



YVES ROCHER

CRÉATEUR DE LA COSMÉTIQUE VÉGÉTALE®



MISE AU POINT D'UN PROTOCOLE DE RINCAGE

Aline GILBERT
Technicienne en Phytochimie

Pôle Innovation du Végétal
Centre de Recherche Yves Rocher
Issy-Les-Moulineaux



TABLE DES MATIERES

1. Présentation

- La Direction des Sciences du Végétal
- Le Pôle Innovation du Végétal

2. Diversité des échantillons

- Contraintes en CCM
- Exemple de contamination

3. Optimisation des paramètres dans wincats

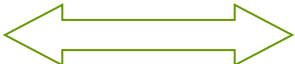
- Cas d'un extrait hydro-alcoolique
- Problèmes/Solutions





PRESENTATION

La Direction des Sciences du Végétal

Le Pôle Innovation du Végétal  Le Pôle Recherche Cutanée



DIRECTION
DES SCIENCES
DU VÉGÉTAL



Phytochimie, Extraction végétale, Génie
des Procédés,
Biologie végétale
Conversion enzymatique, Fermentation

Biologie cellulaire,
Biologie moléculaire,
Biochimie, Immunologie
Expertise de la peau humaine,

Recherche et Développement des
actifs végétaux et biotechnologiques

Objectivation des principes actifs
in vitro sur modèles cellulaires

Nouveaux actifs végétaux



Nouvelles activités cosmétiques *in vitro*



PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal

Développement d'un Actif Végétal Cosmétique

Ethnobotanique
Missions YR

Bibliographie
scientifique

Observations
physiologiques

Contrats collaboration
Université/Industries



SELECTION
PLANTES



PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal

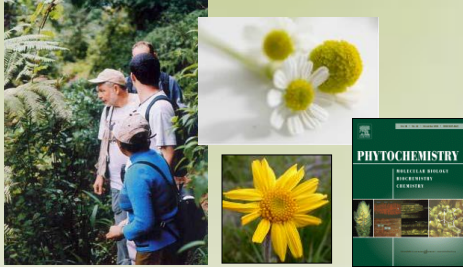
Développement d'un Actif Végétal Cosmétique

Ethnobotanique
Missions YR

Bibliographie
scientifique

Observations
physiologiques

Contrats collaboration
Université/Industries



SELECTION
PLANTES

Screening Phytochimique



Déposeur automatique



Chambre de visualisation

→ Mise en évidence des grandes
familles de molécules



PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal

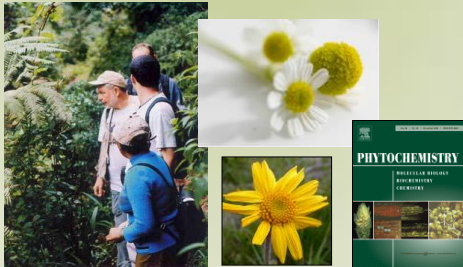
Développement d'un Actif Végétal Cosmétique

Ethnobotanique
Missions YR

Bibliographie
scientifique

Observations
physiologiques

Contrats collaboration
Université/Industries



SELECTION
PLANTES

Screening Phytochimique

Recherche des fractions actives /
molécules actives

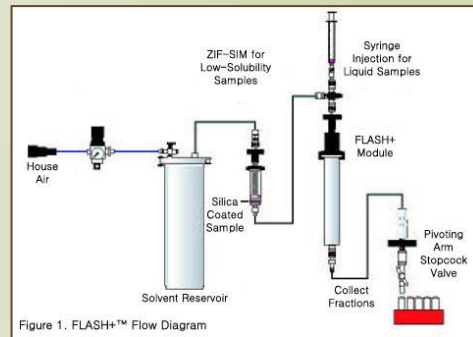
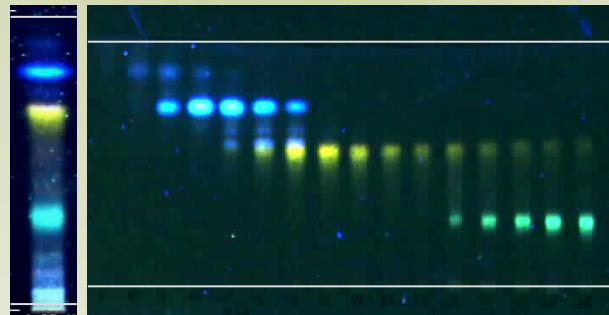


Figure 1: FLASH+™ Flow Diagram



Fractions



PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal

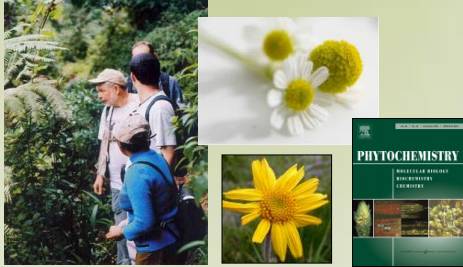
Développement d'un Actif Végétal Cosmétique

Ethnobotanique
Missions YR

Bibliographie
scientifique

Observations
physiologiques

Contrats collaboration
Université/Industries



SELECTION
PLANTES

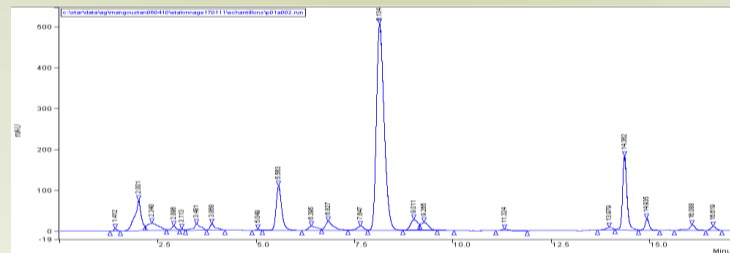
Screening Phytochimique

Recherche des fractions actives /
molécules actives

Analyse qualitative et quantitative des
principes actifs



- LC/UV
- LC/DEDL
- LC/UV/Fluo





PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal

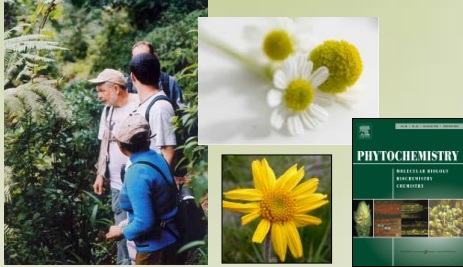
Développement d'un Actif Végétal Cosmétique

