- une carte mère
- un compartiment échantillon (tiroir)
- un filtre à air

3-2-1 - La partie optique

Elle est constituée des éléments suivants:

- une source lumineuse
- un système de filtres interférentiels
- un chopper
- un système de lentilles
- une sphère d'intégration contenant les détecteurs

Ce système est décrit sur la fig 6.

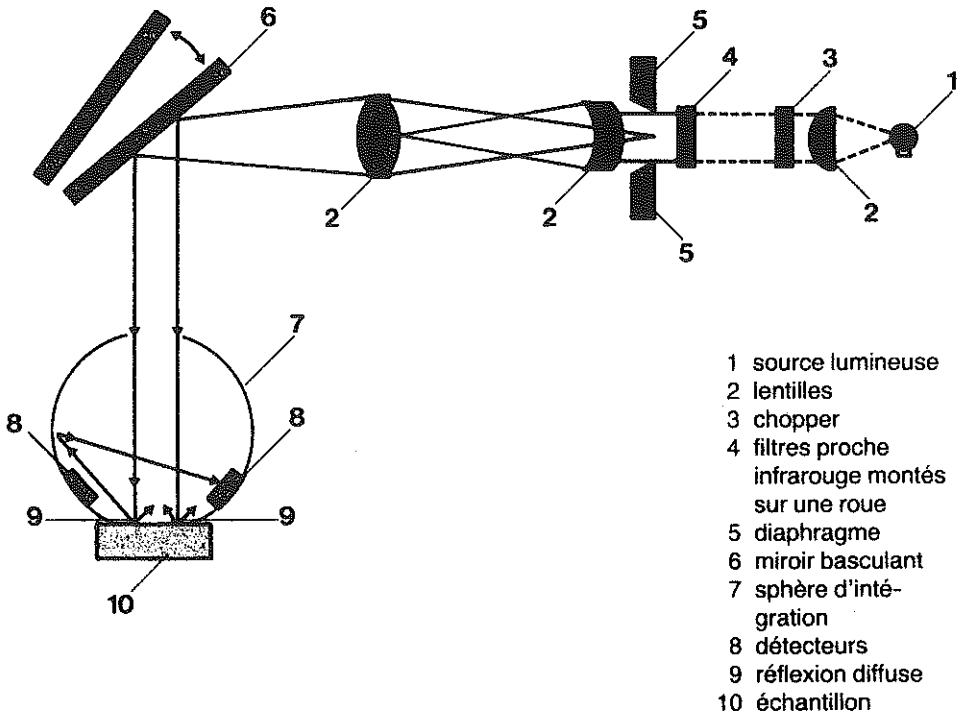


fig 6 : Système optique de l'infraalyzer 450

La source lumineuse, une lampe tungstène-halogène de haute intensité, est protégée à l'intérieur d'un habitacle afin d'éviter les

phénomènes de vibration préjudiciables à la stabilité de la source. Une lentille permet d'obtenir un faisceau de lumière parallèle qui est interrompu périodiquement par un chopper (roue dentée).

Le chopper produit un signal carré discontinu de fréquence élevée (240 Hertz). Il tourne à une vitesse de 30 tours/sec, et possède 8 fenêtres permettant à la lumière de traverser le filtre sélectionné.

Le faisceau lumineux traverse ensuite l'un des 19 filtres à bande passante étroite (10 nm).

Ces filtres sont situés à la périphérie d'une roue à filtres maintenue à température constante, tout changement de température pouvant en effet provoquer une modification du centrage de la longueur d'onde du filtre et fausser ainsi les mesures.

Le faisceau lumineux traverse un système de lentilles connu sous le nom d'optique de Kohler, qui transforme le rayonnement en une source de lumière ponctuelle.

La lumière traverse alors un miroir basculant pouvant adopter deux positions : une position échantillon et une position référence.

Lorsque le miroir est en position échantillon, (miroir à 45°), le faisceau est envoyé directement à travers la sphère d'intégration jusqu'à l'échantillon (fig 7).

Lorsque le miroir est en position référence (angle voisin de 50°), le faisceau pénètre dans la sphère d'intégration, mais, au lieu de pénétrer dans l'échantillon, frappe les parois de la sphère, et, après un certain nombre de réflexions, atteint les cellules de mesure. (fig 8).

Les mesures échantillon-référence se succèdent rapidement à raison d'un cycle échantillon-référence-échantillon pour chaque échantillon, à chaque longueur d'onde.

La relation entre les lectures de l'échantillon et de la référence sert au calcul des constituants du produit à analyser.

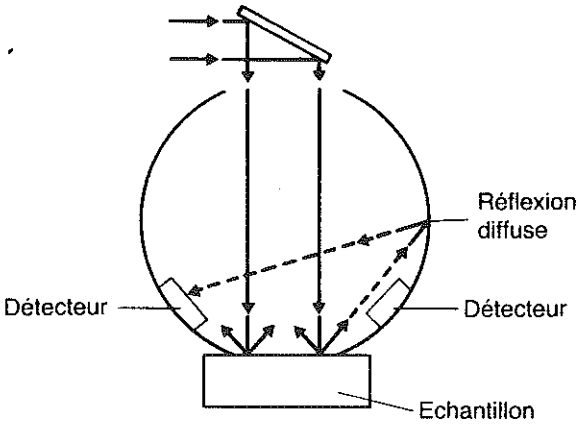


Fig 7 : Méthode de mesure de l'échantillon

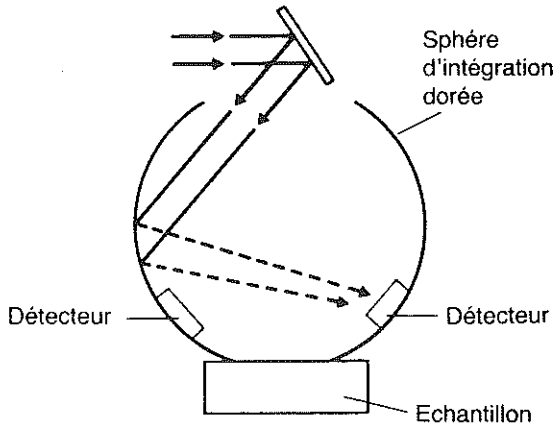


Fig 8 : Méthode de mesure de la référence.

La sphère d'intégration, appelée également sphère d'Ulbricht a pour rôle de concentrer

sur les détecteurs la totalité du faisceau réfléchi par l'échantillon.

Elle se présente sous la forme de deux demi-sphères dorées de 10 cm de diamètre et percées de deux orifices opposés, de 25 mm de diamètre.

Le faisceau lumineux frappe l'échantillon perpendiculairement, puis atteint soit l'un des deux détecteurs, soit la surface de la sphère, et après de multiples réflexions finit par atteindre les détecteurs.

Les détecteurs utilisés, au sulfure de plomb, offrent une très grande sensibilité dans le domaine du proche infrarouge.

3-2-2 - L'électronique

L'infraalyzer 450 comporte une carte mère, une carte CPU/Mémoire et une carte interface analogique. Sa capacité de mémoire logicielle est de 4 Ko.

- La carte mère est située au fond de l'appareil :
  - elle contrôle et régule la température du bloç optique
  - elle fournit les signaux contrôles nécessaires pour les moteurs pas à pas de la roue à filtres et du miroir du bloc optique.
  - elle redresse les sorties du transformateur pour alimenter l'ensemble.
  - elle permet de contrôler les alimentations électriques du système, ainsi que les signaux de contrôle par l'intermédiaire de diodes électroluminescentes.
  - elle supporte les cartes CPU/mémoire et interface analogique.

- La carte CPU/mémoire traite tous les diagnostiques, ainsi que les fonctions de contrôle de l'appareil.

- La carte interface analogique traite le signal provenant des détecteurs pendant l'analyse de l'échantillon et permet à la carte CPU d'effectuer les calculs et d'afficher les résultats de l'analyse sur le panneau frontal.

Le microprocesseur est accessible à l'opérateur par l'intermédiaire du panneau

frontal ou "front pannel", représenté sur la fig 9.

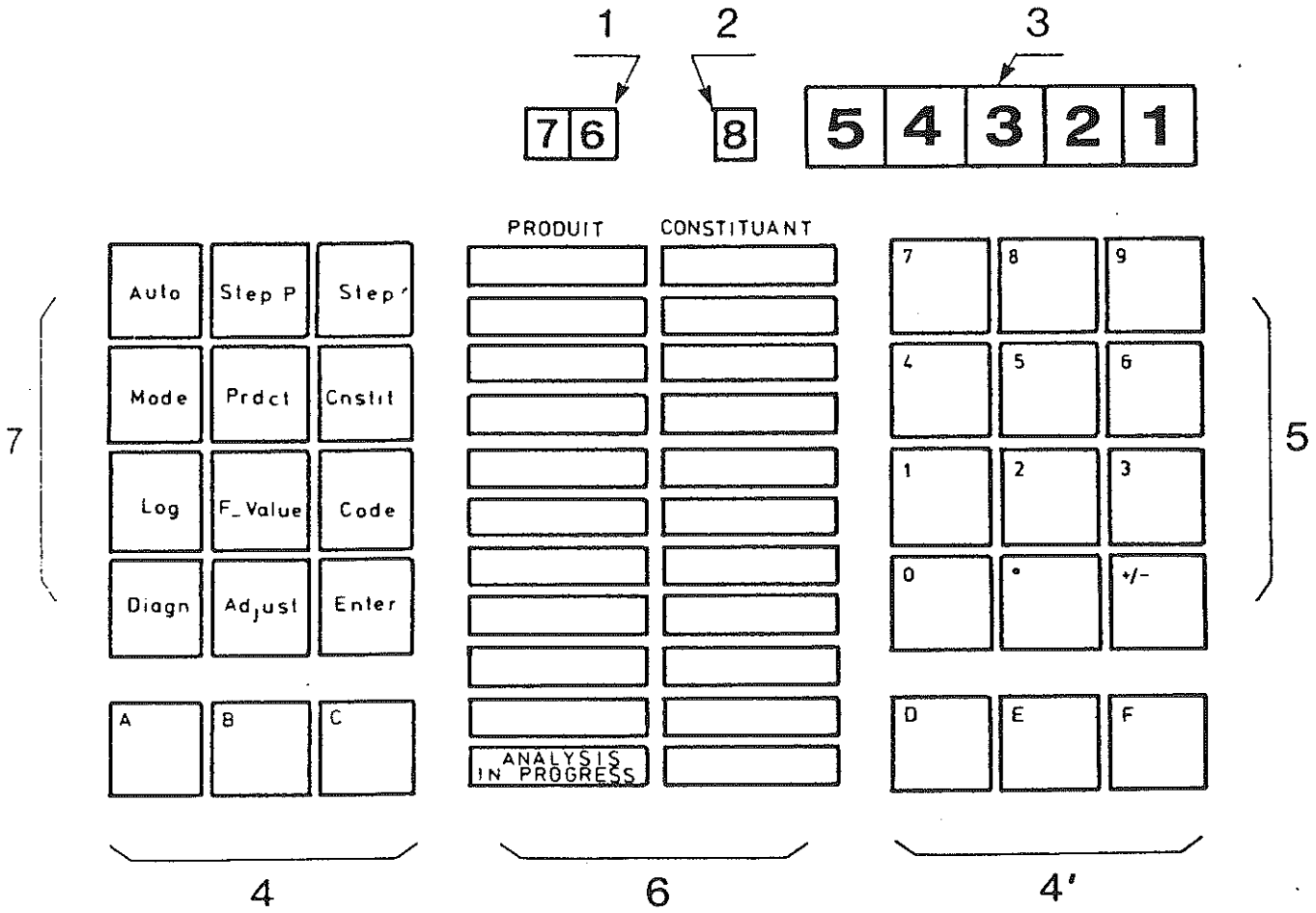


Fig 9 : Panneau frontal de l'infraalyzer 450

Nous avons divisé le panneau frontal en un certain nombre de zones.

- la zone 1 représente l'affichage du numéro d'identification du produit à analyser (de 01 à 98).

- la zone 2 représente le numéro affecté au constituant choisi (de 1 à 9).

- la zone 3 correspond à l'affichage numérique des résultats et des constantes rentrées dans l'appareil.

- les zones 4 et 4' représentent des options particulières dans le cas de modifications analytiques du système standard.

- la zone 5 est un clavier numérique permettant à l'opérateur d'introduire des valeurs manuelles.

- la zone 6 affiche le nom du produit et du constituant à doser lors de l'analyse. Elle comprend également le voyant "analysis in progress" qui s'allume lors du déclenchement de l'analyse.

- la zone 7 permet d'accéder aux différentes touches de fonction, dont la signification est la suivante :

AUTO : Passage automatique d'un constituant, d'une valeur de F ou d'un logarithme au suivant.

STEP P : Déclenche le passage automatique d'un produit au suivant, jusqu'à 5 produits.

STEP : Passage manuel d'un constituant, F ou logarithme au suivant.

MODE : Permet l'accès à toutes les fonctions.

PRDCT : Sélection du produit.

CNSTIT : Sélection du constituant

LOG : Permet de collecter directement les valeurs des absorbances pour chaque

constituant d'un produit, à chaque longueur d'onde.

F-Value : Permet d'entrer les valeurs des constantes d'étalonnage d'un produit donné, pour chaque filtre.

Permet également la lecture et la vérification des valeurs de F.

On ne rentre pas de valeur en F1, car il n'existe pas de filtre n°1. Les codes de F s'échelonnent de F02 à F20 pour l'infraalyzer 450, ce qui représente 19 filtres donc 19 longueurs d'ondes.

La correspondance F/longueur d'onde est la suivante :

F	Longueurs d'ondes		
02	2336 nm	11	1982 nm
03	2348 nm	12	1818 nm
04	2310 nm	13	1778 nm
05	2270 nm	14	2100 nm
06	2230 nm	15	1759 nm
07	2208 nm	16	1940 nm
08	2190 nm	17	1734 nm
09	2139 nm	18	1722 nm
10	2180 nm	19	1445 nm
		20	1680 nm

- CODE : utilisé pour des fonctions spéciales
- DIAG : permet d'effectuer des tests diagnostiques.
- ENTER : Permet de mémoriser des valeurs ou d'avoir accès à d'autres fonctions.

3.3. Réalisation de la mesure.

Le choix de la coupelle est conditionné par la nature physique de l'échantillon.

D'une manière générale, on travaille en réflexion pour les produits pâteux et pulvérents, et en transflexion pour les produits liquides.

Le tableau 2 représente les principales coupelles utilisées en fonction du produit à analyser (coupelles Technicon).

Etat physique du produit	Mode de travail	Coupelle utilisée
Poudre	Réflexion	Coupelle à poudre US1-189-B090-02
Pâteux	Réflexion	Coupelle ouverte US2-189-0822-01
Liquides visqueux	Transflexion	Coupelle hollandaise DMT 1524-01
Liquides viqueux crèmes	transflexion	Coupelle aluminium UK1-DMT 1525-01
Liquides	Transflexion	Tiroir liquide thermostatable type F1

Tableau 2 : Coupelles utilisées.

DEUXIEME PARTIE :

TRAVAUX PERSONNELS

1 - Présentation du travail

1-1 - Organisation du contrôle des matières premières au laboratoire

Les contrôles qui y sont effectués permettent d'évaluer la qualité des matières premières entrant dans la composition des produits cosmétiques.

Une partie primordiale de ce contrôle est représentée par la diagnose. Elle consiste en l'évaluation des éléments suivants :

- aspect, odeur, couleur de la matière première.
- identification par CCM (chromatographie couche mince), réactions colorées, points de fusion...

Outre cet aspect d'identification pouvant conduire au refus de la matière première en cas de non conformité, on distingue tous les autres types de contrôle : dosages gravimétriques, potentiométriques, chromatographies gazeuses, chromatographies liquides haute performance,...

1-2 - Objectifs

L'objectif principal est de rendre plus fiable et plus rapide l'identification des matières premières, en remplaçant l'identification classique par l'infraalyzer.

Or, les identifications effectuées sont spécifiques d'une fonction ou d'un élément chimique, mais pas d'une matière première.

De plus, en ce qui concerne les CCM, le temps de réponse varie entre 1H30 et 5H

suivant l'éluant, et la fiabilité du résultat n'est pas toujours évidente.

L'infraalyzer devrait permettre de réduire le temps consacré à la diagnose, et d'accroître la fiabilité des identifications.

1-3 - Matériel utilisé

Nous disposons pour notre étude d'un Infraalyzer 450 à 19 filtres, Bran et Luebbe.

La complexité des calculs à effectuer lors des analyses nécessite l'utilisation annexe d'un calculateur.

L'infraalyzer 450 est connecté à un micro-ordinateur Compaq Deskpro 386 S de 20 mégaoctets, équipé de lecteurs de disquettes 3" 1/2 et 5" 1/4.

Le traitement des résultats s'effectue grâce au logiciel IDAS version 1, 41 - Infraalyzer Data Analysis Software - (Bran et Luebbe) qui comporte le système de contrôle de l'instrument, permet l'acquisition des données, la calibration et la diagnose.

Nous disposons également d'une imprimante Epson FX 850.

2 - Applications à l'analyse qualitative

2-1 - Principe de l'analyse discrimante

2-1-1 - Notions de distances

Lorsque l'on veut comparer un échantillon et une référence à l'aide de leurs spectres respectifs, on recherche en général les pics d'absorption et on compare les absorbances au niveau de ces pics.

Une autre approche consiste à noter les valeurs des absorbances à des longueurs d'ondes choisies pour l'échantillon et la référence. Les valeurs peuvent être considérées comme les coordonnées d'un point dans un espace multidimensionnel.

Prenons l'exemple de deux produits A et B dont les absorptions à la longueur d'onde 1 sont respectivement Xa et Xb et celles à la longueur d'onde 2 sont respectivement Ya et Yb (fig. 10).

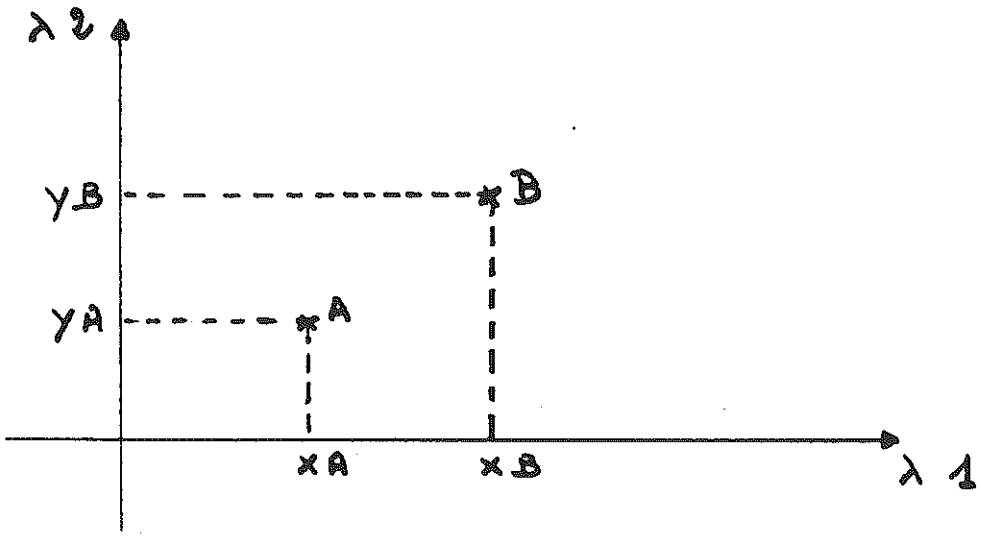


fig 10 : Représentation graphique des absorbances.

Les deux produits A et B sont ainsi représentés par deux points distincts, ce qui signifie que leurs spectres d'absorption à ces longueurs d'ondes sont suffisamment différents pour les distinguer. La différence entre ces 2

produits peut être exprimée en terme de distance.

En réalité, on dispose non pas de 2, mais de 19 longueurs d'ondes dans le cas d'un infraalyzer 450.

La représentation graphique dans un espace à 19 dimensions étant impossible, la position de chaque point est déterminée par calcul matriciel.

Si l'on réalise des mesures sur plusieurs échantillons, on observe de légères différences d'absorbances (dues à l'appareillage, à l'aspect physique du produit ou à sa composition chimique). On obtiendra ainsi un nuage de points, sous forme d'ellipse axée sur la première bissectrice (fig. 11).

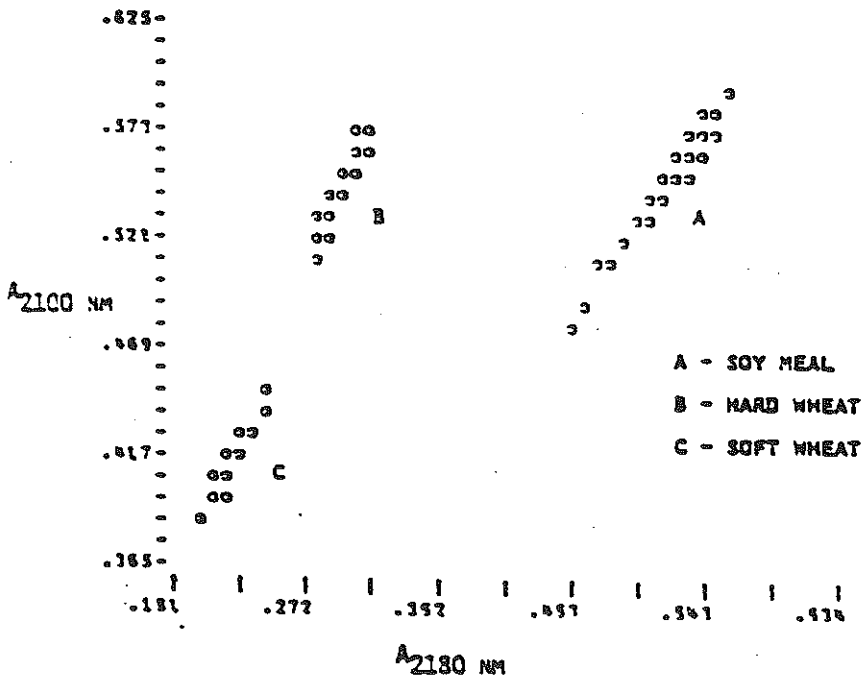


fig 11 : Représentation graphique de nuages de points de 3 constituants à deux longueurs d'ondes.

Afin de classer les échantillons, il est nécessaire de localiser les différents groupes

dans l'espace, et de définir de quel groupe ces échantillons se rapprochent le plus.

La position d'un groupe dans un espace multidimensionnel est définie par le point correspondant à la moyenne des absorbances à chaque longueur d'onde (fig. 12)

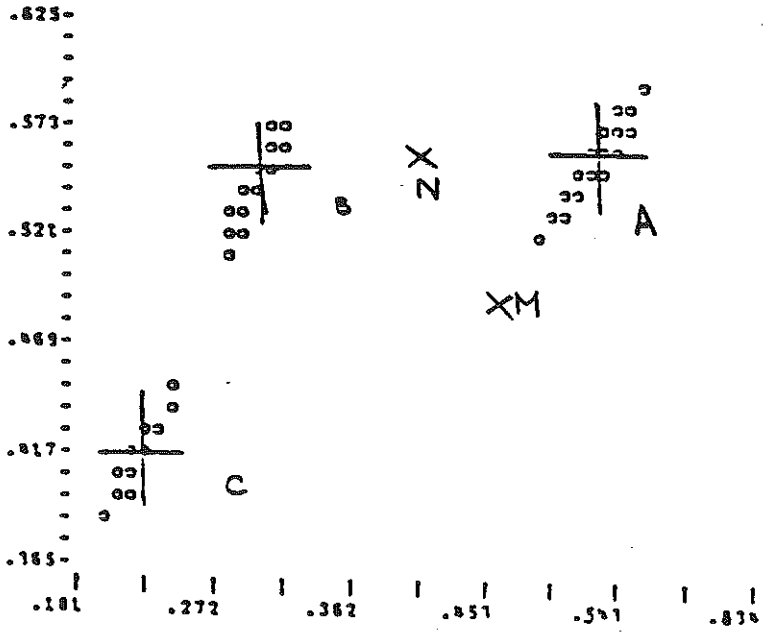


fig 12 : Détermination de la position d'un groupe dans l'espace.

Les distances euclidiennes ne sont pas satisfaisantes, pour la raison suivante :

Si nous considérons les trois groupes de la fig. 12, nous observons pour chacun une élongation le long de la bissectrice.

Si nous considérons les points M et N qui sont situés à la même distance euclidienne du centre du groupe A, il est clair que le point M appartient à ce groupe, alors que le point N

en est exclu, car le point M, contrairement à N, est situé dans la direction d'élongation du groupe.

On peut ainsi définir une distance D de telle sorte qu'elle soit maximale dans la direction d'élongation du groupe.

Le concept fut établi par P.C. Mahalanobis et la distance D, définie comme un vecteur unitaire dans un espace multidimensionnel, est appelée distance de Mahalanobis.

Cette distance peut être décrite par une ellipsoïde englobant les points représentatifs d'un produit (fig. 13)

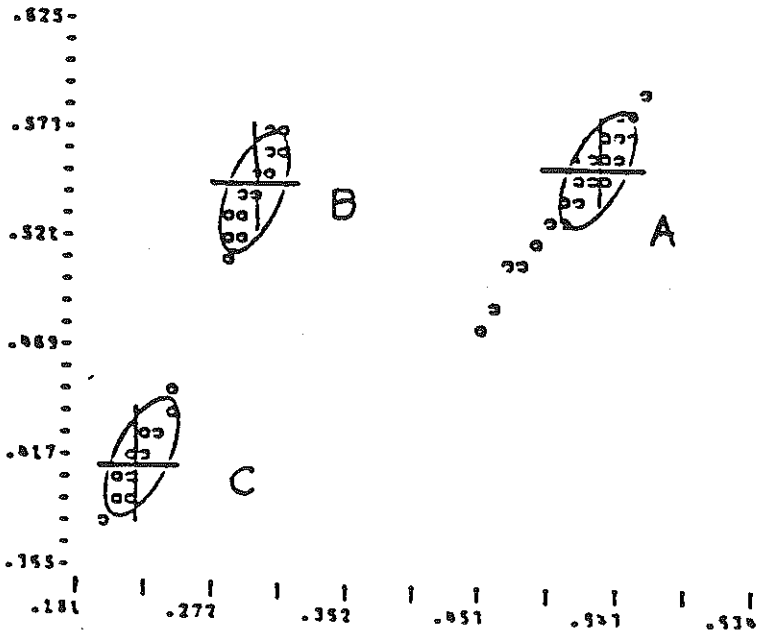


fig 13 : Détermination de la distance de Mahalanobis par des ellipses.

La distance D, d'un point X au centre d'un groupe $\overline{Xi}$, est calculée à partir d'une équation matricielle.

$$D^2 = (X-\overline{Xi})' \; M \; (X-\overline{Xi})$$

D = Distance de Mahalanobis.

X = Vecteur multidimensionnel décrivant la position du point X.

$\overline{Xi}$ = Vecteur multidimensionnel décrivant la position du centre statistique du ième groupe.

$(X-\overline{Xi})'$ = Transformée du vecteur $(X-\overline{Xi})$.

M = Matrice définissant les mesures de distances dans l'espace considéré.

Outre la distance de Mahalanobis, la distance entre le point représentatif d'un échantillon et le centre statistique du nuage le plus proche peut être exprimée en distance normalisée.

La distance normalisée se définit de la façon suivante :

$$Dn = \frac{Dm}{\text{écart-type du nuage}}$$

Dn = Distance normalisée

Dm = Distance de Mahalanobis

Son principal avantage est de tenir compte de la taille du nuage. Dans un espace à deux dimensions, les points seront non plus inclus dans une ellipse, mais dans un cercle (fig 14).

