



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org

Distr. RESTREINTE

21470

DP/ID/SER.A/1756

19 mars 1996

ORIGINAL: FRANCAIS

ESP
L'Union
française
des
Sciences

**APPUI AU CENTRE NATIONAL DE DOCUMENTATION ET DE RECHERCHES SCIENTIFIQUES
DE MORONI**

SI/COI/95/801

COMORES

**Rapport technique: Implantation d'un Laboratoire de Contrôle de la Qualité
des Huiles essentielles. Formation du personnel et mise au point
de techniques d'analyses ***

**préparé pour le Gouvernement de la République Fédérale Islamique des Comores
par l'Organisation des Nations Unies pour le développement industriel**

**Basé sur le travail de M. Henri A. Dadoun
Consultant Huiles essentielles**

Fonctionnaire chargé de l'appui M. T. De Silva, Service des industries chimiques

* Ce document n'a pas fait l'objet d'une mise au point rédactionnelle.

TABLE DES MATIERES

ABSTRACT		i
I.	Évaluation des capacités actuelles du laboratoire de plantes aromatiques du CNDRS.	1
	a) Espace physique disponible	1
	b) Equipements et matériels disponibles	1
	c) Ressources humaines	2
	d) Relations CNDRS/Secteur Privé	2
II.	Activités développées durant la mission.	3
	a) Réaménagement de l'espace physique. Propositions pour l'implantation d'un laboratoire d'essais.	3
	b) Formation du personnel.	3
	c) Relations CNDRS/Secteur Privé	4
III.	Résultats obtenus.	6
IV.	Conclusions.	6
V.	Recommandations.	6
Annexes		
1	- Termes de référence de la mission.	8
2	- Propositions de réaménagement et construction de laboratoires.	9
3	- Le contrôle de qualité des huiles essentielles et épices: notions de base et techniques expérimentales.	15
4	- Procédures expérimentales pour les essais de normalisation des huiles essentielles.	30
5	- Vérification de la qualité des huiles essentielles et épices; spécifications et essais pour les huiles produites aux Comores.	40
6	- Recueil de Normes officielles AFNOR et ISO (extraits). Exemples de fiches de normes pour les huiles essentielles de Ylang-ylang et de Girofle.	53
7	- Production comorienne d'huiles essentielles et épices (1990-93).	79

ABSTRACT

La présente mission s'est déroulée à Moroni et dans diverses parties de l'île Grande Comores (Mitsamiouli, Salimani et M'béni) du 10 Novembre au 6 Décembre 1995.

L'objectif principal de la mission est de promouvoir la qualité industrielle des huiles essentielles produites et commercialisées par les entreprises comoriennes et d'implanter au Centre National de Documentation et Recherches Scientifiques (CNDRS) de Moroni un Laboratoire de Contrôles physico-chimiques et de spécifications normatives des huiles essentielles produites aux Iles Comores.

L'action de promotion a été initiée par des activités préliminaires de renforcement des capacités opérationnelles du laboratoire de Plantes Aromatiques logé au Centre National de Documentation et de Recherches Scientifiques (CNDRS) de Moroni.

Les activités développées au cours de cette mission ont contribué à obtenir les résultats suivants:

1 - L'équipe du laboratoire du CNDRS a bénéficié de l'encadrement nécessaire pour la réalisation pratique et la mise au point des techniques d'analyse des huiles essentielles fournies par les entreprises comoriennes.

2 - Les structures techniques du laboratoire de Plantes Aromatiques ont été consolidées par la fourniture d'équipements et de réactifs chimiques nécessaires à la vérification de la qualité des huiles essentielles.

3 - Plusieurs fiches techniques se rapportant à la qualité des huiles essentielles et épices de Vanille, Girofle, Ylang ylang, Basilic et Combava ont été établies en conformité avec les normes internationales ISO et AFNOR.

4 - L'équipe plantes aromatiques du CNDRS et les entreprises comoriennes concernées ont initié un programme de collaboration dans le but d'améliorer la production et la qualité des huiles essentielles comoriennes.

Le présent rapport comportera les chapitres suivants.

I. EVALUATION DES CAPACITES ACTUELLES DU CNDRS

Le laboratoire de plantes aromatiques du CNDRS a initié ses activités en 1990 dans le cadre d'un projet régional d'inventaire des plantes aromatiques et médicinales financé par le Fonds Européen de Développement (FED/COI/PLARM). Ce projet régional a cessé ses activités dans le courant de l'année 1994.

a) Espace physique disponible:

Le laboratoire occupe une surface totale de 40m² répartie sur deux salles de respectivement 25 et 15m².

La première salle comporte quatre plans de travail destinés aux activités de laboratoire. L'aménagement de ces plans de travail présente certaines insuffisances: alimentation en énergie électrique (6 points d'alimentation en 220 volts) et en eau (1 seul point d'eau) nettement déficitaire pour un déroulement normal des activités.

Aucun mobilier de laboratoire (étagères, armoires) n'a été installé. L'aménagement de placards sous les paillasses ne permet pas de stocker un matériel suffisant pour réaliser les analyses.

Les techniciens doivent effectuer de nombreuses allées et venues entre le laboratoire, situé au premier étage et le magasin général du CNDRS situé au rez de chaussée.

Plusieurs matériels ont été dispersés vers d'autres unités situés à l'extérieur du CNDRS (Hôpital, laboratoire de la pharmacie centrale) en divers points de la ville.

La deuxième salle, initialement prévue pour être un laboratoire de chimie a été transformée en Herbarium de plantes médicinales et aromatiques.

Dans l'ensemble, cet espace physique est considéré par la mission comme insuffisant et peu approprié pour développer des activités de laboratoire d'une manière satisfaisante.

b) Équipements et matériels disponibles:

Plusieurs équipements et matériels fournis en 1992 par le projet PLARM/COI/FED sont recensés ci-dessous :

- Un chromatographe en phase gazeuse (DELSI- NERMAG), hors d'état de fonctionnement
- Un spectrophotomètre UV/visible en bon état
- Un polarimètre et un réfractomètre en bon état
- Un Évaporateur rotatif en bon état
- Un Bain marie
- Une loupe binoculaire en bon état
- Verres et petits matériels divers
- Produits et réactifs chimiques en quantité satisfaisante. Cette quantité ne permet cependant l'exécution d'analyses que pour une période approximative de six mois.

La présente mission de l'ONUDI a fourni les équipements suivants:

- Un chromatographe en phase gazeuse SHIMADZU, modèle CR 14B avec monodétecteur à ionisation de flamme devant utiliser comme gaz vecteur l'Azote de qualité C ou 45 et comme gaz

- d'allumage de flamme l'hydrogène et l'air.)
- Un réfractomètre de ABBE, marque MILTON ROY complet avec ses accessoires.
 - Un polarimètre complet avec ses accessoires
 - Un kit complet de trente cinq (35) produits de référence d'huiles essentielles pour l'analyse en chromatographie gazeuse.

Les différents équipements ont été installés et mis en fonctionnement.

c) Ressources humaines:

L'équipe est constituée de trois techniciens.

- Mlle Maoulida AHAMADA, Technicienne-chimiste
- Mlle Claudia ALLAOUI, diplômée en Sciences Naturelles
- Mr Said OMAR, diplômé en Chimie organique

L'équipe ne fait pas partie du personnel du CNDRS et de ce fait ne possède aucune rémunération pour les activités développées au laboratoire. Elle a montré un intérêt soutenu durant la formation programmée par la mission en novembre 1995.

De longues périodes d'inactivités, après la fin du projet FED/COI/PLARM, ont quelque peu atténué l'expérience acquise durant ce dernier projet.

Mlle Maoulida a par ailleurs bénéficié en 1993 d'un programme ONUDI de formation à la qualité des huiles essentielles au Centre National d'Applications et de Recherches Pharmaceutiques (CNARP) d'Antananarivo - Madagascar (projet ONUDI -X/RAF/93/617).

Le laboratoire ne dispose pas d'une bibliothèque de livres et ouvrages techniques dans le domaine de la technologie et du contrôle de qualité des huiles essentielles et épices.

d) Relations CNDRS/Secteur Privé:

Nous avons recensé plusieurs entreprises produisant ou commercialisant des Huiles essentielles et des Épices. Il s'agit de :

- TROPIKAL S.A., dirigé par Mr. Amin KHALFANE. Cette entreprise a racheté les unités de distillation à la SAGC-Bambao, elle même ex-SANOFI, situées à Anjouan et sur la Grande Comore.
- COMORES VANILLE PLANTES (C.V.P), société dirigée par Mr Hassani Assoumani, ex-directeur de la SAGC-SANOFI.
- ETS MOHAMED ABDALLAH, négociant en vanille et huiles essentielles.
- Mr. HUMBLLOT, Planteur d'ylang-ylang à Mitsamiouli.
- M. RIVIERE, distillateur à Mitsamiouli.
- Société-AGK, exportation de vanille

A l'arrivée de la mission en novembre 1995, le CNDRS n'entretenait aucune relation avec les entreprises de la filière.

II. ACTIVITES DEVELOPPEES DURANT LA MISSION

a) Réaménagement de l'espace physique. Propositions pour l'implantation d'un laboratoire d'essais.

L'espace physique actuellement disponible au CNDRS ne permet pas un déroulement efficace des activités.

Les aménagements suivants seront apportés: (voir annexe 2).

- i) Installation du nombre de points d'alimentation électrique de 09 à 17 (plan d travail B et C).
- ii) Installation de points d'eau supplémentaires (04) sur les plans de travail B et C.
- iii) Élimination de la cloison G.
- iv) Prolongation de la paillasse B jusqu'à la paillasse C.
- v) Aménagement des plans de travail et des étagères.
- vi) Transfert de l'herbier I et j dans une autre salle du CNDRS.
- vii) Regroupement des équipements sensibles dans le laboratoire n° 2.

Un plan de masse pour la construction de nouveaux locaux est également proposé dans cette même annexe.

b) Formation du personnel:

Le programme de formation développé au cours de la mission s'est déroulé en deux phases:

La première phase a été consacrée à la réalisation d'un séminaire de quatre heures portant sur les notions de base et les techniques de contrôle de qualité (Annexe 3) et à la mise au point des modes opératoires pour la détermination des caractéristiques physico-chimiques des épices de Girofle et Vanille et des huiles essentielles de Girofle, Ylang-ylang, Basilic et Combava. Les modes opératoires ont été commentés et analysés avec l'équipe (voir annexe 4).

Nous avons ainsi réalisé les analyses suivantes:

- Préparation des échantillons en vue de leur analyse.
- Analyse sensorielle : olfactive, saveur, couleur.
- Mesures des densités, indices de réfraction, polarimétrie à 20° Calcul des corrections de température.
- Indice d'acide pour la détermination des acides libres présents dans les huiles essentielles.
- Indice d'Ester totaux avant et après acétylation.
- Indice de Phénol.
- Méthodes d'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Interprétation de chromatogrammes.

La deuxième phase a porté sur l'expérimentation de la qualité de diverses huiles essentielles. Il a été effectué un nombre suffisant d'expérimentations pour que l'équipe soit familiarisée avec les techniques (Annexe 5).

Pour l'Ylang :

Qualité extra:	14 déterminations
Qualité première:	12 déterminations
Qualité troisième:	16 déterminations

Pour le Girofle:	11 déterminations
Pour la Vanille:	6 déterminations
Pour le Basilic:	10 déterminations
Pour le Combava:	6 déterminations

Les résultats obtenus ont été comparés aux normes exigées par les organisations internationales de vérification de la qualité. Les fiches techniques ont été établies. L'ensemble des résultats est condensé dans l'Annexe 5 et des exemples de Fiches techniques AFNOR ont été distribués et commentés avec l'équipe (Annexe 6).

Ces résultats ont été communiqués aux entreprises et discutés. Les conclusions suivantes ont été dégagées :

YLANG YLANG :

Les qualités Extra, Première et Troisième indiquées par les entreprises ont présenté des variations importantes: peu de différences entre Extra et Première alors que leurs spécifications sont nettement différentes. Certains échantillons ont cependant été en conformité avec la qualité Extra

Les échantillons de qualité Troisième ont présenté des spécifications correctes.

VANILLE:

Un seul échantillon a été examiné: les gousses sont de qualité 4° (vanille fendues et inférieures à 14 cm.) et ont perdu leur arôme naturel. Sa teneur en eau est très basse. En accord avec le producteur, il a été conseillé de donner plus de soins aux opérations de contrôle du séchage et de ne pas stocker trop longtemps le produit.

GIROFLE, BASILIC, COMBAVA:

Ces trois huiles essentielles ont présenté une qualité excellente, totalement en conformité avec les spécifications.

c) Relations CNDRS/Secteur Privé

A l'arrivée de la mission, le CNDRS n'entretenait aucune relation avec les entreprises comoriennes de production et/ou de commercialisation des huiles essentielles. Les contacts pris avec plusieurs entreprises ont montré que la production globale d'huiles essentielles était ralentie en raison de plusieurs facteurs dont les principaux se rapportent au coût de l'énergie et à une perte de clients extérieurs. Les sociétés Comores Vanille Plantes (CVP) et AGK ont accepté de nous fournir des échantillons de leur production en vue de réaliser les analyses de qualité.