Ethnobotanique
Missions YR

Bibliographie
scientifique

Observations
physiologiques

Contrats collaboration
Université/Industries



SELECTION
PLANTES

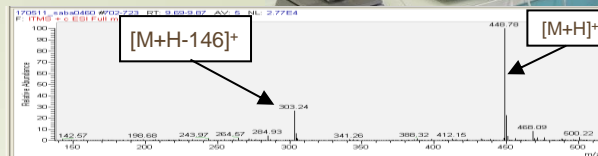
Screening Phytochimique

Recherche des fractions actives /
molécules actives

Analyse qualitative et quantitative des
principes actifs

Analyse structurale des
principes actifs

LC/UV/MS
MS HR + RMN
en STT





PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal

Développement d'un Actif Végétal Cosmétique

Ethnobotanique
Missions YR

Bibliographie
scientifique

Observations
physiologiques

Contrats collaboration
Université/Industries



SELECTION
PLANTES

Screening Phytochimique

Recherche des fractions actives /
molécules actives

Analyse qualitative et quantitative des
principes actifs

Analyse structurale des
principes actifs

Screening Enzymatique





PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal

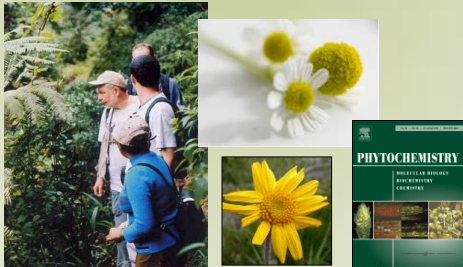
Développement d'un Actif Végétal Cosmétique