DISTANCE NORMALISEE

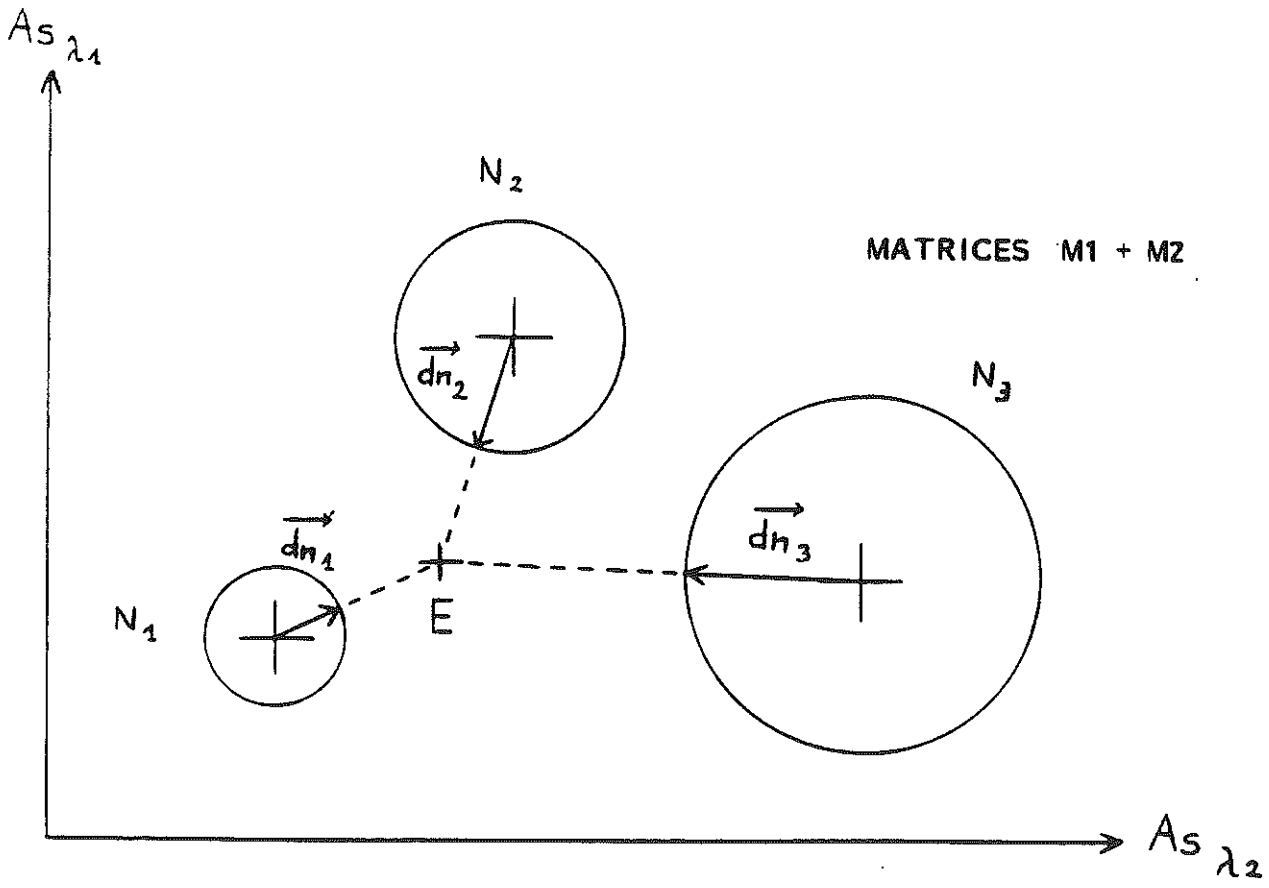
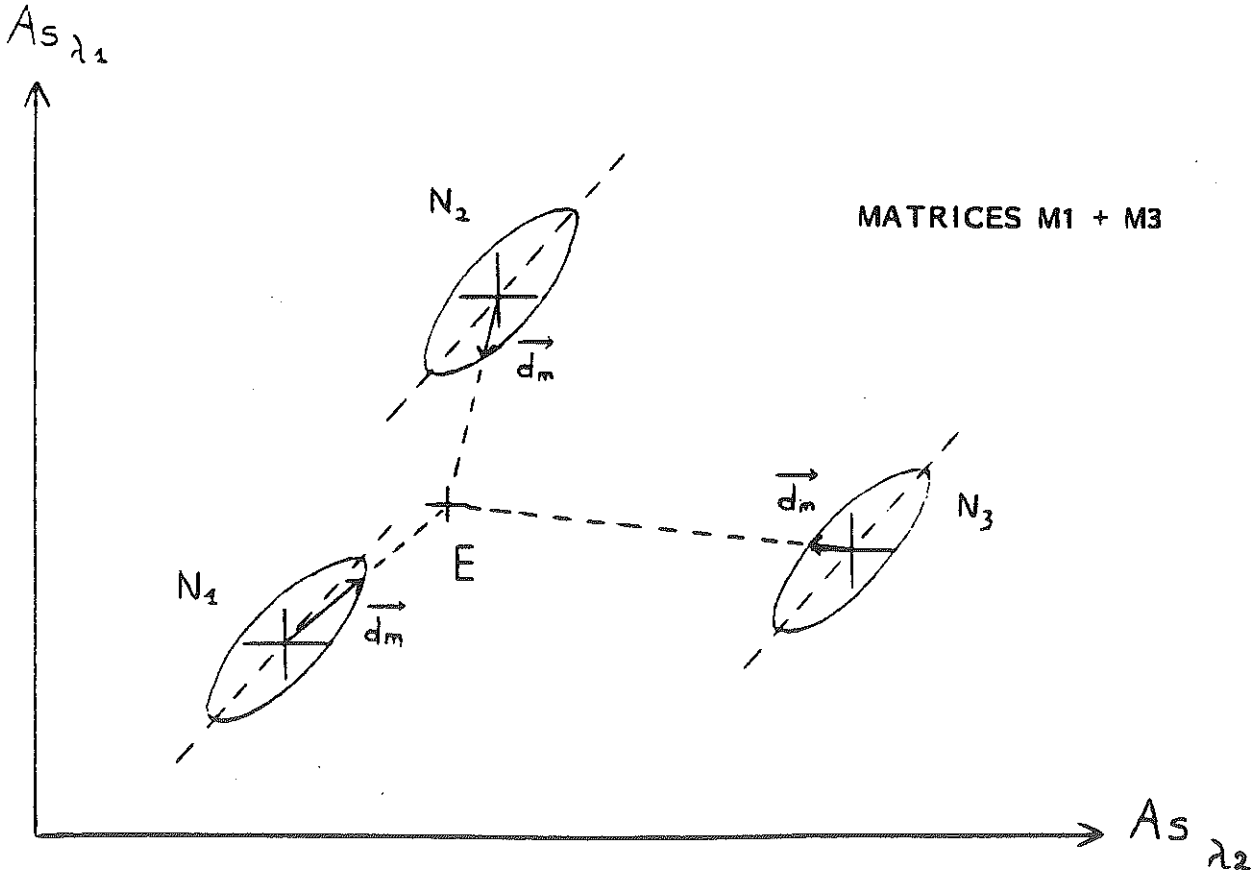


Fig. 14 : Distance de Mahalanobis et distance normalisée.

DISTANCE DE MAHALANOBIS



2-1-2 - Classification des échantillons

La distance entre le centre statistique et la périphérie de l'ellipse correspond à la distance de Mahalanobis ; elle équivaut à une déviation standard.

A partir de là, il est possible de classer les échantillons.

Un échantillon se situant à moins de 3 déviations standard du centre d'un groupe appartient sans ambiguïté à ce dernier.

Si deux groupes ont leurs centres statistiques à moins de 6 déviations standard l'un de l'autre, leurs limites vont se chevaucher, ce qui peut conduire à des erreurs de classification.

Le logiciel diagnose d'identification classe les échantillons de la façon suivante, Dm étant la distance de Mahalanobis :

- Dm<3 : Le point appartient au nuage, l'échantillon est reconnu sans ambiguïté.

- 3<Dm<15 : Le point n'appartient pas au nuage. Dans ce cas, deux propositions de classification sont faites. L'échantillon est cependant suffisamment proche du premier groupe pour être reconnu.

- Dm>15 : L'échantillon n'est pas identifié.

Le principe d'identification est le même en ce qui concerne la distance normalisée.

2-1-3 - Comparaison entre distance de Mahalanobis et distance normalisée

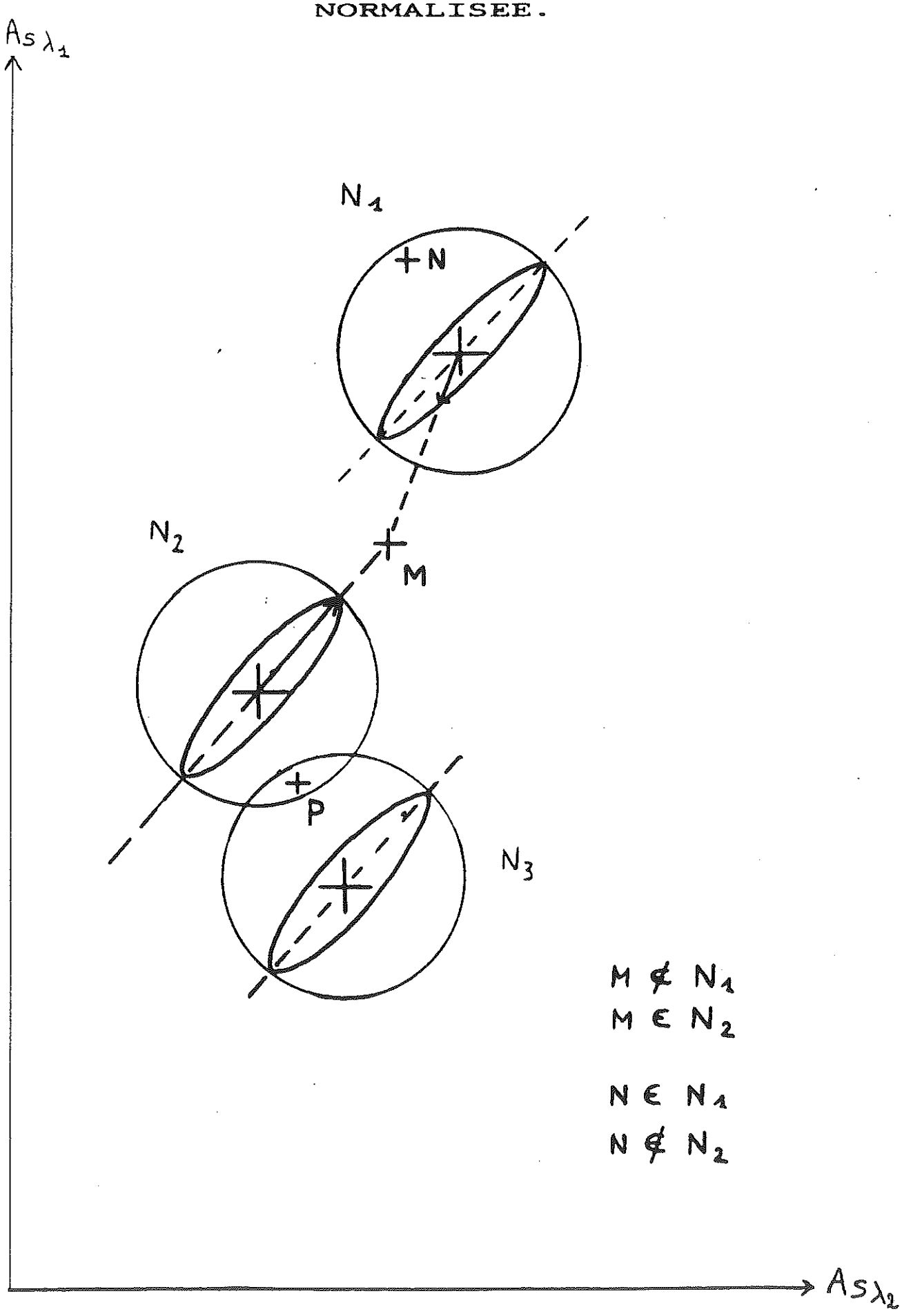
La fig 15 représente différents cas de figure permettant de comparer distance de Mahalanobis et distance normalisée.

- Le point M, bien que se trouvant à égale distance euclidienne de N1 et N2, appartient au groupe N2.

- Le point N se situe à une distance de Mahalanobis du groupe N1 comprise entre 3 et 15. Il se trouve à une distance normalisée de N1 inférieure à 3, ce qui confirme son appartenance à N1.

- Le point P : La distance de Mahalanobis, bien que comprise entre 3 et 15, permet de le classer dans le groupe N2. Par contre, en distance normalisée, il peut y avoir une erreur de classification au niveau de N2 et N3, leurs nuages étant très proches l'un de l'autre. La distance de Mahalanobis est donc plus sélective dans ce cas.

figure n°15 CHOIX ENTRE DISTANCE DE MAHALANOBIS ET DISTANCE NORMALISEE.



2-1-4 - Influence de la granulométrie.

Le pouvoir absorbant d'une poudre étant proportionnel à la taille des grains, cette dernière va influer sur la taille de l'ellipse.

Si l'on considère un fichier de plusieurs matières premières, en l'occurence des poudres de granulométrie différente, le programme va définir dans un espace multidimensionnel une ellipse moyenne identique pour tous les produits de la calibration (fig. 16)

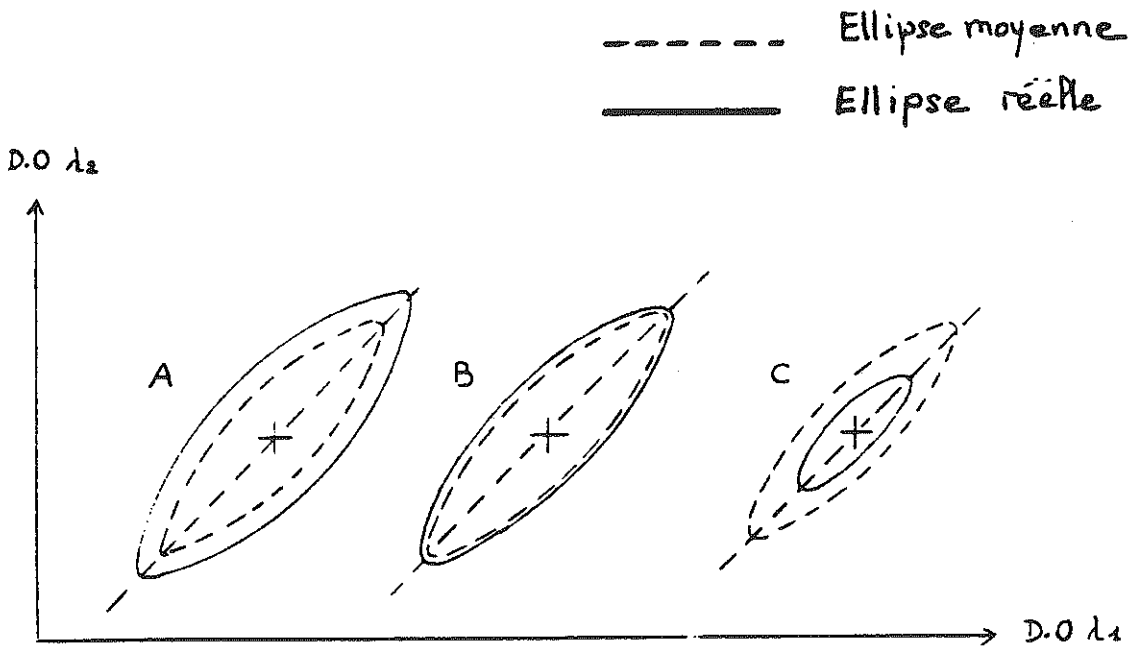


fig 16 : Influence de la granulométrie.

Cas A : La granulométrie du produit est plus grossière que la moyenne, l'ellipse moyenne est incluse à l'intérieur du nuage de points représentatifs des lots mémorisés. Ceci explique que le produit, bien qu'appartenant

au faisceau de spectres, sera identifié avec une distance de Mahalanobis comprise entre 3 et 15.

Cas B : L'ellipse moyenne coïncide avec le nuage réel. Le produit se trouvant dans le faisceau de spectres sera ici reconnu avec une distance inférieure à 3.

Cas C : Dans ce cas la granulométrie est beaucoup plus fine que la moyenne, le nuage se trouve inclus dans l'ellipse moyenne.

Des risques de mauvaise identification peuvent apparaître dans ce cas.

Le cas idéal où ellipse moyenne et ellipse réelle coïncident n'existe pas dans le cas des poudres, où nous avons affaire à des granulométries très variables.

C'est pourquoi, nous le verrons par la suite, il sera parfois nécessaire de travailler en distance normalisée dans le cas de granulométries hétérogènes, cette distance tenant compte de la taille du nuage.

2-2 - Etablissement de l'équation discriminante

2-2-1 - Collecte des données

Afin d'établir un fichier global qui nous servira de bibliothèque de référence pour l'identification d'un produit, il est nécessaire de mémoriser si possible au moins 10 spectres par produit.

Les échantillons sélectionnés pour l'étalonnage doivent être représentatifs du produit à mémoriser.

Il est donc nécessaire de vérifier systématiquement tous les spectres et de recontrôler les paramètres susceptibles d'évoluer.

2-2-2 - Equation de calibration

A partir du fichier global ainsi constitué, le programme calcule l'équation de calibration (ou équation discriminante).

Cette équation est établie avec 19 longueurs d'ondes dans le cas de l'infraalyzer 450. Nous avons joint un exemple d'équation en annexe 1, ainsi que quelques exemples de classification.

2-2-3 - Paramètres statistiques

Les paramètres statistiques suivants permettent d'évaluer la qualité de l'équation discriminante :

- SISD (Sum of Inverse Squared Distances)

$$SISD = \Sigma (1/D^2)$$

Ce paramètre évalue les distances entre les différents centres statistiques des nuages. Il doit être le plus faible possible.

- Total inverse distance

Ce paramètre évalue la qualité dispersive de chaque longueur d'onde vis-à-vis de l'ensemble des nuages.

Il est calculé pour chaque longueur d'onde, et sert à déterminer quelle longueur

d'onde peut être éliminée afin d'améliorer la calibration.

- RMS (Root Mean Square)

Il donne l'écart-type des valeurs d'absorbance obtenues pour une famille de produit, il représente par conséquent la dispersion intrinsèque de chaque nuage.

$$RMS = \left(\frac{Di^2}{N-1} \right)^{1/2}$$

Di = distance entre l'échantillon et le centre statistique.

- Le Chi-Square

Ce paramètre évalue la précision sur la détermination des constantes de calibration. Il doit être le plus faible possible.

2-3 - Applications à l'identification des matières premières

2-3-1 - Cas des poudres

2-3-1-1 - Collecte des échantillons

- Sélection des échantillons

Notre collecte à été réalisée à partir d'échantillons de réserve stockés dans l'échantillothèque. Nous avons recueilli les échantillons les plus récents possibles, (moins de un an), et représentatifs de chaque matière première. En cas de doute sur les

qualités physico-chimiques d'un produit, nous l'avons recontrôlé et en fonction du résultat inclus ou non dans la collecte.

Nous avons essayé de sélectionner au moins 10 échantillons par matière première. Cependant, pour certains produits peu utilisés, le nombre de lots disponibles était insuffisant, ce qui explique l'impossibilité d'inclure certaines matières premières dans la collecte.

- Etalonnage

Chaque lot de matière première est passé deux fois dans la coupelle à poudre US1 réf. 189-BO90-02.

Aucune préparation de l'échantillon n'est nécessaire. La coupelle contenant la poudre est placée dans le tiroir ; c'est la fermeture du tiroir qui déclenche l'analyse.

Nous avons utilisé deux coupelles différentes afin d'intégrer les variations dues à la coupelle.

Chaque matière première est mémorisée dans un fichier individuel.

Nous avons procédé à l'examen systématique de chaque fichier, afin d'apprécier la qualité de la collecte. Chaque spectre anormal a été supprimé.

Nous avons pu observer différents paramètres susceptibles de jouer sur l'homogénéité de l'étalonnage :

- l'humidité du produit
- la granulométrie
- l'origine des matières premières (fournisseurs différents)
- le vieillissement des produits

- Influence de l'humidité

Une humidité importante au niveau d'un échantillon est aisément détectable au niveau de son spectre. Nous pouvons en effet observer un pic plus important à 1940 nm, ce qui correspond au pic de l'eau.

Ce problème est fréquemment rencontré avec les poudres hygroscopiques comme les carbopols. Ceci nous conduit, dans ce cas, à vérifier la teneur en eau de l'échantillon (par perte étuve ou titrage de Karl-Fisher), et, s'il est hors normes, à le supprimer de notre étude.

- Influence de la granulométrie

Nous pouvons observer que la granulométrie d'une poudre influe sur la répartition des spectres, la taille des grains étant proportionnelle à l'absorbance.

Ceci va se traduire, pour les produits présentant des granulométries hétérogènes, par des spectres décalés en absorbances.

Dans la mesure où la granulométrie n'est pas un critère de refus de la matière première, l'étalonnage sera laissé tel quel.

Cependant, nous le verrons par la suite, ce facteur pourra être à l'origine de problèmes d'identification.

- Influence du fournisseur

Il est possible, pour une matière première issue d'origines différentes, de reconnaître le fournisseur lors de l'examen des spectres.

S'il existe plusieurs fournisseurs pour une même matière première, il est souhaitable d'inclure dans la collecte un nombre identique de lots des différents fournisseurs.

- Vieillissement et altération des produits

Nous l'avons dit précédemment, nous avons utilisé lors de l'étalonnage des échantillons les plus récents possibles.

Malgré cela, certains produits peuvent s'altérer du fait d'une mauvaise conservation (flacons mal bouchés, température excessive).

C'est le cas de la DHA (dihydroxyacétone), qui se présente sous forme de dimère. Sa conservation se fait normalement au froid ; par chauffage elle se dégrade en monomère correspondant.

L'examen du spectre nous montre 3 pics, sauf pour 2 échantillons où l'on n'observe que 2 pics. Ces 2 échantillons correspondent à la forme monomère, ils sont donc éliminés de la collecte.

2-3-1-2 - Calibration

Nous avons établi un fichier global regroupant 47 fichiers de matières premières différentes.

A cela, nous avons pu rajouter, grâce à un transfert d'étalonnage, un fichier de 44 matières premières provenant des laboratoires l'Oréal d'Aulnay.

Ceci nous a permis d'établir une équation de calibration.

- Transfert d'étalonnage ou biais

But : permettre le transfert des données d'un infraalyzer à un autre.

Il s'agit d'une transposition d'étalonnage diagnose effectuée à partir d'un infraalyzer 500 (Aulnay) sur un infraalyzer 450 (Vichy).

Le transfert du fichier se fait à l'aide d'une disquette.

Afin d'adapter les données contenues sur la disquette à l'infraalyzer 450, il est nécessaire d'effectuer une correction de biais. Pour cela, nous collectons dans l'infraalyzer 450 un échantillon pris dans notre échantillothèque de chaque matière première du fichier à transposer.

Nous constituons ainsi un fichier biais qui permet, grâce au logiciel, une correction de l'équation de calibration.

La liste des matières premières contenues dans le fichier global est représentée pages suivantes :

MATIERES PREMIERES CONTENUES DANS LE FICHIER POUDRES

Groupe	Matière Première	Nature
1	Magnésie carbonate précipité	
2	Cholestérol pur	
3	Talc	
4	Acide citrique anhydre	
5	NaCl	
6	Benzoate de sodium	
7	POB propyle	
8	BOB méthyle	
9	kaolin	
10	Acide EDTA	
11	Phosphate disodique	
12	PVP	
13	Carbopol 394	
14	Allantoïne	
15	Ammonyx 4002 F	Sel d'ammonium IVre
16	Magnésie sulfate, 7H2O	
17	Acide laurique	
18	Phosphate monosodique cristallisé	
19	Polyox coagulant	POE à haut PM
20	Pantothénate de calcium	
21	Amide nicotinique	
22	Dioxyde de titane	
23	Blanose 7M8/SF	Sodium carboxyméthylcellulose
24	Luviskol VA64	Copolymère acétate vinyle/vinyl pyrrolidone
25	Gluconal CAM	Gluconate de calcium
26	Locron P	Hydroxychlorure d'aluminium

27	Carbopol 940	
28	BHT	Ditertiobutyl paracrésol
29	Trilon A92	Acide nitrilotriacétique, sel de Na3
30	Elestab 4113	Sels et esters de l'acide p. hydroxy benzoïque
31	Uvasorb MET Rhodialux A	Hydroxy- 2 méthoxy- 4 benzophénone
32	Carbopol 941	
33	Methocel F4M	hydroxy propylméthyl cellulose
34	Anti UVS	Hydroxy- 2 méthoxy- 4 benzo 5sulfophénone
35	Dichlorhydrate de chlorhexidine	
36	Nipastat	Ester de l'acide p. hydroxybenzoïque
37	Irgasan DF 300	Triclosan
38	Aérosil R 972	Dioxyde de silicium
39	Diiséthionate d'hexamidine	
40	Polymer JR 400	Polymère dérivé de la cellulose
41	Dowicil	Chlorure d'ammonium IVre
42	Masquol 4 NA	EDTA, 4 Na
43	Elestab 4112	Esters de l'acide p. hydroxybenzoïque
44	DUB 79 P	Sel d'ammonium IVre
45	Hydroxy propyl cellulose	
46	Germall 115	copolymère imidazolinique urée
47	Dissolvine Na2	Sel disodique de l'EDTA
48	POB butyle	
49	Citrate trisodique dihydraté	
50	Hydrogénophosphate dipotassique	
51	Hydroxyéthylcellulose	
52	Chlorhydrate de pyridoxine	
53	Gotalène 120	Polyéthylène
54	Rhodopol	Hétéropolysaccharide

55	Jaguar HP8	Dérivé de gomme guar
56	Hydagen F	Sel d'un acide polyhydrocarbonique
57	Octopirox	Piroctone olamine
58	Germall2	Diazolidinyl urée
59	Hombitan R 610 D	Oxyde de titane
60	Carbopol 980	
61	Amidon de maïs	
62	Amidon de riz	
63	Dry-flow cosmétiç	Ester d'amidon de maïs
64	Pristirène 4900	Acide stéarique
65	Stéarine triple pression qualité spéciale	Acide stéarique
66	Oxyde de calcium	
67	Dihydroxyacétone	
68	Fenopon AC 78	TA anionique
69	Arlacel 165 LO	Ester de l'acide stéarique
70	Hydroxyproline	
71	Caféïne anhydre	
72	Trypto-tan LS 2536	
73	Thioxolone	
74	Acide hyaluronique, sel de Na	
75	Sodium hyaluronate	
76	Collagène greffé	
77	Stimotan LS 869	Acides aminés
78	Mexoryl SN	Thiolane diol
79	Veegum R	Silicate de Mg et Al Hydraté
80	Luxelen Silk D	Oxyde de titane
81	Extrait sec de noix de cola	
82	Extrait placentaire philatov bovin lyophylisé	
83	Satiagum standard	Carraghénane

84	Amphisol K	Hexadécylphosphate de potassium
85	Acylglutamate HS 11	Dérivé de l'acide glutamique
86	Aloé-Con WG 200	Extrait végétal (aloès)
87	Extrait d'Eleutherococcus	
88	Avedex W 90	Amidon de pomme de terre
89	Socal 2 G 90 A	Carbonate de calcium
90	Amidon de riz insoluble	
91	Lierre grimpant saponines totales	

2-3-1-3 - Identification en routine

Afin de tester le programme d'identification des matières premières, nous avons analysé en routine, au fur et à mesure des réceptions, 103 lots de poudres correspondant à 78 matières premières.

Les carbopols sont étudiés séparément, car ils posent des problèmes d'identification.

Les résultats sont regroupés dans les tableaux pages suivantes.

Ils sont exprimés en distance de Mahalanobis et en distance normalisée.

- En distance de Mahanalobis

* 64 lots ont été reconnus avec une distance de Mahanalobis infèrieure à 3.

* 36 lots ont été reconnus avec une distance comprise entre 3 et 15.

* 3 lots n'ont pas été identifiés (distance de Mahalanobis > 15).

Ces lots correspondaient à une livraison de granulométrie différente. La distance normalisée a cependant permis leur identification avec une distance < 3.

- En distance normalisée

* 95 lots ont été identifiés avec une distance normalisée inférieure à 3.

* 3 lots ont été identifiés avec une distance comprise entre 3 et 15.

* Enfin, il y a eu erreur d'identification sur 5 lots (confondus avec d'autres matières premières). Ceci est dû à la moins bonne sélectivité de la distance normalisée, qui augmente le risque d'erreur en cas de nuages très proches.

Il est préférable de travailler en première intention en distance de Mahalanobis, celle-ci, plus sélective, permettant d'identifier plus de 97 % des matières premières.

Sa seule limite consiste en la difficulté d'identification des matières premières à granulométrie variable (Dm souvent supérieure à 3).

La livraison d'un lot de ganulométrie variable, un changement de fournisseur, peuvent conduire à la non-identification de matières premières pourtant acceptables.

Différentes solutions peuvent être envisagées afin de remédier à ce problème :

- compléter la gamme d'étalonnage en y intégrant les nouvelles granulométries.
- travailler en distance normalisée.

La première solution implique une modification des paramètres de l'équation discriminante, avec nécessité de vérifier la validité de la nouvelle équation.

La seconde solution semble la plus simple à mettre en oeuvre, elle donne en outre de bons résultats. En effet, les lots n'ayant pas été identifiés en distance de Mahalanobis l'ont été sans problème en distance normalisée.

Nous pouvons ainsi envisager de faire :

- 1 essai en distance normalisée
- 1 essai en distance de Mahalanobis

Dans le cas où cette méthode ne serait pas satisfaisante (changement trop important de granulométrie), il serait nécessaire de refaire un étalonnage.

- Cas des amidons

- Avedex W 90 (amidon de pomme de terre)
- Amidon de riz
- Amidon de riz insoluble
- Dry-flow cosmetic (ester d'amidon de maïs)
- Amidon de maïs

Ces produits ont leurs nuages très proches les uns des autres, par conséquent il existe un risque d'erreur de classification, en particulier entre les deux amidons de riz et les deux amidons de maïs.

Ce risque n'apparaît pas en distance de Mahalanobis, les échantillons testés ayant été identifiés correctement, avec cependant des distances très voisines.

Par contre, en distance normalisée, 4 erreurs de classification sont apparues, ce qui confirme l'inadaptation de la distance normalisée dans le cas de substances semblables les unes aux autres.

- Cas des carbopols

Les carbopols sont des polymères carboxy vinyliques de très haut poids moléculaire, se présentant sous la forme de poudres blanches solubles dans l'eau.

Les solutions aqueuses neutralisées de carbopols forment des gels de haute viscosité.

Nous disposons de quatre types de carbopols :

carbopol 934
carbopol 940
carbopol 941
carbopol 980

Ces matières premières, très proches les unes des autres, présentent des variations importantes de viscosité.

Nous avons testé en identification 10 lots des différents carbopols.

- En distance de Mahalanobis :

- 5 lots ont été identifiés
- sur les 5 autres lots, il y a eu une mauvaise classification.

De plus, les lots testés se situent à des distances < 3 des groupes de référence, ce qui confirme leur similitude.

- En distance normalisée :

- Seulement 3 lots ont été classés correctement.

Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

Type	Distance de Mahalanobis				Classé comme	Distance normalisée avec				Classé comme
	934	940	941	980		934	940	941	980	
934	0,69	1,51	0,91	1,76	934	0,38	0,22	0,27	0,25	940
934	1,01	0,30	0,83	0,73	940	0,37	0,12	0,30	0,27	940
934	2,15	1,10	1,71	0,87	980	0,79	0,43	0,62	0,33	980
940	0,82	1,58	1,33	2,00	934	0,32	0,46	0,42	0,60	934
940	1,35	0,45	1,21	0,81	940	0,50	0,18	0,44	0,30	940
941	1,08	0,94	0,55	0,86	941	0,40	0,37	0,20	0,32	941
941	0,89	0,86	0,27	0,91	941	0,33	0,34	0,10	0,34	941
980	0,89	0,74	0,96	1,08	940	0,33	0,29	0,35	0,41	940
980	0,77	0,87	0,79	1,09	934	0,28	0,34	0,29	0,41	934
980	1,30	0,74	1,04	0,71	980	0,44	0,20	0,33	0,22	940

L'équation discriminante des poudres ne permettant pas d'obtenir des résultats corrects, nous avons essayé, afin d'améliorer l'identification des carbopols, d'établir une nouvelle équation discriminante à partir d'un fichier global contenant ces quatre matières premières.

Nous avons par la suite testé en identification 42 échantillons de ces produits. Nous avons travaillé uniquement en distance de Mahalanobis, la distance normalisée, nous l'avons vu précédemment, présentant un risque d'erreur trop important.

Résultats :

- A partir de l'équation globale des poudres :

14 identifications correctes sur 42.

- A partir de l'équation ne contenant que les carbopols :

29 identifications correctes sur 42.

Nous pouvons observer une nette amélioration des résultats, la diminution du nombre de matières premières du fichier global permettant une meilleure discrimination.

Cette amélioration est cependant insuffisante pour que cette nouvelle équation soit utilisée en routine.

Afin de tester l'influence du nombre de longueurs d'ondes sur la discrimination, nous avons établi, à partir du même fichier de carbopols, trois nouvelles équations, l'une à 18 et les autres à 17 et 16 longueurs d'ondes, le logiciel déterminant la meilleure combinaison de longueurs d'ondes.

Sur les 42 mêmes échantillons testés, les résultats ont donné :

- Equation à 18 longueurs d'ondes :
  32 identifications correctes.

- Equation à 17 longueurs d'ondes :
  33 identifications correctes.

- Equation à 16 longueurs d'ondes :
  33 identifications correctes.

Il apparaît une amélioration, mais elle demeure insuffisante; la diminution du nombre de longueurs d'ondes n'améliore pas significativement la discrimination.

Il semblerait intéressant d'essayer d'identifier les différents carbopols à l'aide d'un infraalyzer 500, ce qui permettrait de travailler sur l'ensemble du spectre (200 longueurs d'ondes), ainsi que sur les dérivées 1ère et 2nde des spectres à étudier.

Nous avons par la suite procédé à d'autres essais d'identification sur divers échantillons. Les résultats sont les suivants :

- Nous avons passé un échantillon de DHA (forme monomère dégradée). Il n'a pas été identifié, ce qui est conforme, ce lot devant théoriquement être refusé.
- Des échantillons de matières premières inconnues n'ont pas été identifiés.

RESULTATS POUDRES

Groupe N°	Matière première (MP)	Distance de Mahalonobis	Distance Normalisée
2	Cholestérol pur	< 3	< 3
3	talc	4,61	3
4	acide citrique anhydre	< 3	< 3
5	chlorure de sodium	< 3	< 3
6	benzoate de sodium	3,05	< 3
7	POB propyle	< 3	< 3
8	POB méthyle	< 3	< 3
9	kaolin	< 3	< 3
10	acide EDTA	< 3	< 3
11	phosphate disodique	< 3	< 3
12	polyvinyl pyrrolidone	< 3	< 3
14	allantoïne	< 3	< 3
16	magnésium sulfate	5,05	< 3
17	acide laurique	4,97 < 3	< 3 < 3
18	Phosphate monosodique	11,40 15,96	< 3 < 3
19	Polyox coagulant	3,99	< 3
20	pantothénate de calcium	< 3	< 3
21	amide nicotinique	< 3	< 3
22	dioxyde de titane	< 3	< 3
25	gluconal CAM	< 3	< 3
26	locron P	< 3	< 3
28	BHT	6,59	< 3
30	Elestab 4113	4,41 < 3	< 3 < 3
31	hydroxy-2 méthoxy-4 benzophénone	< 3 8,53	< 3 < 3

33	Méthocel F4M	< 3	< 3
34	Anti UVS	< 3	< 3
35	Dichlorhydrate de chlorhexidine	9,78	erreur de classification
36	Nipastat	4,21 < 3	< 3 < 3
37	Irgasan DF 300	< 3	< 3
38	Aérosil R 972	6,13	< 3
39	diiséthionate d'hexamidine	< 3 < 3	< 3 < 3
40	Polymer JR 400	< 3	< 3
41	Dowicil 200	< 3	< 3
42	Masquol 4 Na	6,18	< 3
43	Elestab 4112	< 3	< 3
44	Dub 79 P	< 3	< 3
46	Germall 115	6,09 15,10	< 3 < 3
47	Dissolvine Na 2	< 3	< 3
48	POB butyle	3,32	< 3
49	citrate trisodique dihydraté	< 3	< 3
50	hydrogénophosphate dipotassique	< 3	< 3
52	chlorhydrate de pyridoxine	< 3 3,99	< 3 < 3
53	gotalène 120	< 3	< 3
54	Rhodopol	< 3	< 3
55	Jaguar HP8	< 3	0,40
57	Octoprirox	< 3	< 3
58	Germall 2	< 3	< 3
59	Hombitan R 610 D	< 3	< 3
64	Pristirène 4900	< 3 10,98	< 3 < 3
65	Stéarinetriple pression spéciale	< 3	0,79
66	Oxyde de calcium	< 3	< 3

67	DHA	< 3 4,45 3,94	< 3 < 3 < 3
68	Fenopon AC 78	< 3	< 3
69	Arlacel 165 LO	4,28 8,04 19,59 4,67	< 3 < 3 3,44 < 3
70	Hydroxyproline	< 3 8,07	< 3 < 3
71	Caféine anhydre	4,92 4,14	< 3 < 3
72	Trypto-tan	3,64	< 3
73	Thioxolone	< 3	< 3
74	Acide hyaluronique, sel de sodium	9,59 3,83	< 3 < 3
75	Sodium hyaluronate	< 3	0,75
76	Collagène greffé	< 3	< 3
77	Stimotan LS 869	< 3	< 3
78	Mexoryl SN	11,67 11,60 10,75	< 3 < 3 < 3
79	Veegum R	< 3	< 3
80	Luxelen silk D	< 3	< 3
81	Extrait de noix de cola	< 3	< 3
82	Extrait placentaire lyophylisé	8,60 7,72	4,35 3,57
83	Satiagum standard	< 3	< 3
84	Amphisol K	4,04	< 3
85	Acylglutamate HS 11	< 3	< 3
86	Aloe Con WG 900	4,44	< 3
87	extrait alcoolique d'Eleutherococcus	8,16	< 3
91	Lierre grimpant	< 3	1,20
61	Amidon de maïs Codex	1,28 0,95	1,29 1,59

62	Amidon de riz	1,05 1,20	0,76 0,86
63	Dry-flow cosmétic	< 3 < 3	Erreur de classification Erreur de classification
88	Avedex W 90	< 3 < 3	< 3 < 3
90	Amidon de riz insoluble	1,03 1,70	Erreur de classification Erreur de classification

Conclusions

D'une manière générale, l'identification des matières premières pulvérulentes est satisfaisante. En distance de Mahalanobis 97 % des matières premières sont identifiées.

Par contre, nous avons eu confirmation de l'inadéquation de la distance normalisée pour l'identification de produits très voisins (carbopols, amidons).

L'inconvénient principal demeure la granulométrie, le changement trop fréquent de granulométrie, le choix d'un nouveau fournisseur impliquera inévitablement la nécessité d'effectuer de nouveaux étalonnages.

2-3-2 - Cas des matières premières pâteuses

2-3-2-1 - Collecte

Nous avons créé un nouveau fichier contenant 117 échantillons représentatifs de 10 matières premières pâteuses.

Nous avons utilisé la coupelle ouverte US2 réf. 189-0822-01. Le mode de travail utilisé est la réflexion.

Aucune préparation de l'échantillon n'est nécessaire. Il faut cependant veiller à obtenir une bonne homogénéité au sein de l'échantillon et un état de surface régulier afin d'éviter une mauvaise répartition et un enchevêtrement des spectres.

Nous avons lancé une nouvelle équation de calibration à partir de laquelle nous avons procédé à des identifications.

Liste des matières premières pâteuses contenues dans le fichier global :

GROUPE	MATIERE PREMIERE	NATURE
1	Vaseline blanche	
2	Huile de fleur de palme	
3	Stellux A1	Lanoline
4	Labrafil	Glycérides saturés C12 C18 POE
5	Protegin X	Esters d'acides gras et de glycérol + huiles alimentaires
6	Extrait X	Mélange de cires
7	Miglyol gel	Triester d'acide caprique et caprylique et de glycérine + montmo-rillonite
8	Gel Bentone	Montmorillonite modifiée en suspension huileuse
9	Beurre de Karité	
10	Lanoline hydrogénée	

2-3-2-2 - Identification en routine

Nous avons testé en routine 15 échantillons des différentes matières premières.

Résultats produits pâteux

GROUPE	MATIERE PREMIERE	DISTANCE DE MAHALANOBIS	DISTANCE NORMALISEE
1	Vaseline	3,44	< 3
		3,54	< 3
	blanche	< 3	< 3
2	Huile de fleur de Palme	7,26	< 3
		9,82	< 3
3	Stellux A1	9,85	< 3
4	Labrafil	6,84	< 3
5	Protegin X	3,02	< 3
		3,70	< 3
6	Extrait X	< 3	< 3
7	Miglyol gel	3,47	< 3
8	Gel bentone	4,05	< 3
9	Beurre de karité	6,12	< 3
		3,26	< 3
10	Lanoline hydrogénée	4,81	< 3

- En distance de Mahalanobis

Sur les 15 échantillons testés :

- 2 ont été reconnus avec une distance < 3
- 13 ont été reconnus avec une distance comprise entre 3 et 15.

- En distance normalisée, tous les échantillons ont été reconnus avec un distance < 3.

Il peut cependant apparaître un risque de confusion en distance normalisée entre le

Protegin X et l'extrait X, ce dernier produit contient en effet environ 40 % de Protegin X.

Conclusion

100 % des produits contenus dans le fichier "matières premières pâteuses" sont identifiés correctement, aussi bien en distance normalisée qu'en distance de Mahalanobis, cette dernière sera préférée en diagnose, car plus sélective.

2-3-3 - Produits en écailles et cires

Cette catégorie de produits représente une partie importante des réceptions en nombre d'emballages, il paraît donc intéressant d'essayer de les identifier.

2-3-3-1 - Préparation des échantillons

Du fait de leur aspect (écailles, pastilles de cire), ces produits nécessitent une préparation préalable de l'échantillon.

Nous avons donc fondu les échantillons à l'étuve (80° - 100°C), puis nous les avons coulés dans les coupelles jetables I1 réf. 127-IRXX-01.

Nous avons ensuite refroidi les échantillons à + 4°C, jusqu'à prise en masse complète.

Les coupelles jetables sont des coupelles en matière plastique noire, elles nous ont paru les plus simples à utiliser du fait de la présentation de l'échantillon. Le mode de travail utilisé est la réflexion.

2-3-3-2 - Collecte

Nous avons constitué un fichier de 200 échantillons représentatifs de 12 matières premières, à partir duquel nous avons établi une équation.

Liste des matières premières contenues dans le fichier écailles et cires.

Groupe	Matière première	Nature
1	Sipol C16 pur	Alcool cétylique
2	Sinnowax AO	Alcool stéarylique (80) + alcool céto-stéarylique éthoxylé (20)
3	Sipol C16-C18/C5	Alcool céto-stéarylique 50/50
4	Sipol C16-C18/OR	Alcool céto-stéarylique 30/70
5	Simulsol 165	Ester de l'acide stéarique
6	Cire d'abeilles	
7	Géléol	Mono + distérate de glycérol
8	Sinnowax CSNO	Alcool céto-stéarylique (80 %) + alcool oléocétylique 12 OE (20 %)
9	Sipol C18 pur	Alcool stéarylique pur
10	Glucate SS	Méthylglucose sesquistéarate
11	Cutina CP	Esters d'acides gras
12	Lipacide PCO	Lipoaminoacides

2-3-3-3 - Identification en routine

42 échantillons ont été testés en routine.

Résultats écailles et cires

Groupe	Matière première	Distance de Mahalanobis	Distance normalisée
1	Sipol C16 pur	4,30	< 3
		3,61	< 3
		< 3	< 3
		4,20	< 3
		4,41	< 3
		4,56	< 3
2	Sinnowax AO	3,76	< 3
		5,47	< 3
		7,77	< 3
		3,67	< 3
		4,50	< 3
		4,93	< 3
3	Sipol C16-C18/C5	8,62	< 3
		8,22	< 3
		6,37	< 3
		6,03	< 3
		3,02	< 3
4	Sipol C16-C18/OR	6,52	< 3
		5,63	< 3
		7,60	< 3
		4,26	< 3
5	Simulsol 165	8,87	< 3
		4,93	< 3
		6,77	< 3
6	Cire d'abeilles	5,73	< 3
		< 3	< 3
		8,23	< 3
		3,72	< 3
7	Géléol	5,92	< 3
		5,06	< 3
		5,70	< 3
8	Sinnowax CSNO	5,15	< 3
		5,37	< 3
		10,48	< 3
9	Sipol C18 pur	< 3	< 3
		3,36	< 3
10	Glucate SS	5,28	< 3
		3,54	< 3
11	Cutina CP	5,92	< 3
		6,37	< 3
12	Lipacide PCO	6,13	< 3
		5,01	< 3

Résultats :

- En distance de Mahalanobis

* 3 échantillons ont été reconnus avec une distance < 3.

* 39 ont été reconnus avec une distance comprise entre 3 et 15.

- En distance normalisée

42 échantillons ont été reconnus avec une distance < 3, avec cependant un risque d'erreur entre :

- Sipol C16 pur et Sipol C18 pur
- Sinnowax AO et Sinnowax CSNO
- Sipol C16-C18|C5 et Sipol C16-C18|OR

Nous avons procédé à d'autres essais d'identification, sur divers échantillons.

- Sipol C16-C18|C5 (échantillon peroxydé)

Cet échantillon est parfaitement reconnu, aussi bien en distance normalisée qu'en distance de Mahalanobis. La méthode ne permet donc pas de distinguer des lots peroxydés.

- Simulsol 165

Nous avons préparé deux échantillons d'un même lot fournisseur.

Le premier est laissé 10' à température ambiante dans la coupelle. Il n'est identifié ni en distance de Mahalanobis ni en distance normalisée.

Le second est refoidi dans les conditions normales (+4°C), il est correctement identifié.

Il est donc nécessaire de respecter les conditions de préparation de l'échantillon, en particulier d'obtenir une prise en masse complète.

Conclusion

La méthode permet d'identifier 100 % des matières premières contenues dans le fichier. Elle permet en particulier de distinguer les alcools gras (Sipol, Sinnowax) entre eux. Ces matières premières sont difficiles à distinguer par la diagnose classique, elles donnent en effet les mêmes résultats en CCM.

Les résultats sont équivalents en distance de Mahalanobis et en distance normalisée, si ce n'est qu'en distance normalisée, les produits sont reconnus avec une distance < 3.

2-3-4 - Cas de matières premières liquides

Nous avons constitué un nouveau fichier contenant divers types de liquides :

- huiles végétales
- acides gras
- solvants
- esters
- huiles minérales
- tensio-actifs
- actifs biologiques en solution aqueuse.

2-3-4-1 - Matériel utilisé

Nous disposons pour l'analyse des liquides d'un tiroir liquide type F1 thermostatable.

Caractéristiques :

- travaille en transflexion
- fond de cellule en laiton doré
- fenêtre en quartz infrasil
- tubulures en acier inox ou téflon
- raccord inox ou laiton
- joint de cellule en téflon ou viton
- thermostatisation par circulation d'eau (nécessite un bain-marie régulé extérieur)

L'injection se fait à la seringue, mais le système est automatisable (circulation de liquide par pompage). Le volume de la cellule est de 200 µl.

Le système est relié à un bain-marie thermostaté HAAKE D8, maintenu à + 30° C.

Une fois le serrage de la cellule effectué, il ne faut plus le modifier, en effet, toute variation de largeur de la cellule entraîne une modification du trajet optique, et par conséquent des absorbances.

2-3-4-2 - Choix du solvant de rinçage.

Il est nécessaire, entre chaque injection de liquides, de procéder au rinçage de la cellule à l'aide d'un solvant approprié.

Ce dernier doit répondre aux critères suivants :

- inocuité
- solubilisation du plus grand nombre de matières premières.
- possibilité de l'utiliser lors de l'automatisation des liquides.

Notre choix s'est porté sur l'isopropanol.

Cependant, certaines matières premières sont insolubles dans ce solvant, par exemple les solutions de collagène qui précipitent avec l'isopropanol, d'où la nécéssité de les rincer à l'eau distillée.

Il faut donc contrôler la solubilité de chaque matière première et y adapter éventuellement le choix du solvant.

La nécessité d'utiliser plusieurs solvants risque de rendre difficile l'automatisation du système.

2-3-4-3 - Collecte.

Nous passons en moyenne 10 lots pour chaque matière première, chaque lot étant passé 2 fois.

L'injection se fait à la seringue, à raison de 5 à 10 ml par échantillon.

Entre chaque matière première, il est nécessaire de rincer la cellule avec au moins 20 ml de solvant.

Nous avons établi un fichier de 41 matières premières liquides, à partir d'échantillons de moins de 6 mois, sauf pour certains produits biologiques, car, ceux-ci se polluant facilement, il a été nécessaire de prendre des lots plus récents.

Nous avons procédé à l'examen des spectres et recontrôlé certains paramètres :

- indice de peroxydation pour les huiles (lots trop anciens).
- teneur en eau (pour le propylène glycol).

D'autre part, des problèmes nous sont apparus dans le choix du joint de la cellule.

Nous avons commencé à utiliser un joint en téflon, mais celui-ci, trop rigide, était à

l'origine de fuites au niveau de la cellule, faussant les étalonnages.

Notre choix s'est porté sur un joint en viton, plus souple, mais moins résistant. En effet, au fur et à mesure de l'utilisation, ce joint risque de se détendre, il sera donc nécessaire de le remplacer, ce qui implique d'ouvrir la cellule.

Nous serons donc conduits à effectuer une correction d'étalonnage, occasionnant une perte de temps, du fait de la modification de la largeur de la cellule.

Groupe	Matière première	Nature
1	Palmitate d'isopropyle	
2	palmitate d'éthyle 2 hexyle	
3	Cetiol LC DEO	Ester d'acide caprique caprylique et d'alcools gras
4	Ethyl-2 hexyle monococoate	
5	Stéarate d'isopropyle	
6	Nesatol	C10-C18 triglycérides
7	Myristate d'isopropyle	
8	Glycérine pure codex	
9	Marcol 82	Huile de vaseline
10	Propylène glycol	
11	Huile de sésame vierge	
12	Perhydrosqualène	
13	Huile d'avocat stabilisée	
14	Huile de jojoba pasteurisée	
15	Triéthanolamine	
16	Collagène soluble CLR	Solution aqueuse de collagène 300 γ /ml
17	Collagène cosmétique 1 %	
18	Trillagène	Solution aqueuse à 1 % de collagène à structure hélicoïdale préservée
19	Pancogène S	Solution aqueuse à 0,1 % de collagène natif
20	Phylderm filatov aqueux	Complexe aminonucléique stérile de tissu placentaire
21	Elastine CLR	Hydrolysat d'élastine en milieu hydrophile

Groupe	Matière première	Nature
22	Sipon LT 42	lauryl sulfate de triéthanolamine (TA anionique)
23	Chimexane	Dérivé d'amines grasses à structure bétaïnique (TA amphotère)
24	Ajidew N50	Sodium DL-2 pyrrolidone-5 carboxylate
25	Néopon LOS/RO	Lauryl éthersulfate de sodium (TA anionique)
26	Hygroplex HHG	complexe oses - aminoacides
27	Huile calophyllum	
28	Extrait huileux de jaune d'oeuf	
29	Polysynlane	Polyisobutène hydrogéné
30	Algisium	Méthylsilanetriol mannuronate
31	Dragosantol	(+-) alpha bisabolol
32	Huile de silicone	
33	Mellite mucopolysaccharidique	
34	Huile de cassis stabilisée	
35	Silanol théophyllinate	dérivé de théophylline en solution
36	Complexe SER 79	Complexe d'origine biologique
37	Setacin 103 spécial	Hémisulfosuccinate de sodium (TA anionique)
38	Collagène SPO	Solution à 2,2 % minimum de collagène soluble
39	Vitamine F forte	
40	Ethanol absolu 99,9 %	

2-3-4-4 - Identification en routine.

Nous avons testé en routine 48 échantillons des 40 matières premières aqueuses. Les résultats sont regroupés dans les tableaux suivants :

Résultats liquides

Groupe	Matière première	Distance de Mahalanobis	Distance normalisée
1	Palmitate d'isopropyle	4,03 4,73 5,13	< 3 < 3 < 3
2	Palmitate d'éthyle-2 hexyle	4,49	< 3
3	Cetiol L C DEO	3,21	< 3
4	Ethyl- 2 hexyle mono-cocoate	5,82	< 3
5	Stéarate d'isopropyle	5,51	< 3
6	Nesatol	4,79 5,24	< 3 < 3
7	Myristate d'isopropyle	3,64	< 3
8	Glycérine	4,36	< 3
9	Marcol 82	9,63	7,53
10	Propylène glycol	4,00	< 3
11	Huile de sésame vierge	3,92	< 3
12	Perhydrosqualène	4,70	< 3
13	Huile d'avocat stabilisée	< 3	< 3
14	Huile de jojoba pasteurisée	3,44	< 3
15	Triéthanolamine	10,42	< 3
16	Collagène soluble CLR	7,38 < 3	< 3 < 3
17	Collagène cosmétique 1 %	4,07	< 3
18	Trillagène	6,07	< 3
19	Pancogène S	4,56	< 3

Groupe	Matière Première	Distance de Mahalanobis	Distance normalisée
20	Phylderm filatov aqueux	non reconnu non reconnu	non reconnu non reconnu
21	Elastine CLR	4,23 6,45	non reconnu non reconnu
22	Sipon LT 42	6,39	< 3
23	Chimexane	8,72	< 3
24	Ajidew N 50	3,63 < 3	< 3 < 3
25	Neopon LOS/RO	4,97	< 3
26	Hygroplex HHG	5,24	< 3
27	Huile calophyllum	6,63	< 3
28	Extrait huileux de jaune d'oeuf	5,70	< 3
29	Polysynlane	6,43	< 3
30	Algisium	7,64	non reconnu
31	Dragosantol	5,25	< 3
32	Huile de silicone	5,28	3,16
33	Mellite mucopoly-saccharidique	4,38	3,74
34	Huile de cassis stabilisée	3,93	< 3
35	Silanol théophyllinate	< 3	Non reconnu
36	Complex SER 79	5,79	< 3
37	Setacin 103 spécial	3,76	<3
38	Collagène SPO	< 3	non reconnu
39	Vitamine F forte	5,03 4,52	< 3 < 3
40	Ethanol absolu 99,9 %	4,29	< 3

Résultats :

- En distance de Mahalanobis

* 5 lots ont été identifiés avec une distance < à 3.

* 41 ont été identifiés avec une distance comprise entre 3 et 15

* 2 lots n'ont pas été identifiés.

1 matière première n'est pas identifiée :

- le phylderm filatov aqueux, qui est identifié comme de l'élastine CLR.

- En distance normalisée

* 38 lots ont été identifiés avec une distance < 3

* 7 lots ont été identifiés avec une distance comprise entre 3 et 15

* 10 lots n'ont pas identifiés.

5 matières premières n'ont pas été identifiées en distance normalisée :

- le Phylderm filatov aqueux identifié comme du trillagène.

- l'élastine CLR identifiée comme du trillagène

- l'algisium identifié comme du trillagène

- le silanol théophyllinate identifié comme du trillagène

- le collagène SPO identifié comme du collagène CLR.

La distance de Mahalanobis est de loin préférable à la distance normalisée :

97 % des matières premières sont identifiées en distance de Mahalanobis contre 87 % en distance normalisée.

En ce qui concerne les matières premières en solution aqueuse :

- Trillagène
- Phylderm filatov aqueux
- Pancogène S
- Elastine CLR,

les erreurs de classification sont élévés. Leurs spectres se superposent avec celui de l'eau. Le pic principal d'absorption est situé à 1940 nm (pic de l'eau). Afin d'essayer d'améliorer l'identification, nous avons travaillé avec une nouvelle équation supprimant la longueur d'onde de l'eau (1940 nm), sur laquelle nous avons testé différents lots de matières premières aqueuses. Nous avons également passé de l'eau distillée pour observer la réaction du système.

	Equation à 19 longueurs d'ondes		Equation à 18 longueurs d'ondes	
	Distance de Mahalanobis	Distance normalisée	Distance de Mahalanobis	Distance normalisée
Trillagène	8,89	0,61	7,32	0,44
Pancogène S	7,06	1,37	6,22	1,23
Phylderm filatov aqueux	Non reconnu	Non reconnu	Non reconnu	Non reconnu
Eau distillée	reconnue comme du Pancogène S d = 6,13	reconnue comme du Trillagène d = 3,95	reconnue comme du Pancogène S d = 4,70	reconnue comme du Pancogène S d = 1,24

Nous n'observons pas d'amélioration par rapport à l'équation à 19 longueurs d'onde.

L'eau distillée est classée dans le groupe du Pancogène S ou du Trillagène, ce qui confirme la quantité élevée d'eau qu'elles contiennent, leur dilution plus ou moins

importante avec de l'eau ne peut donc être détectée en identification.

Nous avons par la suite procédé à d'autres essais d'identification, dont les résultats sont les suivants :

Matière première	Distance de Mahalanobis	Distance normalisée
Ethanol 95°	> 15	> 15
Huile de ricin (n'existe pas dans le fichier)	> 15	> 15
Vitamine F forte (lot peroxydé)	11,27	< 3
Propylène glycol (teneur en eau hors normes)	> 15	> 15

- Le système parvient à distinguer l'éthanol absolu de l'éthanol à 95 °

- Il ne classe pas un lot de propylène glycol dont la teneur en eau est trop élevée (2 % au lieu de < 0,2 %), ce qui est conforme au résultat souhaité.

- Par contre, il ne distingue pas un lot peroxydé de Vitamine F.

- Il ne classe pas un échantillon inconnu d'huile de ricin.

Conclusion

Le système permet l'identification de la plupart des liquides, à condition de travailler en distance de Mahalanobis.

Les inconvénients principaux restent d'ordre pratique (nettoyage de la cellule, usure du joint), qui risquent de compromettre l'automatisation ultérieure du système.

2-3-5 - Cas des produits visqueux

2-3-5-1 - Collecte

Cette catégorie de produits, trop visqueux pour être passés dans le tiroir liquide, a été regroupée dans un autre fichier.

Afin de mémoriser les spectres, nous avons utilisé la coupelle en aluminium UK1 réf. DMT 1525 - 01), dont les caractéristiques sont les suivantes :

- fond et monture monobloc en aluminium anodisé et brossé.
- épaisseur fixe 0,3 mm
- fenêtre : lame de microscope.
- mode de travail : transflexion.

Il n'y a pas de préparation de l'échantillon, il faut simplement éviter la formation de bulles d'air au niveau de la coupelle.

Le fichier global contient 13 matières premières, soit 214 spectres, chaque lot étant passé deux fois.

Liste des matières premières contenues dans le fichier liquides visqueux

Groupe	Matière première	Nature
1	Comperland KD	Diéthanolamide d'acides gras de Coprah (TA non ionique)
2	Stellanol	Lanoline liquide
3	Dow Corning QCF2 1671	Silicones
4	Texapon N70 pâte	Lauryl éther sulfate de sodium (TA anionique)
5	Glycérine pure codex	
6	Acétate de vitamine E	
7	Chimexane HD	TA amphotère à base alkylimidazolique
8	Gafquat 755	Polymère cationique de vinyl pyrrolidone
9	Inwitor	Glycéride partiel modifié de l'acide isostéarique (TA non ionique)
10	Gantrez ES 425	Résine
11	Subimag LS 1364-4769B	Complexe d'origine biologique
12	Grillocin HY 77	Ricinoléate de zinc (= 66 %)
13	Tocophérol concentrats naturels	Tocophérols totaux non estérifiés

2-3-5-2 - Identification en routine.

Nous avons testé en routine 18 échantillons représentant les matières premières du fichier.

Les résultats sont les suivants.

Résultats liquides visqueux

Groupe	Matière première	Distance de Mahalanobis	Distance normalisée
1	Comperland KD	6,70 4,45	< 3 < 3
2	Stellanol	8,85 3,60 7,10	3,65 < 3 < 3
3	Dow Corning QCF2 1671	< 3	< 3
4	Texapon N 70	3,77	< 3
5	Glycérine Codex	< 3	< 3
6	Acétate de vitamine E	4,06	< 3
7	Chimexane HD	6,16	< 3
8	Gafquat 755	10,56 6,61	< 3 < 3
9	Imwitor 780 K	4,67	< 3
10	Gantrez ES 425	7,23 4,99	< 3 < 3
11	Sublimag LS 1364-4769 B	6,91	< 3
12	Grillocin HY 77	7,61	< 3
13	Tocophérol concentrats naturels	4,87	< 3

- En distance de Mahalanobis :

  * 2 lots ont été identifiés avec une distance < 3.

  * 16 lots ont été identifiés avec une distance comprise entre 3 et 15.