A l'issue de ces examens préliminaires et non représentatifs de l'ensemble de la production Comorienne, il apparaît que les deux entreprises ayant collaboré au programme de formation souhaitent pouvoir obtenir un support technique et des orientations d'une manière soutenue.

La consolidation et la pérennisation de cette collaboration ne pourra se faire qu'en structurant davantage l'équipe du CNDRS au niveau de la formation technique particulière à ce genre d'activité.

Une action de même type a été réalisée entre 1988 et 1993 à Madagascar au Centre National d'Applications d'Antananarivo (CNARP) dans le cadre des projets ONUDI DP/MAG/89/008 et XA/RAF/93/617. Les équipes de ce Centre maîtrisent actuellement toutes les phases du processus de

collaboration avec le secteur privé.

Il serait intéressant de pouvoir faire bénéficier le CNDRS de l'expérience du CNARP - Madagascar, en établissant une coopération entre ces deux institutions.

La mission ONUDI et la Direction du CNDRS ont organisé une table ronde sur la filière et qui a réuni plusieurs chefs d'entreprises, divers bailleurs de fonds et des représentants du Gouvernement comorien:

- Chefs d'entreprise:

- Mr. Mze-Ahmed Boinafoumou, Directeur exécutif de l'Office Comorien de la Vanille.
- Mr. Nassor Halifa, Exportateur de Vanille.
- Mr. Homini Mogne Hozu, Président de l'Association des Préparateurs de Vanille.
- Mr. Amine Khalfane, Président de la société Tropikal SA/AGK.

- Bailleurs de Fonds:

- Mr. Youssouf Bechezi, Chargé de programme Secteur privé PNUD/Comores.
- Mr. Sanglar Pierre, Conseiller financier, Mission française de Coopération.
- Mr. Paolo Roggeri, Conseiller Développement rural - Fonds Européen de Développement (FED).
- Mr. Arebalo Georges, Directeur de la Caisse Française de Développement (CFD).
- Mme. Djamila Abderhamane, Directeur adjoint du crédit à la Banque de Développement des Comores.
- Mr. Said Bacar, Adjoint de direction à la Banque de l'Industrie et du Commerce (BIC).

Représentants du gouvernement:

- Mr. Mohamed Youssouf Soihili, Secrétaire Général du Ministère de l'Economie et du Commerce.
- Mme. Delapeyre Salimata, Directrice Générale des Affaires Economiques.

La table ronde a initié ses travaux par une conférence-débat sur le diagnostic de la filière des Huiles essentielles et épices des Comores présentée par le Dr Henri Dadoun, Consultant de l'ONUDI. Les problèmes de la filière ont été analysés sous divers aspects: agronomiques, technologiques et commerciaux.

Les bailleurs de fonds présents ont souligné l'importance économique de la filière pour les Comores: cette filière représente environ 80% de la totalité des exportations comoriennes.

La Caisse Française de Développement vient de débloquer un crédit de Un million de dollars en faveur de la société Tropikal dirigée par Mr. Amine Khalfane. Le Fonds Européen de Développement envisage d'implanter en 1996 un projet de réhabilitation de la filière des huiles essentielles qui sera financé pour un montant de 1.900.000 Ecus.

Dans ce contexte l'action de l'ONUDI a été considérée comme favorable au développement de la filière et divers représentants du gouvernement ont souhaité une action plus soutenue de l'ONUDI pour la promotion de la qualité industrielle des huiles essentielles comoriennes.

III. RESULTATS OBTENUS

1. L'équipe du CNDRS a bénéficié d'un programme de formation aux techniques de contrôle de qualité des huiles essentielles et épices.
2. L'infrastructure matérielle du Laboratoire d'essais a été consolidée par la fourniture d'équipements et leur mise en route ainsi que par l'aménagement de l'espace physique existant.
3. Les fiches techniques de contrôle de qualité pour les huiles essentielles de Ylang ylang, Girofle, Basilic, Combava, Poivre et les épices de Vanille et Girofle ont été établies en conformité avec les normes internationales ISO et AFNOR.
4. Les entreprises comoriennes et le Laboratoire d'essais ont initié un programme de collaboration pour la vérification de la qualité des Huiles essentielles et épices destinées à l'exportation.

IV. CONCLUSIONS

1. Le programme de formation au Contrôle de qualité des Huiles essentielles des Comores mis en place au cours de la mission a permis de réactiver le Laboratoire de Plantes Aromatiques du Centre National de Documentation et de Recherches Scientifiques (CNDRS) de Moroni.
2. L'équipe bénéficiaire du programme a suivi la totalité de la formation avec beaucoup d'assiduité et de sérieux, et a montré une grande application dans l'exécution des opérations de laboratoire.
3. L'équipe du laboratoire de Contrôle n'est pas suffisamment encadrée sur le plan scientifique et technique et a besoin d'un chef de laboratoire possédant une expérience reconnue en techniques analytiques de chimie.
4. L'infrastructure physique du laboratoire nécessite des aménagements futurs en vue d'une extension de l'espace de travail. L'aménagement de nouveaux locaux dans l'enceinte du CNDRS permettrait à l'équipe d'effectuer les essais dans de meilleures conditions opérationnelles.
5. Les équipements de contrôle analytique (chromatographes en phase gazeuse, spectrophotomètres, etc.) nécessitent un entretien continu et une maintenance qui doit être réalisée par un spécialiste.
6. Les entreprises comoriennes productrices d'huiles essentielles et les associations professionnelles de la filière ont été sensibilisées aux problèmes de qualité des produits destinés à l'exportation et ont adhéré au programme de collaboration avec le CNDRS.

V. RECOMMANDATIONS

A l'issue de la mission les recommandations suivantes sont proposées:

1. Il serait souhaitable que la Direction du CNDRS envisage la captation de ressources financières pour réaliser la réforme et l'extension des laboratoires et pour rémunérer d'une manière continue dans le temps le personnel affecté au Laboratoire de Contrôle.
2. Le recrutement d'un chef de laboratoire expérimenté en techniques de contrôle analytique et en chimie organique est vivement recommandé (niveau universitaire).

3. La mission recommande la venue régulière (une fois par an) d'un spécialiste en maintenance d'équipement de chromatographie en phase gazeuse et capable d'effectuer des cycles de formation continue aux techniques d'analyse. Nous suggérons la venue de Mr. Claude LOEUILLET, Ingénieur spécialisé qui a déjà fourni ce genre d'assistance à Madagascar pour les projets PLARM/FED/COI et ONUDI. Ce spécialiste se rend régulièrement à Madagascar pour un projet du Ministère de l'Agriculture/GTZ allemand et pourrait étendre sa visite aux Iles Comores. Nous donnons ci-dessous son adresse:
Mr. Claude Loeuillet; Société BAEI-SAC/STARCHROM ,
48 rue Saint Lazare, 95290 L'ISLE ADAM (France)
Tel:33- 34 69 59 98 Fax: 33-34 08 09 81.
4. Le CNDRS devra envisager un programme de coopération régionale de formation aux techniques de contrôle de qualité des huiles essentielles avec le Centre National d'Applications et de Recherches Pharmaceutiques (CNARP) d'Antananarivo à Madagascar. Des échanges de spécialistes entre ces deux Institutions sont également souhaités.
5. Il serait souhaitable que le Laboratoire d'essais de qualité des huiles essentielles soit localisé au CNDRS où il existe déjà une infrastructure et des équipements appartenant au CNDRS.
6. Les différents partenaires intéressés par la mise en place d'un programme de promotion de la qualité industrielle des huiles essentielles devront se concerter en vue de créer un Comité technique de Normalisation des produits aromatiques destinés à l'exportation.



ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR LE DEVELOPPEMENT INDUSTRIEL

DESCRIPTION DE POSTE
SI/COM/95/801/11-51/073000

Nature du poste: Spécialiste en contrôle de la qualité des huiles essentielles

Duree: Un mois

Date prevue: November 1995

Lieu de la mission: Moroni- Grande Comore

Objet de la mission: Services de conseils de haut niveau/ la mise en place d'un laboratoire de contrôle de la qualité des huiles essentielles au CNDRS de Moroni. ^{pour}

Nature des activites: L'expert sera chargé d'encadrer le personnel du CNDRS pour l'élaboration de techniques d'analyse des huiles essentiels. Il sera chargé de:

1. Adapter les équipements pour la réalisation des analyses et proposer des modes operatoires: calibrage, tests preliminaires.
2. Proposer les modes operatoires pour la determination des caracteristiques physico-chimiques et analytiques des huiles essentielles de Ylang ylang, Girofle, Basilic, Poivre noir, Vanille et Geranium.
3. Encadrer le personnel dans la réalisation des analyses de qualité.
4. Etablir les caracteristiques de qualité des huiles essentielles actuellement produites et les comparer aux normes internationales.
5. Proposer les mesures à prendre par les producteurs en vue d'améliorer la qualité lorsque celle ci ne correspond pas aux normes requises.
6. Etablir le rapport final avec ses recommandations.

Qualifications: Pharmacien ou Chimiste ayant une experience de plus de 10 ans dans l'industrie et le contrôle de qualite des huiles essentielles, ayant si possible une experience constatée dans la region de l'Ocean Indien.

Langue requise: Maitrise du Francais exigée et anglais souhaitable

LABORATOIRE D'ESSAIS PHYSICO-CHIMIQUES POUR LES HUILES ESSENTIELLES ET ÉPICES

(CNDRS-MORONI)
COMORES

Mission ONUDI SI/COM/95/801
Novembre 1995

PROPOSITIONS POUR L'IMPLANTATION AU CNDRS D'UN LABORATOIRE DE

I- IMPORTANCE ÉCONOMIQUE DU SOUS SECTEUR POUR LES COMORES.

En 1994, les Comores ont exporté principalement vers les États Unis et la France environ 490 tonnes d'huiles essentielles et d'épices. Ces mêmes produits totalisaient 611 tonnes en 1990 alors qu'en 1988 elles s'élevaient à environ 965 tonnes. Cette chute importante entre 1988 et 1994 est due à plusieurs facteurs dont l'action conjuguée aggrava la situation. L'un d'entre eux et non des moins importants se rapporte à la qualité puisque'il conditionne la fixation des prix à l'exportation. La baisse brutale de qualité provoquée par la désorganisation du secteur agro-industriel concerné et la prolifération de petits producteurs artisanaux a sérieusement compromis l'image des Comores sur le marchés extérieurs.

L'exportation de ces produits a rapporté en 1994, selon des estimations, environ 15 millions de dollars et ont représenté 80% de la totalité des exportations comoriennes. Plusieurs actions ont été envisagées par le gouvernement comorien et les opérateurs économiques pour enrayer la chute de ces exportations. Le contrôle de qualité et la diversification des produits y prennent une place importante.

Dans ce contexte, il devenait urgent pour les Comores de se doter d'un Laboratoire d'analyses capable d'améliorer la qualité des produits agro-industriels cités plus haut.

Les essais à réaliser dans un tel Laboratoire sont identifiés à partir des normes internationales ISO, AFNOR, EOA, ASTA...publiées pour les huiles essentielles et épices. Ils mettent en oeuvre des techniques spécialisées nécessitant des compétences dans les domaines de la chimie organique, de la chimie analytique, et de l'analyse instrumentale moderne et de ce fait nécessitent l'installation d'une structure opérationnelle efficace. Les résultats obtenus à l'issue de ces analyses permettront au laboratoire d'essais d'informer les producteurs et négociants comoriens sur la qualité de leurs produits, ce qui leur permettra de modifier éventuellement leurs procédés technologiques de production d'huiles essentielles ou de récolte de matière première végétale et de fixer des prix raisonnables au cours de leurs transactions commerciales. Le rôle de ce laboratoire, dans sa phase d'implantation sera uniquement de Conseil aux entreprises et une fois consolidé pourra être transformé en "laboratoire officiel de vérification de la qualité des huiles essentielles et épices des Comores".

II- LE LABORATOIRE DE PLANTES AROMATIQUES DU CNDRS À MORONI

Le Centre National de Documentation et de Recherche Scientifique (CNDRS) est un organisme multidisciplinaire dont l'une de ses missions est de coordonner et de développer des recherches scientifiques et technologiques.

Le laboratoire de Plantes Aromatiques a contribué au recensement de la flore des Comores et de l'Océan Indien et à l'investigation de la composition chimique de diverses plantes aromatiques et médicinales. L'équipe actuelle est composée de trois techniciens-chercheurs, dont certains d'entre eux ont bénéficié d'une formation technico-scientifique à Madagascar et aux Comores. Cette formation a pu se réaliser avec l'appui de projets financés par le Fonds Européen de Développement (FED) et l'Organisation des Nations Unies pour le Développement Industriel (ONUDI).

La Direction du CNDRS a souhaité intensifier les activités de ce laboratoire dans le domaine du contrôle de la qualité des huiles essentielles et épices.

L'espace physique du laboratoire actuel est cependant nettement insuffisant et son infrastructure interne peu adaptée pour ce type d'activités. Des aménagements internes provisoires sont possibles en attendant la construction de nouveaux locaux.