Ethnobotanique
Missions YR

Bibliographie
scientifique

Observations
physiologiques

Contrats collaboration
Université/Industries



➔ SELECTION
PLANTES

Screening Phytochimique

Recherche des fractions actives /
molécules actives

Analyse qualitative et quantitative des
principes actifs

Analyse structurale des
principes actifs

Screening Enzymatique

➔ Tests des actifs *in vitro*
sur cultures cellulaires
cutanées

➔ Développement de l'actif -
stade pilote – stade
industriel





PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal
Matériel



**Déposeur
CAMAG
ATS 4**

**Chambre de
visualisation CAMAG
Reprostar 3**

**Scanner
CAMAG
TLC Scanner 3**



**Chambre de Migration
CAMAG
ADC 2 avec régulateur
d'humidité**

**Système de
Pulvérisation
DESAGA
DS 20**

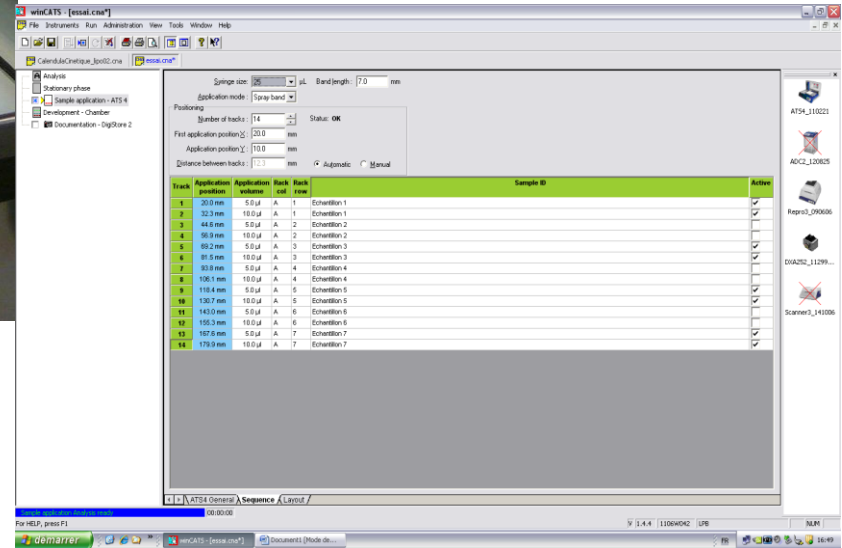


PRESENTATION

Le Pôle Innovation du Végétal
Matériel – Déposeur ATS4

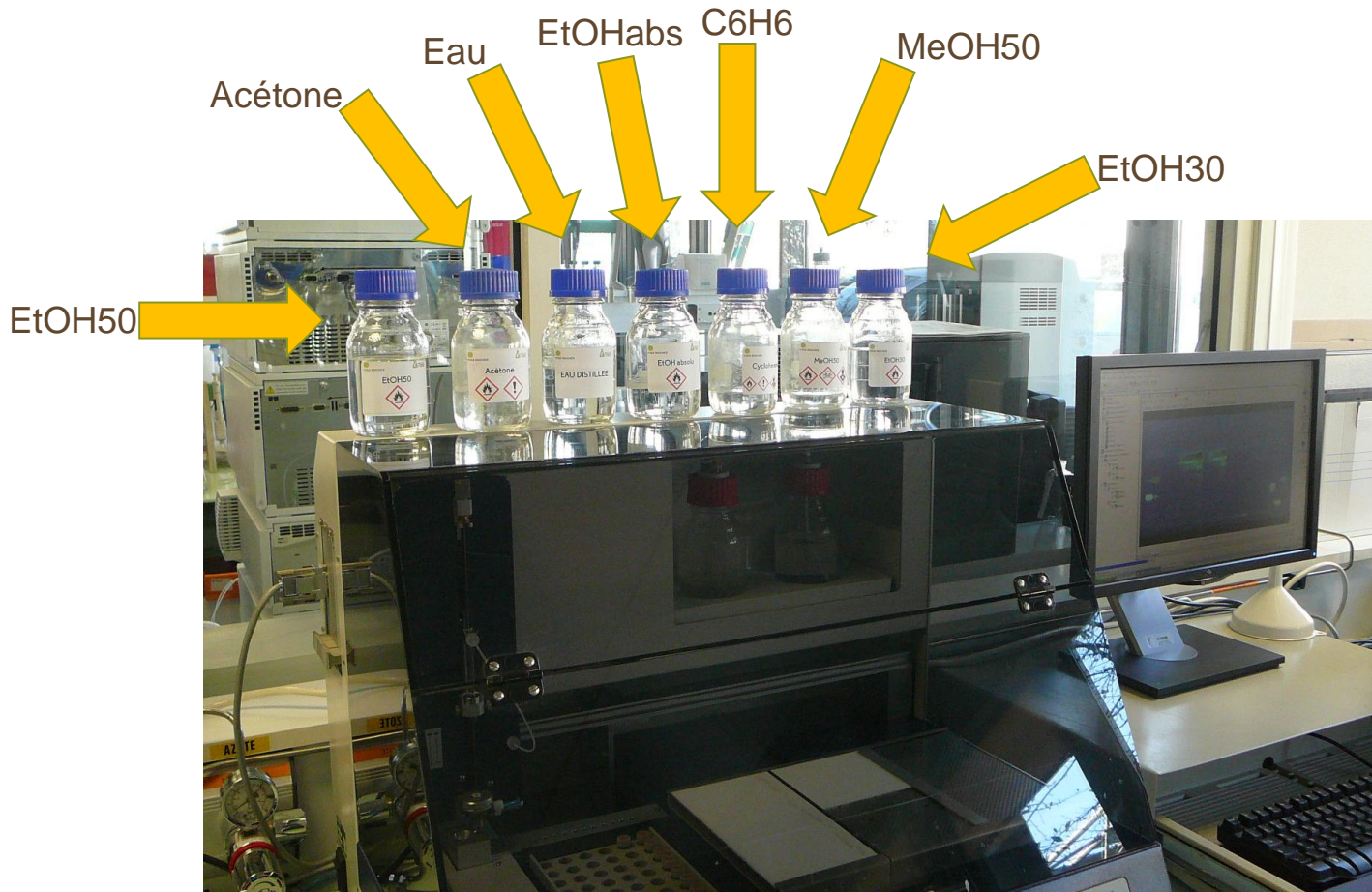


Logiciel Wincats





LE CONTEXTE





DIVERSITE DES ECHANTILLONS

- Extraits hydro alcooliques
- Extraits aqueux
- Gommes
- Résines
- Matières huileuses
- Huiles essentielles





DIVERSITE DES ECHANTILLONS

Les contraintes

-Extraits hydro alcooliques

-Extraits aqueux

-Gommes

-Résines

-Matières huileuses

-Huiles essentielles

-solubilité

-concentration

-viscosité



DIVERSITE DES ECHANTILLONS

Les contraintes

-Extraits hydro alcooliques

-Extraits aqueux

-Gommes

-Résines

-Matières huileuses

-Huiles essentielles



Solvant de rinçage à adapter?



DIVERSITE DES ECHANTILLONS

Les contraintes

- Extraits hydro alcooliques
- Extraits aqueux
- Gommes
- Résines
- Matières huileuses
- Huiles essentielles



Solvant de rinçage à adapter?



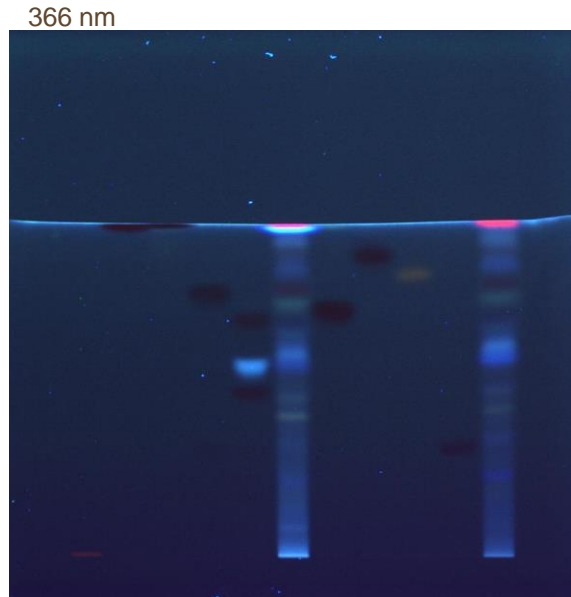
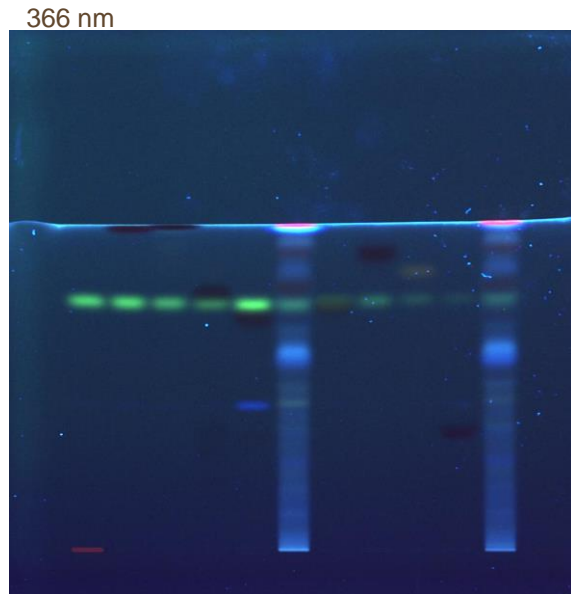
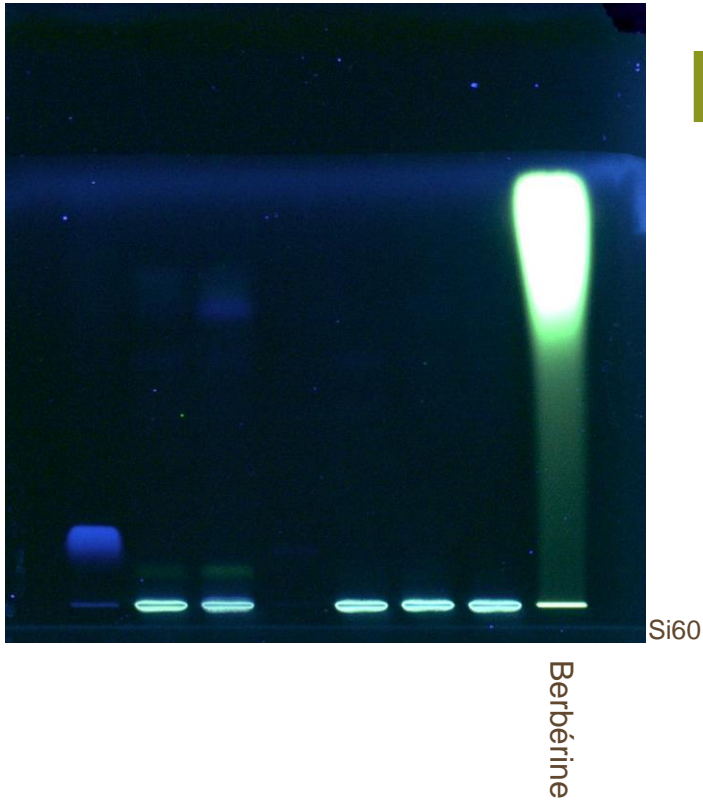
Contaminations