- En distance normalisée

  * 17 lots ont été identifiés avec une distance < 3

  * 1 lot a été identifié avec une distance comprise entre 3 et 15.

Par ailleurs, nous avons testé trois autres lots :

- un lot d'acétate de vitamine E et un lot d'Imwitor 780 K peroxydés. Ces lots ont été identifiés.

- Un lot de glycérine refusé pour présence de matières réductrices. Ce lot a été identifié.

L'infraalyzer ne permet donc pas de détecter ces paramètres hors normes.

Conclusion

Toutes les matières premières du fichier sont identifiées, aussi bien en distance de Mahalanobis qu'en distance normalisée.

2-4 - Conclusion

L'utilisation de l'infraalyzer 450 pour l'analyse qualitative est satisfaisante, il permet en effet d'identifier la plupart des matières premières.

Pour certaines familles de matières premières (amidons, huiles, alcools gras), l'identification est plus fiable que la diagnose classique.

Cette méthode offre de nombreux avantages:

- propreté
- pas de préparation de l'échantillon (sauf pour les produits en écailles).
- temps de réponse rapide (moins de 2 minutes pour une analyse).
- fiabilité (permet la caractérisation d'une matière première précise).

Cependant, certaines limites apparaissent dans la méthode :

- Certaines matières premières similaires ne sont pas identifiables (carbopols)

- La granulométrie des poudres peut conduire à des erreurs de classification.

- En ce qui concerne les liquides, l'automatisation semble difficile à mettre en oeuvre, en raison des risques de fuites au niveau de la cellule, et des problèmes de rinçage de celle-ci.

D'autre part, il s'avère nécessaire d'effectuer fréquemment des manipulations :

- étalonnages pour les matières premières nouvelles

ou lors d'un changement de fournisseur.

- correction d'étalonnages lors du remplacement du joint de la cellule liquide.

Ceci occasionne des temps de manipulations très importants.

De plus, toute évolution d'un fichier et d'une équation fait varier la distance de Mahalanobis, il faut s'assurer que ceci ne modifie pas l'identification.

Cependant, une application intéressante est la possibilité d'échanger des données acquises par d'autres infraalyzers :

- soit par transfert de disquette

- soit par un système de réseau (Infranet).

3 - Applications à l'analyse quantitative

3-1 - Principe

3-1-1 - Méthode de calcul

La détermination de la concentration d'un produit dans un mélange repose sur la comparaison des absorbances de mélanges inconnus avec celles de mélanges étalons contenant le produit à doser à des concentrations variables, ceci étant répété pour plusieurs longueurs d'ondes.

Le principe même du dosage dans le proche infrarouge repose sur l'absorption d'un photon par une liaison chimique, pour autant que la fréquence du photon soit en harmonie avec celle de la liaison chimique. Il devient donc inutile de réaliser une réaction colorée du produit à doser afin de différencier une molécule particulière des autres existant dans le mélange.

Dans le proche infrarouge, aucune séparation ni destruction du mélange n'est nécessaire puisque c'est le choix des longueurs d'ondes qui permettra la détermination quantitative du produit dans le mélange.

Le principe du calcul repose sur l'établissement d'une équation combinant les différentes mesures de l'absorption. Elle détermine les coefficients de régression.

Ce modèle mathématique est appelé "Régression multilinéaire pas à pas" ; l'équation, appelée communément équation Ben-Gera et Norris, fut mise au point en 1968.

Le calcul des concentrations est effectué de la manière suivante :

$$\%C = F_0 + F_2\ Abs_2 + F_3\ Abs_3 + \ldots + F_n\ Abs_n$$

ou

$$\%C = F_0 + F_2 \log\frac{1}{R_2} + F_3 \log\frac{1}{R_3} + \ldots + F_n \log\frac{1}{R_n}$$

F_0 : Ordonnée à l'origine

F_2 à F_n : Constantes de régression pour chaque longueur d'onde

%C : concentration du constituant

Abs : Absorbance aux différentes longueurs d'ondes

R_n : Réflectance à la $n^{ème}$ longueur d'onde

Aux chiffres 2,3,n... correspondent les numéros des filtres.

3-1-2 - La régression linéaire

La mesure proprement dite, réalisée par l'Infraalyzer consiste à mesurer l'énergie (I) du rayonnement diffusé par le mélange analysé et à la comparer à celle qui arrive sur l'échantillon (Io), cela pour chaque longueur d'onde. Il est ainsi possible de calculer la réflexion R ($R = \frac{I}{Io}$)

Cette formule est identique à celle de la photométrie classique et ainsi, l'absorbance est proportionnelle à la concentration de la substance (loi de Beer-lambert).

La représentation graphique de cette notion se traduit par une droite dont les caractéristiques sont obtenues à partir des mesures d'absorbance d'étalons. Ces derniers, analysés par une méthode de référence, constituent une gamme d'étalonnage.

En réalité, les points ne sont pas tous alignés sur la droite dite de régression. (fig 17).

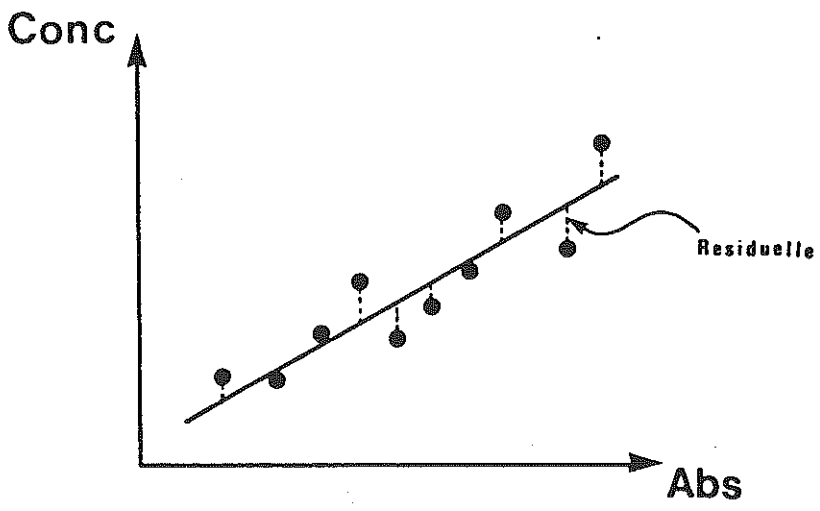


fig 17 : Représentation schématique d'une droite de régression pour une longueur d'onde

Le calcul de la régression utilise la méthode des moindres carrés qui donne la droite la plus représentative de l'ensemble des points. Cette droite est telle que la somme des carrés des différences entre les

points et la droite de régression est la plus petite possible.

L'équation de cette droite est du type :

$$y = mx + b$$

où m = pente

Si nous faisons intervenir deux longueurs d'ondes, les points ne définissent plus une droite, mais un plan de calibration (fig 18)

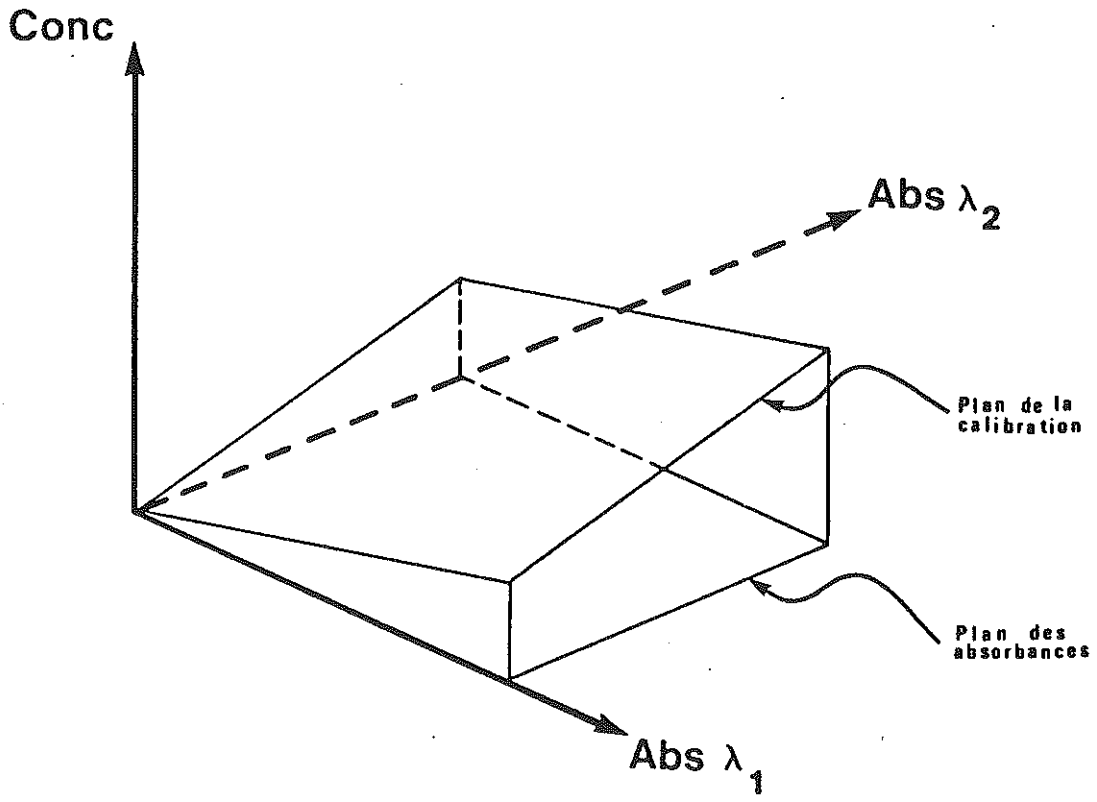


fig 18 : Représentation d'une régression à trois variables, une indépendante (concentration) deux dépendantes (Abs).

L'équation du meilleur plan est également obtenue par la méthode des moindres carrés.

Si nous faisons intervenir n longueurs d'ondes, il faut envisager dans un sytème à (n + 1) dimensions, une surface telle que la somme des carrés des distances à cette surface soit la plus faible possible.

L'équation de la régression sera de la forme :

$$y = m_1 x_1 + m_2 x_2 + m_3 x_3 + \ldots + m_n x_n$$

où n = nombre de variables indépendantes.

Le problème consiste à calculer les coefficients de la formule :

$$\% = F_0 + F_2 \, Abs_2 + \ldots + F_n \, Abs_n$$

La régression linéaire multiple sera utilisée afin de déterminer quelles longueurs d'ondes (filtres) sont les mieux corrélées avec le constituant et pour calculer les coefficients de calibration correspondants.

Le calcul des coefficients nécessite l'utilisation d'un calculateur, la qualité de la régression est évaluée par différents tests statistiques, graphiques ou numériques.

3-1-3 - Tests statistiques

3-1-3-1 - Tests graphiques

a - Histogramme des résiduelles

Les résiduelles représentent les différences entre les valeurs déterminées par la méthode de référence (ou valeurs manuelles), et les valeurs déterminées par l'équation de calibration.

L'histogramme des résiduelles est obtenu en portant en abscisses les valeurs des résiduelles réunies en classes de valeurs croissantes et en ordonnées le nombre de points de mesure ayant un écart-type donné. En réunissant le centre de chaque classe, on obtient une courbe (fig 19).

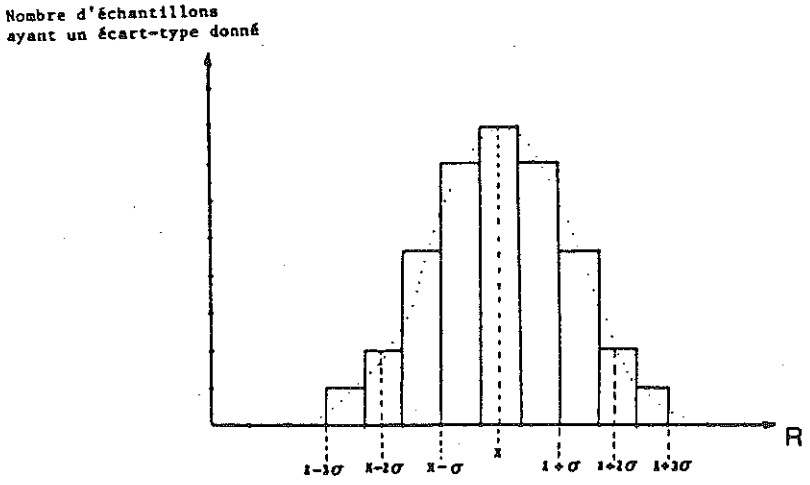


fig 19 : Histogramme des résiduelles

En règle générale, la courbe idéale doit être d'allure gaussienne.

Dans le cas d'une courbe de Gauss, on a :

$x - 2\sigma <$ 95 % population $< x + 2\sigma$

$x - 3\sigma <$ 99.5 % population $< x + 3\sigma$

Plus le pourcentage de points compris entre ces extrêmes est élevé, meilleure est la gamme d'étalonnage.

b - graphe des résiduelles

Ce diagramme est obtenu en portant en abscisses la concentration du produit dans les mélanges étalons et en ordonnées, les valeurs des résiduelles. La valeur moyenne de ces résiduelles est matérialisée sur le graphe et l'on trace deux droites équidistantes de l'écart-type de cette moyenne. (fig 20)

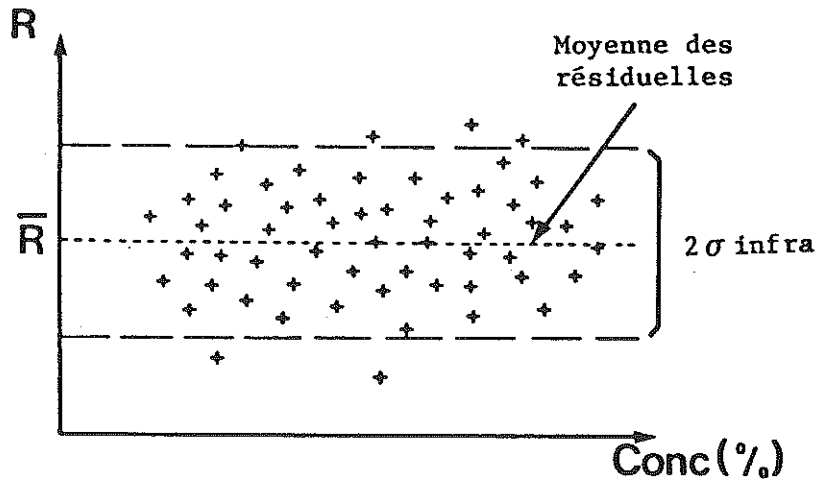


fig 20 : Graphe des résiduelles

- La répartition idéale serait que tous les points soient alignés sur une droite parallèle à l'axe des abscisses.
- Les échantillons de forte résiduelle sont identifiés par le numéro de

l'enregistrement correspondant. Ces échantillons aberrants sont à écarter.

- 10 % maximum des échantillons peuvent être écartés.

- Le graphe des résiduelles peut indiquer une mauvaise répartition des échantillons. Deux cas sont possibles :

(a) Le graphe se présente sous la forme d'un nuage de points, répartis en 2 ou plusieurs groupes (fig 21)

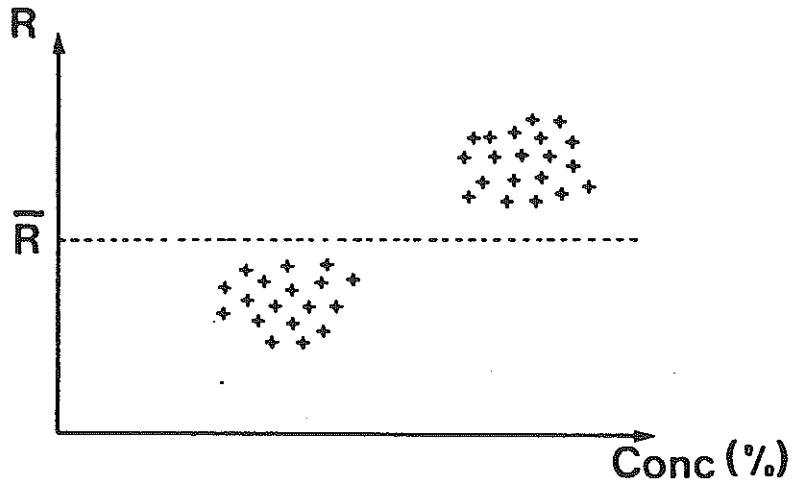


fig 21 : Graphe des résiduelles : répartition hétérogène (1° cas)

Cette répartition peut être due :
- à des procédés d'analyses différents
- à des échantillons de type différent
- aux effets de la température
- à l'influence du manipulateur, etc...

(b) Le graphe montre une répartition groupée, mais le nuage présente une courbure (fig 22).

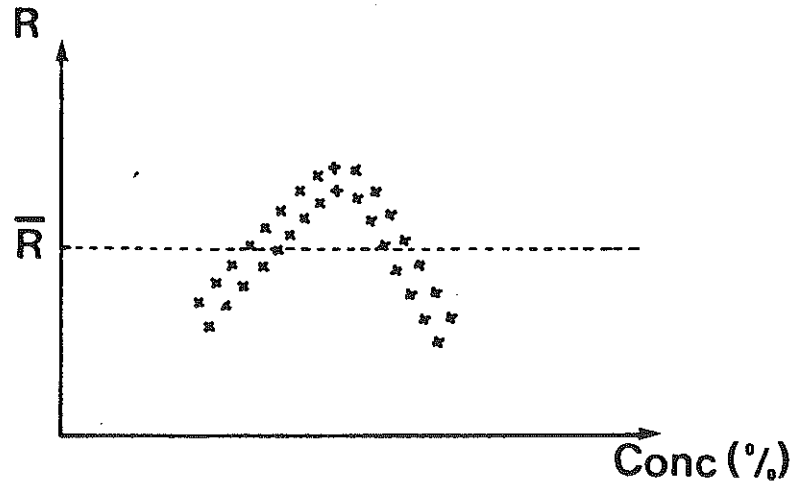


fig 22 : Graphe des résiduelles : répartition hétérogène (2° cas)

Cette hétérogénéité peut être due à une gamme trop large, dans ce cas il faut faire deux calibrations. Il se peut également que les données ne conviennent pas, il est alors nécessaire de les changer.

3-1-3-2 - Tests statistiques numériques

Lorsque l'équation de calibration est établie à l'aide du logiciel, un certain nombre de paramètres permettent d'évaluer sa qualité.

a - le SEE ou Standard error of estimate
b - le SEP ou Standard error of prediction
c - le coefficient de corrélation multiple R
d - le F ou F-ratio (constante de Fisher)
e - l'index of systematic variation (ISV)
f - le test t de student

a - Standard error of estimate (SEE)

Ce paramètre correspond à l'erreur de l'analyse. Il est calculé à partir de la différence entre les valeurs de laboratoire et les valeurs de l'infraalyzer pour les échantillons correspondants.

$$SEE = [(\Sigma d_i^2/n)^{1/2}]$$

di = différence entre les valeurs obtenues au moyen de l'instrument et celles de la référence (laboratoire) de mêmes échantillons du lot de calibration.

n = nombre d'échantillons

b - Standard error of prediction (SEP)

C'est l'écart-type des différences entre les valeurs manuelles et les valeurs Infraalyzer

Ces échantillons sont différents de ceux utilisés pour la calibration.

$$SEP = [\Sigma(di - d)^2/n - 1]^{1/2}$$

$$d = \frac{\Sigma di}{n}$$

Il est calculé à partir des valeurs prédites. C'est une mesure de la précision d'une méthode expérimentale comparée à une référence de laboratoire.

c - Coefficient de corrélation multiple R

Le coefficient de corrélation multiple permet de déterminer un jeu de coefficients de régression (Fi) associés aux longueurs d'ondes (Li) sélectionnées parmi l'ensemble de toutes les longueurs d'ondes disponibles, tel que les concentrations (Ci) calculées par combinaisons linéaires approchent le mieux possible les valeurs de référence.

Ce coefficient représente la valeur numérique d'une corrélation. Il est sans dimension telle que

$-1 \leqslant R \leqslant +1$

Il est calculé de la façon suivante :

$$R = [1 - SEE^2 (n - k - 1)/SD^2 (n - 1)]1/2$$

SD = écart-type de la gamme étalon
n = nombre d'échantillons
k = nombre de longueurs d'ondes

Corrélation parfaite : R = 1

d - Test F de la régression (ou constante de Fisher)

Ce test permet d'estimer le degré de robustesse d'une calibration donnée. Il sert à comparer les résultats de prédiction par rapport à la courbe de calibration.

Plus la valeur de F est élevée, plus il estime la robustesse et la fiabilité de la calibration.

$$F = [R^2 (n-k-1) / (1-R^2) k]$$

Le F-ratio est significatif si F > 50.

Ce coefficient évalue l'étalement du nuage de points de mesure : plus l'étalement est élevé plus le F-ratio est faible. A l'inverse, plus les points sont alignés sur la droite de régression, plus le F-ratio est élevé, et meilleure est la régression.

Le F-ratio augmente avec la qualité de la régression, c'est-à-dire quand R augmente, lorsque le nombre d'échantillons augmente ou lorsque, les autres facteurs étant identiques, le nombre de longueurs d'ondes diminue.

Remarquons que la suppression d'une longueur d'onde peu importante de la régression va entraîner peu de changement dans la qualité de la régression (c'est-à-dire R reste constant).

Ceci conduit à une faible augmentation du nombre de degrés de liberté (n-k-1) et à une diminution de k au dénominateur, conduisant à une augmentation de F.

Le fait d'enlever une longueur d'onde importante conduit à une diminution de R, affectant à la fois le numérateur et le dénominateur, ceci entraînant une diminution de F.

Ainsi, dans le cas de suppressions successives de longueurs d 'ondes, F tend à augmenter tant que des longueurs d'ondes peu importantes sont supprimées, et inversement.

e - Index of systematic variation (ISV)

Ce paramètre correspond à la somme des coefficients de calibration (sauf l'ordonnée à l'origine), obtenus pour une régression donnée.

Ce test est en relation avec la qualité de la gamme d'étalonnage et tient compte d'un certain nombre de fluctuations aléatoires provenant des échantillons de la gamme.

Ces fluctuations sont le plus souvent rencontrées avec les solides pulvérulents ; elles peuvent être dues à des variations de taille des particules (poudres), à l'humidité, l'oxydation ou autres effets chimiques.

Ce coefficient doit être le plus faible possible, mais des valeurs comprises entre - 20 et + 20 sont acceptables.

Cependant, dans le cas des liquides, des valeurs élevées des constantes de régression peuvent conduire à des valeurs plus élevées de l'ISV.

f - Le test de Student

Il est calculé de la manière suivante :

$$t = \frac{F}{SDf}$$

où F est la constante correspondant à chaque longueur d'onde et SDf l'écart-type de ces constantes calculé à partir de tous les points de la gamme d'étalonnage.

On a donc au départ 19 valeurs de t pour l'infraalyzer 450.

Ce test permet de déterminer quelles longueurs d'ondes sont importantes.

- t test < 2 : la longueur d'onde est peu intéressante.

- 2 < t test < 10 : la longueur d'onde est intéressante.

- t test > 10 : la longueur d'onde est excellente.

Seule la valeur absolue de t test est à considérer.

3-1-3-3 - Paramètres statistiques dans les conditions idéales

Il découle de ce que nous avons dit précédemment que la calibration idéale serait celle pour laquelle :

- R voisin de 1

- F-ratio élevé

- SEP proche de 0

- SEE proche de 0

- ISV compris entre - 20 et + 20

La fig 23 montre l'évolution des paramètres statistiques en fonction du nombre de longueurs d'ondes. Nous avons un résultat optimal pour un nombre de longueurs d'ondes compris entre 2 et 6.

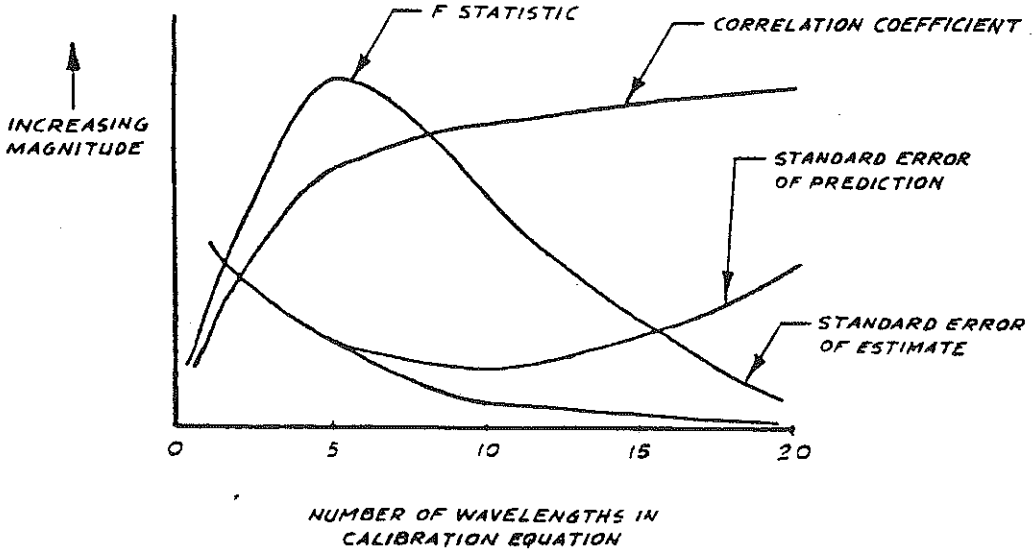


fig 23 : Relations entre les différents paramètres statistiques

3-1-4 - Méthodologie de la calibration

3-1-4-1 - Sélection des échantillons

Les échantillons de la gamme d'étalonnage doivent être de préférence de même origine.

Les concentrations du constituant à doser doivent être connues, et testées au préalable par une méthode de référence, qui doit être fiable et reproductible.

Les valeurs des concentrations doivent couvrir plus de la largeur de la norme, la répartition des échantillons devant être la moins gaussienne possible.

Il est nécessaire d'avoir un nombre minimum d'échantillons pour réaliser la calibration :

- nombre total idéal : 10 x k avec k = nombre de longueurs d'ondes
- minimum nécessaire pour la régression = nombre de variables + 1 (en général nombre

de longueurs d'ondes)

- nombre approximatif pour une calibration acceptable :
  * Pour 1 constituant : 25
  * Pour 2 constituants : 40
  * Pour 3 constituants : 50

3-1-4-2 - Collecte des données

Nous procédons à l'enregistrement des spectres des échantillons constituant la gamme d'étalonnage, ainsi que des valeurs de référence du constituant à analyser.

3-1-4-3 - Equation de calibration

Le logiciel de traitement statistique IDAS détermine, pour un nombre de longueurs d'ondes donné, la combinaison de longueurs d'ondes donnant la meilleure régression.

Le programme permet également d'éliminer les échantillons dont les valeurs s'éloignent trop de la plage de variation ("outliers").

Un exemple d'équation de calibration est donné en annexe 3.

3-2 - Applications à l'analyse des matières premières

Nous avons étudié le dosage par proche infrarouge de certains constituants de matières premières. Nous allons en présenter deux exemples.

Les concentrations en produit à doser des échantillons constituant la gamme d'étalonnage ont été évaluées au préalable par la méthode de référence. Le traitement

des données a été effectué à l'aide du logiciel IDAS.

3-2-1 - Dosage du formol

Nous avons procédé au dosage du formol dans un conservateur :

le Germall 115 (fournisseur SEPPIC)
ou Unicide U13 (fournisseur ADF chimie)
ou Biopure 100 (fournisseur Dubois)

Ce produit est une imidazolidinylurée substituée, se présentant sous forme de poudre blanche et devant contenir entre 10.10% et 15.70% de formol.

La technique usuelle de dosage est longue (1h30), il semble donc intéressant de trouver une méthode fiable et plus rapide.

3-2-1-1 - Constitution de la gamme d'étalonnage

Nous avons constitué la gamme d'étalonnage à partir d'échantillons provenant de notre échantillothèque.

Nous avons recueilli 14 lots de produits, que nous avons collectés dans la coupelle fermée US1.

Nous avons vu qu'il était nécessaire, afin d'obtenir une régression satisfaisante, de disposer d'au moins 25 échantillons.

Nous avons donc analysé les échantillons 3 fois chacun, dans trois coupelles différentes, ceci permettant également d'intégrer les variations dues à la préparation de la coupelle.

Nous avons procédé au dosage du formol par la méthode de laboratoire (Méthode en annexe).

Les résultats sont les suivants :

Echantillons	% formol
1	11.50
2	11.22
3	11.35
4	11.48
5	11.29
6	10.18
7	10.14
8	10.36
9	10.22
10	10.81
11	12.70
12	11.35
13	12.54
14	10.94

Les concentrations obtenues ne couvrent pas toute la gamme des valeurs normales, mais il n'est pas possible de jouer sur les concentrations du produit. Nous travaillerons donc avec la gamme ainsi obtenue.

3-2-1-2 - Résultats

Le logiciel nous a permis d'établir un calcul de régression pour 2,3,4,5,6 et 19 longueurs d'ondes. Les résultats des tests statistiques sont les suivants :

Nombre de filtres sélectionnés	2	3	4	5	6	19
Longueurs d'ondes correspondantes	1940 2310	1940 2139 2230	1445 1940 2190 2230	1940 1982 2139 2336 2348	1940 1982 2139 2208 2336 2348	1445 ↓ 2348
F	75,60	120,42	90,11	86,78	75,33	19,66
R	0,892	0,951	0,952	0,961	0,963	0,972
SEE	0,337	0,232	0,233	0,214	0,210	0,233
ISV	- 5,59	- 9,94	- 20,52	- 7,16	- 8,80	- 12,50

Interprétation des tests statistiques :

f-ratio : F > 50
R : 0.8 < R ⩽ 1
SEE : le plus faible possible
ISV : - 20 < ISV < + 20

Nous tenons compte en premier lieu dans notre interprétation des valeurs de F et de R.