III- PROPOSITIONS POUR L'IMPLANTATION D'UN LABORATOIRE DE CONTROLE DE LA QUALITE DES HUILES ESSENTIELLES ET EPICES.

Les propositions qui suivent porteront sur la rénovation des locaux actuels et sur la construction de nouveaux locaux.

III.1 - Rénovation des locaux actuels

Le laboratoire actuel occupe une surface approximative de 40m² répartis sur deux salles. Les équipements présents et les matériels de laboratoire occupent la majeure partie de cet espace. L'une des salles abrite l'herbier de plantes médicinales et aromatiques recensées aux Comores entre 1990 et 1995.

Une réhabilitation du laboratoire devra prendre en compte les points suivants et y remédier :

- a) Insuffisance de prises électriques dans les deux salles.
- b) Insuffisance d'éviers et de points d'eau sur les paillasse, avec seulement un point d'arrivée d'eau par salle.
- c) Amoncellement d'équipements sensibles sans aucune protection contre les poussières et l'humidité. Il s'agit d'un chromatographe en phase gazeuse, d'un spectrophotomètre Ultra violet, d'un polarimètre et d'un réfractomètre. Certains d'entre eux ont subi des avaries qui compromettent leur fonctionnement. Ces équipements devraient pouvoir être rassemblés dans un local unique équipé d'un conditionneur d'air et d'une alimentation électrique adéquate.
- d) Absence d'étagères et de meubles de rangement pour les produits chimiques et la verrerie.

La rénovation des locaux dont le plan est détaillé ci-dessous portera sur les points suivants :

Salle1 :

- 1- Élimination de la cloison G.
- 2- Prolongation de la paillasse C jusqu'à la paillasse B
- 3- Paillasses B et C :

- a) Installation de l'alimentation électrique sous forme de tableau électrique mural. Prises de terre obligatoire. Les prises électriques devront pouvoir supporter des intensités de 10 à 20 ampères.

Nombre de tableaux électriques à installer:

Paillasse B : 2 tableaux de 4 prises ; Paillasse C : 1 tableau de 4 prises.

- b) Installation de deux arrivées d'eau sur la paillasse C et de deux arrivées d'eau sur la paillasse B. Les robinets devront être de type laboratoire avec bec progressif permettant l'adaptation de tuyaux de plastique de différents diamètres. Deux petits évier de 10 cm de diamètre pourront être installés sur chaque paillasse pour l'évacuation des eaux.
- 4- Installation d'étagères à produits au dessus de toutes les paillasses appuyées au mur (B, C et D). (hauteur à ajuster)
- 5- Installation d'armatures métalliques fixées sur les paillasses B, C, D, E et F. Ces armatures sont constituées d'un réseau de barres horizontales et verticales assemblées par des "noix" à "clef Allen" fournies par tout type de laboratoire de produits et matériel (Prolabo, OSi, Bioblock...)

Salle 2 : Cette salle sera utilisée pour installer les équipements sensibles et leurs accessoires tels que :

- Chromatographes en phase gazeuse (02)
- Spectrophotomètre UV (01)
- Polarimètres (02)
- Réfractomètre (02)
- Balance (01)- Ordinateur (01)

Les modifications à apporter porteront sur :

- 1 - Transfert de l'herbier I et de la grande armoire J dans une autre salle du CNDRS.
- 2 - Construction d'une paillasse supplémentaire en L le long des murs.
- 3 - Paillasse H
 - a) Installation de 2 tableaux muraux de 4 prises électriques chacun, avec connexion à la terre et pouvant supporter des intensités de 15 à 20 Ampères. Inclure un Disjoncteur avec sensibilité adéquate.
 - b) Fabrication d'armoires à 1 étagère et fermeture coulissante sous la paillasse H
- 4- Paillasse I et J
 - Construction en ciment revesti de carrelages
 - Dimension : Paillasse I : 4 X 0,75 X 0,70m (L x l x h)
Paillasse J : 1,20 X 0,75 X 0,70 m (L X l X h)
 - Armoires à prévoir sous les paillasses
 - Installation de 2 tableaux muraux de 4 prises chacune localisés à chaque extrémité de la paillasse I. (mêmes spécifications électriques - voir plus haut).
 - Installation de 1 tableau mural de 4 prises électriques au milieu de la paillasse J
 - Installation d'une arrivée d'eau et évacuation sur I.

Ces paillasses seront utilisées de la manière suivante.:

Paillasse H : Chromatographe gaz (02) avec accessoires

Paillasse J : Spectrophotomètre UV

Paillasse I : Polarimètres et Réfractomètres, avec connexion au robinet ; Balance

5 - Installation Air Conditionné 20 000 BTU/H-minimum

III.2 Construction de nouveaux locaux

Nous donnerons ci-dessous les surfaces minimales pour chaque Unité du laboratoire. Chaque unité sera disposée suivant le plan de masse ci-dessous.

- Unité essais chimiques : 45 m² (Labo(1))
- Unité mesures instrumentales : 46m² (Labo (2))
- Unité magasin-verrerie : 15m² (3)
- Unité magasin produits : 15m² (4)
- Bureaux techniciens : 35m² (5)
- Salle des Balances chambre noire : 4m² (6)
- Circulation : 30m²

La surface totale sera de 190m²

NOTE : Les utilités à installer sur les paillasses (électricité, eau, gaz, éviers, tuyauteries) seront détaillées ultérieurement.

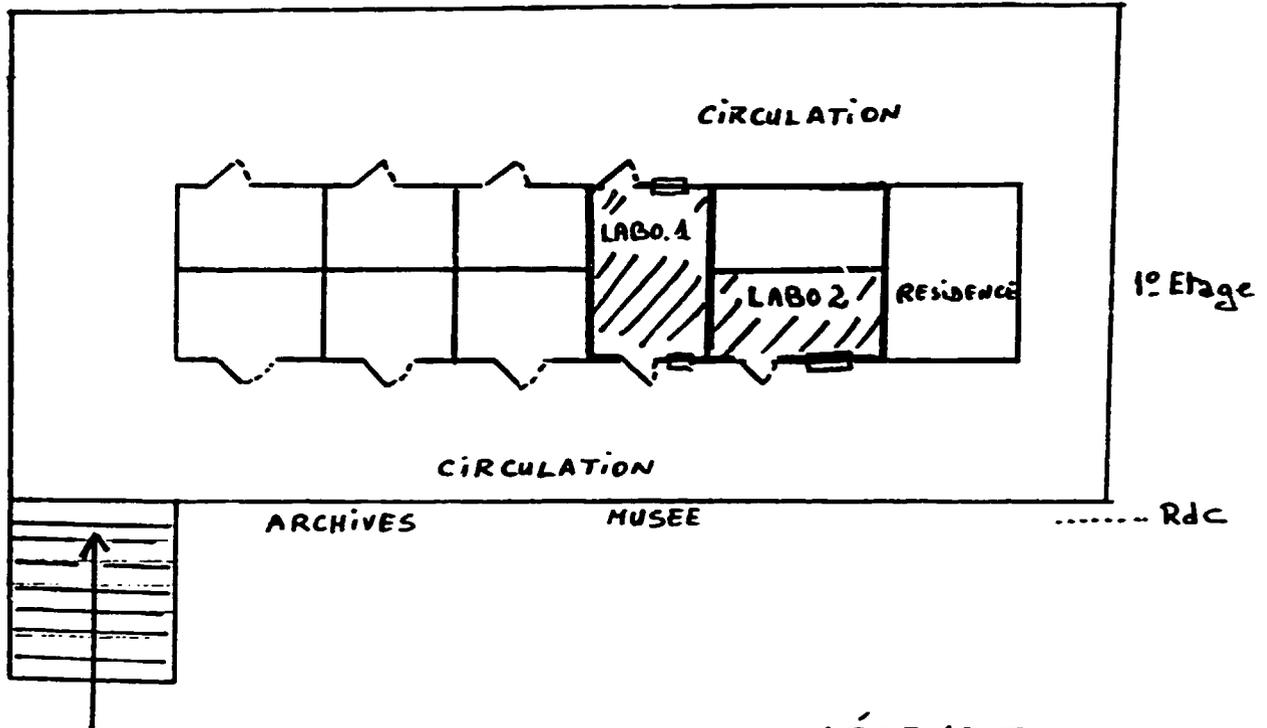
- L'aménagement interne, les équipements, petit matériel, réactif, produits chimiques etc...à installer ou à acquérir seront détaillés ultérieurement.

III ESTIMATION GLOBALE DES COUTS

a) coûts de construction :	pour mémoire
b) Équipements complémentaires :	12.000 dollars
c) Matériels et produits consommables :	58.000 dollars
Total hors coûts construction =	70.000 dollars

LABORATOIRE DE PLANTES AROMATIQUES DU CNDRS A MORONI (COMORES)

Plan des Laboratoires actuels : situation en Novembre 1995.

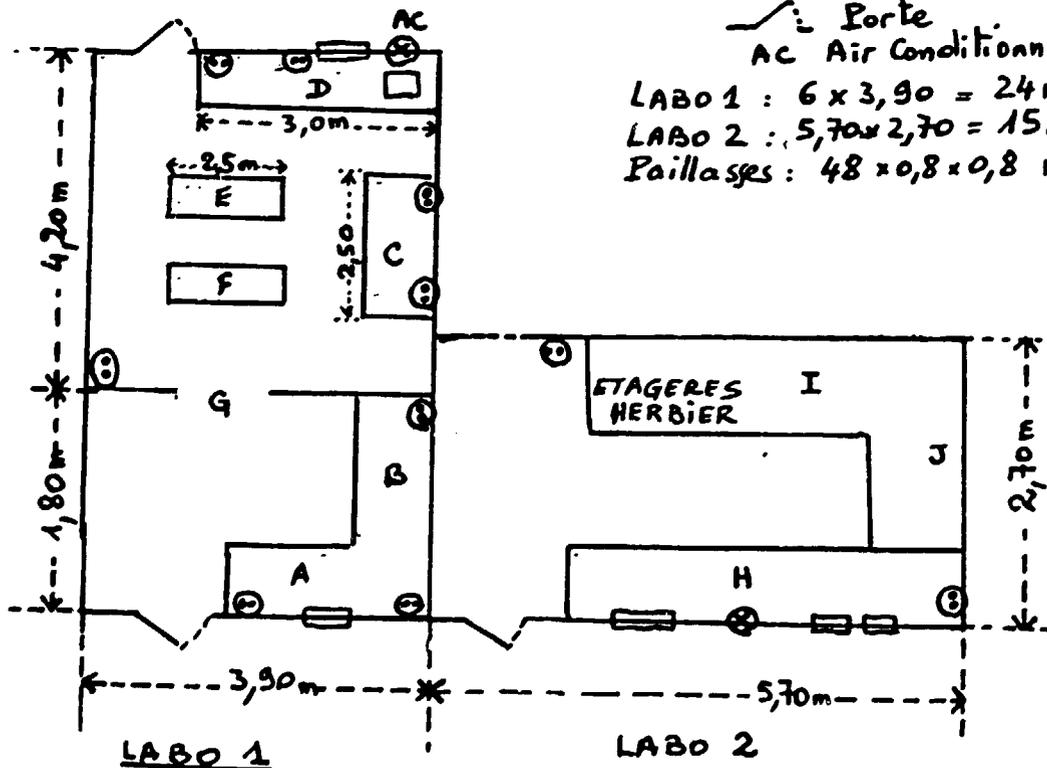


PLAN DES LABORATOIRES:

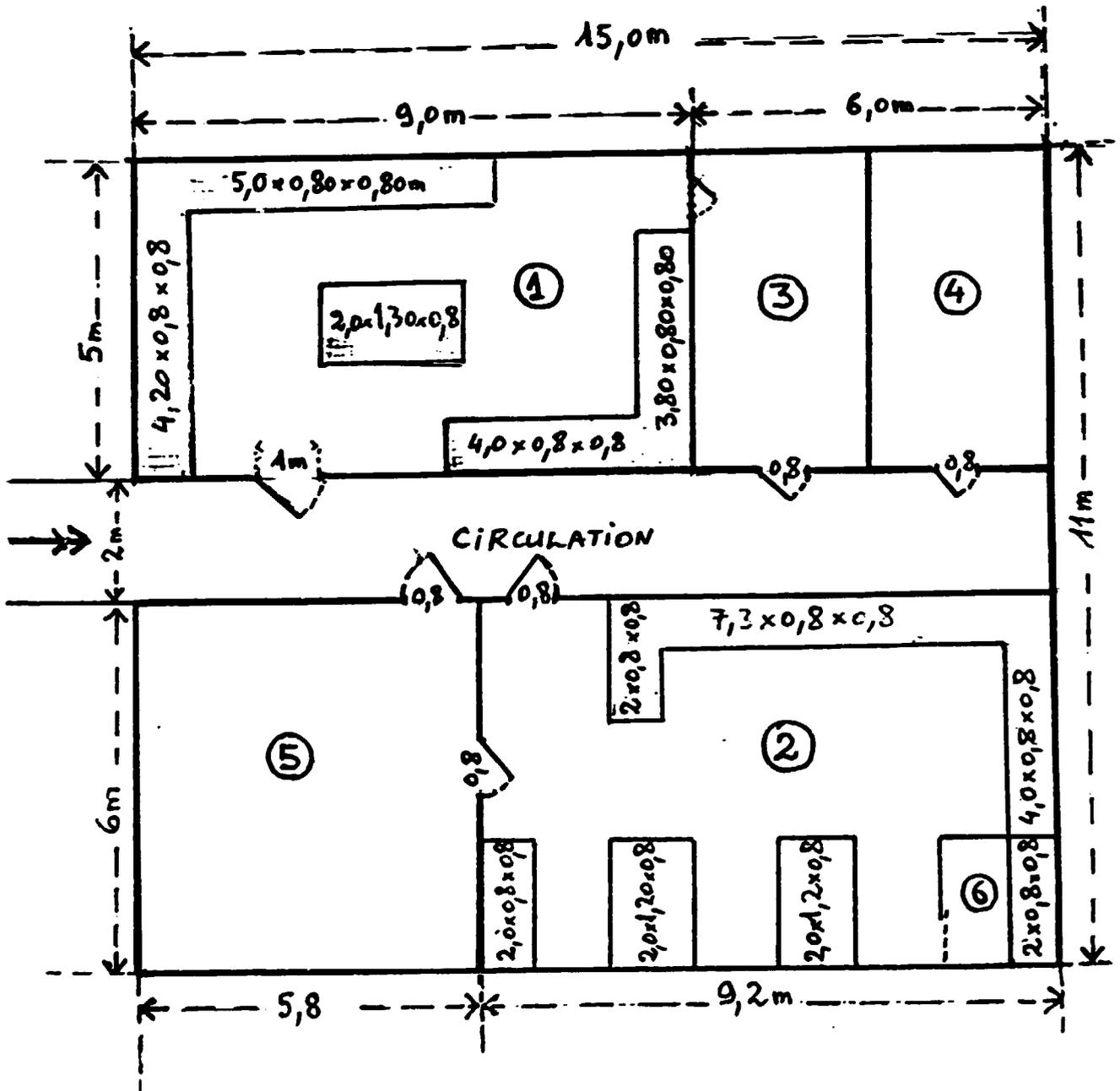
LÉGENDE

- ⊙ Prise électrique (01)
- ⊗ Point d'eau (02)
- ▭ Fenêtre
- ∩ Porte
- AC Air Conditionné

LABO 1 : $6 \times 3,90 = 24 \text{ m}^2$
 LABO 2 : $5,70 \times 2,70 = 15 \text{ m}^2$
 Paillages : $48 \times 0,8 \times 0,8$ mètres linéaire



Plan de masse des nouveaux laboratoires (propositions pour 1996)



LE CONTROLE DE QUALITE DES HUILES ESSENTIELLES

ET EPICES.:

NOTIONS DE BASE ET TECHNIQUES

1 - Définition - objectifs

Le contrôle de qualité consiste à vérifier la conformité d'un produit aux normes qu'il est supposées respecter et il est dit de bonne qualité lorsqu'il satisfait à ces normes.

En d'autres termes, en contrôle de qualité, il s'agit de rassembler tous les renseignements d'ordre technique, de les comparer aux normes ou aux valeurs de référence et de les consigner sur une fiche qui constituera une véritable carte d'identité du produit. Cette fiche sera présentée lors des transactions.

Dans le cas des huiles essentielles, des épices et oléorésines, le contrôle de qualité doit être effectuée au moins pour les deux raisons suivantes :

a) Détection des falsifications

Un produit falsifié est refusé sur le marché. Cette falsification peut se présenter sous plusieurs aspects mais les plus souvent rencontrées sont le mélange de produits de qualité différente (exemple: essence de clous de girofle + essence de feuille de girofle...) et l'addition de produits étrangers (exemple: du gingembre moulu additionné de produits, farineux, du poivre entier additionné d'autres fruits de même caractère morphologique.)

b) Estimation et fixation des prix à la transaction

Le prix d'un produit est fonction de sa qualité.

Ainsi le prix de l'essence d'Ylang extra est différent de celui de l'essence d'Ylang de troisième catégorie. Le prix des oléorésines de piment varie en fonction de la force de la saveur piquante donc de la teneur en capsaïcinoïdes.

Les huiles essentielles, les épices et les oléorésines sont des produits qui s'altèrent facilement vu leur composition chimique.

Par conséquent, c'est d'abord aux conditions mêmes de leur obtention et à leur constante surveillance qu'il faut donner la priorité pour que les analyses effectuées lors du contrôle de qualité acquièrent leur pleine signification.

2 - Quels sont les facteurs qui conditionnent la qualité des huiles essentielles des oléorésines et des épices?

2. 1. Le matériel végétal

Avant son traitement, le matériel végétal doit être trié, sélectionné. En effet, il peut exister plusieurs variétés de chaque espèce dont les propriétés organoleptiques et les compositions chimiques des extraits

diffèrent sensiblement les uns des autres. De même, les différentes parties d'une même plante peuvent produire des extraits de caractéristiques différentes (cas du girofle) donc, le cas échéant, elles doivent être séparées.

2. 2. Les conditions d'extraction

Le mode et la durée de l'extraction, la nature et la pression de la vapeur, la température, le solvant utilisé peuvent influencer sur la qualité des extraits.

Exemple 1 : Un traitement excessif destiné à supprimer les dernières traces de solvant peut nuire aux composants thermolabiles ou provoquer une perte sensible en huile essentielle et affecter la fraîcheur d'une oléorésine.

Exemple 2 : Lors d'une hydrodistillation, certains produits en contact prolongé avec l'eau peuvent s'hydrolyser. Cas de l'acétate d'eugényle dans le girofle.

2. 3. Les conditions de stockage des extraits

Des changements de caractéristiques peuvent se produire dans le temps et ils sont d'autant plus rapides que les conditions de stockage sont inadéquates. En général, il faut garder les extraits dans des récipients bien étanches, à l'abri de la lumière et de la chaleur. On peut citer le cas de l'oléorésine de poivre dans laquelle la pipérine (le principe piquant) peut s'isomériser en isochavicine (un produit indifférent) sous l'effet de la lumière, et cette transformation est beaucoup plus rapide dans l'oléorésine que dans le grain de poivre.

Tels sont les principaux facteurs qui peuvent influencer sur la qualité des extraits. Evidemment, les conditions de culture des plantes ainsi que la période de récolte sont des paramètres à ne pas négliger. D'ailleurs, ce sont ces derniers facteurs qui rendent difficile la normalisation des épices et aromates à cause des variations importantes de composition liées aux conditions de récolte, aux conditions climatiques et aux lieux de culture.

3 - Quels sont les différentes analyses à effectuer lors du contrôle de qualité des huiles essentielles des épices et des oléorésines?

Le contrôle de qualité s'effectue sur des prélèvements et les critères à examiner comprennent :

- les caractères organoleptiques, anatomiques, morphologiques
- les propriétés physiques
- les propriétés chimiques
- les propriétés spectrales
- les propriétés chromatographiques

3. 1. Les caractères organoleptiques, anatomiques, morphologiques

L'aspect, la couleur, l'odeur, la texture, la saveur, la morphologie sont déterminants pour l'appréciation de la qualité. Ces caractères organoleptiques, morphologiques, s'ils sont satisfaisants accordent au produit un préjugé favorable.

3. 2. Les propriétés physiques

Ces propriétés physiques sont des critères importants de pureté et de qualité suivant qu'on a affaire à des huiles essentielles, à des oléorésines ou des épices, les études physiques à entreprendre sont différentes.

* Pour une huile essentielle :

- la densité relative à 20°C c'est le rapport de la masse d'un certain volume d'essence à la masse d'un même volume d'eau. Elle se détermine à l'aide d'un densimètre (par lecture directe) ou à l'aide d'un picnomètre (par pesée de l'eau et de l'essence).

- le pouvoir rotatoire à 20°C c'est l'angle dont tourne le plan de polarisation d'une lumière polarisée de longueur d'onde égale à 589,3nm lorsqu'elle traverse une épaisseur de 100mm d'huile essentielle. C'est l'angle de rotation se mesure à l'aide d'un polarimètre.

- l'indice de réfraction à 20°C : c'est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux (589,3nm) passant de l'air dans l'huile essentielle. L'indice de réfraction est donné par un réfractomètre.

- solubilité dans l'éthanol dilué : puisque les huiles essentielles sont insolubles dans l'eau et solubles dans l'alcool absolu, il est donc possible de déterminer le nombre de volumes d'alcool dilué nécessaire pour solubiliser complètement un volume d'essence. Cette détermination aide à détecter les falsifications. Exemple : pure l'essence de rose est soluble dans 3 volumes d'alcools à 70°C; falsifiée sa solubilité n'est plus complète.

* Pour une épice :

- Teneur en eau : elle sert de référence dans le commerce des produits agricoles. La teneur en eau donne une idée sur les risques de développement des microorganismes et sur les aptitudes du produit à une bonne conservation. D'ailleurs on n'achète pas l'eau mais la matière. Elle sert également dans les déterminations ultérieures rapportées très souvent à la matière sèche. Il existe deux méthodes de détermination de la teneur en eau :

- par chauffage à 105°C environ de l'épice jusqu'à poids constant. Cette méthode n'est pas reproductible car elle entraîne partiellement les matières volatiles de l'épice.

- par entraînement azéotropique de l'eau avec un solvant approprié comme le toluène ou le benzène.

- Teneur en cendres totales et en cendres solubles dans l'acide :

Les cendres représentent les matières minérales contenues dans l'épice. Elle permet par exemple d'avoir une idée de la quantité de sable, de terre ou de débris métalliques présents dans l'échantillon surtout si les épices sont commercialisées sous forme de poudre.

Cette teneur en cendres s'obtient par calcination vers 600°C pendant 4 heures.

- Teneur en huile essentielle, oléorésine ou d'autres extraits :

Déterminée ces teneurs revient à déterminer les teneurs des constituants caractéristiques de l'épice. L'huile essentielle est obtenue par entraînement à la vapeur dans l'appareil à hydrodistiller tandis que les autres extraits par extraction à l'aide d'un solvant (alcool à 95° éther diéthylique, eau).

- Indice Scoville :

Cette détermination concerne les épices possédant des propriétés sapides brûlantes et piquantes (capsicum essentiellement).

C'est le taux de dilution le plus grand permettant de percevoir la saveur brûlante de l'épice. Un part d'une solution alcoolique obtenue après 24 heures de macération que l'on dilue avec une solution aqueuse de saccharose à 5%.

L'indice Scoville n'est pas très précis car il varie d'un expérimentateur à un autre.

* Pour une oléorésine :

- Teneur en huile essentielle : plus cette teneur en huile essentielle est élevée, plus la qualité de l'oléorésine sera meilleure. Sa détermination se fait par entraînement à la vapeur d'eau.

- Indice Scoville : (voir épice)

- Teneur en solvants résiduels : la toxicité des solvants d'extraction ne permet qu'une très faible proportion de solvants résiduels (de l'ordre du ppm) dans l'oléorésine.

Cette teneur est déterminée par chromatographie en phase gazeuse.

3. 3. Les propriétés chimiques

L'étude des propriétés chimiques nécessite la préparation préalable d'un extrait à partir de l'épice ou l'aromate. Les méthodes chimiques s'appliquent donc également aux huiles essentielles et aux oléorésines.

Ces essais chimiques exigent la connaissance à priori, de la composition chimique de l'extrait à examiner. En fait, il s'agit de doser un groupe de constituants qui a de l'importance soit par sa quantité soit par son odeur ou sa valeur commerciale. Une teneur anormalement trop élevée ou trop faible en ces constituants est un signe de dépréciation de la qualité ou de falsifications.

Nous allons donc envisager les cas dans lesquels les constituants importants sont des acides, des esters, des phénols, des alcools, des aldéhydes et cétones.

- Indice d'acide (constituants : acides)

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'extrait.

- Indice d'ester avant acétylation (constituants : ester)

L'indice d'ester avant acétylation est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par hydrolyse des esters contenus dans 1g d'extrait.

- Indice d'ester après acétylation (constituants : alcool).

Il s'agit de déterminer la teneur en alcools libres et en alcools totaux dans un volume connu d'essence après acétylation de ceux-ci puis hydrolyse des esters résultants.

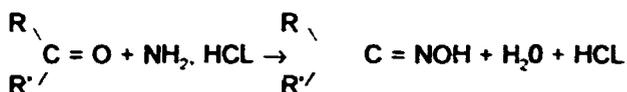
L'indice d'ester après acétylation est donc le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par hydrolyse de ces esters formés dans 1g d'essence.

- Indice de phénols (constituants : phénols)

C'est la teneur en phénols dans un volume connu d'essence par transformation de ceux-ci en phénates alcalins solubles en phase aqueuse.

- Indice de carbonyle : (constituants : aldéhydes et cétones)

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium par gramme d'essence, nécessaire à la neutralisation de l'acide chlorhydrique libéré dans la réaction d'oximation avec le chlorure d'hydroxylamine de aldéhydes et des cétones.