CONTAMINATIONS

Exemple

Mise en évidence des alcaloïdes

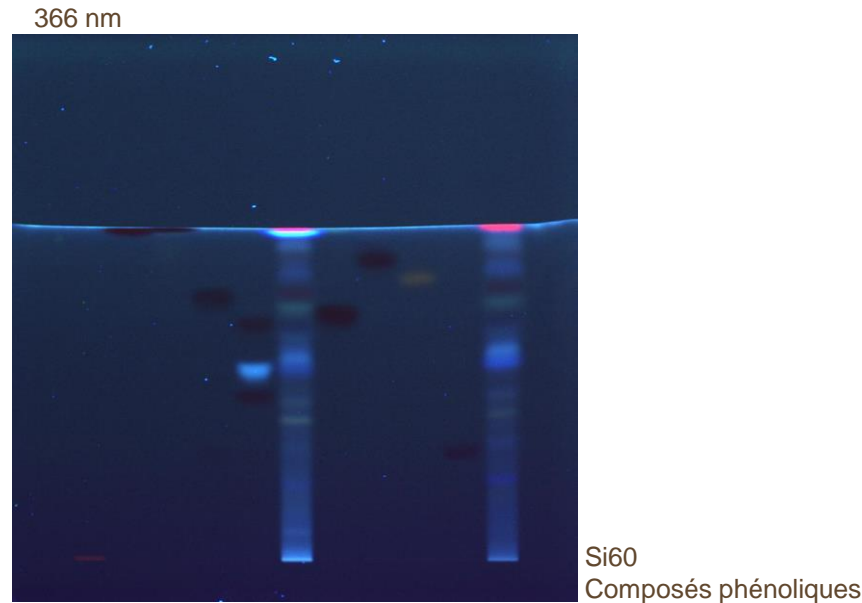
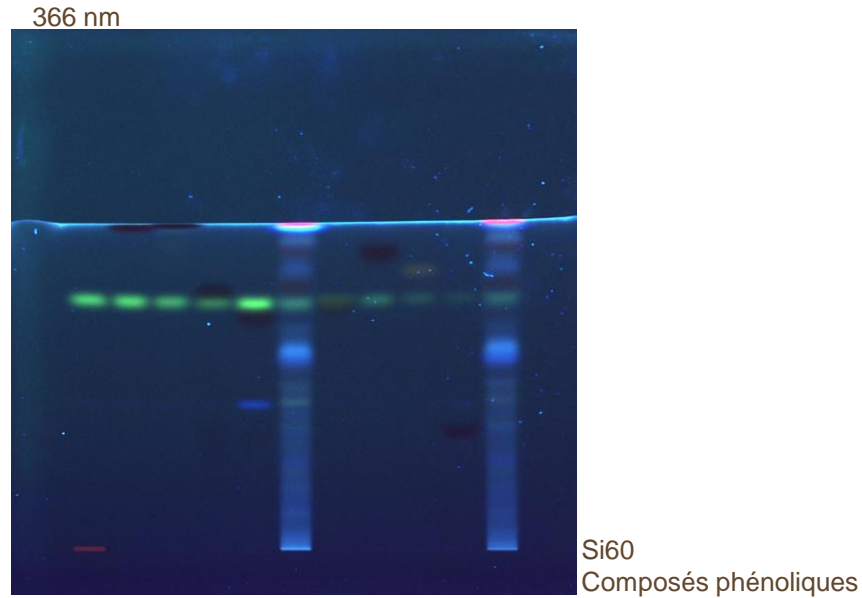
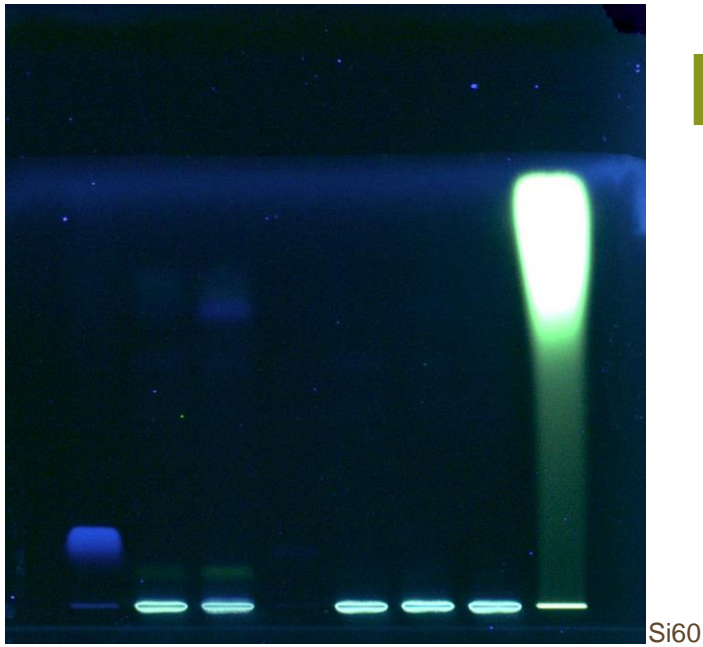


Témoin trop concentré, rinçage insuffisant



CONTAMINATIONS

Exemple



Choix des paramètres dans wincats !