La meilleure régression semble être celle à 3 longueurs d'ondes. (F-ratio le plus élevé)

Les valeurs des constantes pour cette équation sont les suivantes :

longueurs d'ondes	filtres correspondants	constantes de régression
1940	F 16	- 29.44
2139	F 09	- 246.73
2230	F 06	266.22

Ordonnée à l'origine Foo = 11.05

3-2-1-3 Analyse en routine

A partir de l'équation de régression ci-dessus, nous avons analysé 7 échantillons en routine.

Nous avons comparé les résultats obtenus par la méthode manuelle et ceux obtenus par l'infraalyzer.

Teneur en formol %	
Valeur manuelle	Valeur infraalyzer
11.20	11.20
11.35	11.20
10.20	10.20
10.90	10.70
12.50	12.10
11.30	11.30
12.70	12.20

Dans l'ensemble, les résultats obtenus par l'infraalyzer sont satisfaisants par rapport à ceux obtenus par la méthode de référence, les échantillons testés se situent dans les normes attendues.

Les écarts les plus importants entre les deux valeurs peuvent s'expliquer de différentes façons :

- problème dans la présentation de l'échantillon (poudre)
- mauvaise estimation du résultat obtenu par la méthode manuelle
- gamme d'étalonnage insuffisante

Ce dernier facteur joue un rôle important.

En effet, la répartition des valeurs n'est pas idéale, nous ne possédons pas d'échantillons couvrant la plage de 11.60 à 12.40 %.

Le cas contraire devrait nous permettre d'améliorer la calibration.

3-2-2 - Dosage des stérols

Nous avons procédé au dosage des stérols dans l'Amerchol L 101 (fournisseur CFPA) (ou Liquid base CB 1145, fournisseur Croda France).

Cette matière première, dérivée de la lécithine, sert de base d'absorption dans les préparations cosmétiques. On l'utilise comme émulsionnant non ionique dans les émulsions eau dans l'huile et comme stabilisateur d'émulsion dans les émulsions d'huile dans eau.

Elle doit contenir entre 2 % et 4 % de stérols.

3-2-2-1 - Constitution de la gamme d'étalonnage

Nous avons collecté 14 échantillons de l'échantillothèque, chacun étant injecté

trois fois dans le tiroir liquide type F_1 (thermostaté à + 30°C), afin d'obtenir un nombre suffisant de points.

Nous avons dosé ces échantillons par la méthode manuelle (voir en annexe), celle-ci est relativement longue (plus d'une heure).

Les résultats sont les suivants :

Echantillons	% stérols
1	3.75
2	2.90
3	3.56
4	3.11
5	2.87
6	2.76
7	3.41
8	2.40
9	2.53
10	2.70
11	2.44
12	2.41
13	2.82
14	2.60

3-2-2-2 - Résultats

Nous avons établi une équation de calibration pour 2,3,4,5,6 et 19 longueurs d'ondes. Les paramètres statistiques sont regroupés dans le tableau suivant :

Nombre de filtres sélectionnés	2	3	4	5	6	19
Longueurs d'ondes correspondantes	1734 1759	1722 1940 2139	1759 1940 2230 2270	1734 1759 1940 2230 2270	1734 1759 1940 2230 2270	1445 ↓ 2348
F	75,27	74,68	91,94	95,04	83,12	35,83
R	0,891	0,925	0,953	0,964	0,968	0,984
SEE	0,196	0,167	0,134	0,119	0,117	0,102
ISV	- 492,6	- 1822,5	- 430,7	- 334,6	- 525,2	- 717,1

La régression à 5 longueurs d'ondes est celle qui présente les meilleurs paramètres statistiques.

Valeurs des constantes pour cette régression :

longueurs d'ondes	filtres correspondants	constantes de régression
1732	F 17	908.2
1759	F 15	- 3385.7
1940	F 16	3873.5
2230	F 05	- 2030.2
2270	F 06	299.6

Ordonnée à l'origine : Foo = 239.9

3-2-2-3 - Analyse en routine

Nous avons testé 7 échantillons en routine.

Teneur en stérols	
valeur manuelle	valeur infraalyzer
2.60	2.68
2.70	2.69
2.41	2.47
2.90	2.80
2.78	2.76
2.60	2.77
2.75	2.41

Les résultats obtenus avec l'infraalyzer sont dans l'ensemble corrects, le temps de réponse est rapide (moins de 1 minute pour une analyse).

Cependant, si le serrage de la cellule doit être modifié, ceci entraîne une variation du trajet optique, et par conséquent des absorbances aux différentes longueurs d'ondes et de la concentration du produit à doser.

Il est donc nécessaire d'effectuer une correction de pente à partir d'un fichier contenant au moins 10 échantillons représentatifs de la gamme.

Nous obtenons alors une nouvelle ordonnée à l'origine et de nouveaux coefficients de régression.

3-3 - Conclusion

L'infraalyzer 450 nous permet de réaliser des dosages quantitatifs sur les matières premières, et de déterminer si un constituant

se situe dans les normes fixées par le contrôle.

Les résultats obtenus sont encourageants, bien que nous ne disposions que de peu d'échantillons pour tester la validité de la calibration.

Cette méthode offre de nombreux avantages:

- **délai d'excécution** : court, moins de 2 minutes, alors que certains dosages peuvent demander plus d'une heure.

- **manipulation** : aisée, ne nécessitant pas de préparation de l'échantillon.

- **économie de matériel** : pas d'utilisation de réactifs, ni de verrerie.

- **précision** : elle équivaut à celle de la méthode de référence.

Cependant, certaines limites apparaissent, au niveau en particulier de la constitution de la gamme d'étalonnage.

En effet, il est nécessaire d'avoir un nombre important d'échantillons, couvrant une gamme de concentrations la plus large possible, ce qui est parfois difficile.

En effet, sur une matière première, il n'est pas possible de jouer sur les concentrations des constituants, contrairement à un mélange, où l'on peut faire varier les concentrations des matières premières entrant dans sa composition.

CONCLUSION GENERALE

Nous venons d'étudier les différentes possibilités d'utilisation d'un appareil proche infrarouge dans un laboratoire de contrôle des matières premières cosmétiques.

Dans une première partie, nous avons relaté l'importance de la spectrophotométrie proche infrarouge, et décrit les principaux types d'appareils.

Dans une seconde partie, nous avons étudié ses applications à l'analyse qualitative et quantitative.

Les résultats obtenus nous paraissent intéressants.

En effet, cette méthode permet un allègement du temps de contrôle des matières premières.

Lors de l'utilisation en identification, le temps de réponse pour une analyse est rapide, moins de 3 minutes en règle générale, et aussi fiable sinon plus que la diagnose habituelle. D'autre part, elle ne nécessite ni de préparation de l'échantillon, ni l'utilisation de matériel annexe, contrairement aux CCM par exemple qui demandent l'emploi de solvants, plaques,...

En ce qui concerne l'analyse quantitative, un autre avantage représentant un gain de temps considérable réside dans le fait qu'aucune séparation ni réaction colorée ne sont nécessaires.

Cependant, en ce qui concerne les grandes séries, le gain de temps semble moins évident : en effet, entre chaque analyse il faut

préparer les cellules, ceci implique la présence constante d'un personnel qualifié. Dans cette situation, il parait souhaitable d'essayer d'automatiser le système.

Cette technique limite l'utilisation de matériel et de réactifs de laboratoire. En outre, la rapidité des analyses effectuées devrait permettre de réduire les durées de quarantaine obligatoires pour effectuer les contrôles sur les matières premières.

Ainsi, malgré le coût de l'appareil, tous ces facteurs sont autant de facteurs d'économie.

Si l'on parvient à s'affranchir de tous les problèmes techniques rencontrés, cette méthode, par ses qualités de précision et de rapidité, semble très prometteuse.

Les possibilités d'application d'un tel système dans l'industrie cosmétique sont nombreuses, elles sont à étudier en fonction des besoins des différents sites de production.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1 - BORN (C.) Spectroscopie proche infrarouge
Doc. interne l'Oréal, 1990.

2 - BRAN ET LUEBBE - User's reference manual for infraalyser data analysis software, 1989.

3 - BRAN ET LUEBBE - Infraalyser 450 operation manual, 1989.

4 - DAVENEL (A.) - Le proche infrarouge (NIR) Symposium de formation continue "nouveaux capteurs dans les IAA", Rennes, 1989.

5 - GELLER (S.) - Abrégé de statistique
Masson Ed., 4° édition, 1983.

6 - GEMPERLINE (P.J.), WEBBER (L.D.) - Raw materials testing using soft independent modeling of class analogy analysis of near infrared reflectance spectra.
Anal. Chem., 1989, 61, 138-144.

7 - HAMON (M.), PELLERIN (F.), GUERNET (M.), MAHUZIER (G.) - Abrégé de chimie analytique
Tome 3
Masson Ed., 1979.

8 - LEBART (L.), FENELON (J.P.) - Statistique et informatique appliquées
Dunod Ed., 3) édition, 1975.

9 - LUGAN (I.) - Contrôle chimique des médicaments par la NIRA (Near Infrared

reflectance analysis).
Th. Pharm. Bordeaux , 1984

10 - MARK (H.L.), TUNNEL (D.) - Qualitative near infrared reflectance analysis using Mahalanobis distances.
Anal. Chem., 1985, 57, 1449-1456.

11 - NZABONIMPA (R.) - Technique d'analyse rapide par proche infrarouge (NIR).
Doc. interne l'Oréal, 1990.

12 - WETZEL (D.L.) - Near infrared reflectance analysis.
Sleeper among spectroscopic techniques
Anal. Chem. 1983, 55, 1165A-1176A.

BIBLIOGRAPHIE

La spectroscopie proche infrarouge (NIRS) ne s'est développée que très récemment dans l'industrie pharmaceutique ; le nombre de références bibliographiques sur ses applications pharmaceutiques et biologiques est ainsi limité. Nous allons en citer quelques-unes.

Une étude a été effectuée par Ciurczak et Al sur l'analyse de matières premières pharmaceutiques (4), et sur le dosage de formes liquides et solides par cette méthode (3). Chasseur a effectué des dosages de cimétidine par proche infrarouge (1). Corti et Al ont réalisé des dosages de Kétoprofène par NIRS dans différentes formes pharmaceutiques (5). L'aspirine, la caféine ont été identifiées par Ciurczak et Maldacker à l'aide d'un spectrophotomètre proche infrarouge associé à un programme informatique (2). Lonardi et Al ont évalué par cette technique la teneur en eau et en principe actif dans des antibiotiques sous forme pulvérulente (11). Tranter et Al ont évalué différentes méthodes chimiométriques pour l'analyse des données spectrales de substances pharmaceutiques (14). Dubois et Al sont parvenus à doser cinq constituants d'une forme liquide pharmaceutique par NIRS (6). Une technique pour l'analyse de comprimés en l'état a été établie par Lodder et Hieftje (9). Ces derniers ont également démontré la possibilité d'évaluer les teneurs en cholestérol et autres constituants sanguins par NIRS (10) Gimet et Luong ont utilisé la spectroscopie proche infrarouge pour déterminer les formes polymorphiques d'un

principe actif dans un médicament (8). Des mesures des protéines totales du sang ont été réalisées par Van Toorenenbergen et Al (15). Montalvo et Al ont utilisé la spectroscopie proche infrarouge pour l'analyse de la poussière de coton et les relations entre l'exposition à cette poussière et une réaction pulmonaire (12, 13).
Ferrari et Al ont déterminé par proche infrarouge le temps de transit cérébral lors d'une hypotension hémorragique chez le chien (7).

1 - CHASSEUR (J.C.)
J. Chim. Oggi, 1987, 21-4.

2 - CIURCZAK (E.W.), MALDACKER (T.A.)
Spectroscopy, 1986, 1, 36-9.

3 - CIURCZAK (E.W.), TORLINI (R.W.)
Spectroscopy, 1987, 2, 41.

4 - CIURCZAK (E.W.), TORLINI (R.P.),
DEMKOWICZ (M.P.)
Spectrascopy, 1986, 1, 36-9.

5 - CORTI (P.), DREASSI (E.), MURRATZU (C.)
CORBINI (G.), BALLERINI (L.),
GRAVINA (S.).
Pharma. Acta. Helv., 1989, 64, 140-5.

6 - DUBOIS (P.), MARTINEZ (J.R.),
LEVILLAIN (P.)
Analyst, 1987, 112, 1675-9.

7 - FERRARI (M.), WILSON (D.), HANLEY (D.),
TRAYTSMAN (R.)
Adv. Exp. Med. Biol., 1989, 248, 55-62.

8 - GIMET (R.), LUONG (A.T.)
J. Pharm. Biomed. Anal., 1987, 5, 205-211.

9 - LODDER (R.A.), HIEFTJE (G.M.)
Appl. Spectrosc., 1988, 42, 556-8.

10 - LODDER (R.A.), HIEFTJE (G.M.), MOOREHEAD (W.), ROBERTSON (S.P.), RAND (P.)
Talanta, 1989, 36, 193-8.

11 - LONARDI (S.), VIVIANI (R.), MOSCONI (L.) BERNUZZI (M.), CORTI (P.), DREASSI (E.), MURRATZU (C.), CORBINI (G.)
J. Pharm. Biomed. Anal., 1989, 7, 303-8.

12 - MONTALVO (J.G. Jr), FAUGHT (S.E.), BUCO (S.M.)
Appl. Spectrosc, 1987, 41, 645-54.

13 - MONTALVO (J.G. Jr.), FAUGHT (S.E.), BUCO (S.M.)
Appl. spectrasx, 1988, 42, 433-42.

14 - TRANTER (R.L.), DAVIES (B), HARLAND (C.M.), BOUCHER (S.L.)
Proc. Spie-Int. Soc. opt. Eng., 1988, 917, 47-54.

15 - VAN TOORENENBERGEN (A.W.), BLIJENBERG (B.G.), LEIJNSE (B.)
J. Clin. Chem. Clin. Biochem, 1988, 26, 209-11.

T A B L E D E S M A T I E R E S

1ème partie : La spectroscopie proche infrarouge et ses appareils

1 - Historique..... p. 14

2 - Caractéristiques du proche infrarouge..... p. 16

2-1 - Domaine de travail..... p. 16
2-1-1 - Situation du domaine..... p. 16
2-1-2 - Energies de vibration..... p. 18
2-1-3 - Harmoniques et combinaisons..... p. 19
2-1-4 - Longueurs d'ondes utilisées..... p. 20

2-2 - Mode de travail utilisé..... p. 21

3 - Appareillage..... p. 26

3-1 - Généralités sur les appareils..... p. 26
3-1-1 - Systèmes à filtres..... p. 27
3-1-2 - Systèmes à réseau..... p. 29
3-1-3 - Appareils à transformée de Fourier p. 30

3-2 - L'infraalyzer 450..... p. 30
3-2-1 - Partie optique..... p. 30
3-2-2 - L'électronique..... p. 35

3-3 - Réalisation de la mesure..... p. 38

2ème partie : Travaux personnels

1 - Présentation du travail..... p. 41

1-1 - Organisation du contrôle des matières premières au laboratoire..... p. 41

1-2 - Objectifs..... p. 41

1-3 - Matériel utilisé..... p. 42

2 - Applications à l'analyse qualitative..... p. 42

2-1 - Principe de l'analyse discriminante..... p. 42
2-1-1 - Notions de distances..... p. 42
2-1-2 - Classification des échantillons... p. 49
2-1-3 - Comparaison entre distance de Mahalanobis et distance normalisée p. 50
2-1-4 - Influence de la granulométrie..... p. 52

2-2 - Etablissement de l'équation discriminante..... p. 53
2-2-1 - Collecte des données..... p. 53
2-2-2 - Equation de calibration..... p. 54
2-2-3 - Paramètres statistiques..... p. 54

2-3 - Applications à l'identification des matières premières..... p. 55
2-3-1 - Cas des poudres..... p. 55
2-3-1-1 Collecte des échantillons..... p. 55
2-3-1-2 Calibration..... p. 58
2-3-1-3 Identification en routine..... p. 64
2-3-2 - Cas des matières premières pâteuses..... p. 76
2-3-2-1 Collecte..... p. 76
2-3-2-2 Identification en routine..... p. 77
2-3-3 - Produits en écailles et cires..... p. 80
2-3-3-1 Préparation de l'échantillon.. p. 80

2-3-3-2 Collecte..... p. 80
2-3-3-3 Identification en routine..... p. 81
2-3-4 - Cas des matières premières liquides..... p. 84
2-3-4-1 Matériel utilisé..... p. 84
2-3-4-2 Choix du solvant de rinçage... p. 85
2-3-4-3 Collecte..... p. 86
2-3-4-4 Identification en routine..... p. 90
2-3-5 - Cas des produits visqueux..... p. 95
2-3-5-1 Collecte..... p. 95
2-3-5-2 Identification en routine..... p. 96

2-4 - Conclusion..... p. 98

3 - Applications à l'analyse quantitative..... p. 100

3-1 - Principe..... p. 100
3-1-1 - Méthode de calcul..... p. 100
3-1-2 - La régression linéaire..... p. 101
3-1-3 - Tests statistiques..... p. 104
3-1-3-1 Tests graphiques..... p. 104
3-1-3-2 Tests numériques..... p. 108
3-1-3-3 Paramètres statistiques dans les conditions idéales..... p. 113
3-1-4 - Méthodologie de la calibration.... p. 114
3-1-4-1 Sélection des échantillons.... p. 114
3-1-4-2 Collecte des données..... p. 115
3-1-4-3 Equation de calibration..... p. 115

3-2 - Applications à l'analyse des matières premières..... p. 115
3-2-1 - Dosage du formol..... p. 116
3-2-1-1 Constitution de la gamme d'étalonnage..... p. 116
3-2-1-2 Résultats..... p. 117
3-2-1-3 Analyse en routine..... p. 119
3-2-2 - Dosage des stérols..... p. 120

3-2-2-1 Constitution de la gamme d'étalonnage..... p. 120
3-2-2-2 Résultats..... p. 121
3-2-2-3 Analyse en routine..... p. 122

3-3 - Conclusion..... p. 123

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... p. 127

BIBLIOGRAPHIE..... p. 129

ANNEXES..... p. 136

A N N E X E 1

Discriminant Analysis Results :

Data file : C:DSCTST.DAT
File I.D. : DA
Equation File : C:EQD1SCRI.DAT
EQ. File I.D. : ex
No. of Samples (DM file) : 45
Wavelength Range (DM file) : 1445:2348
Wavelength Range (Used) : 1445:2348

Search Parameters :

# 1	2270
# 2	2139
# 3	2180
# 4	1759
# 5	1680

Time search began : 10:20:23 TUE 3-19-1991
Time search terminated : 10:20:35 TUE 3-19-1991

Wavelengths used in final Discrimination :

2270 2139 2180 1759 1680

Group #	Group Name	Number of Samples in Group
1	1	9
2	2	9
3	3	9
4	4	9
5	5	9

Mahalanobis Distances between Groups :

From Group # 1 , I.D. : 1

To Group # 2 , I.D. : 2 = 56.6635
To Group # 3 , I.D. : 3 = 79.5544
To Group # 4 , I.D. : 4 = 10.7801
To Group # 5 , I.D. : 5 = 80.2117

From Group # 2 , I.D. : 2

To Group # 3 , I.D. : 3 = 89.1581
To Group # 4 , I.D. : 4 = 48.5643
To Group # 5 , I.D. : 5 = 33.9531

From Group # 3 , I.D. : 3

To Group # 4 , I.D. : 4 = 76.0678
To Group # 5 , I.D. : 5 = 91.4579

From Group # 4 , I.D. : 4

To Group # 5 , I.D. : 5 = 74.0647

Sum of Inverse Squared Distances = 0.0111

Total Inverse Squared Distance
due to Wavelength Deletion

Wavelength Deleted	Total Inverse Distance
2270	0.0283927
2139	0.0186007
2180	0.0153853
1759	0.0228621
1680	0.0119242

Group Dispersions :

Group No.	Group Name	RMS Distance
1	1	1.83407
2	2	2.72119
3	3	1.98249
4	4	2.09481
5	5	2.43164

Chi-Square = 1.86581

```
Discriminating ON-LINE          Using C:EQCIRES.DAT
-------------------------------------------------------------------------
Sample ID : 570

Classification Done at: 11:38:27  FRI  4-19-1991

This Sample is Classified as Group #       570
-------------------------------------------------------------------------
Sample ID : 700A0

Classification Done at: 11:39:25  FRI  4-19-1991

Note - This Sample is more than  3 Times Mahalanobis Distance
from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 700A0         , Distance =     7.77
The  2ND Closest  is 2181S         , Distance =     7.98

This Sample is Classified as Group #       700A0
-------------------------------------------------------------------------
Sample ID : 1700

Classification Done at: 11:40:30  FRI  4-19-1991

Note - This Sample is more than  3 Times Mahalanobis Distance
from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 1700          , Distance =     6.37
The  2ND Closest  is 1747          , Distance =     8.54

This Sample is Classified as Group #       1700
-------------------------------------------------------------------------
Sample ID : 1747

Classification Done at: 11:41:34  FRI  4-19-1991

Note - This Sample is more than  3 Times Mahalanobis Distance
from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 1747          , Distance =     7.60
The  2ND Closest  is 570           , Distance =    13.28

This Sample is Classified as Group #       1747
-------------------------------------------------------------------------
Sample ID : 52677

Classification Done at: 11:42:39  FRI  4-19-1991

This Sample is Classified as Group #       52677
-------------------------------------------------------------------------
Sample ID : 1350B

Classification Done at: 11:44:49  FRI  4-19-1991

Note - This Sample is more than  3 Times Mahalanobis Distance
from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 1350B         , Distance =     5.70
The  2ND Closest  is 52700         , Distance =    38.06

This Sample is Classified as Group #       1350B
-------------------------------------------------------------------------
Sample ID : 2181S
```

Classification Done at: 11:45:49 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 2181S , Distance = 5.15
The 2ND Closest is 700A0 , Distance = 10.54

This Sample is Classified as Group # 2181S

Sample ID : 2181S

Classification Done at: 11:46:48 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 2181S , Distance = 5.37
The 2ND Closest is 700A0 , Distance = 12.12

This Sample is Classified as Group # 2181S

Sample ID : 2181S

Classification Done at: 11:51:19 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 2181S , Distance = 10.48
The 2ND Closest is 700A0 , Distance = 15.63

This Sample is Classified as Group # 2181S

Sample ID : 783

Classification Done at: 11:52:29 FRI 4-19-1991

This Sample is Classified as Group # 783

Sample ID : 783

Classification Done at: 11:53:41 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 783 , Distance = 3.36
The 2ND Closest is 570 , Distance = 11.61

This Sample is Classified as Group # 783

Sample ID : 52700

Classification Done at: 11:54:47 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 52700 , Distance = 5.28
The 2ND Closest is 1350B , Distance = 42.44

This Sample is Classified as Group # 52700

Sample ID : 52700

Classification Done at: 11:55:44 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 52700 , Distance = 3.54
The 2ND Closest is 1350B , Distance = 41.87

This Sample is Classified as Group # 52700

Sample ID : 1761S

Classification Done at: 12:11:22 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 1761S , Distance = 6.77
The 2ND Closest is 700AO , Distance = 36.93

This Sample is Classified as Group # 1761S

Sample ID : 700AO

Classification Done at: 13:18:47 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 700AO , Distance = 3.67
The 2ND Closest is 2181S , Distance = 9.42

This Sample is Classified as Group # 700AO

Sample ID : 2181S

Classification Done at: 13:32:45 FRI 4-19-1991

Note - This Sample is more than 3 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 2181S , Distance = 6.09
The 2ND Closest is 700AO , Distance = 8.22

This Sample is Classified as Group # 2181S

Sample ID : INCONNU

Classification Done at: 13:33:58 FRI 4-19-1991

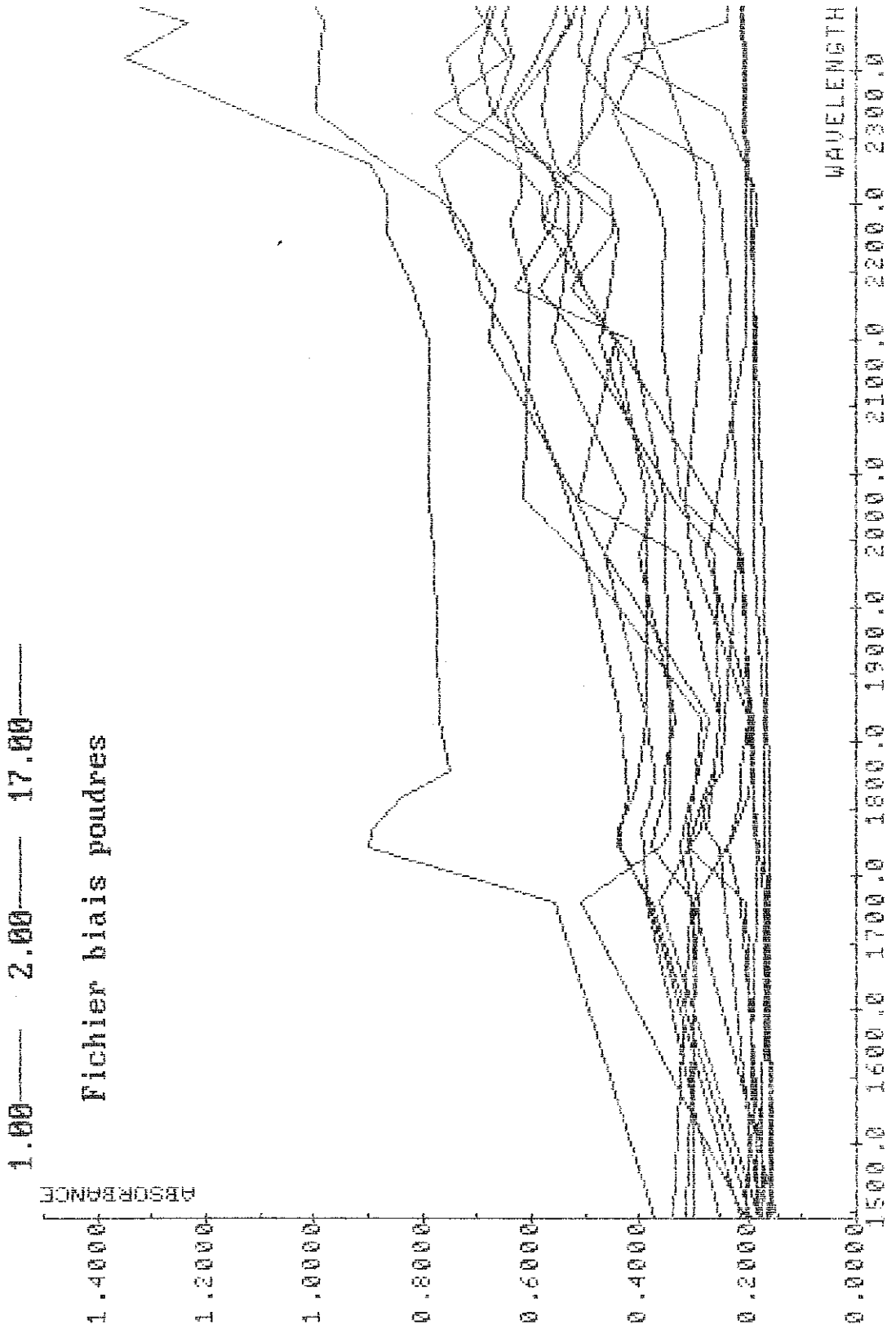
Note - This Sample is more than 15 Times Mahalanobis Distance from any of the Reference Samples .

The Closest Group is 52677 , Distance = 41.74
The 2ND Closest is 1747 , Distance = 64.38

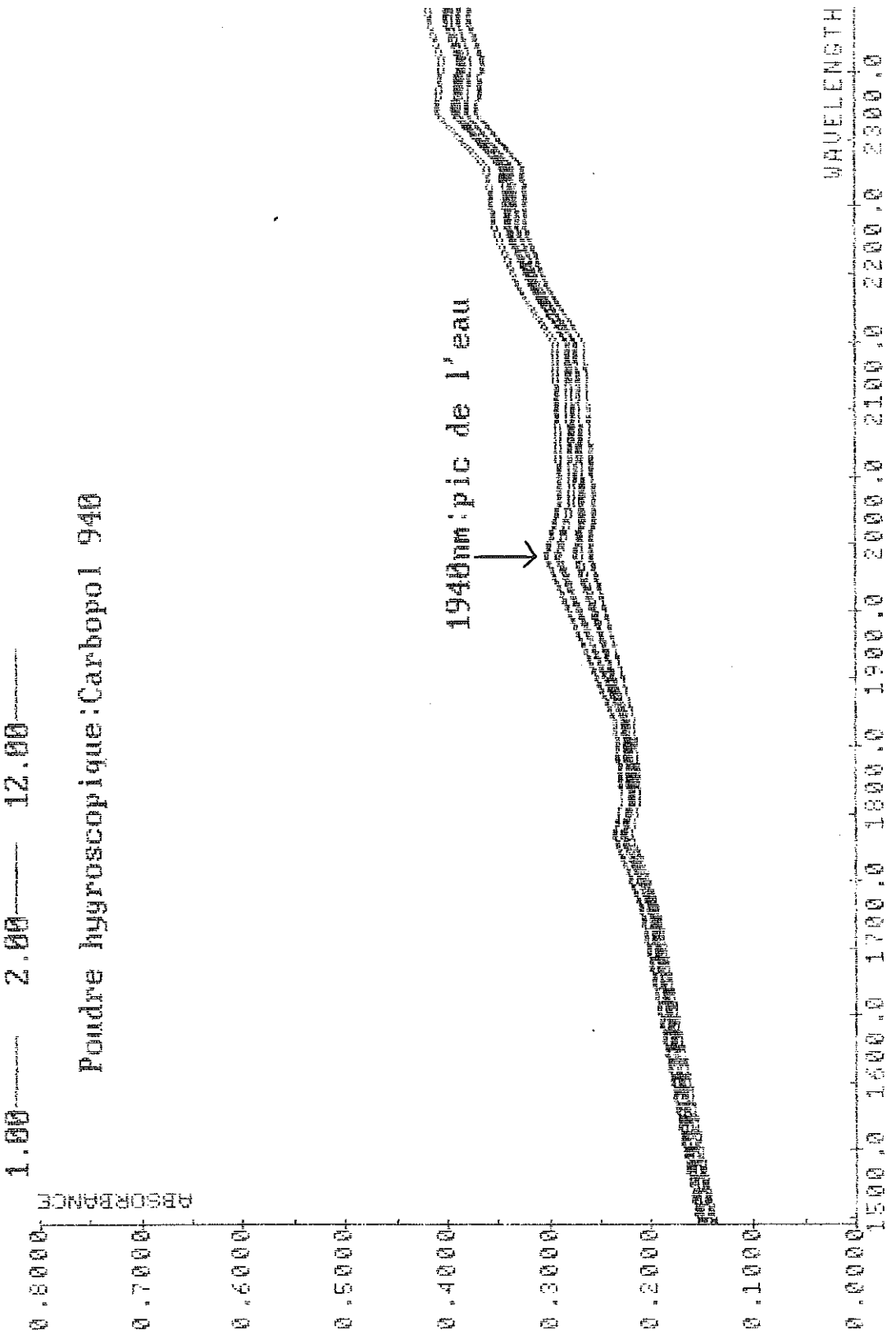
This Sample is not Classified .