3. 4. Les propriétés spectrales

La spectrophotométrie dans l'ultraviolet/visible est utilisée dans l'analyse des épices et des oléorésines, plus précisément pour le dosage des composés ayant des propriétés spectrales analogues ou pour la détermination du pouvoir colorant.

Exemple 1 : dosage des dérivés de la pipérine dans le poivre. La méthode est basée sur la mesure de l'absorbance à 343nm d'un extrait alcoolique et de la substance de référence.

Exemple 2 : dosage des dérivés de la capsaïcine dans le piment. La mesure de l'absorbance est faite à 280nm.

Exemple 3 : détermination du pouvoir colorant du curcuma et du safran. Elle est réalisée par mesure de l'absorbance à 425nm d'un extrait alcoolique pour le curcuma et à 255, 325 et 440nm d'un extrait aqueux pour le safran.

Exemple 4 : dosage de la vanilline des gousses de vanille. On détermine la teneur en vanilline par mesure de l'absorbance à 350nm d'un extrait alcoolique.

3. 5. Propriétés chromatographiques

La chromatographie est devenue à l'heure actuelle une technique incontournable dans l'examen des huiles essentielles, des oléorésines et des épices du fait de sa rapidité, sa précision et son haut pouvoir de résolution.

Les méthodes chimique et spectrales qui sont basées sur l'analyse organique fonctionnelle ont l'inconvénient de cibler plusieurs constituants simultanément et ne permettant pas d'accéder à chaque entité moléculaire. Or vérifier l'identité d'un mélange équivaut à vérifier l'identité de ses constituants.

Pour pouvoir étudier un élément constitutif particulier, une séparation préalable s'avère indispensable et c'est à l'analyse chromatographique qu'il est généralement fait appel. Ce sont des méthodes qualitatives et quantitatives.

Il s'agit d'établir un profil chromatographique ou chromatogramme montrant la majeure partie des constituants d'un extrait ou d'une épice. En contrôle de qualité, la réalisation de ce profil chromatographique permet de vérifier rapidement la présence ou l'absence d'un produit et d'évaluer sa teneur s'il est présent.

Trois types de chromatographies sont mis en oeuvre :

- la chromatographie sur couches minces
- la chromatographie en phase gazeuse
- la chromatographie liquide Haute performance.

CHROMATOGRAPHIES EN PHASE GAZEUSE ET LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

I- GENERALITES SUR LA CHROMATOGRAPHIE

La chromatographie est une méthode de séparation d'un mélange en ses divers constituants, basée sur la différence de distribution des solutés entre une phase mobile et une phase stationnaire.

Suivant la nature de la phase mobile, on distingue :

- la chromatographie en phase liquide dont la phase mobile est un liquide
- la chromatographie en phase gazeuse dont la phase mobile est un gaz

Suivant la nature de la phase stationnaire et le phénomène physicochimique qui prévaut dans le processus de séparation, la chromatographie peut être divisée en quatre types :

- la chromatographie d'absorption où la phase fixe est un solide sur lequel les solutés s'adsorbent
- la chromatographie de partage où la phase fixe est un liquide dans lequel les solutés se dissolvent
- la chromatographie d'échange d'ions où la phase stationnaire est un polymère portant des groupements ionisables susceptibles de s'échanger avec des solutés ioniques ou ionisables
- la chromatographie d'exclusion où la phase stationnaire est un gel dans les pores duquel les solutés sont séparés en fonction de la taille de leurs molécules

II- LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (CPG)

La CPG est une technique de séparation de substances volatiles. Mais elle peut être appliquée à certains composés non volatils à condition de les transformer préalablement en des dérivés silylés, acétylés, estérifiés... qui sont plus stables thermiquement et plus volatils que les molécules initiales.

1 - Principe

L'échantillon, une fois vaporisée, est poussée par le gaz vecteur à travers la colonne où les constituants vont migrer à des vitesses différentes selon leur affinité plus ou moins grande pour la phase stationnaire.

2 - Appareillage

* Générateur de phase mobile ou gaz vecteur

Azote/hydrogène/Argon/hélium

Le choix du gaz vecteur dépend de la colonne utilisée et du type de détecteur

* L'injecteur

L'introduction de l'échantillon à analyser se fait au niveau de l'injecteur soit à l'aide d'une seringue soit à l'aide d'un passeur automatique d'échantillon. L'injecteur est chauffé à une température permettant la vaporisation instantanée des solutés.

* La colonne

La séparation s'effectue dans la colonne dont la température peut être retenue à une valeur fixe (chromatographie isotherme) ou programmée (chromatographie à programmation de

température). Cette dernière permet la séparation des produits dont les volatilités sont très différentes.

On distingue les colonnes remplies (diamètre : 4mm, longueur : 5m) et les colonnes capillaires (diamètre 0,22mm - 0,53mm; longueur 10 à 100m). Les colonnes capillaires sont destinées à l'analyse des mélanges complexes (exemple : huile essentielle) à cause de leur grande efficacité et un meilleur pouvoir de résolution.

* Le détecteur

- Il indique à l'opérateur la présence de solutés sortant de la colonne, par le biais d'un signal électrique.

Les principaux détecteurs utilisés en CPG sont :

- le catharomètre (analyse des gaz)
- le détecteur à ionisation de flamme (analyse des hydrocarbures)
- le détecteur à capture d'électron (analyse des produits halogénés)

* L'enregistreur

L'enregistreur transforme le signal électrique provenant du détecteur en une courbe de concentration. L'ensemble de ces courbes forme le chromatogramme.

3 - La phase stationnaire

La colonne chromatographique est formée d'un tube en acier inoxydable en verre ou en verre dans lequel se trouve la phase stationnaire fixée ou non sur un support inerte.

La phase stationnaire constitue l'élément primordial du système chromatographique car c'est d'elle que dépendra en grande partie le succès de la séparation des solutés.

Il existe à l'heure actuelle plus de 200 phases stationnaires qui ont été classées par ordre de polarité croissante par Mc REYNOLDS.

Son choix est orienté dans la plupart des cas, par des règles empiriques :

- une phase apolaire sépare les produits d'après leur point d'ébullition
- Sur une phase polaire, les substances polaires sont retenues davantage que les composés apolaires

Exemple de phases stationnaires :

* Silicones non polaires : diméthylsilicones (SE 30, OV1, OV 101)

* Silicones polaires : phénylméthylsilicones (OV 17)

phénylcyanopropylméthylsilicone (OV 225)

* Polyglycol : type carbowax

4 - Recherche des meilleures conditions opératoires

Le choix de la phase stationnaire étant fait, il faudra ensuite chercher les conditions permettant d'obtenir :

- un maximum d'efficacité (pics étroits)
- une séparation idéale
- une bonne reproductibilité des résultats
- un temps d'analyse relativement court

Pour cela, on peut agir sur :

- le débit du gaz vecteur (à fixer au minimum de la courbe de VAN DEEMER).
- les températures de l'injecteur, de la colonne, du détecteur
- les dimensions de la colonne : longueur et diamètre
- les caractéristiques de la colonne : épaisseur de la phase stationnaire.

5 - Les méthodes d'identification en CPG

Bien que la CPG soit avant tout une méthode de séparation, il peut apporter une aide à l'identification.

En fait, il s'agit de localiser sur un chromatogramme un produit que devrait contenir un mélange donné. Trois méthodes sont alors offertes par la CPG.

* Méthode de comparaison des temps de rétention ou des distances de rétention

Cela consiste à introduire successivement sur la même colonne et dans les mêmes conditions le produit pur et le mélange à examiner puis noter leurs grandeurs de rétention respectives. Mais des coïncidences peuvent se produire donc il ne faut pas conclure hâtivement.

Si les temps ou distances de rétention sont différentes, on peut affirmer à l'absence du produit dans le mélange.

* Méthode des ajouts

On ajoute le produit pur au mélange. S'il est présent, le pic correspondant s'agrandit. Si un nouveau pic apparaît il est absent dans le mélange initial.

* Détermination des indices de KOVATS

Cette méthode consiste à trouver deux paraffines normales qui puissent encadrer le produit inconnu sur le chromatogramme du mélange à étudier. On calcule l'indice de KOVATS que l'on compare aux valeurs données par des tables.

En chromatographie isotherme,

l'indice de KOVATS d'un produit inconnu x est :

$$IK : 100n \frac{\log T'_R(X) - \log T'_R(N)}{\log T'_R(N') - \log T'_R(N)} + 100N$$

En chromatographie à température programmée :

$$IK : 100n \frac{T'_R(X) - \log T'_R(N)}{T'_R(N') - \log T'_R(N)} + 100N$$

N et N' : nombres de carbones des paraffines encadrant X avec

$$N < N'$$

$$n = N' - N$$

T'R : temps de rétention réduit

Remarques

- Lors d'une identification, s'assurer qu'un pic observé correspond à un seul produit et non à la superposition exacte de deux solutés.

- Ne pas saturer la colonne avec les produits à identifier sous peine de fausser la valeur des grandeurs de rétention.

produits à identifier sous peine de fausser

6 - Analyse quantitative

En analyse quantitative, il faudra déterminer la surface des pics qui est théoriquement proportionnelle à la quantité injectée. Mais la réponse du détecteur varie d'un produit à un autre, il faudra faire une calibration sur chaque produit à doser, c'est à dire déterminer le coefficient de réponse du détecteur pour chaque produit.

Il existe trois méthodes de calcul en analyse quantitative :

a) Etalonnage externe

On trace la courbe d'étalonnage à partir de la substance pure a. Repérer le pic de a sur le chromatogramme de la solution à doser x et comparer son aire à la courbe d'étalonnage pour en déduire la concentration.

b) Etalonnage interne

On choisit un étalon e qui ne fait pas parti du mélange pour calculer le coefficient de réponse de X

Ajouter une quantité connue de e dans une fraction du mélange à doser Réparer les pics de e et de x sur le chromatogramme.

$$X = \frac{\text{Quantité étalon interne ajoutée} * A_x}{A_e * K_x}$$

$$\text{avec } K_x = \frac{A_x}{A_e} * \frac{M_e}{M_x} \text{ déterminé sur un mélange connu de e et de x.}$$

Cette méthode permet de s'affranchir du paramètre de répétabilité des injections.

c) Normalisation interne

On choisit l'étalon e parmi les constituants du mélange

$$\% (i) = \frac{K_i A_i}{\sum K_i A_i} * 100 \quad \text{avec } K_i = \frac{A_e}{A_i} * \frac{M_i}{M_e} \text{ déterminé sur mélange connu}$$

III - LA CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE (C. L. H. P.)

La CLHP est une méthode de séparation applicable aux substances thermolabiles ou peu volatils qui ne peuvent être analysées directement par CPG.

1 - Principe

Sous l'effet d'une forte pression, les solutés vont pouvoir migrer avec la phase mobile à travers la colonne et de manière différente suivant l'importance de leurs interactions respectives avec les deux phases.

2 - Appareillage

* Réservoir de solvant

Il contient la phase mobile.

*** Système de pompage**

Son rôle est d'amener le solvant d'élution du réservoir à la colonne avec un débit constant.

*** Injecteur**

C'est l'endroit où l'on introduit l'échantillon dans le système chromatographique

*** Colonne**

En CLAP, la colonne est en acier inoxydable de longueur égale à 15 ou 30 cm et de diamètre 4 à 5 mm. Elle est remplie de particules solides éventuellement recouvertes d'un film liquide, constituant la phase stationnaire.

*** Détecteur**

Comme en CPG, il permet de suivre la séparation. On peut citer deux exemples de détecteur.

- les détecteurs à absorption de radiations lumineuses
- le réfractomètre

*** Enregistreur**

Il fournit le chromatogramme de l'échantillon.

3 - La phase stationnaire

- En chromatographie d'adsorption, la silice est la phase stationnaire habituelle. L'affinité des solutés pour cette phase stationnaire croît avec polarité. La phase mobile peut donc peu polaire ou polaire selon la nature des solutés à éluer.

- Le deuxième type de phase stationnaire étant la silice greffée. Le greffon est soit un groupement polaire (CN/NH₂), soit un groupement apolaire (groupements alkyls C8, C18)

Si le greffon est polaire (chromatographie de partage classique), la phase mobile est peu polaire (hexane/CH₂Cl₂). L'ordre d'élution des solutés suit l'ordre de leur polarité donc le temps de rétention augmente avec la polarité du soluté.

Si le greffon est apolaire (chromatographie de partage de phases inversée), la phase mobile est polaire (mélange eau/méthanol). Les composés polaires sont élués avant les composés apolaires et une augmentation du pourcentage d'eau de la phase mobile (donc de sa polarité) augmente le temps de rétention.

Le choix du solvant d'élution sera fait en fonction du garnissage de la colonne et de la structure de l'échantillon, avec pour principe de retenir une polarité opposée à celle de la phase stationnaire, afin d'éviter des interactions de type solvant - phase stationnaire. Il est évident que le solvant devra en plus dissoudre l'échantillon. On remarquera que la rétention d'un soluté est d'autant plus importante que sa solubilité dans la phase mobile est plus faible.