OPTIMISATION DES PARAMETRES WINCATS

- Solvant de l'échantillon (vitesse de prélèvement)
- Qualité du prélèvement (remplissage/rinçage)
- Température de l'aiguille

The screenshot displays the Wincats software interface, divided into several sections:

- Sequence defaults:** Application volume: 5 μL ; Rack column/row: A, 1.
- Application parameters (highlighted with a red box):** Sample solvent type: Water; Required filling quality: High; Nozzle temperature ($^{\circ}\text{C}$): 40; Rack in use: Standard.
- ATS4 instrument:** Use: ATS4_110221; Buttons: Properties..., Manual control..., Download...
- Instrument configuration:** Rinsing solvent name: Ethanol50; Spray gas: Air (selected), N2.
- Analysis info:** Current status: Idling; Started by: at:

The **Filling quality** dialog box is open, showing:

- Rinsing:** Rinsing cycles: 2; Don't rinse before next vial; Empty syringe before filling with next sample; Flush nozzle.
- Filling:** Filling cycles: 2; Fill only programmed volume (This procedure uses the programmed number of filling cycles but fills only the volume needed for the applications from this vial.); Return unused sample into vial (This employs the normal filling procedure including suction time for the programmed number of cycles. After the last cycle all surplus sample will be returned into the vial.).

Buttons: OK, Cancel.



OPTIMISATION DES PARAMETRES WINCATS

Cas d'un extrait hydro-alcoolique

winCATS - [essai.cna*]

File Instruments Run Administration View Tools Window Help

CalendulaCinetique_lipo02.cna | **essai.cna***

Analysis

- Stationary phase
- Sample application - ATS 4**
- Development - Chamber
- Documentation - DigiStore 2

Sequence defaults

Application volume: 5 μ L

Rack column/row: A 1

Application parameters

Sample solvent type: Water

Required filling quality: High

Nozzle temperature (°C): 40

Rack in use: Standard

ATS4 instrument

Use: ATS4_110221

Instrument configuration

Binsing solvent name: Ethanol50

Spray gas: Air N2

Analysis info

Current status: **Idling**

Started by: at:

ATS4 General | Sequence | Layout

00:00:00

For HELP, press F1

Tools Window Help

Spring size: 25 μ L Band length: 7.0 mm

Application mode: Spray band

Positioning

Number of tracks: 14 Status: OK

First application position X: 20.0 mm

Application position Y: 10.0 mm

Distance between tracks: 12.3 mm Automatic Manual

Track	Application position	Application volume	Rack col	Rack row	Sample ID	Active
1	20.0 mm	5.0 μ L	A	1	Echantillon 1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	32.3 mm	10.0 μ L	A	1	Echantillon 1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	44.6 mm	5.0 μ L	A	2	Echantillon 2	<input checked="" type="checkbox"/>
4	56.9 mm	10.0 μ L	A	2	Echantillon 2	<input checked="" type="checkbox"/>
5	69.2 mm	5.0 μ L	A	3	Echantillon 3	<input checked="" type="checkbox"/>
6	81.5 mm	10.0 μ L	A	3	Echantillon 3	<input checked="" type="checkbox"/>
7	93.8 mm	5.0 μ L	A	4	Echantillon 4	<input checked="" type="checkbox"/>
8	106.1 mm	10.0 μ L	A	4	Echantillon 4	<input checked="" type="checkbox"/>
9	118.4 mm	5.0 μ L	A	5	Echantillon 5	<input checked="" type="checkbox"/>
10	130.7 mm	10.0 μ L	A	5	Echantillon 5	<input checked="" type="checkbox"/>
11	143.0 mm	5.0 μ L	A	6	Echantillon 6	<input checked="" type="checkbox"/>
12	155.3 mm	10.0 μ L	A	6	Echantillon 6	<input checked="" type="checkbox"/>
13	167.6 mm	5.0 μ L	A	7	Echantillon 7	<input checked="" type="checkbox"/>
14	179.9 mm	10.0 μ L	A	7	Echantillon 7	<input checked="" type="checkbox"/>

ATS4 General | Sequence | Layout

00:00:00

winCATS - [essai.cna*] | Document1 [Mode de...]



OPTIMISATION DES PARAMETRES WINCATS

Cas d'un extrait hydro-alcoolique

➔ Changement de la bouteille de solvant de rinçage

winCATS - [essai.cna*]
File Instruments Run Administration View Tools Window Help

CalendarCinetique_lipo02.cna | essai.cna*

Analysis
Stationary phase
Sample application - ATS 4
Development - Chamber
Documentation - DigiStore 2

Sequence defaults
Application volume: 5 µL
Rack column/row: A 1

Application parameters
Sample solvent type: Methanol
Required filling quality: High
Nozzle temperature (°C): Unheated
Rack in use: Standard

ATS4 instrument
Use: ATS4_110221
Properties...
Manual control...
Download...

Instrument configuration
Rinsing solvent name: Methanol
Spray gas: Air N2

Analysis info
Current status: **Idling**
Started by: at:

Sample application - ATS 4 row ready 00:00:00
For HELP, press F1

Tools Window Help

Springs size: 25 µL Band length: 7.0 mm

Application mode: Spray band

Positioning
Number of tracks: 14 Status: OK
First application position Y: 20.0 mm
Application position Y: 10.0 mm
Distance between tracks: 12.3 mm Automatic Manual

Track	Application position	Application volume	Rack col	Rack row	Sample ID	Active
1	20.0 mm	5.0 µL	A	1	Echation 1	<input type="checkbox"/>
2	32.2 mm	10.0 µL	A	1	Echation 1	<input type="checkbox"/>
3	44.6 mm	5.0 µL	A	2	Echation 2	<input type="checkbox"/>
4	56.9 mm	10.0 µL	A	2	Echation 2	<input type="checkbox"/>
5	69.2 mm	5.0 µL	A	3	Echation 3	<input type="checkbox"/>
6	81.5 mm	10.0 µL	A	3	Echation 3	<input type="checkbox"/>
7	93.8 mm	5.0 µL	A	4	Echation 4	<input type="checkbox"/>
8	106.1 mm	10.0 µL	A	4	Echation 4	<input type="checkbox"/>
9	118.4 mm	5.0 µL	A	5	Echation 5	<input type="checkbox"/>
10	130.7 mm	10.0 µL	A	5	Echation 5	<input type="checkbox"/>
11	143.0 mm	5.0 µL	A	6	Echation 6	<input type="checkbox"/>
12	155.3 mm	10.0 µL	A	6	Echation 6	<input type="checkbox"/>
13	167.6 mm	5.0 µL	A	7	Echation 7	<input type="checkbox"/>
14	179.9 mm	10.0 µL	A	7	Echation 7	<input type="checkbox"/>