A N N E X E 2

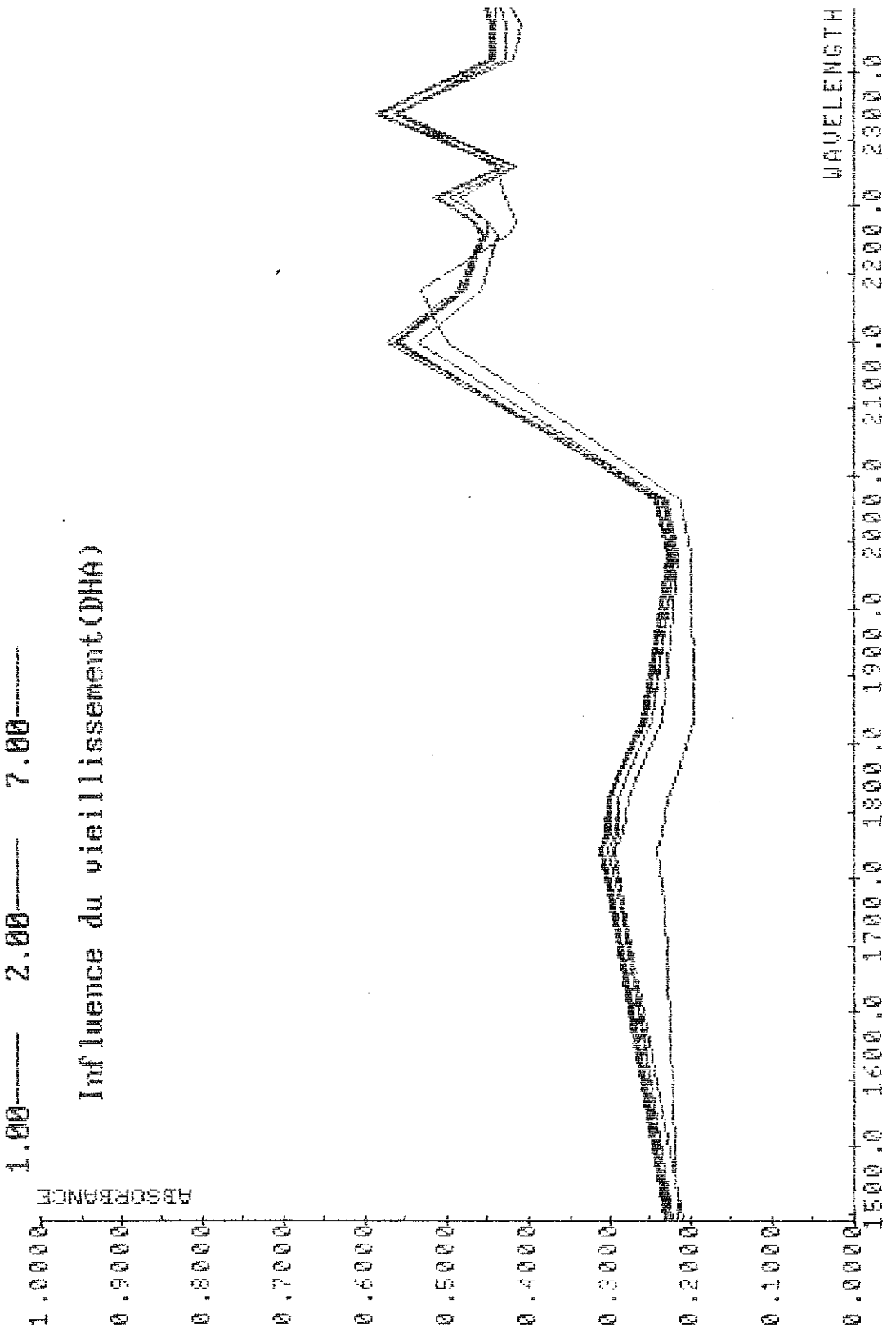
File name C:\OCRIAIS.DAT
File date 9: 4:29 TUE 5- 7-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



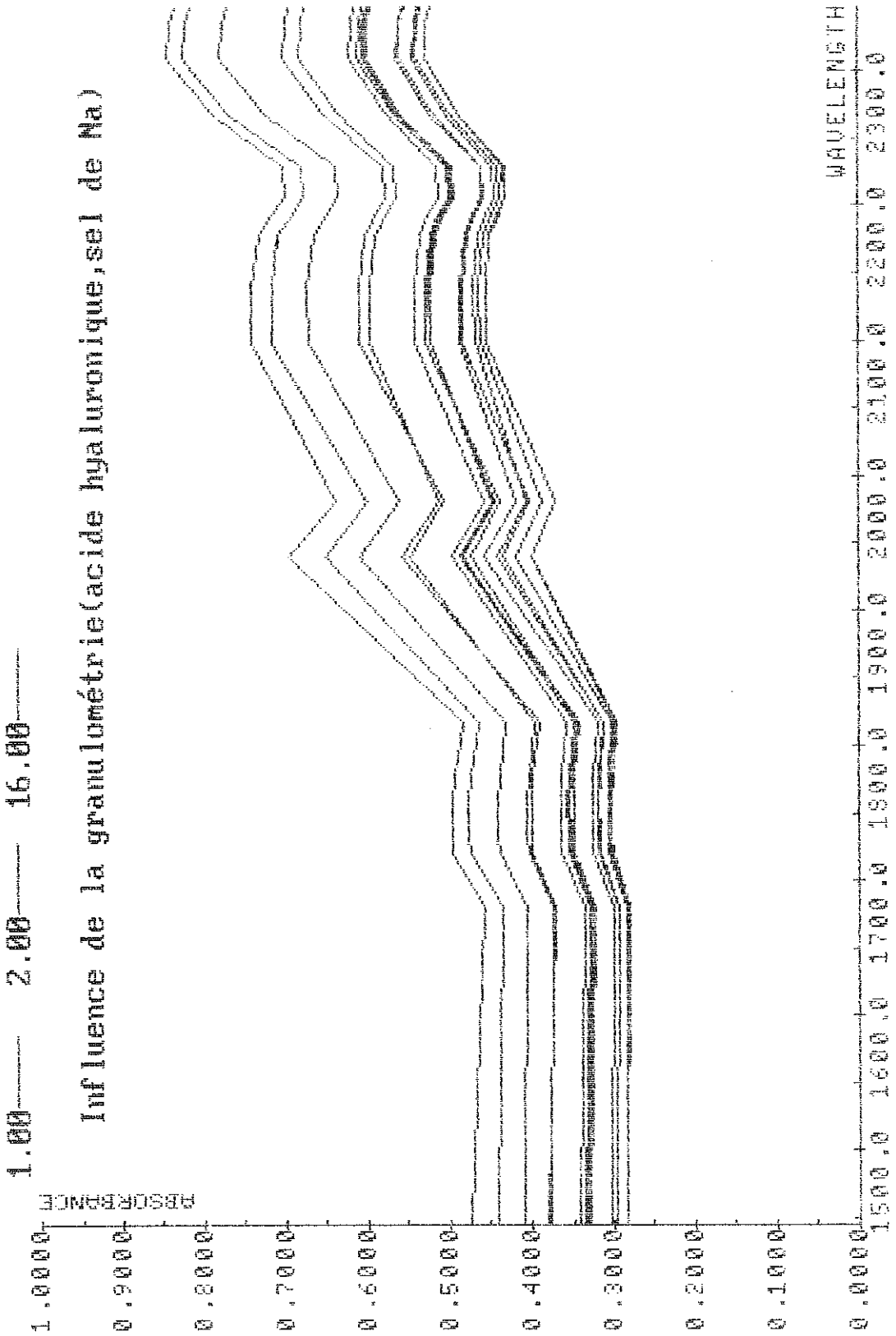
File name .DAT
File date 15: 2:56 MON 1-21-1980
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



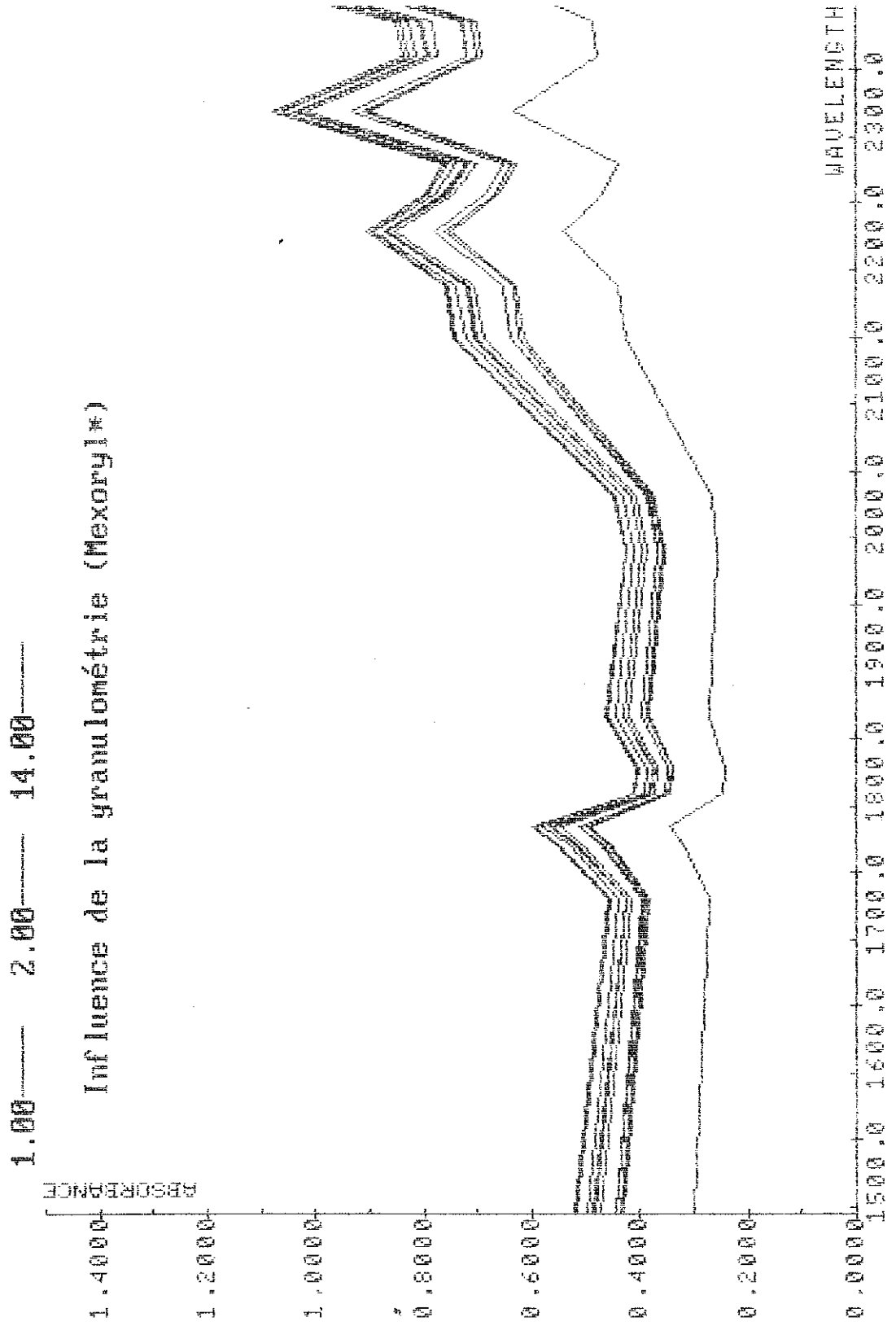
File name D:DCDHA.DAT
File date 15:22: 5 MON 5-13-1991
File ID   19 FILTER STANDARD WHEEL   2/3/83



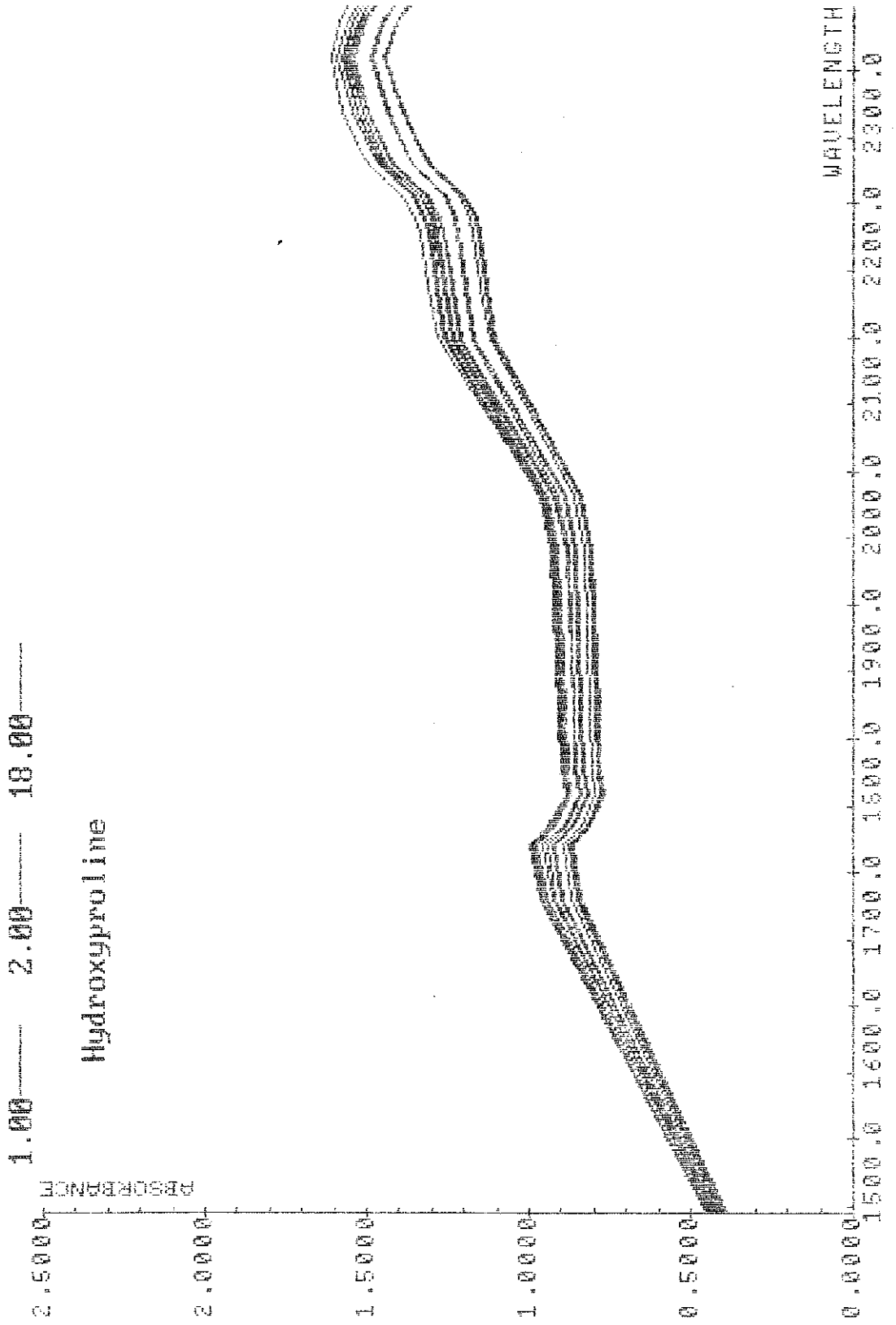
File name DAT
File date 12: 0:14 TUE 1-15-1991
File ID 1º FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



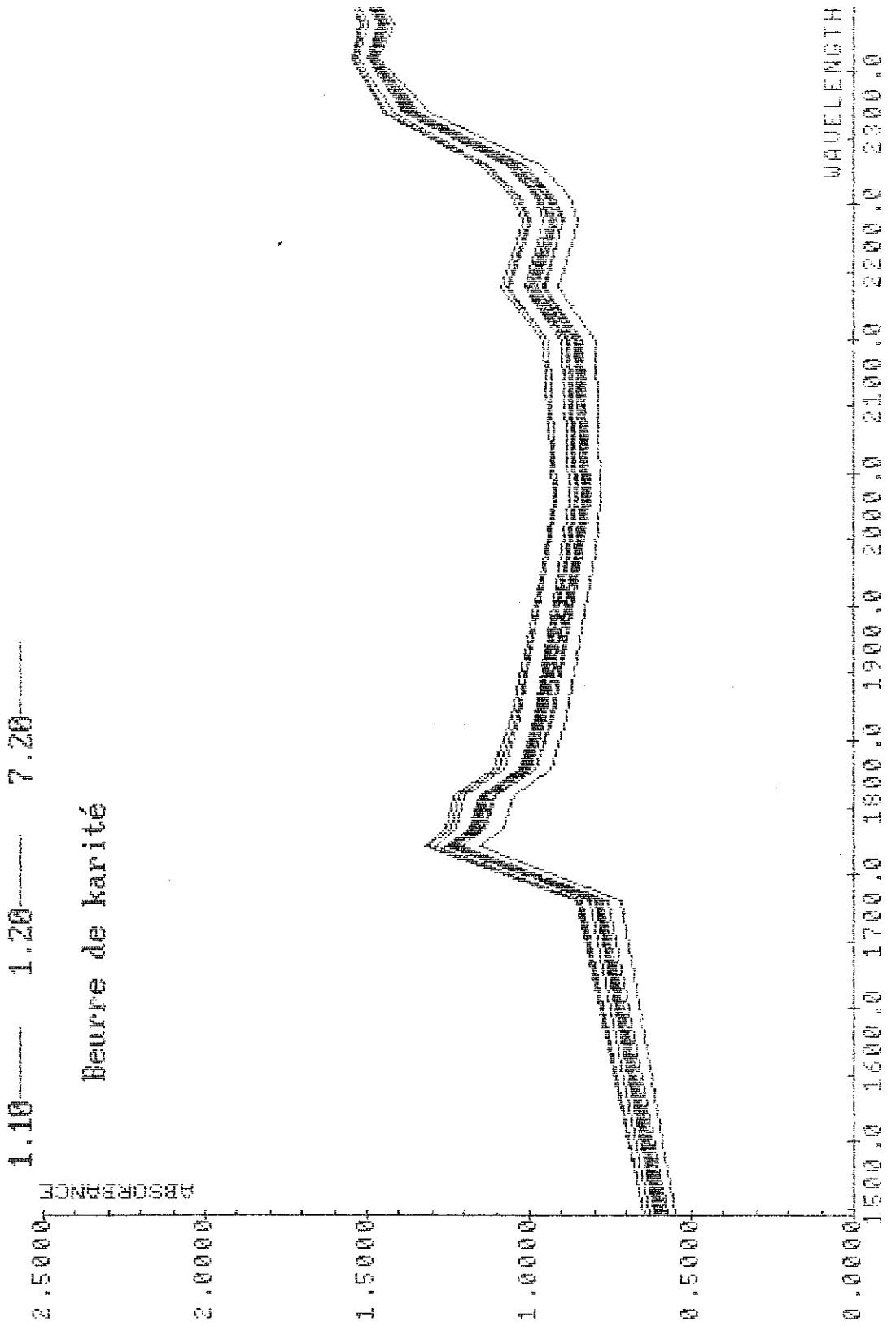
File name .DAT
File date 11:17: 3 FRI 1-18-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2'9/83



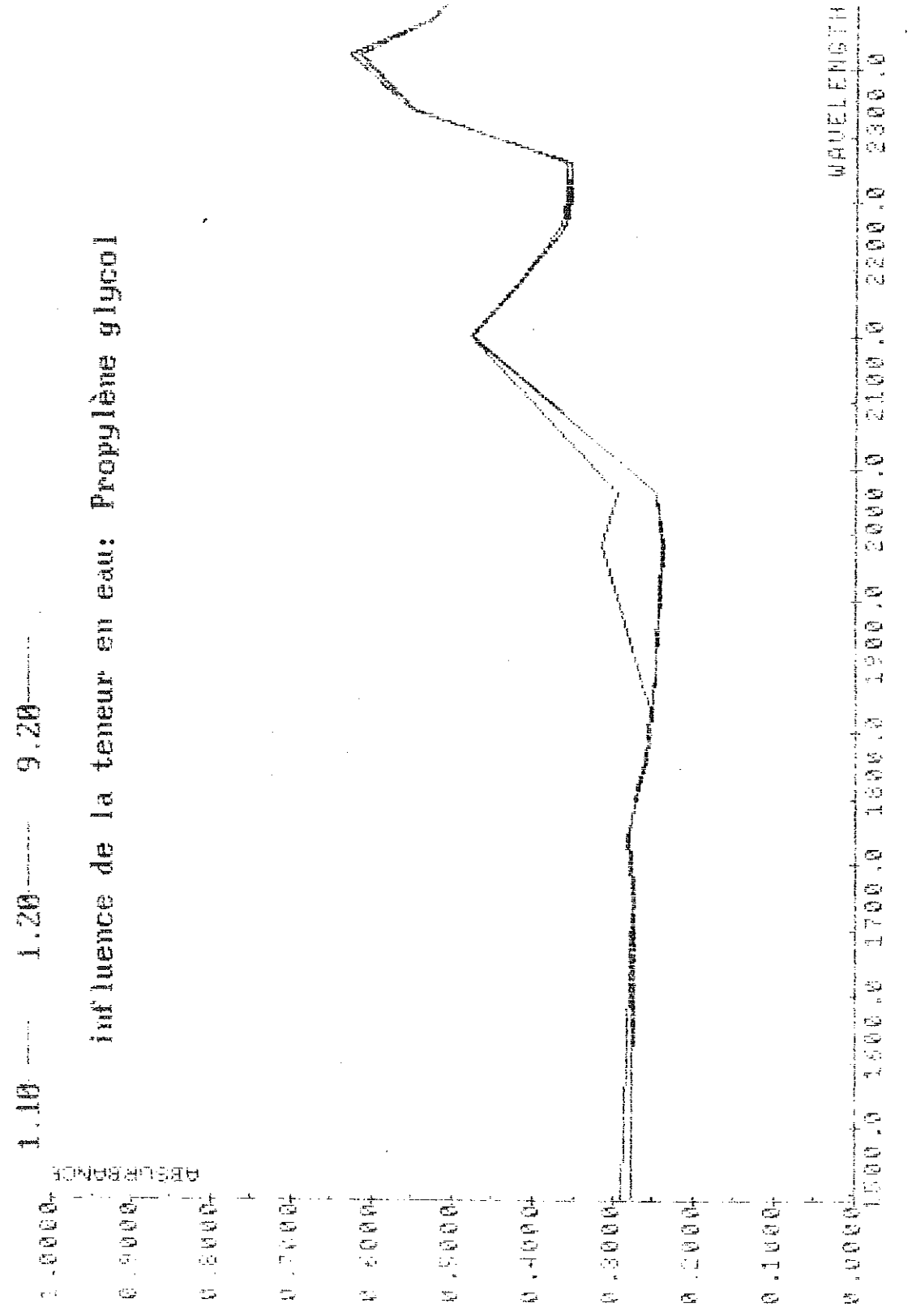
File name .DAT
File date 10:42:49 TUE 4-15-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



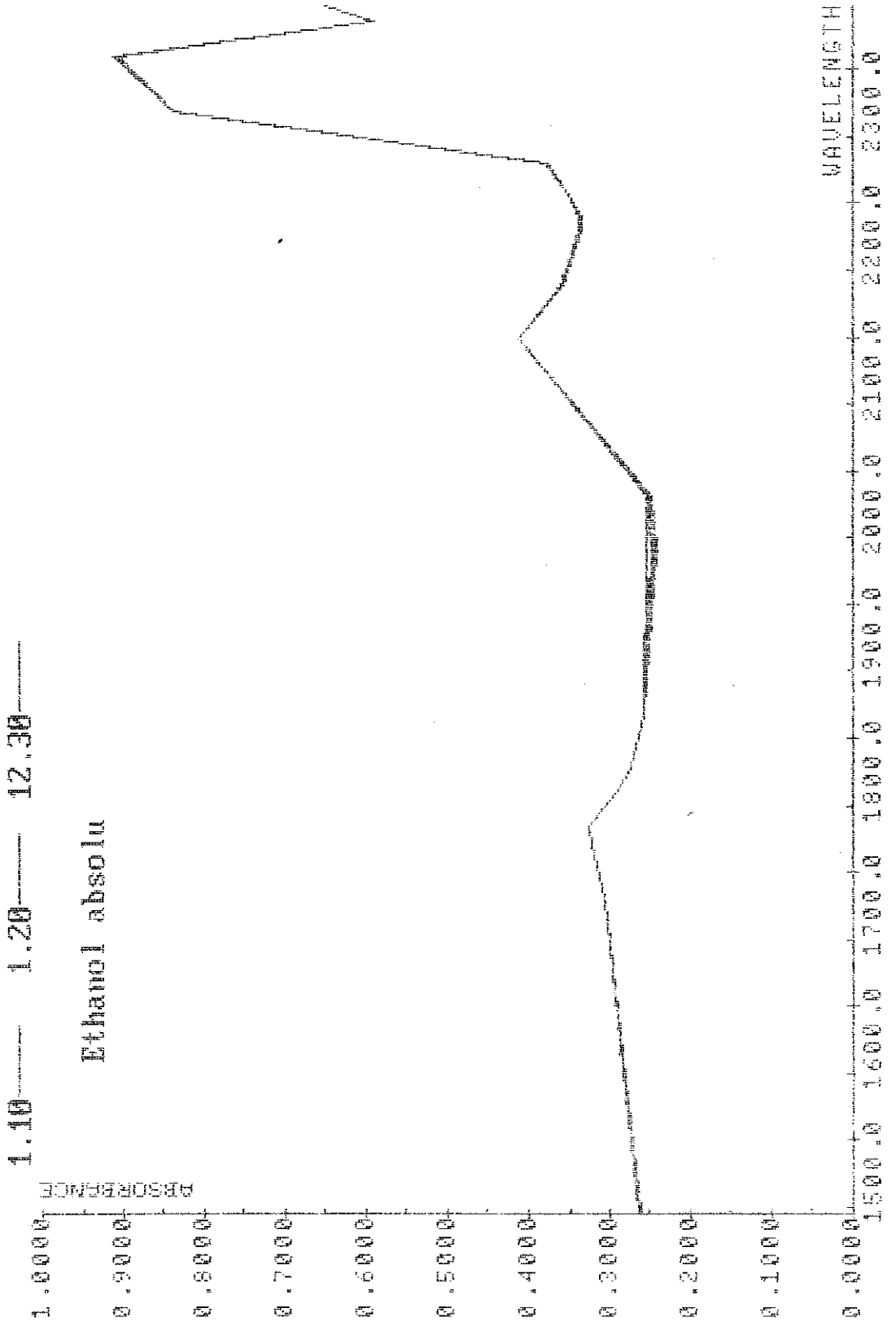
File name .DAT
File date 11:31: P THU 1-31-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/93