Si la polarité des solutés est très différente, on sera généralement conduit à utiliser un système gradient c'est à dire que la composition de la phase mobile variera en fonction du temps de façon à parfaire l'élution de tous les solutés présents.

Schéma si

Polarité des solutés	Polaires		Moyennement polaires		Non polaires
	Moyennement polaire	Très faiblement polaire	Fortement polaire	Moyennement polaire	
Polarité de l'éluant					
Composition type de l'éluant	Hexane pur/CH ₂ Cl ₂ (+ éventuellement de l'isopropanol) : C ₆ H ₁₄ -CH ₂ Cl ₂ 20/80	Hexane pur ou avec peu de CH ₂ Cl ₂ ex : C ₆ H ₁₄ /CH ₂ Cl ₂ 95/5	Mélange de méthanol (ou d'acétonitrile) et d'eau ex : CH ₃ OH-H ₂ O 40/60		- Méthanol pur (ou acétonitrile) ou en mélange avec peu d'eau ex : CH ₃ OH/H ₂ O 90/10
Type de chromatographie	chromatographie sur silice greffée polaire - CN - NH ₂		chromatographie à polarité de phases inversée sur silice greffée apolaire (Cl).		

4 - Analyse qualitative et quantitative

L'identification en CLHP peut se faire par comparaison des temps de rétention ou par la méthode des ajouts.

En analyse quantitative, les méthodes de calcul en CPG sont valables en CLHP (étalonnage externe, étalonnage interne).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - N. WATIEZ, F. STERNON, éléments de chimie végétale, 2^e ed. Masson et Cie, 1942, pp 634 - 697
- 2 - E. GUENTHER, The Essential Oils, Vol I, Rober E. Krieger Publishing Company
- 3 - Recueil de Normes Françaises (AFNOR) 3^e ed., 1989
- 4 - H. WAGNER, S. BLADT, E. M. ZGAINSKI, Plant drug Analysis, 1984 p. 247
- 5 - L. PEYRON, Les matières premières, RIA 346, Avril 1985
- 6 - H. RICHARD, Composition et analyse des épices et aromates, RIA 346, Avril 1985
- 7 - LA CHROMATOGRAPHIE S A C / STARCHROM.

**LISTE DES NORMES INTERNATIONALES
ISO POUR LES HUILES ESSENTIELLES
ET LES EPICES**

LISTE DES NORMES PUBLIÉE PAR L'ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION (ISO) SUR LES HUILES ESSENTIELLES

Référence	Ed.	Page	Titre	Référence	Ed.	Page	Titre
ISO R 210-1961	1		Huiles essentielles - Emballage	ISO 3062-1974	2		Huile essentielle de bois de santal (<i>Eucarya spicata</i>) d'Australie
ISO R 211-1961	1		Huiles essentielles - Etiquetage et marquage des récipients	ISO 3063-1983	2		Huile essentielle d'ylang-ylang (<i>Cananga odorata</i> (Lamark) J.D. Hooker et Thomson)
ISO 212-1973	3		Huiles essentielles - Échantillonnage	ISO 3064-1977	2		Huile essentielle de Nutgrain, Paraguay
ISO 279-1961	2		Huiles essentielles - Détermination de la densité relative à 20 degrés C (Méthode de différences)	ISO 3065-1974	2		Huile essentielle d'Eucalyptus d'Australie, de teneur en cinéole 80 à 85 pour cent
ISO 280-1976	2		Huiles essentielles - Détermination de l'indice de réfraction	ISO 3140-1976	2		Huile essentielle d'orange douce, obtenue par expression
ISO 336-1977	1		Huiles essentielles - Préparation de l'échantillon pour essai	ISO 3141-1975	1		Huile essentielle de feuilles de giroflier
ISO 390-1981	2		Huile essentielle de Saussuras du Brésil	ISO 3142-1974	2		Huile essentielle de écus de giroflier
ISO 392-1981	2		Huiles essentielles - Détermination du pouvoir rotatoire	ISO 3143-1975	1		Huile essentielle de griffes de giroflier
ISO 709-1980	2		Huiles essentielles - Détermination de l'indice d'ester	ISO 3214-1974	2		Huile essentielle de Jitao cubeta
ISO 770-1980	2		Huile essentielle d'Eucalyptus globulus	ISO 3215-1974	1		Huiles essentielles de noix muscade
ISO 835-1981	2		Huile essentielle de citron, Italie, obtenue par expression	ISO 3216-1974	2		Huile essentielle de cannelle de Chine
ISO 846-1981	3		Huile essentielle de roenthe poivrée, France, Italie, Royaume-Uni et États-Unis	ISO 3217-1974	2		Huile essentielle de lemongrass (<i>Cymbopogon citratus</i>)
ISO 875-1981	3		Huiles essentielles - Évaluation de la miscibilité à l'éthanol	ISO 3218-1976	2		Huiles essentielles - Principes de nomenclature
ISO 1041-1973	2		Huiles essentielles - Détermination du point de congélation	ISO 3475-1975	2		Huile essentielle d'anis vert
ISO 1202-1981	3		Huiles essentielles - Détermination de la teneur en cinéole-1,8	ISO 3515-1976	2		Huile essentielle de lavande de France
ISO 1241-1980	3		Huiles essentielles - Détermination de l'indice d'ester après acétylation et évaluation de la teneur en alcools libres et en alcools totaux	ISO 3516-1980	2		Huile essentielle de coriandre
ISO 1242-1973	2		Huiles essentielles - Détermination de l'indice d'acide	ISO 3517-1975	2		Huile essentielle de néroli
ISO 1271-1983	2	4	Huiles essentielles - Détermination de l'indice de carbonyle - Méthode à l'hydroxylamine libre	ISO 3518-1979	2		Huile essentielle de bois de santal (<i>Santalum album</i> , Linnaeus)
ISO 1272-1973	2		Huiles essentielles - Évaluation de la teneur en phénols	ISO 3519-1979	2		Huile essentielle de lime, obtenue par distillation
ISO 1279-1984	2	3	Huiles essentielles - Détermination de l'indice de carbonyle - Méthode au chlorure d'hydroxylammonium	ISO 3520-1980	2		Huile essentielle de bergamote, Italie
ISO R 1342-1971	2		Huile essentielle de romarin	ISO 3523-1976	2		Huile essentielle de cananga
ISO 3033-1975	2		Huile essentielle de menthe crépue	ISO 3524-1977	2		Huile essentielle de feuilles de cannellier
ISO 3043-1975	1		Huile essentielle de bois de piment dit de la Jamaïque	ISO 3525-1979	2		Huile essentielle d'amyrin
ISO 3044-1974	2		Huile essentielle de d'Eucalyptus citriodora	ISO 3526-1976	2		Huile essentielle de sauge d'Espagne
ISO 3047-1974	1		Huile essentielle de bay	ISO 3527-1976	2		Huile essentielle de fruits de pample
ISO 3053-1975	2		Huile essentielle de pample (obtenue par expression)	ISO 3528-1977	2		Huile essentielle de mandarine, Italie
ISO 3054-1976	2		Huile essentielle de lavandin abrialis	ISO 3714-1980	2		Huile essentielle de menthe pulicat
ISO 3061-1979	2		Huile essentielle de poivre noir	ISO 3736-1976	2		Huile essentielle de cubaba
				ISO 3737-1978	2		Huile essentielle de patchouli
				ISO 3740-1979	2		Huile essentielle de grains de caféier
				ISO 3761-1979	2		Huile essentielle de bois de rose du Brésil
				ISO 3773-1976	2		Huiles essentielles - Évaluation de la teneur en alcools libres primaires et secondaires par acétylation pyridine
				ISO 3794-1976	2		Huiles essentielles (contenant des alcools tertiaires) - Évaluation de la teneur en alcools libres par détermination de l'indice d'ester après acétylation
				ISO 3817-1976	2		Huile essentielle de lime (obtenue par expression du fruit entier)
				ISO 3848-1976	2		Huile essentielle de citronnelle type Java
				ISO 3849-1981	2		Huile essentielle de citronnelle type Ceylan
				ISO 4026-1978	2		Huiles essentielles (contenant des alcools tertiaires) - Évaluation de la teneur en alcools libres par détermination de l'indice d'ester après formulation à froid
				ISO 4715-1978	2		Huiles essentielles - Évaluation quantitative du résidu d'évaporation

a) Reproduit à partir de la liste ISO

b) On peut contacter l'ISO à l'adresse suivante

1-3, rue de Varembé
1211 Genève 20

Suisse

ou à travers le Comité technique de l'ISO responsable pour les normes sur les huiles essentielles et les aromatisants

Director Geral de Qualidade

RUA, Rue José Estevão

1199 Lisboa Codex

Portugal

ISO 4718-1981	2	Huile essentielle de lemongrass (<i>Cymbopogon flexuosus</i>)
ISO 4719-1983	2	Huile essentielle d'aspic (<i>Lavandula latifolia</i> (Linnaeus) Mill)
ISO 4724-1984	2	Huile essentielle de bois de cèdre, Virginie (<i>Juniperus virginiana</i> Linnaeus)
ISO 4729-1984	2	Huile essentielle de feuilles de piment type Jamaïque (<i>Pimenta dioica</i> (Linnaeus) Merrill)
ISO 4731-1978	2	Huile essentielle de géranium
ISO 4732-1983	2	Huile essentielle rectifiée d'Eucalyptus globulus Labillardière, Portugal
ISO 4733-1981	2	Huile essentielle de carbomène
ISO 4734-1981	2	Huile essentielle de macis
ISO 4735-1981	3	Huiles essentielles de citrus - Détermination de la valeur CD par analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet
ISO 5991-1979	3	Huiles essentielles - Détermination du résidu de distillation sous pression réduite
ISO 7660-1983	2	Huiles essentielles - Détermination de l'indice d'ester des huiles contenant des esters difficilement saponifiables.

ISO international standards for spices and condiments

A. International Standard (ISO and ISO/R)

ISO R 676-1968	Spices and condiments - Nomenclature - First list
ISO 882-1980	Cardamoms - Specification
ISO 927-1980	Spices and condiments - Determination of extraneous matter content
ISO 928-1980	Spices and condiments - Determination of total ash
ISO 929-1980	Spices and condiments - Determination of water-insoluble ash
ISO 930-1980	Spices and condiments - Determination of acid-insoluble ash
ISO 939-1980	Spices and condiments - Determination of moisture content - Entrainment method
ISO 940-1979	Spices and condiments - Determination of alcohol-soluble extract
ISO 948-1980	Spices and condiments - Sampling
ISO R 939-1969	Spices and condiments - Black pepper and white pepper, whole and ground - Specification
ISO R 972-1969	Spices and condiments - Chillies, whole and ground - Specification
ISO 973-1980	Spices and condiments - Pimento (allspice), whole or ground - Specification
ISO 1103-1980	Spices and condiments - Ginger, whole, in pieces, or ground - Specification
ISO 1108-1980	Spices and condiments - Determination of non-volatile ether

ISO 1237-1974	extract
ISO 2253-1974	Spices and condiments - Mustard seed - Specification
ISO 2254-1980	Spices and condiments - Curry powder - Specification
ISO 2255-1980	Chiles, whole and ground (powdered) - Specification
ISO 2825-1974	Coriander, whole and ground (powdered) - Specification
ISO 3493-1976	Spices and condiments - Preparation of a ground sample for analysis
ISO 3513-1977	Vanilla - Vocabulary
ISO 3588-1977	Spices and condiments - Chillies - Determination of Scoville index
ISO 3632-1980	Spices and condiments - Determination of degree of fineness of grinding - Hand sieving method (Reference method)
ISO 5559-1981	Saffron - Specification
ISO 5560-1981	Dehydrated onion - Specification
	Dehydrated garlic - Specification

B. Draft International Standards (DIS) Draft - Proposals (DP)

DIS 676	Revision of ISO/R 676-1968 - Spices and condiments - Nomenclature - First list
DIS 1208	Spices and condiments - Determination of filth (Reference method)
DP 2256	Garlic, do.t - Specification
DIS 2825	Revision of ISO 2825-1974 - Spices and condiments - Preparation of a ground sample for analysis
DIS 5561	Caraway, whole - Specification
DIS 5562	Turmeric, whole or ground - Specification
DIS 5563	Dehydrated peppermint - Specification
DIS 5564	Black and white pepper, whole or ground - Determination of piperine content
DIS 5565	Vanilla (<i>Vanilla fragrans</i> Salisbury Ames) - Specification
DIS 5566	Turmeric - Determination of colouring power - Spectrophotometric method
DIS 5567	Dehydrated garlic - Determination of volatile organic sulphur compounds
DP 6465	Cumin seed, whole and ground - Specification
DIS 6538	Cassia (type China, type Indonesia and type Viet Nam), whole and ground (powdered) - Specification
DIS 6539	Cinnamon (type Sri Lanka (Ceylon), type Seychelles and type Madagascar) whole and ground - Specification
DIS 6571	Spices and condiments - Determination of volatile oil content
DP 6572	Dehydrated peppermint - Determination of carvone content - Thin layer chromatographic method
DP 6573	Blond caraway - Specification
DP 6574	Whole celery seed - Specification

DIS	6575	Fenugreek, whole and ground (powdered) - Specification
DP	6576	Laurel, whole and ground - Specification
DP	6577	Nutmeg and mace - Specification
DP	6754	Thyme, whole and ground - Specification
DP	7377	Juniper - Specification
DP	7386	Aniseed, whole or ground - Specification
DP	7540	Ground paprika - Specification
DP	7541	Ground paprika - Determination of total colouring matter content
DP	7542	Ground paprika - Microscopic examination
DP	7543	Chillies - Determination of capsaicinoids content

PROCEDURES EXPERIMENTALES POUR LES ESSAIS DE NORMALISATION DES HUILES ESSENTIELLES

PREPARATION DE L'ECHANTILLON EN VUE DE L'ANALYSE : NFT 75-110 1

Principe :

Filtration en présence de sulfate de magnésium ou de sulfate de sodium de l'huile essentielle, rendue liquide, si nécessaire, par chauffage à une température convenable, en vue d'éliminer l'eau et les substances insolubles.