ATS4_110221
ADCC2_120825
Repro3_090606
DWA252_11299...
Scanner3_141006

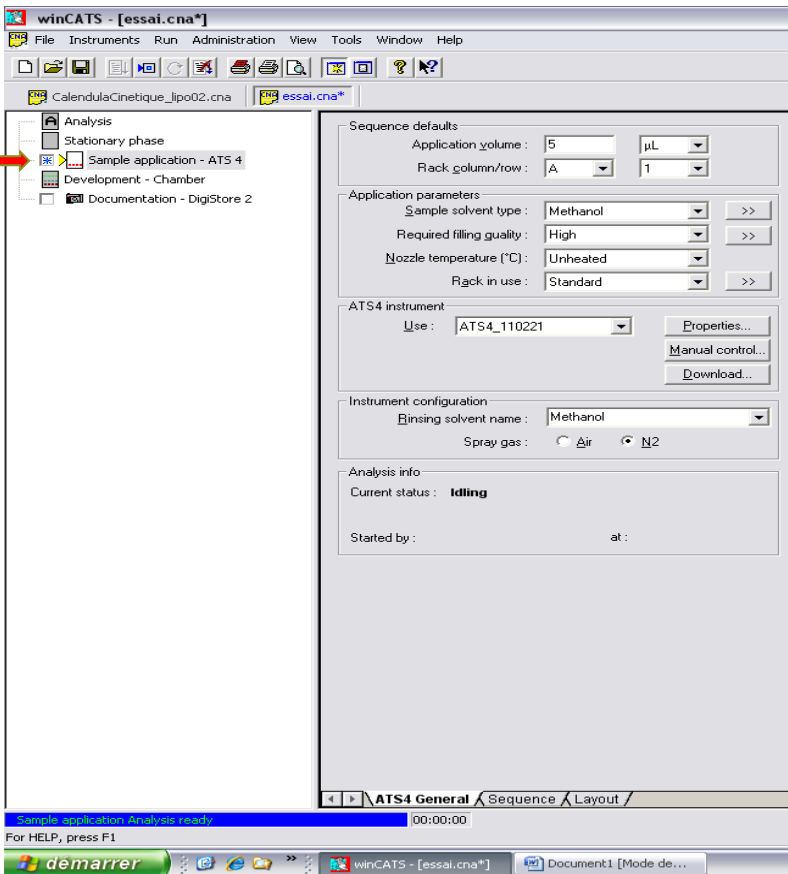
ATS4 General Sequence Layout /
00:00:00



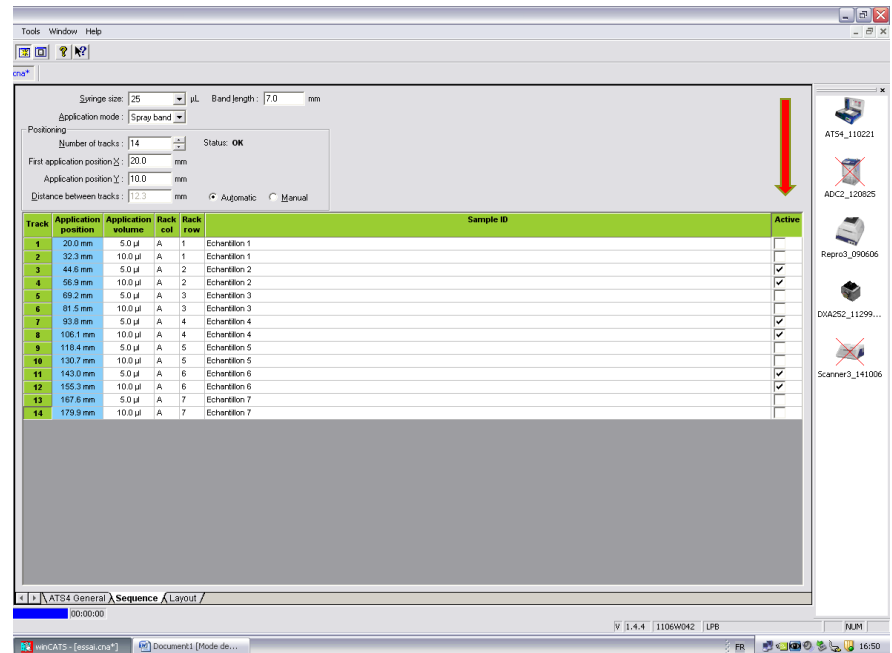
OPTIMISATION DES PARAMETRES WINCATS

Cas d'un extrait hydro-alcoolique

➔ Changement de la bouteille de solvant de rinçage



TEMPS ??