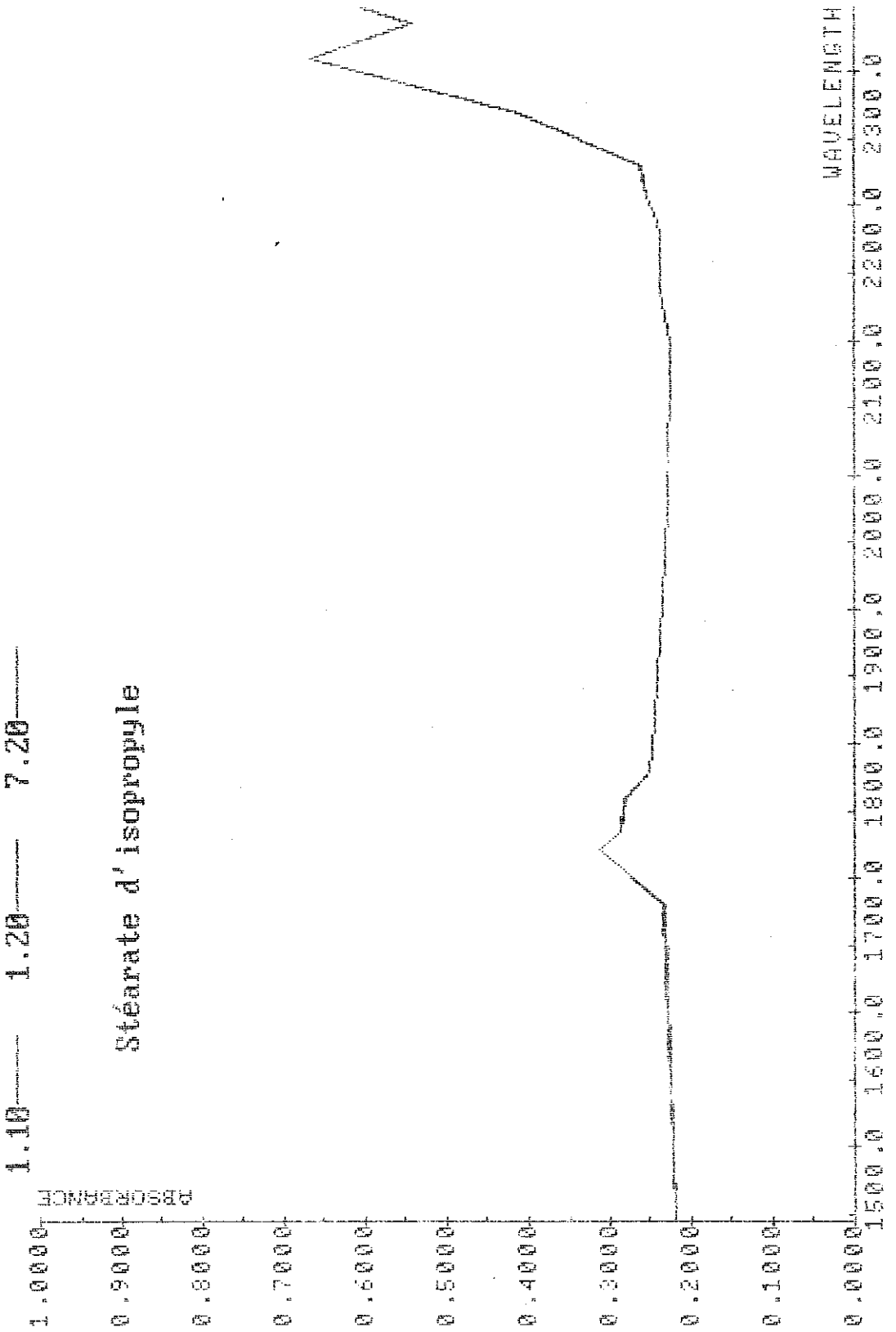
File name C:D .DAT
File date 15:11:34 THU 3-28-1991
File ID 19 STL/ER STANDARD WHEEL 2/9/83



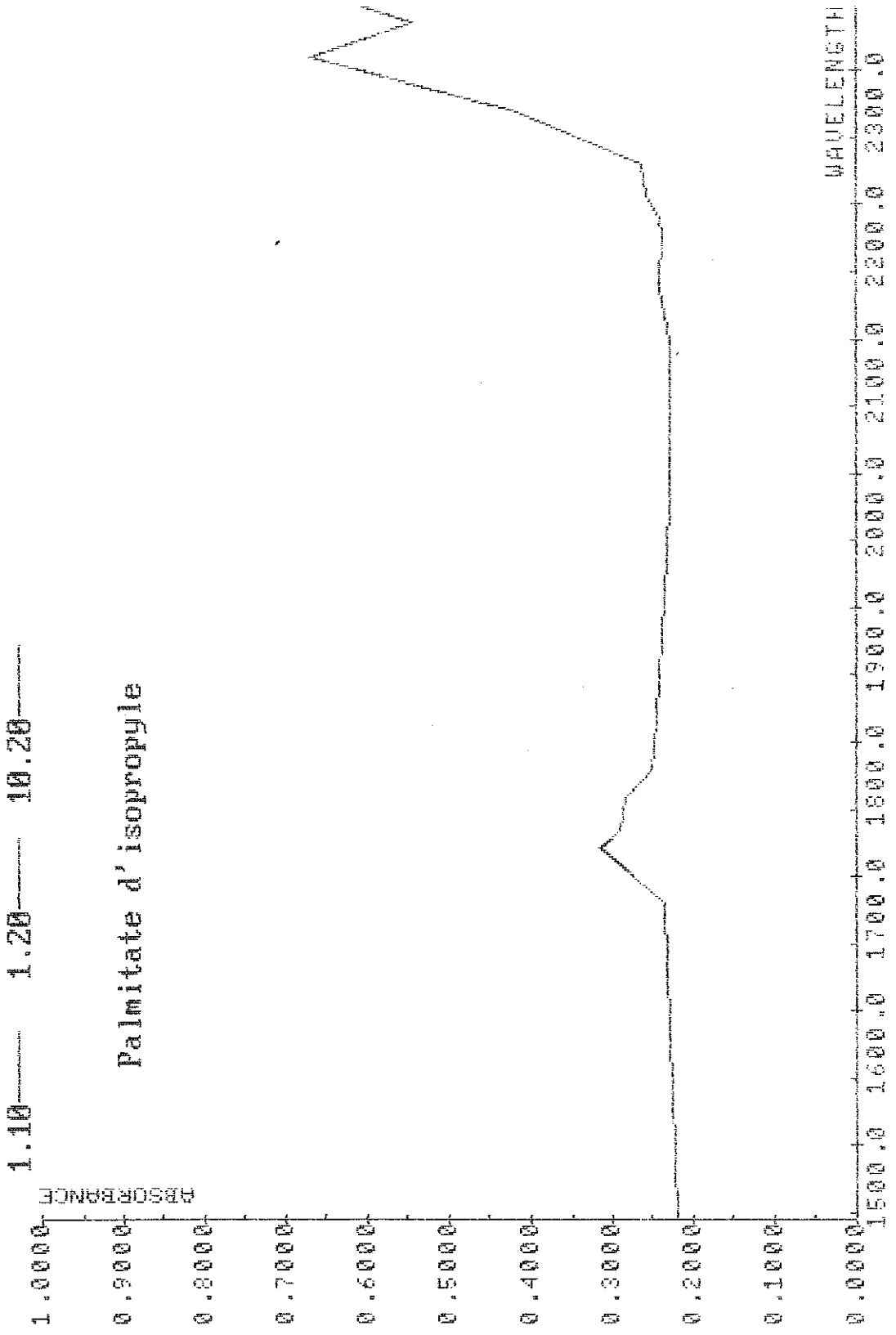
File name .DAT
File date 9:51: 1 THU 4- 4-1991
File ID 15 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



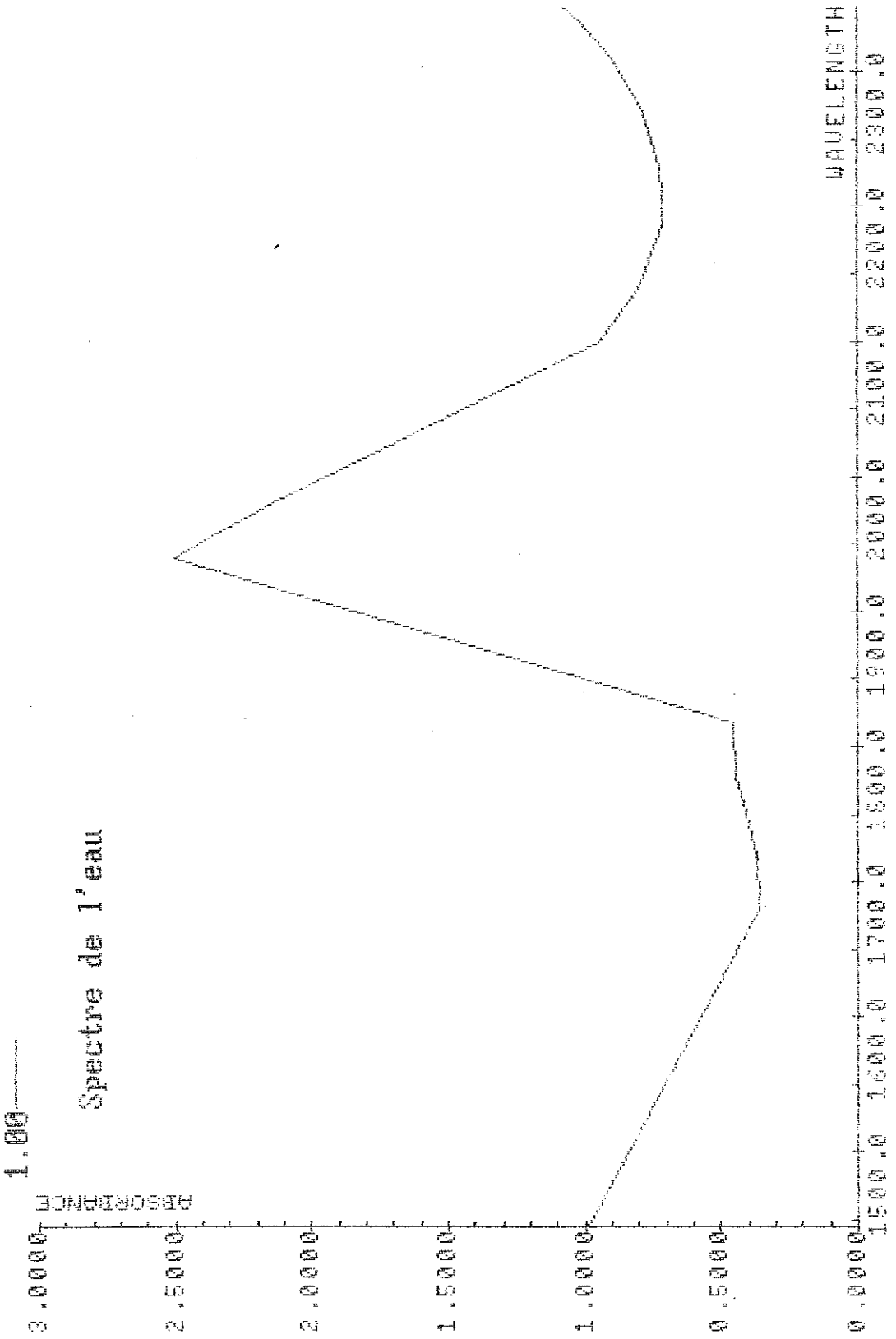
File name .DAT
File date 17:22:41 WED 8-27-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/93



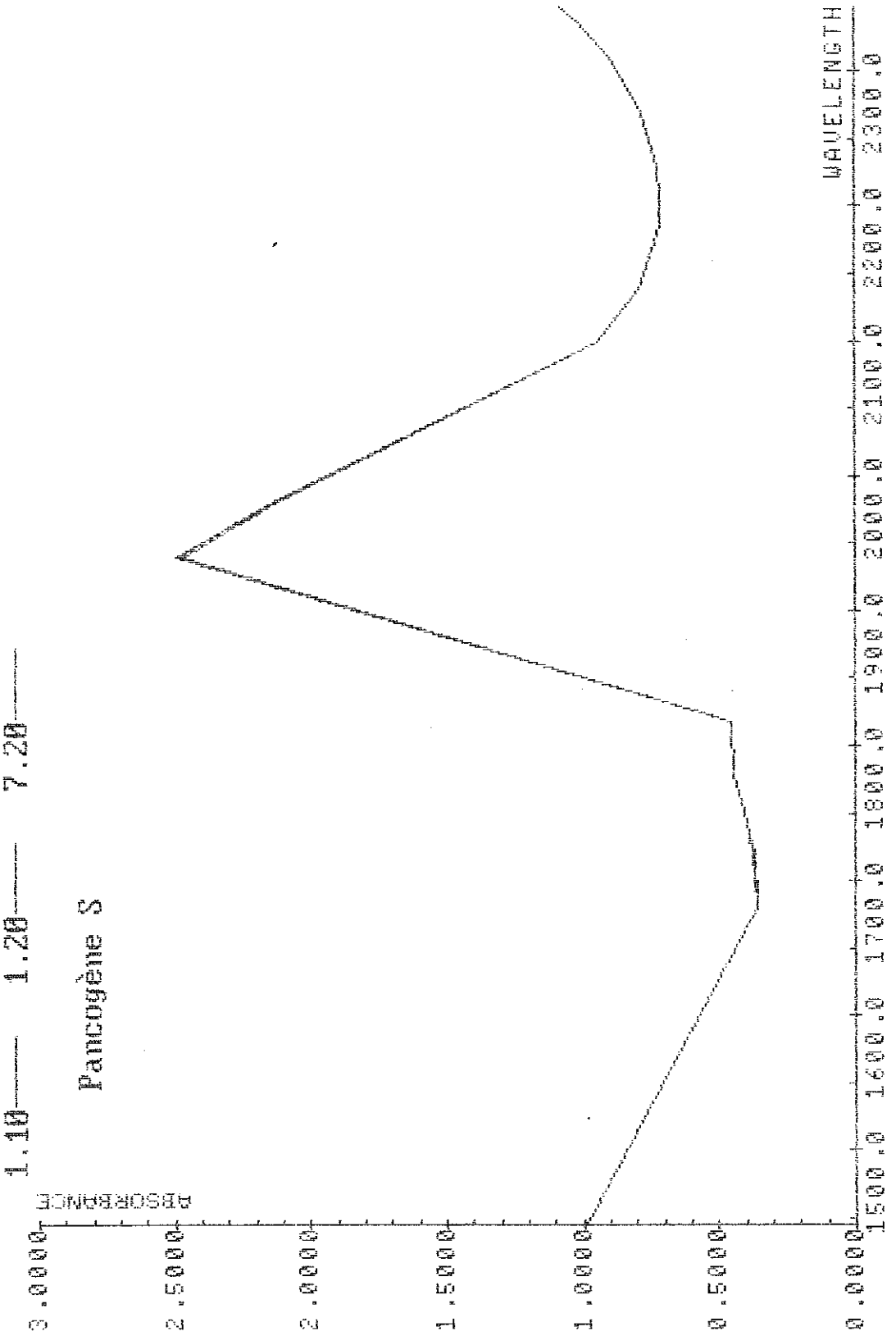
File name .DAT
File date 13: 2:39 WED 2-27-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



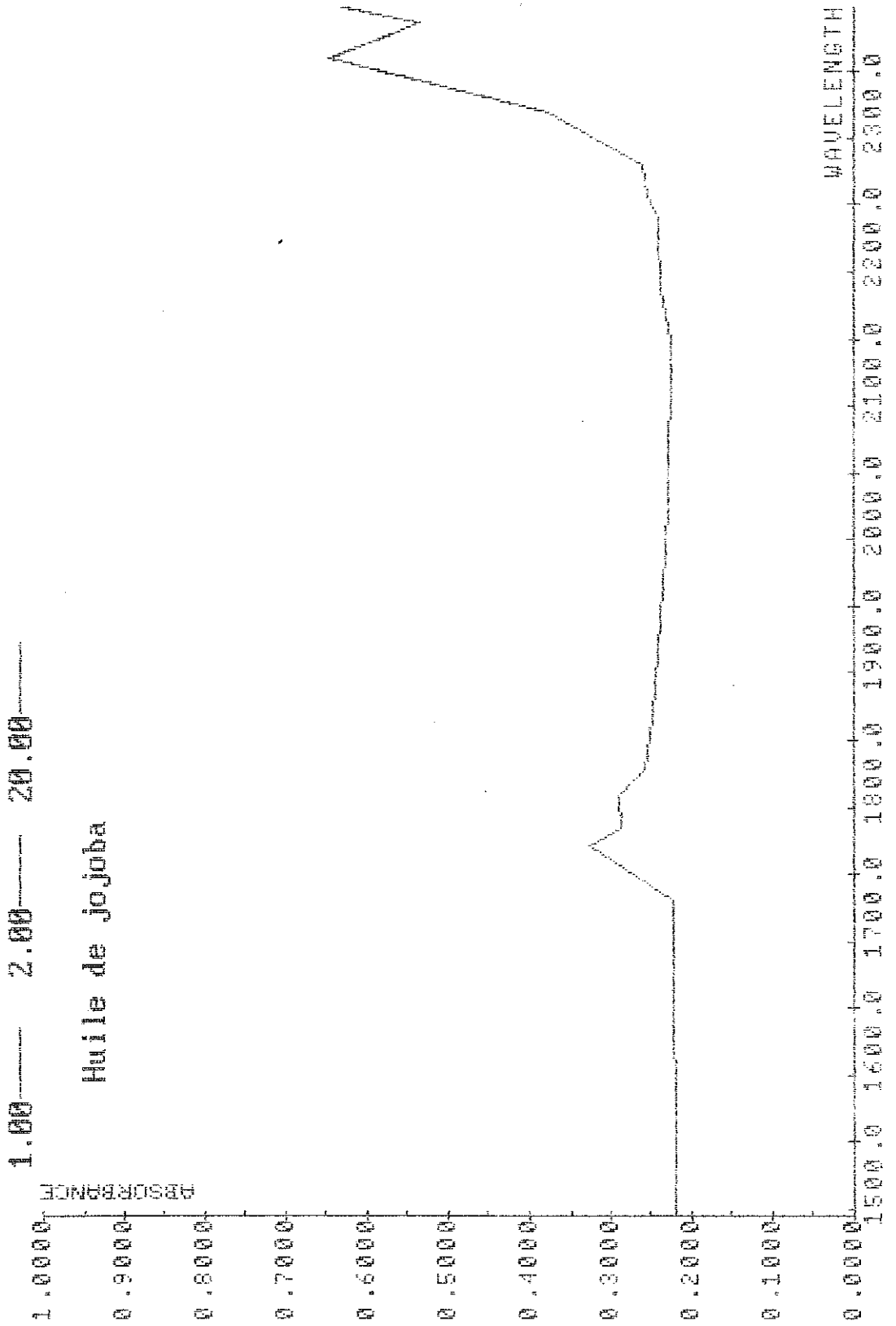
File name C:\OCEAU.DAT
File date 16:19:16 MON 3-4-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/5/83



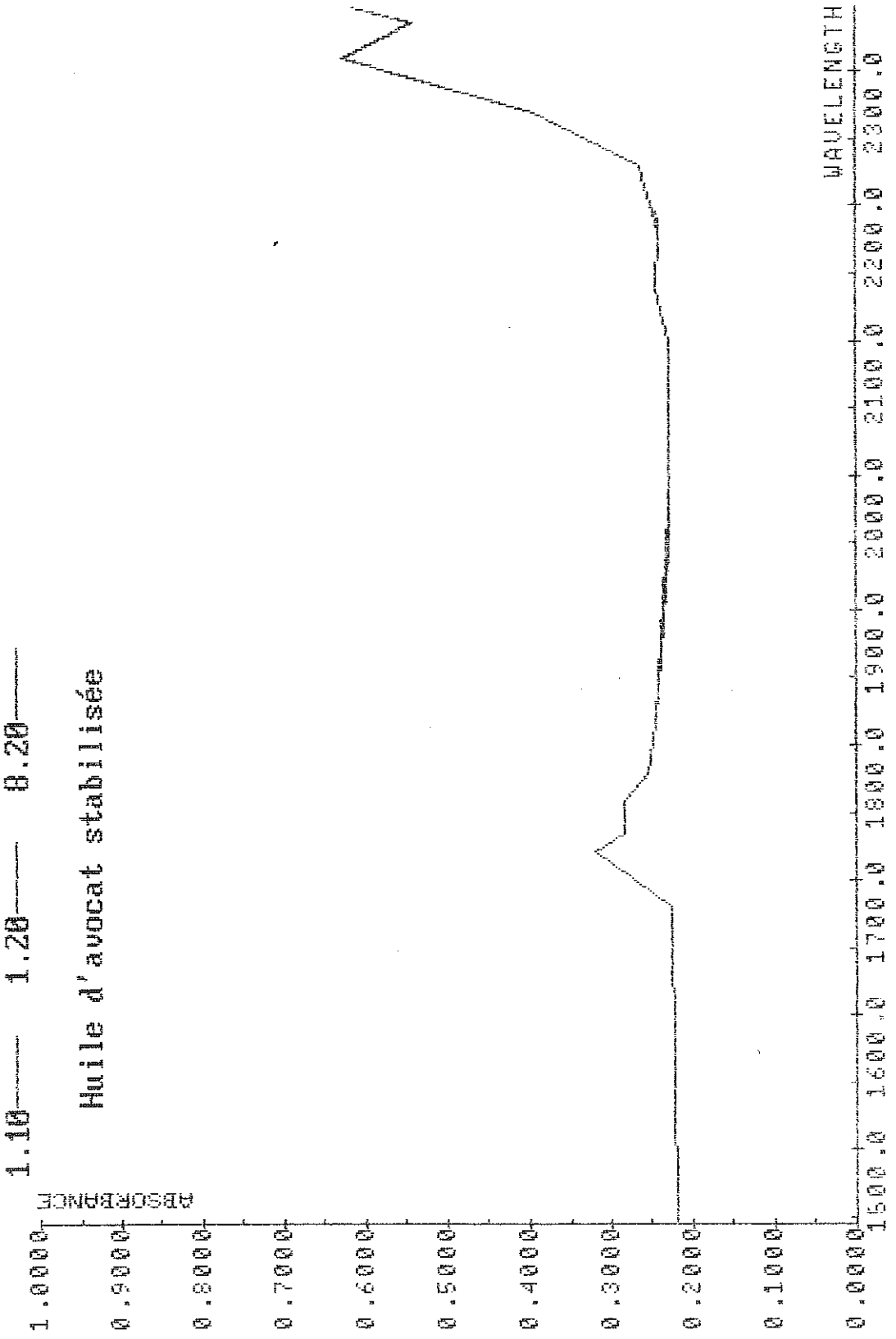
File name .DAT
File date 11:20:37 TUE 3- 5-1991
File ID 1º FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



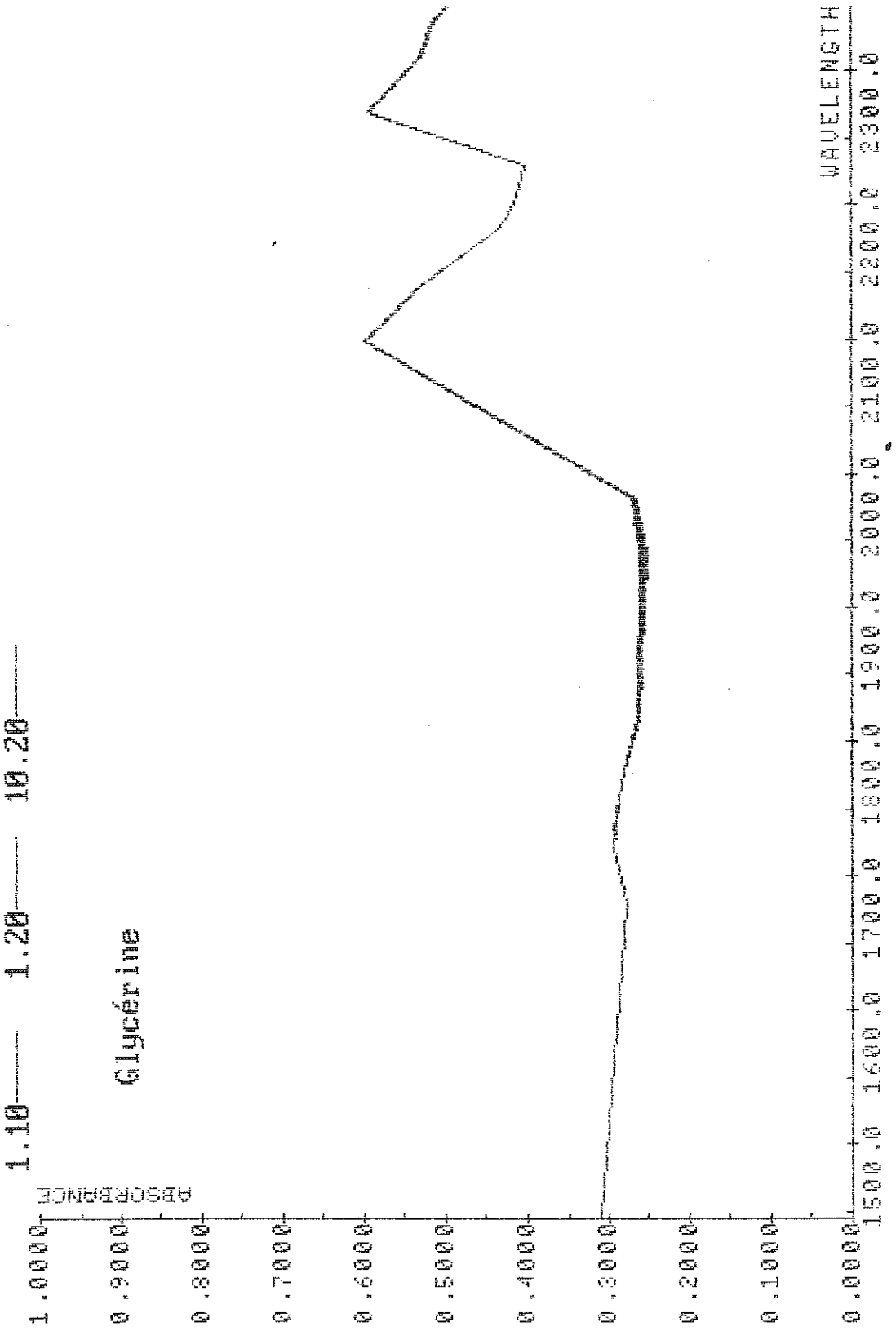
File name ..DAT
File date 12:14:33 FRI 3- 1-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



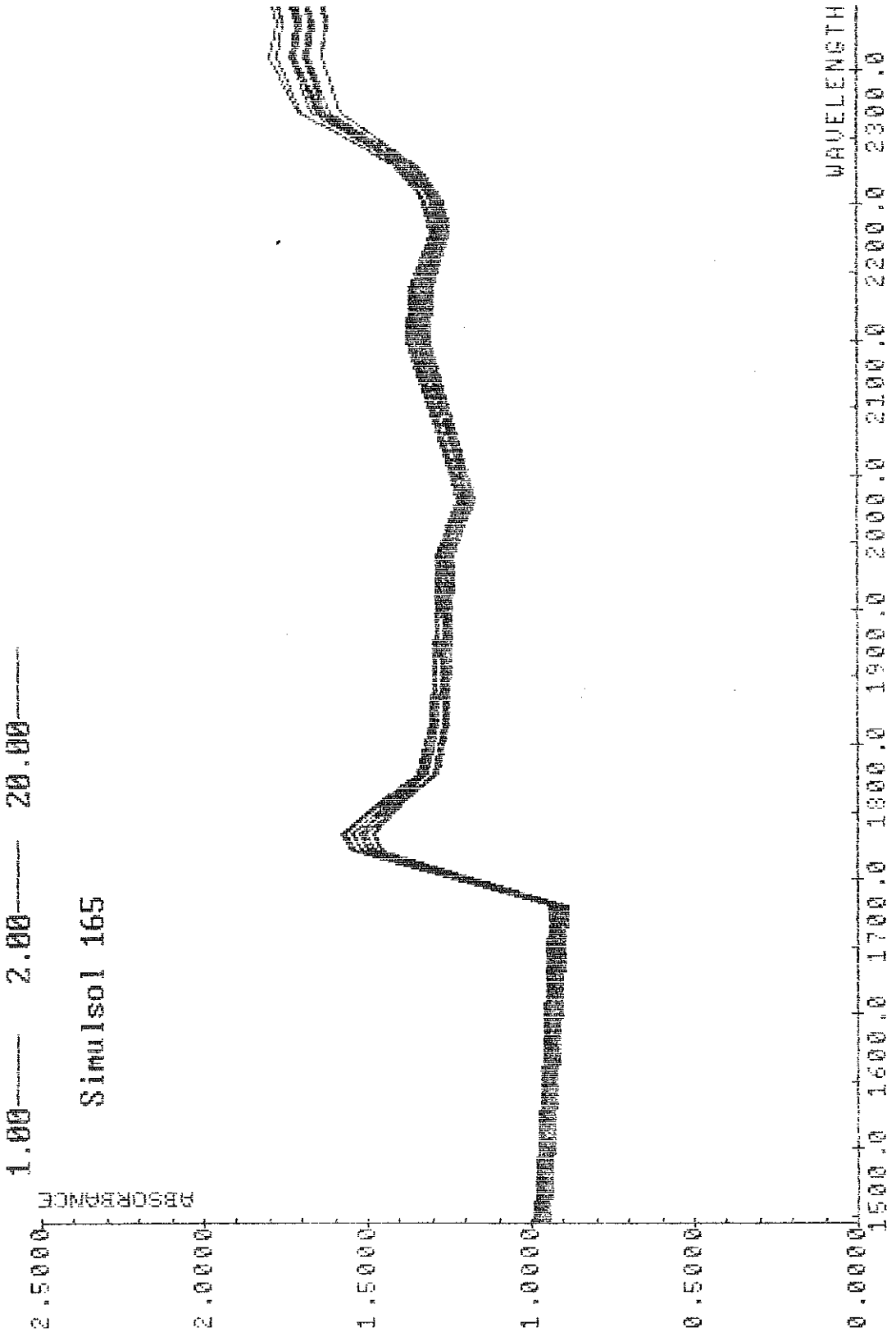
File name .DAT
File date 10:35:56 FRI 3- 1-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



File name .DAT
File date 11:22: 6 THU 2-28-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



File name .DAT
File date 9:58:45 TUE 4-16-1991
File ID 19 FILTER STANDARD WHEEL 2/9/83



A N N E X E 3

Combinations Search Results :

Data file : C:DMCAL.DAT
File I.D. : CALIBRATION SET #1

Equation File : C:EQCALIBR.DAT
EQ. File I.D. : ex.d'equation de calibration

No. of Samples (DM file) : 14
Wavelength Range (DM file) : 1100:2500/ 4
Wavelength Range (Used) : 1445:2348

Search Parameters :

1 1445,2348, 1
2 0,2348, 1
3 0,2348, 1

3 wavelength regressions for PROTEIN
Equation # 2.03

The best 5 wavelength combinations are :

	1ST	2ND	3RD	4TH	5TH
	1778	1778	1778	1778	2100
	1818	1818	1818	1818	2180
	2180	2230	2190	2208	2310
Cor. Coef's	0.9997	0.9997	0.9996	0.9995	0.9992

Wavelength	Mean	Standard Deviation	Correlation X vs. Y
1778	0.593626	0.025649	-0.526717
1818	0.573351	0.021615	-0.415953
2180	1.092791	0.060371	0.224791
PROTEIN	36.391429	23.632058	

Range 9.410 to 75.000

Wavelength	Regression Coefficient	t value of Coefficient
intercept	-53.925	
1778	-4553.113	-56.449610
1818	4505.639	44.356485
2180	192.785	30.276849

Analysis of variance for the regression

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Squares	F - Value
Attributable to Regression	3	7265.6775	2418.8591	5390.8437
Deviation from Regression	10	4.4864	0.4486	

Total	13	7260.164

No samples were beyond the limits expected from random chance

Multiple Correlation Coefficient	=	0.999691
Standard Error of Estimate	=	0.669807
Index of Systematic Variation	=	145.310791
Index of Random Variation	=	6408.493630
Estimated Prediction Error	=	0.701829
Estimated Precision	=	0.375251
E[M]	=	0.214286

Time data reading began	:	17:47:15 MON 3-18-1991
Time search began	:	17:47:19 MON 3-18-1991
Time search terminated	:	17:47:35 MON 3-18-1991

ANNEXE

TENEUR EN HCHO TOTAL

PRINCIPE

Le dosage est basé sur l'aptitude du produit à libérer du formaldéhyde dans des conditions bien déterminées.