Mode opératoire

Introduire dans une fiole conique sèche du sulfate de sodium, en quantité telle qu'il représente 15% environ de la masse d'huile essentielle.

Verser l'huile essentielle dans la fiole de telle manière qu'elle soit remplie, au maximum, aux deux tiers de sa capacité, l'huile essentielle et la fiole étant à la même température. Agiter de temps en temps, et vigoureusement, pendant deux heures au moins.

Filtrer ensuite l'huile essentielle sur du papier et la recueillir dans une fiole sèche.

Ces opérations doivent précéder immédiatement l'analyse.

DETERMINATION DE LA DENSITE RELATIVE à 20°C NFT 75-111/ISO

Définition :

La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C à la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C : son symbole d_{20}

Principe :

A l'aide d'un pycnomètre, pesées successives de volume égaux d'huile essentielle et d'eau, à la température de 20°C. Si la mesure est effectuée à une température différente l'appliquer la formule :

$$d_{20} = d_t + 0,00075 (t-20) \text{ où } t \text{ est la température d'expérimentation.}$$

Mode opératoire :

Nettoyer soigneusement puis rincer le pycnomètre, par exemple au moyen d'éthanol puis d'acétone, et le sécher.

Lorsque l'équilibre de la température avec la salle des balances est réalisée, peser le pycnomètre, muni de son bouchon à 1 mg près

Pesée de l'eau distillée

Remplir le pycnomètre avec de l'eau distillée, le plonger dans le bain thermostatique, maintenu à une température de 20°C. Au bout de 30 mn ajuster le niveau d'eau au trait repère.

Lorsque l'équilibre de température avec la salle des balances est réalisé, peser le pycnomètre plein, muni de son bouchon, à 1mg près.

Pesée d'huile essentielle

Même opération que précédemment en remplaçant l'eau par l'huile essentielle après avoir rincé et séché le pycnomètre.

Expression des résultats

La densité relative, d_{20} est donnée par

$$d = m_2 - m_0 / m_1 - m_0$$

où

m_0 : masse en gramme du pycnomètre vide

m_1 : masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau

m_2 : masse en grammes pycnomètres rempli d'huile essentielle.

exprimer le résultat avec trois décimales.

DETERMINATION DE L'INDICE DE REFRACTION (NF T 75-112)
(ISO 280-1976)

Définition :

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

La longueur d'onde spécifiée est (589,3 + 0,3) nm, correspondant aux radiations D1 et D2 du spectre d'émission du sodium.

La température de référence est 20°C, sauf pour les huiles essentielles qui ne sont pas à l'état liquide à cette température.

Principe :

Suivant le type d'appareil utilisé ; soit mesurage direct de l'angle de réfraction, soit observation de la limite de réflexion totale, l'huile essentielle étant maintenue dans des conditions d'isotropisme et de transparence.

Mode opératoire :**Détermination**

Faire passer un courant d'eau dans le réfractomètre afin de maintenir l'appareil à la température à laquelle les lectures doivent être effectuées. Cette température ne doit pas différer de la température de référence de plus de + 0,2°C, et doit être maintenue à + 0,2°C, à une température à peu près égale à celle à laquelle le mesurage doit être effectué.

Attendre que la température soit stable pour effectuer la lecture .

Expression des résultats :

L'indice de réfraction, n_t à la température de référence t , est donné par :

$$n_t = n_{t'} + 0,0004 (t' - t)$$

où

$n_{t'}$ est la valeur de la lecture obtenue à la température t' , à laquelle a été effectuée la détermination.

Exprimer le résultat avec quatre décimales.

**DETERMINATION DU POUVOIR ROTATOIRE : NFT 75-113 -1982/
ISO 592-1981**

Définition :

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle est l'angle, exprimé en milliradians et /ou degrés d'angle, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde $589,3 \pm 0,3 \text{ nm}$, correspondant aux raies D du sodium, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100mm de l'huile essentielle dans des conditions déterminées de température.

Mode opératoire

Allumer la source lumineuse et attendre jusqu'à l'obtention d'une bonne luminosité.

Remplir le tube avec l'eau distillée, en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée dans le tube après la fermeture des bouchons.

Placer le tube dans le polarimètre et remettre à zéro l'appareil, lorsque l'appareil est du type à affichage électronique.

Rincer et sécher le tube et remplacer l'eau par l'huile essentielle.

Effectuer le mesurage par lecture directe lorsque l'appareil est à affichage électronique , ou par égalisation des plages optiques lorsque l'appareil est à vernier.

Expression des résultats : donner le signe et la valeur du pouvoir rotatoire à trois décimales près.

EVALUATION DE LA MISCIBILITE A L'ETHANOL: NFT 75-101 -1982

Définition :

Une huile essentielle est dite miscible à V volume d'éthanol de titre alcoométrique déterminé, à la température de 20°C , lorsque le mélange de un volume de l'huile essentielle considérée avec V volumes de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre, jusqu'à un total de 20 volumes.

Principe

Addition graduelle à une prise d'essai de l'huile essentielle à la température de 20°C , d'éthanol de titre alcoométrique convenable. Se reporter à la norme correspondant à l'huile essentielle examinée.

Evaluation de la miscibilité.

Mode opératoire

Prise d'essai

Introduire dans l'éprouvette ou la fiole 1ml d'huile essentielle mesuré à l'aide de la pipette. Placer la fiole et son contenu dans le dispositif maintenu à une température de $20^{\circ}\text{C} + 0,2^{\circ}\text{C}$.

Miscibilité

Ajouter, à l'aide de la burette un mélange hydro-éthanolique de titre alcoométrique déterminé préalablement amené à une température de $20^{\circ}\text{C} + 0,2^{\circ}\text{C}$, par fractions de 0,1ml, jusqu'à miscibilité complète, en agitant énergiquement après chaque addition. Lorsque le mélange est parfaitement limpide, noter le volume du mélange hydro-éthanolique utilisé.

DETERMINATION DE L'INDICE D'ACIDE : NF T 75-103 1982 /ISO

Définition :

L'Indice d'acide est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium nécessaires à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle .

Mode opératoire :

Prise d'essai : 2g + 0,05 g d'huile essentielle. Ajouter 5 ml d'éthanol à 95 % puis 5 gouttes de solution de phénolphaléine ou rouge de phénol.

Neutraliser le mélange avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (0,1N)

$$\text{Indice d'acide} = \frac{5,61V}{m}$$

où ,

V correspond au volume en ml, de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée pour neutraliser le mélange;

m correspond à la masse en g de la prise d'essai.

NOTE : Si le volume d'hydroxyde de potassium est inférieur à 3ml, recommencer l'essai sur une prise d'essai plus importante.

INDICE D'ESTER AVANT ACETYLATION: NF T 75-104 -1982 /ISO 709

Définition:

L'Indice d'ester correspond au nombre de mg d'hydroxyde de potassium nécessaires à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1 g d'huiles essentielle

Principe :

Hydrolyse des esters présents dans l'huile essentielle par chauffage, dans des conditions définies en présence d'une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium (0,5N) et dosage de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique.

Mode opératoire:**Prise d'essai :**

Prendre 2g + 0,05g varie selon l'indice d'ester attendu pour une HE déterminée.

Nous donnons ci-dessous les valeurs des prises d'essai en fonction de la valeur de l'Indice d'Ester attendue:

Indice d'ester attendu

< 50-----	4,5 - 5,0
50 - 70 -----	3,5 - 4,0
70 - 90 -----	2,5 - 3,0
90 - 110 -----	2,0 - 2,5
110 - 140 -----	1,5 - 2,0
140 - 180 -----	1,2 - 1,5
180 - 220 -----	1,0 - 1,2

Il est nécessaire de neutraliser les acides libres éventuellement présents dans l'HE avant d'effectuer la saponification.:

Neutralisation des acides libres:

Ajouter à la prise d'essai de l'huile essentielle, 5 ml d'éthanol à 95°. Neutraliser les acides libres éventuellement présents par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium 0,1N en présence de 0,5 ml de phénolphtaléine. Noter le volume V' d'hydroxyde de potassium utilisé. Une fois la solution neutralisée ajouter à l'aide d'une burette, 25 ml de la solution d'hydroxyde de potassium et des fragments de pierre ponce ou de porcelaine. Porter à reflux sur un bain d'eau bouillante et l'y laisser pendant une durée précisée dans la monographie de l'huile essentielle examinée.

Laisser refroidir .

Ajouter à la solution refroidie ,20 ml d'eau puis 5 gouttes de la solution de phénolphtaléine ou de la solution de rouge de phénol. Titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique (0,5 N). Noter le volume V nécessaire à la neutralisation.

Parallèlement, effectuer un essai à blanc, dans les mêmes conditions et en utilisant les mêmes réactifs, sans addition d'huile essentielle. Noter le volume V₀ .

$$\text{Indice d'ester} = \frac{28,05(V_0 - V_1) - IA}{m}$$

où ,

-V₀ correspond au Volume en ml de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc (sans l'huile essentielle)

-V₁ correspond au volume en ml de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour la détermination

-V' correspond au volume d'hydroxyde de potassium utilisé pour neutraliser les acides libres présents dans l'huile essentielle.

-m correspond à la masse en g, de la prise d'essai

-IA correspond à la valeur de l'indice d'acide = $\frac{5,61V'}{m}$

EVALUATION DE LA TENEUR EN ALCOOLS LIBRES ET EN ALCOOLS TOTAUX PAR DETERMINATION DE L'INDICE D'ESTER AVANT ET APRES ACETYLATION :NF T 75-123 -1982 / ISO 1241 -

Il est nécessaire de déterminer au préalable l'indice d'ester avant acétylation conformément aux spécification de la norme NF T 75 -104.

Définition :

Indice d'ester après acétylation est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g de l'huile essentielle.

Principe :

Acétylation des alcools présents dans l'huile essentielle par l'anhydrique acétique en présence d'acétate de sodium. Isolement et séchage de l'huile essentielle acétylée, et détermination de son indice d'ester selon la norme NF T 75-104.

Evaluation de la teneur en alcools libres et en alcools combinés et en alcools totaux au moyen des indices d'ester avant et après acétylation.

Mode opératoire:

Acétylation :

Dans un ballon, mélanger environ 10 ml d'huile essentielle, avec 10 ml d'anhydrique acétique et 2 g d'acétate de sodium anhydre.

Ajouter quelques fragments de pierre ponce ou de porcelaine et adapter le réfrigérant à reflux. Chauffer le ballon ou moyen du dispositif de chauffage et maintenir le liquide à ébullition modérée pendant 2 heures ou pendant le temps indiqué dans la norme relative à l'huile d'essentielle examinée.

A la fin de cette période, laisser refroidir le liquide, ajouter 50ml d'eau et chauffer sur le bain d'eau (reglé entre 40°C et 50°C) pendant 15mn, en agitant fréquemment.

Refroidir à la température ambiante.

Démonter le tube à reflux et verser le liquide dans l'ampoule à décanter.

Laver le ballon à deux reprises avec 10ml d'eau chaque fois, en recueillant les eaux de lavage dans l'ampoule à décanter.

Laisser décanter jusqu'à séparation complète des phases, puis soutirer et rejeter la phase aqueuse.

Laver successivement la phase huileuse par agitation avec :

- a) 50 ml de la solution de chlorure de sodium
- b) 50 ml de la solution de carbonate de sodium/chlorure de sodium
- c) 50 ml de a solution de chlorure de sodium, 20 ml d'eau.

Si les lavages ont été correctement effectués, l'eau doit être neutre au papier de tournesol. Soutirer la phase huileuse en la recueillant dans une fiole sèche et agiter plusieurs fois pendant 15 mn avec au moins 3g de sulfate de magnésium ou de sodium.

Filtrer .

Renouveler le contact et l'agitation avec des quantités supplémentaires de 3 g de sulfate de magnésium ou de sodium jusqu'à ce que l'huile essentielle acétylée soit exempte d'eau.