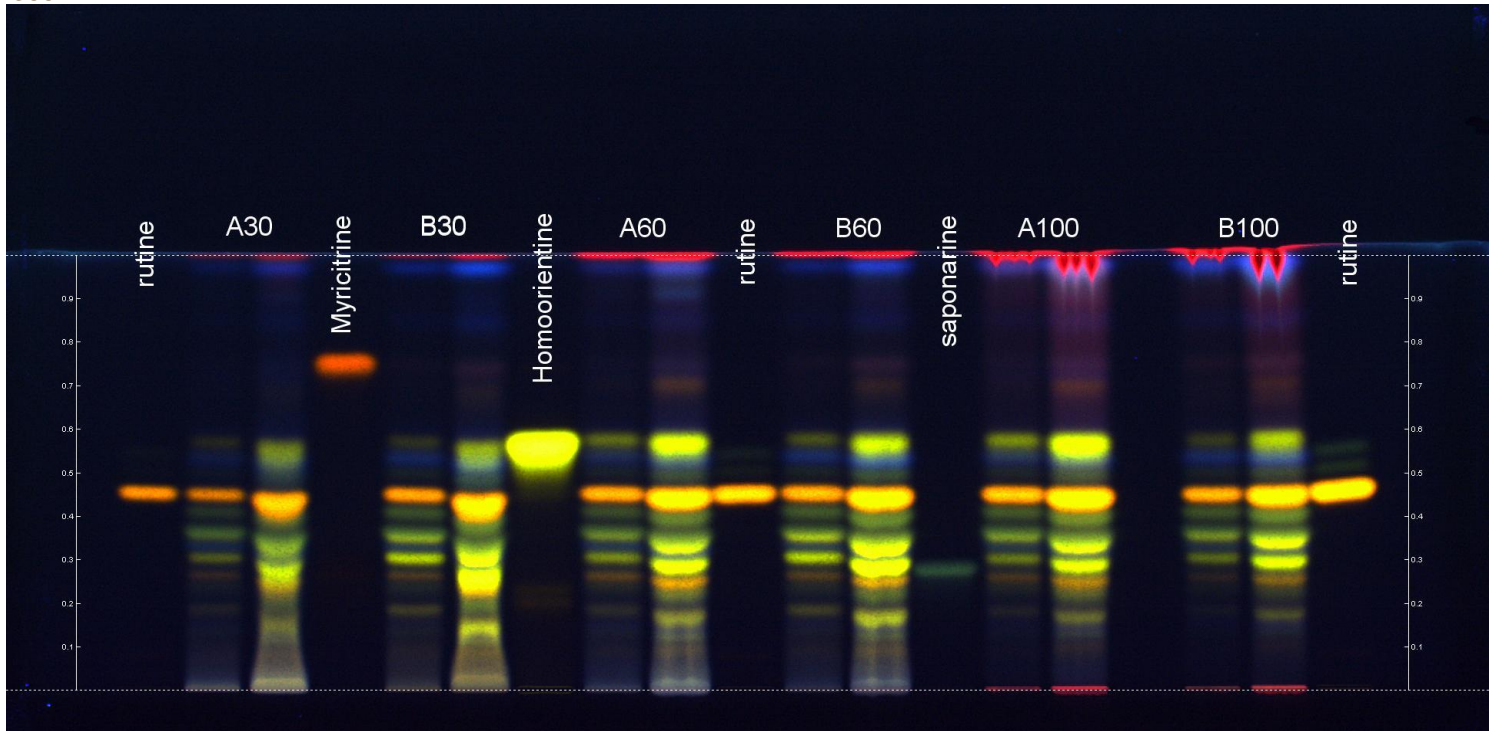




PROBLEMES/SOLUTIONS

Dépôts d'échantillons à MS égales, à volumes différents: 5 et 15µl

366 nm R



5µl 15µl

5µl 15µl

5µl 15µl

5µl 15µl

5µl 15µl

5µl 15µl

Si60

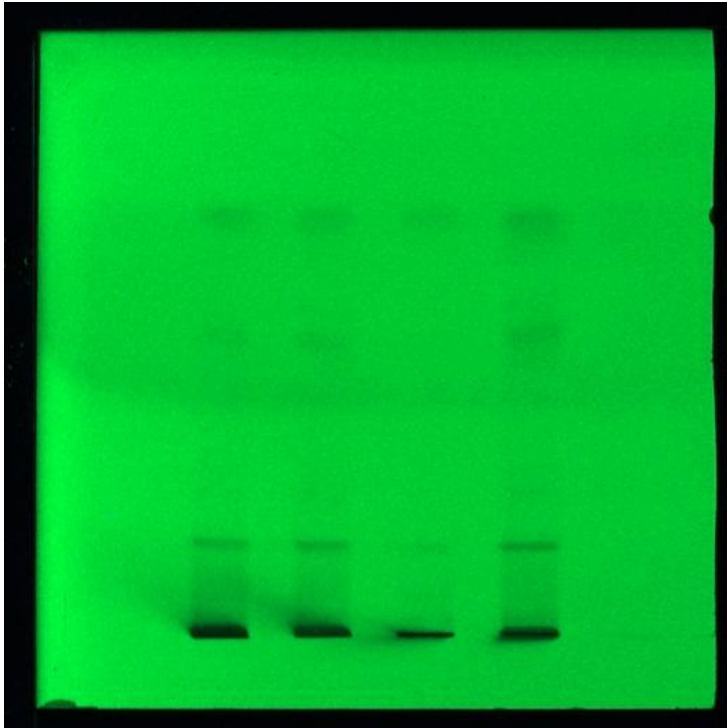
Composés phénoliques



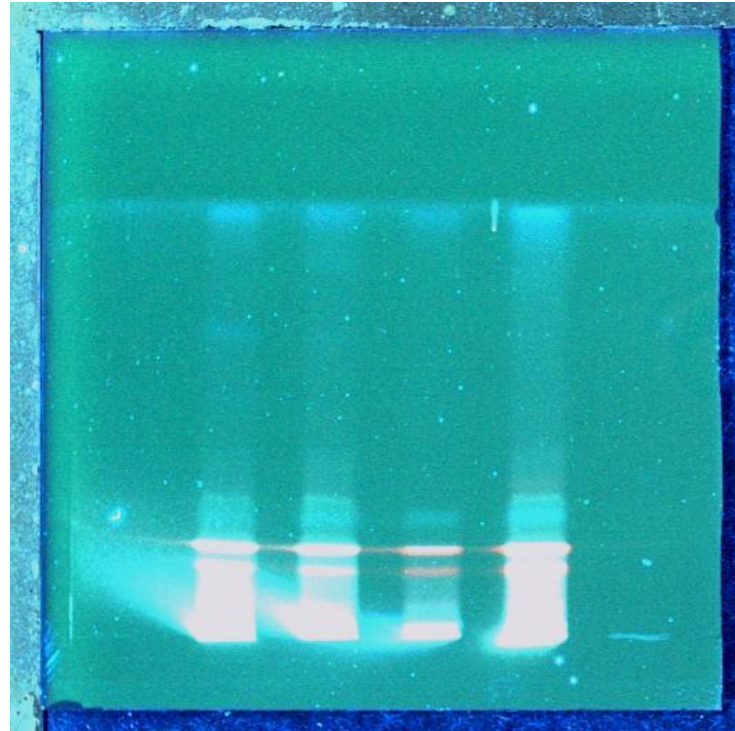
PROBLEMES/SOLUTIONS

Influence du chauffage de l'aiguille

254 nm