Formation d'un complexe coloré avec l'acétylacétone et un sel d'ammonium.

La coloration obtenue est mesurée à 410 ± 5 nm.

REACTIFS

- Réactif à l'Acétylacétone (peut se conserver 8 jours à + 4°C)

Acétate d'ammonium p.a.....	15,4 g
Acétylacétone redistillée.....	0,2 ml
Acide acétique p.a.....	0,3 ml
H_2O qsp.....	100 ml

- Formaldéhyde en solution à 30 - 40 %
- Iode 0,1 N
- NaOH N
- $Na_2S_2O_3$ 0,1 N
- n.Butanol

MATERIEL

- Tubes à essais bouchés émeri de 20 ml environ
- Bain thermostaté à 60°C ± 1°C
- Spectrophotomètre
- Cuves de verre de 1 cm de parcours optique ou cuves à usage unique (1 cm X 1 cm X 4,5 cm)

MODE OPERATOIRE

SOLUTIONS ETALONS DE FORMALDEHYDE

Solution mère

Prélever 10 ml de solution de formaldéhyde à 30 - 40 %.
Compléter à 100 ml avec H_2O distillée.
Prélever 25 ml. Compléter à 500 ml avec H_2O distillée (S).
Déterminer la concentration de cette solution par la méthode de la pharmacopée Française IX édition.
(Cette solution peut se conserver à température ambiante et se retitrer périodiquement).
Prélever 10 ml de solution (S).
Ajouter 25 ml d'iode 0,1 N.
10 ml de NaOH N.
Laisser en contact 5 mn. Ajouter 11 ml d'HCl N.
Titrer l'excès d'iode par $Na_2S_2O_3$ 0,1 N.
1 ml d'iode 0,1 N ---> 1,5 mg HCHO.

Solutions diluées

Prélever 15 ml de sol (S). Compléter à 200 ml avec H_2O distillée.
Prélever 5 ml . Compléter à 100 ml avec H_2O distillée.
1 ml de solution diluée ---> $\simeq$ 7 µg HCHO.
Calculer son titre exact.

Courbe d'étalonnage

Dans une série de tubes à essais , introduire :

REACTIFS TUBES	1	2	3	4	5	6
Solution diluée de HCHO	0 ml	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml
H_2O distillée	5 ml	4 ml	3 ml	2 ml	1 ml	0 ml
Réactif à l'acétylacétone	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Teneur en HCHO $\simeq$	0	7µg	14 µg	21 µg	28 µg	35 µg

Boucher. Agiter.
Plonger les tubes dans un bain thermostaté à 60°C pendant 1 heure.
Refroidir sous eau courante pendant 5 mn.

Tracer le spectre immédiatement par rapport au tube n° 1 de 450 à 375 nm.
Noter l'absorbance qui se situe au λm à 410 ± 5 nm.
Tracer la courbe d'étalonnage en portant en abscisses les teneurs en HCHO en µg et en ordonnées les absorbances correspondantes.

DOSAGE DU PRODUIT

Peser exactement environ 0,500 g de
Dissoudre dans H_2O distillée.
Volumer à 100 ml avec H_2O distillée.
Prélever 5 ml. Volumer à 100 ml avec H_2O distillée.
" 5 ml " 50 ml " " "
Prélever 5 ml et continuer la colorimétrie selon le mode opératoire décrit dans la courbe étalon.

Remarque : Le produit ayant une granulométrie différente selon les lots, il est souhaitable de faire une prise d'essai de 0,500 g.

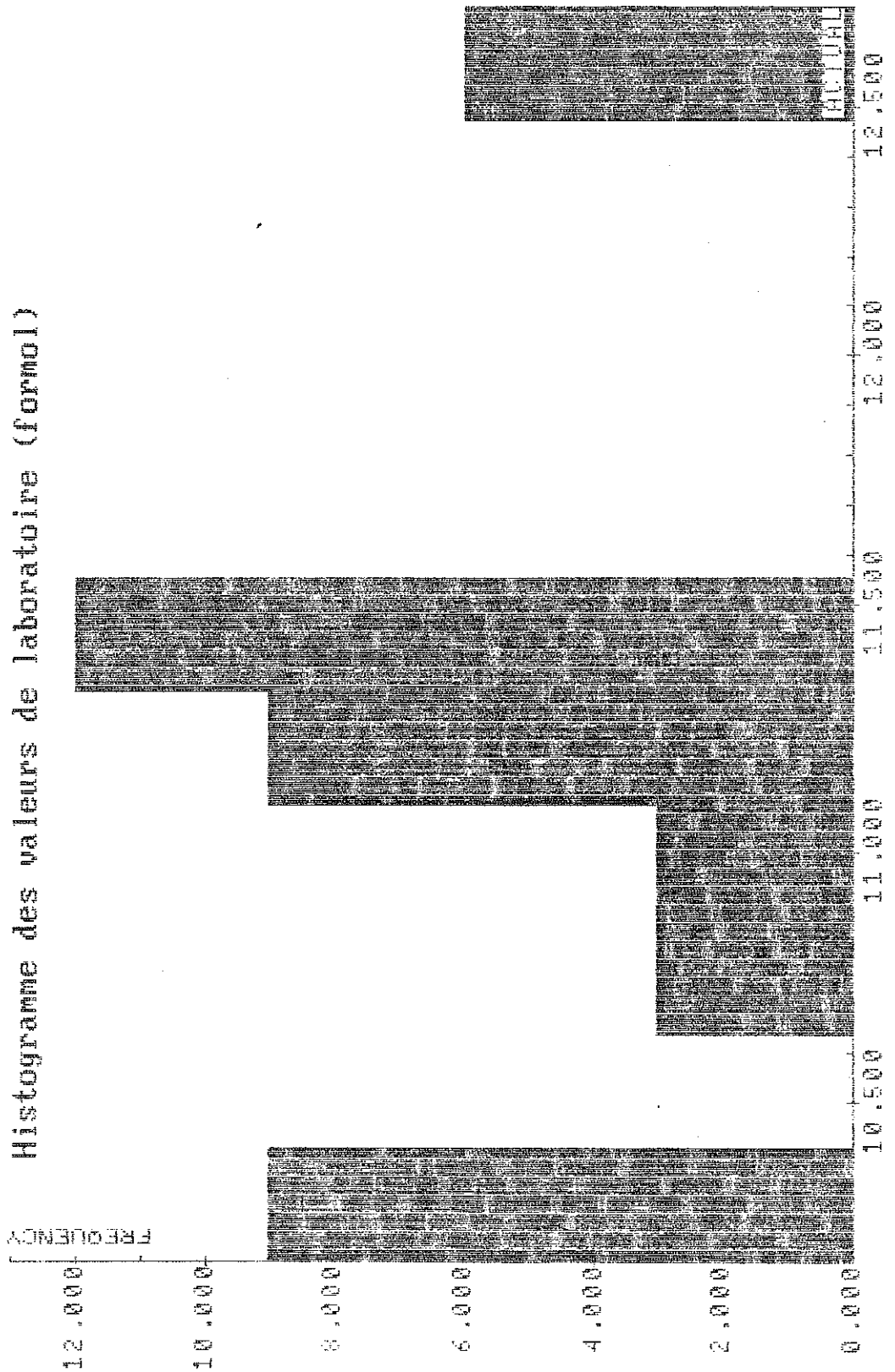
CALCULS

Soit p (g) le poids de la prise d'essai
C (µg) la concentration en HCHO lue sur la courbe d'étalonnage.

$$\text{Teneur en HCHO \% : } \frac{C}{10^6} \cdot \frac{50}{5} \cdot \frac{100}{5} \cdot \frac{100}{5} \cdot \frac{100}{P} = \frac{10\ C}{25\ P}$$

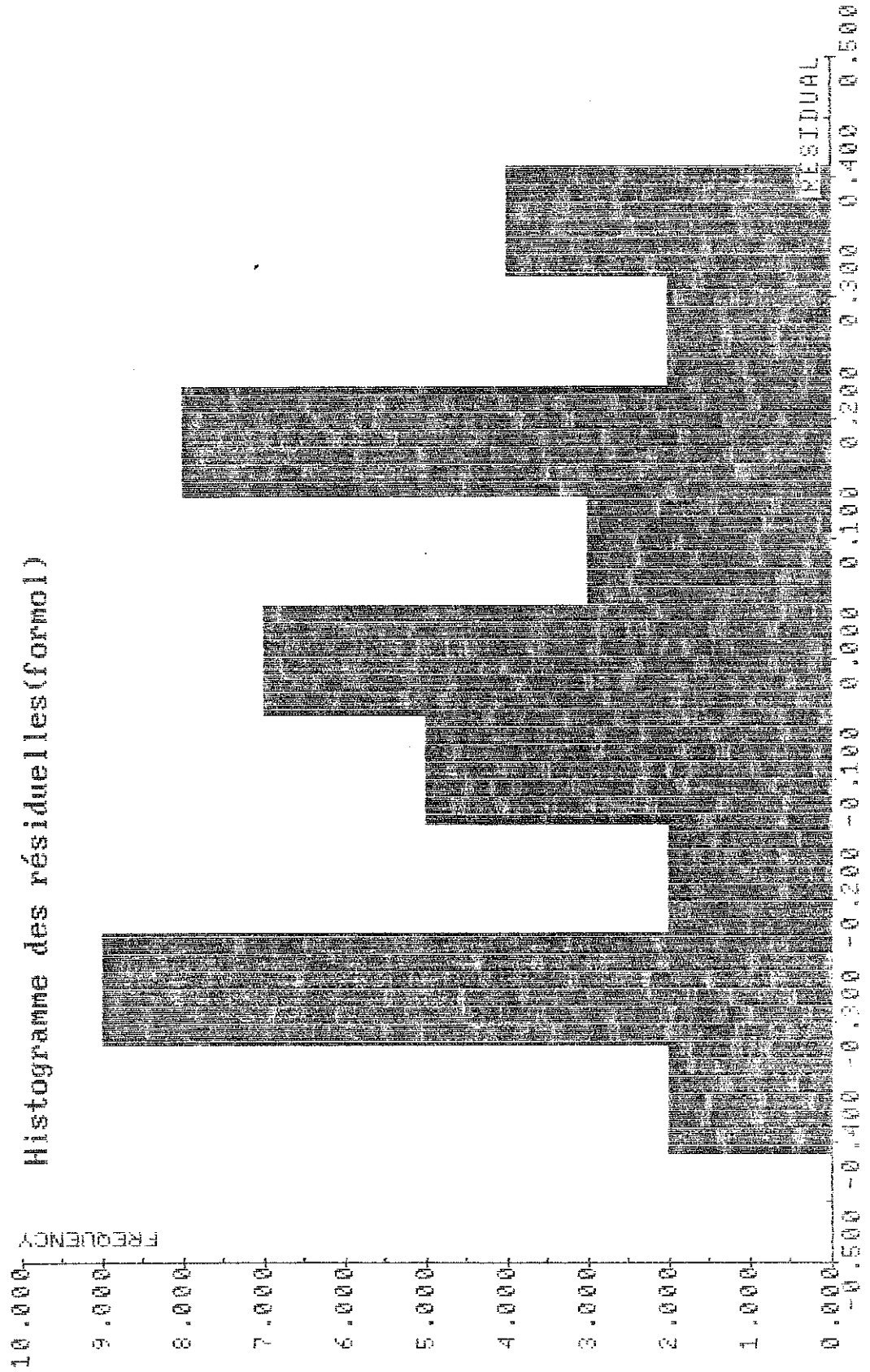
HISTOGRAM PLOT

DM File Name : C:\DCFORMOL.DAT
PR File Name : C:\PRX.DAT
PR File ID :



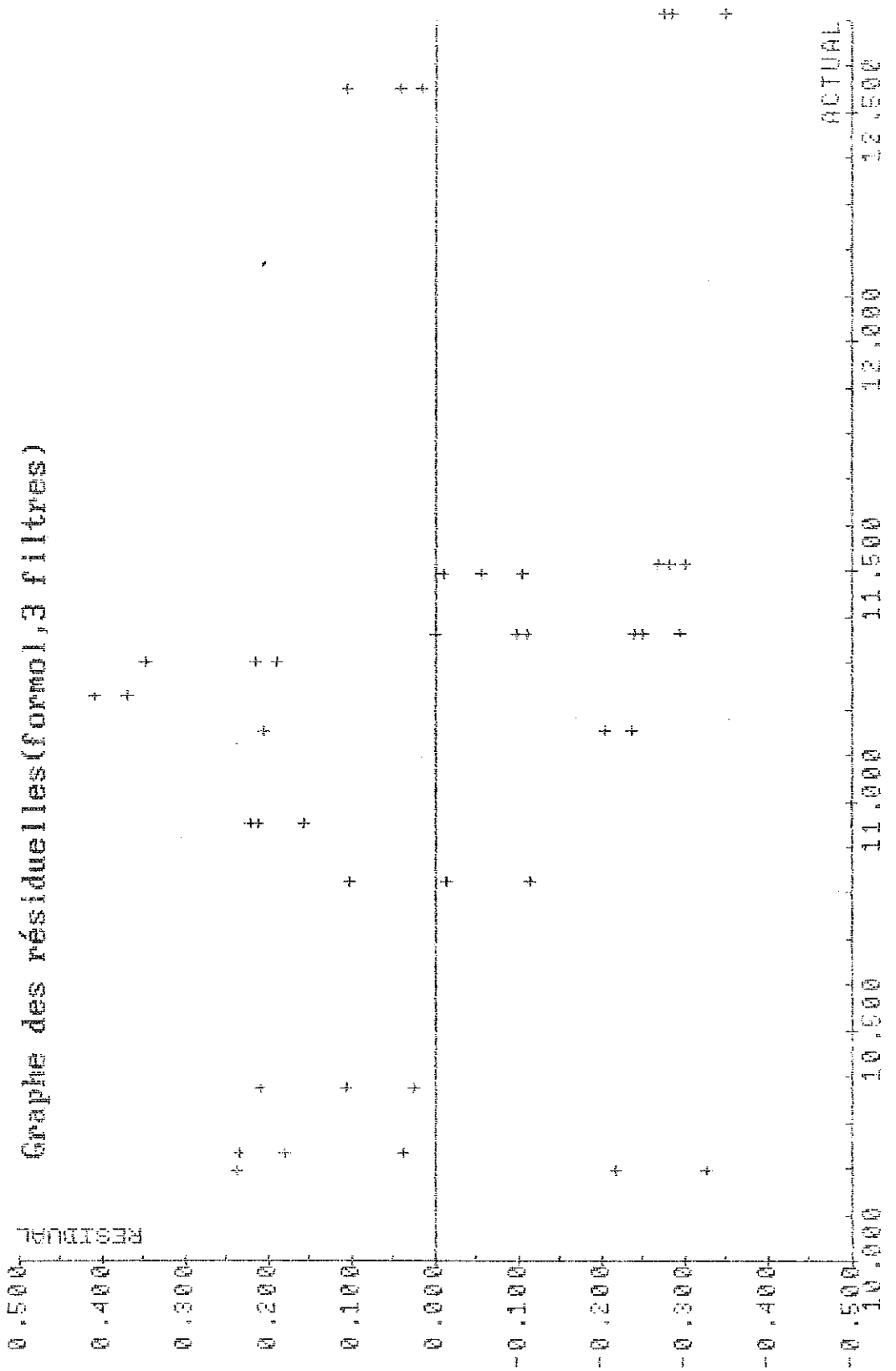
HISTOGRAM PLOT

DM File Name : C:DCFORMOL.DAT
PR File Name : C:PRX.DAT
PR File ID :



RESIDUAL PLOT

DK File Name : C:DCFORMOL.DAT
PR File Name : C:PRT.DAT
PR File ID :



DOSAGE COLORIMETRIQUE DES STEROLS TOTAUX

EXPRIME EN CHOLESTEROL

Principe

Les stérols en solution chloroformique donnent avec l'anhydride acétique et l'acide sulfurique une coloration verte intense mesurable à 625 nm environ.

Les stérols totaux sont dosés directement par colorimétrie.

Après précipitation des stérols libres par la digitonine, les stérols estérifiés sont dosés par colorimétrie.

La teneur en stérols libre est donnée par la différence entre stérols totaux et stérols estérifiés.

Tous les réactifs utilisés sont purs pour analyses.

- Anhydride acétique
- Acide sulfurique (d = 1.83)
- Dioxane
- Acide acétique
- Chloroforme
  (EtOH 75 v
- Mélange (Oxyde d'éthyle 25v
- Digitonine solution à 0.5 % dans EtOH à 95°

Réactif Ro

a) Refroidir dans un bain réfrigérant 20 ml d'anhydride acétique (1/2 heure).

Ajouter lentement en agitant 5 ml d'H_2SO_4 concentré (la solution doit être incolore ; conserver ce mélange dans la glace pendant l'utilisation).

b) Mélanger 5 ml d'acide acétique et 5 ml de dioxane.

Réactif "R" (à préparer extemporanément)

Mélanger 10 ml de solution a et
10 ml de solution b

Solution étalon de cholestérol

Peser exactement 250 mg de cholestérol étalon.
Dissoudre dans $CHCl_3$.
Volumer à 100 ml dans une fiole jaugée.
Diluer au 1/10 avec $CHCl_3$ (1 ml de cette solution contient 250 ug de cholestérol).

Matériel

Matériel courant de laboratoire :

- Bain de glace
- Bain thermostaté à 30°
- Spectrophotomètre
- Cuves de verre de 1 cm de parcours optique
- Tubes à essais vissés de 16 mm, L = 10 cm

Mode opératoire

Préparer une solution chloroformique du produit de façon à obtenir une concentration d' environ 25 mg % de stérols (solution S).

Stérols totaux

Dans une série de tubes introduire

Tubes	Solution	Solution étalon de cholestérol diluée	CHC13	Réactif R
1	0	0	4 ml	2 ml
2	1 ml	0	3 ml	2 ml
3	1 ml	1 ml (250 µg)	2 ml	2 ml
4	1 ml	2 ml (500 µg)	1 ml	2 ml
5	1 ml	3 ml (750 µg)	0	2 ml

Boucher les tubes, agiter, puis les immerger 30 minutes dans un bain à 30°.
Effectuer immédiatement la lecture au spectrophotomètre.

Tracer la courbe en portant en ordonnées les absorbances lues au λ m qui se situe à 630 nm et en abscisses les concentrations en cholestérol.

On obtient une droite ne passant pas par l'origine ; prolonger cette droite jusqu'à sa rencontre avec l'axe des abscisses.

La valeur négative lue en valeur absolue correspond à la teneur en cholestérol pour 1 ml de solution.

Calculs.

Soit p (en g) le poids de la prise d'essai
V le volume de la dilution

C1 (en ug) la valeur lue sur la courbe étalon

Teneur en stérols totaux %
(exprimé en cholestérol)

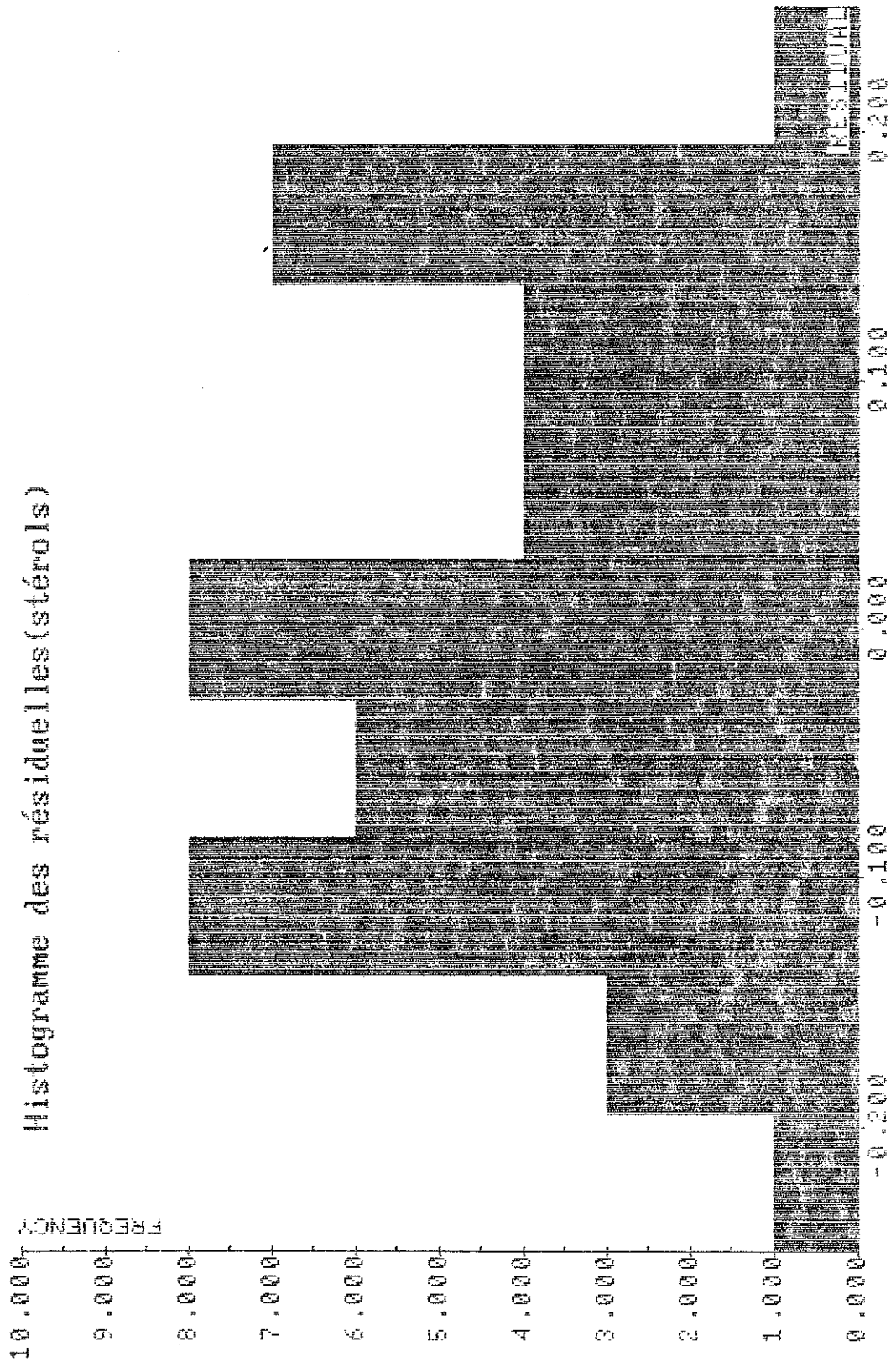
$$\frac{C_1}{10^6} \cdot \frac{V}{1} \cdot \frac{100}{p} = \frac{C_1 V}{10^4 p}$$

HISTOGRAM PLOT

DM File Name :
PR File Name : C:PRX.DAT
PR File ID :

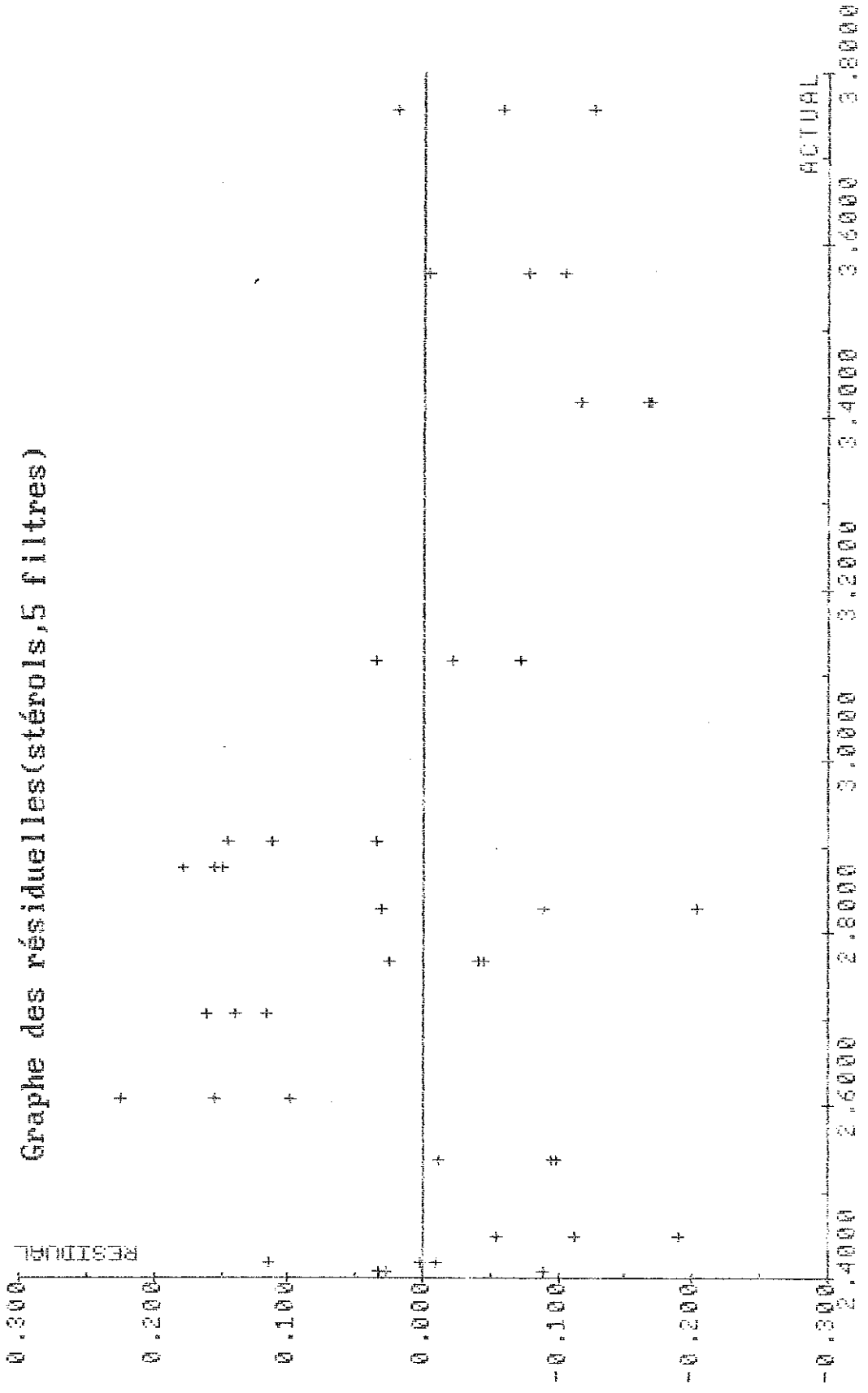
HISTOGRAM PLOT

DM File Name :
PR File Name : C:PRX.DAT
PR File ID :



RESIDUAL PLOT

DM File Name :
PR File Name : C:P5Y.DAT
PR File ID :



R E S U M E

Le contrôle de qualité des matières premières et des produits finis est primordial pour les entreprises agroalimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques ou autres. Cependant certaines méthodes classiques d'analyse physico-chimiques sont parfois dangereuses, longues et difficiles à mettre en oeuvre.

A l'origine, la spectrométrie proche infrarouge a été développée dans le but de diminuer la charge et le délai de contrôle des laboratoires agroalimentaires. Effectivement, la relation existant entre l'absorption d'une molécule dans le proche infrarouge et sa concentration a permis une détermination spécifique des taux de protéines, d'humidité, d'hydrates de carbone...

Une récente application consiste en l'identification de substances par proche infrarouge utilisant des notions de distances dans un espace multidimensionnel.

Nous nous proposons ici d'étudier les applications de cette technique à l'industrie cosmétique. Nous décrivons le principe de la spectroscopie proche infrarouge et détaillons l'appareillage utilisé, en particulier l'infraalyzer 450 qui nous a servi pour nos expériences. Puis nous développons la théorie de l'analyse qualitative par proche infrarouge, en nous appuyant sur l'identification des matières premières cosmétiques. Enfin nous montrons comment cette méthode peut être utilisée pour l'analyse quantitative, en la comparant avec les méthodes classiques de dosage.

M O T S - C L E S

SPECTROSCOPIE PROCHE INFRAROUGE.

MATIERES PREMIERES COSMETIQUES.

DISTANCE DE MAHALANOBIS.

REGRESSION MULTILINEAIRE.