366 nm



Si60
Molécules lipophiles

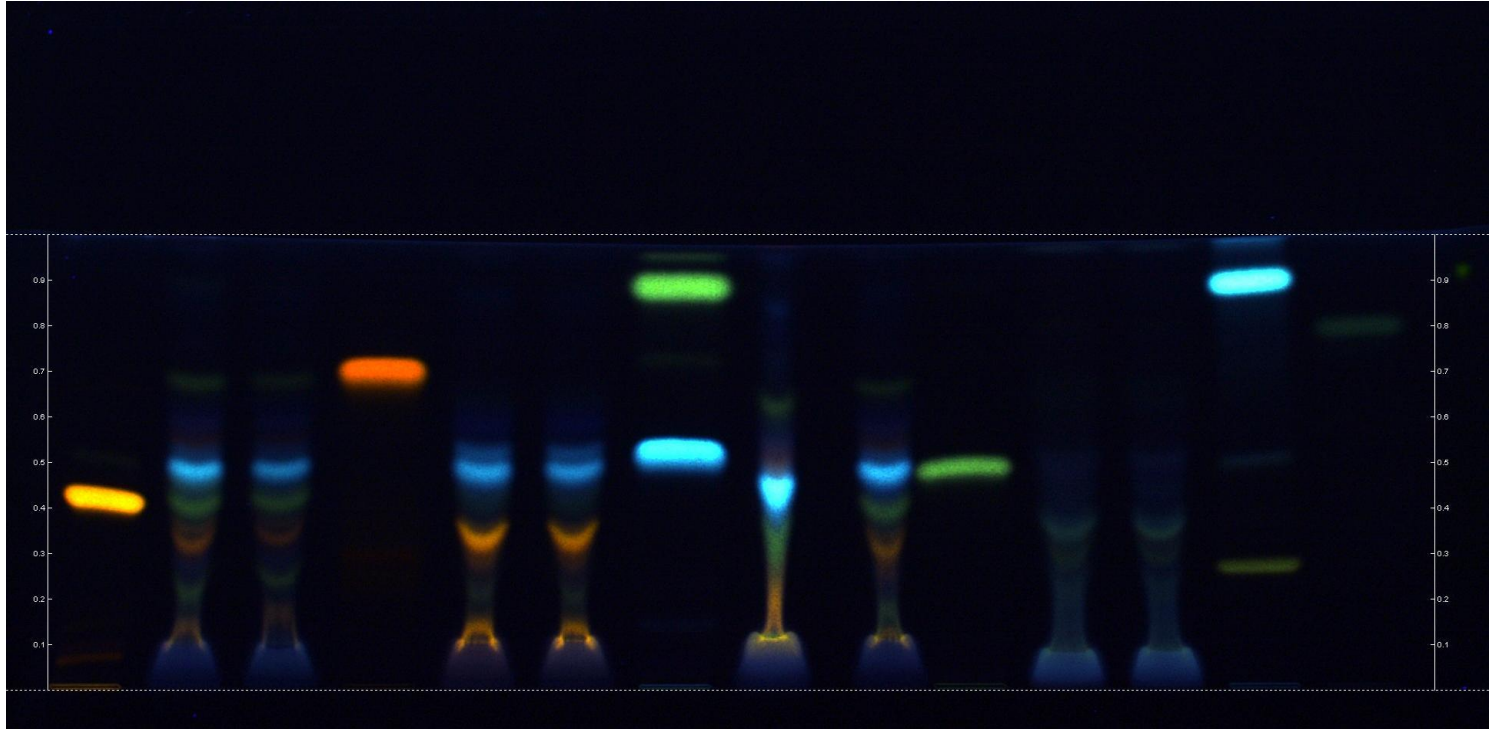
Dépôt d'échantillons solubilisés dans l'acétate d'éthyle avec chauffage de l'aiguille



PROBLEMES/SOLUTIONS

Dépôt d'extraits aqueux chargés

366 nm R



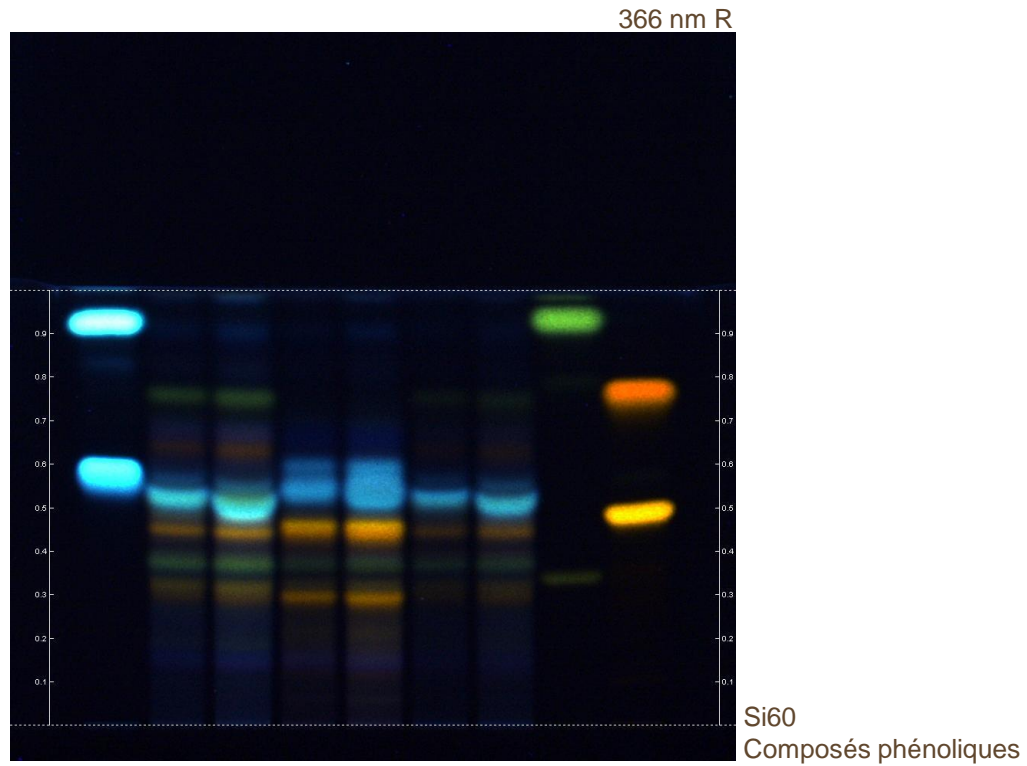
Si60
Composés phénoliques





PROBLEMES/SOLUTIONS

➔ Après SPE (cartouche phase C18)





Merci de votre attention