Détermination de l'indice d'ester après acétylation : ISO -1241 (1980)

Utiliser une prise d'essai d'huile essentielle en se reportant au tableau ci-dessous:

IE après acétylation attendu

< 50 -----	4,5 - 5,0
50 - 70 -----	3,5 - 4,0
70 - 90 -----	2,5 - 3,0
90 - 110 -----	2,0 - 2,5
110 - 140 -----	1,5 - 2,0
140 - 180 -----	1,2 - 1,5
180 - 220 -----	1,0 - 1,2
220 - 280 -----	0,9 - 1,0

Déterminer l'indice d'ester de l'huile essentielle acétylée selon les spécifications de la norme NF T 75-104 avec une prise d'essai pesée à 0,5 mg près, d'huile acétylée, mais en utilisant 50 ml de solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium.(0,5N)

$$IE_2 = \frac{28,05(V'_0 - V'_1)}{m}$$

où ,

V'_0 correspond au volume d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc;

V'_1 correspond au volume d'acide chlorhydrique utilisé pour la neutralisation après acétylation.

La teneur en alcools libres, exprimée en pourcentage en masse, par rapport à un alcool convenu, est donnée par la formule :

$$\frac{M (IE_2 - IE_1)}{561 - 0,42 \times IE_2}$$

où,

- M correspond à la masse moléculaire de l'alcool de référence indiqué dans la monographie de l'huile essentielle considérée et qui est utilisé pour exprimer conventionnellement le résultat;

- IE_1 correspond à l'Indice d'ester avant acétylation;

- IE_2 correspond à l'indice d'ester après acétylation

La teneur en alcools combinés, exprimée en pourcentage en masse, par rapport à un alcool convenu est donnée par :

$$\frac{M, \chi E_1}{561}$$

La teneur en alcools totaux, exprimée en pourcentage en masse, par rapport à un alcool convenu, est égal à la somme des deux % précédents.

INDICE DE PHENOL -TENEUR EN PHENOLS :NF T 75-116 - 1994 / ISO 1272 - 1

Définition

Méthode d'évaluation du % en volume de phénols libres présents dans les huiles essentielles.

Principe :

Transformation, en phénates alcalins solubles en phase aqueuse, des phénols contenus dans un volume connu d'huile essentielle.

Détermination du volume de la partie de l'huile essentielle non transformée en phénates.

Mode opératoire:

Traitement préalable de l'huile essentielle::

Afin d'éviter la formation d'une intercouche émulsionnée au moment de la détermination, traiter préalablement l'huile essentielle par l'acide tartrique comme suit : A un volume d'huile essentielle supérieur à 10ml, ajouter de l'acide tartrique à raison de 0,02g par ml d'huile essentielle.

Agiter vigoureusement puis, sans filtrer, procéder au séchage par le sulfate de magnésium ou sulfate de sodium anhydre (en quantité telle qu'il représente 15 % environ de la masse de l'huile essentielle. Agiter de temps en temps et vigoureusement.

Filtrer ensuite l'échantillon.

Détermination:

Prélever à la pipette 10 ml de l'huile essentielle et les verser dans la fiole à aldéhydes, après y avoir introduit approximativement 75 ml de la solution d'hydroxyde de potassium 0,5N.

Agiter le mélange 6 fois à des intervalles de 5mn environ, à la température ambiante.

Par une nouvelle addition de solution d'hydroxyde de potassium amener dans la zone graduée du col de la fiole la partie d'huile essentielle non transformée en phénates alcalins solubles dans la phase aqueuse.

Détacher soigneusement les gouttellettes d'huile essentielle adhérant aux parois en imprégnant des mouvements de rotation à la fiole et en la tapotant doucement.

Laisser reposer quelques heures et lire le volume de la partie d'huile essentielle non transformée, si celle-ci est entièrement rassemblée dans le col.

Dans le cas où l'on constate une émulsion, ajouter 2ml de xylène à l'aide de la pipette agiter la couche émulsionnée à l'aide d'un agitateur capillaire et laisser reposer.

Si l'émulsion a disparu, lire le volume de l'huile essentielle non transformée.

Si, cependant, l'émulsion persiste, recommencer l'essai en ajoutant dès le début, 2 ml de xylène à la prise d'essai.

La teneur en phénols, exprimée :

$$\% \text{ Phenol} = 10 (10 - V)$$

V : volume en ml de la partie d'huile essentielle non transformée.

Si l'on a ajouté 2 ml de xylène, les déduire du volume V.

Exprimer les résultats en les arrondissant au nombre entier le plus proche.

DETERMINATION DE L'INDICE DE CARBONYLE: NF T 75-126 - 1984

Définition

L'indice de carbonyle d'une huile essentielle est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium par gramme d'huile essentielle, nécessaires à la neutralisation d'acide chlorhydrique libéré dans la réaction d'oximation avec le chlorure d'hydroxylammonium.

Principe

Transformation des constituants carbonylés en oximes par réaction avec le chlorure d'hydroxylammonium.

Titration de l'acide chlorhydrique libéré dans cette réaction avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.

Mode opératoire:

Prise d'essai

Peser à 1 mg près, dans un récipient, une masse m de l'échantillon comme spécifié dans la norme relative à l'huile essentielle considérée en se reportant au tableau ci-dessous:

<u>Indice de carbonyle attendu</u>	
< 50-----	9,0 - 10,0
50 - 100 -----	5,0 - 6,0
100 - 200 -----	2,5 - 3,0
200 - 300 -----	1,7 - 2,0
300 - 400 -----	1,2 - 1,4
400 - 500 -----	1,0 - 1,1
> 500 -----	0,80

Préparation des réactifs:

-Ethanol à 95%

-Acide chlorhydrique 0,5N en solution aqueuse

-Hydroxyde de potassium 0,5N en solution éthanolique. Ajuster le titre en dosant la solution d'hydroxyde de potassium par de l'acide chlorhydrique 0,5N (normadose)

-Solution de chlorure d'hydroxylammonium: Préparée en dissolvant 5 g. de chlorure d'hydroxylammonium dans 95 ml. d'éthanol à 95°. Additionner 0,5ml. de bleu de bromophénol. Neutraliser ensuite par la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium 0,5N. jusqu'à virage de l'indicateur (vert ou rouge).

Indicateur :Bleu de bromophénol. Dissoudre en chauffant 0,2g d'indicateur dans 3ml. d'une solution 0,1N d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol et dans 10ml d'éthanol.

Ajuster le volume à 100ml. avec de l'éthanol après refroidissement.

Détermination par Titrage colorimétrique

Introduire au moyen d'un éprouvette de 25 ml de la solution de chlorure d'hydroxylammonium dans le récipient contenant la prise d'essai, et laisser reposer le temps spécifié dans la norme relative à l'huile essentielle.

Titre avec la solution d'hydroxyde de potassium à ce que la couleur soit identique à celle d'un volume égal de réactif (bleu de Br.) jusqu'à obtenir une couleur bleu-vert de l'indicateur.

Poursuivre l'addition de la solution d'hydroxyde de potassium jusqu'à obtention d'une coloration bleue persistant pendant 5mn.

L'indice de carbonyle

L'indice de carbonyle exprimé en mg d'hydroxyde de potassium par gramme d'huile essentielle :

$$I_{\infty} = \frac{5,61 \times V \times C}{m}$$

C : concentration exacte en moles par litre, de la solution d'hydroxyde de potassium.

m : masse en gramme de la prise d'essai

V : volume en ml, de la solution d'hydroxyde de potassium,

La teneur en constituants carbonylés, exprimée en % en masse, de l'aldéhyde ou de la cétone spécifiée, est :

$$\frac{M_r \times V \times C}{10m}$$

M_r : masse moléculaire de la cétone considérée.

C : masse moléculaire relative à l'aldéhyde ou de la cétone spécifiée dans la norme relative à l'huile essentielle.

Exprimer les résultats avec deux chiffres significatifs

**VERIFICATION DE LA QUALITE
DES HUILES ESSENTIELLES DES COMORES:
YLANG-YLANG, GIROFLE, BASILIC, COMBAVA**

**SPECIFICATIONS POUR L'HUILE ESSENTIELLE D'YLANG-
YLANG**

Les normes NFT 75 - 246 (mai 1985), ISO 3063 donnent les indications suivantes :

- L'huile essentielle est obtenue par distillation à la vapeur d'eau des fleurs fraîches de *Cananga odorata*.

Le produit volatil n'est pas généralement recueilli sous la forme d'HE entière, mais en quatre fractions appelées respectivement Extra, Première, Deuxième et Troisième, qui sont habituellement trouvées dans le commerce.

Tableau 1 : Spécifications de l'essence d'Ylang Ylang

Spécifications \ Fraction	EXTRA	PREMIERE	DEUXIEME	TROISIEME
Aspect	Liquide			
Couleur	Jaune pâle à jaune foncé			
Odeur	caractéristique, fleurie, jasminée			
densité relative 20°C				
Madagascar	0,950- 0,965	0,933-0, 945	0,923-0,929	0,906-0,921
Comores	0,956-0,976	0,940-0,950	0,926-0,936	0,906-0,921
ind. de refraction				
Madagascar	1,5010-1,5090	1,5000-1,5100	1, 5050 -1,5110	1,5060-1, 5130
Comores	1,4980-1,5060	1,5000-1,5090	1,5050 -1, 5100	1,5070-1, 5110
pouvoir rotatoire 20°				
Madagascar	- 45° à - 36°	- 44° à - 28°	- 55° à - 40°	- 63° à - 49°
Comores	- 40° à - 25°	- 46° à - 38°	- 55° à - 42°	- 63° à - 49°
indice d'acide				
Madagascar	inférieur à 3			
Comores	inférieur à 3			
indice d'ester				
Madagascar	125 - 160	90 - 120	65 - 80	38 - 58
Comores	145 - 185	110 - 140	75 - 100	45 - 70

Pour la composition chimique, les constituants caractéristiques de l'huile essentielle d'Ylang Ylang ainsi que leurs teneurs ne sont pas encore normalisés. Des études ont été menées pour établir des corrélations entre les compositions chimiques, les propriétés physico-chimiques et les grades de l'huile essentielle. Ces études ont permis d'obtenir les résultats suivants:

Tableau 2 : Variations des constituants chimiques de l'essence d'Ylang Ylang suivant les grades :

GRADE	PRODUITS OXYGENES		SESQUITERPENES
	I II III ↘ ↘ ↘	I II III → →	I II III ↗ ↗
CONSTITUANTS	p-méthyl anisole (6-2-1)	acétate de farnésyle (2-3-2)	β-caryophyllène (7-14-17)
	linalol (21-7-3)	benzoate de benzyle (8-8, 5-8)	α humulène + ε-cadinène (3-4-5)
	benzoate de méthyle (4-1-0, 5)	salicylate de benzyle (1-2, 2-2)	germacrène D (7-11-21)
	acétate de benzyle (6-1, 5-0, 7)		
	acétate de géranyle (8-5-3)		γ cadinène + farnésène (3-7-12)

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - AFNOR . Recueil des normes françaises. Huiles essentielles, 3è éd, AFNOR Paris 1989, 612p.
- 2 - E. GAYDOU, R. RANDRIAMIHARISOA, JP BIANCHINI. Composition of the Essential Oil of Ylang Ylang (*Cananga odorata* H) from Madagascar. J. Agric Food Chemistry, vol 34, n°3, 1986, pp 481 - 487
- 3 - E. GAYDOU, R. RANDRIAMIHARISOA - JP BIANCHINI, JR LINAS. Multidimensional Data Analysis of Essential Oils. Applications to Ylang Ylang (*Cananga Odorata* H) Grades classification. Journal of Agricultural and Food chemistry, 1988, pp 574w - 579.

SPECIFICATIONS "AFNOR" DES HUILES ESSENTIELLES DE GIROFLE

Définitions

Ce sont des huiles essentielles obtenues par distillation à la vapeur d'eau, des boutons floraux desséchés (clous) ou des griffes ou des feuilles de girofle (*Eugenia caryophyllata*) de la famille des Myrtacées.

Spécifications	CLOUS NFT 75-207 Fev 91	GRIFFES NFT 75-209 Fev 91	FEUILLES NFT 75-208 Fev 91
<u>Caractères organoleptiques</u>			
- Aspect	Liquide mobile, limpide, parfois légèrement visqueux		
- Couleur	Jaune à brun clair		
- Odeur	Epicée, caractéristique de l'eugénol		
<u>Caractéristiques physico-</u>			
- densité relative à 20°C	1,042 - 1,063	1,041 - 1,059	1,039-1,049
- Indice de réfraction à 20°C	1,5280-1,5380	1,5310-1,5360	1,5280-1,5350
- Pouvoir rotatoire à 20°C	-1°5 à 0°	-1° à +1°	
- Teneur en phénols	85 - 93	85 - 95	> à 82% sauf par l'Indonésie (78% V/V)
<u>- Profil chromatographique CPG</u>			
β caryophyllène	2 - 7	4 - 12	4 - 17
eugénol	75 - 87	83 - 92	80 - 92
acétate d'eugényl	8 - 15	0,5 - 4	0,2 - 4

SPECIFICATIONS INTERNATIONALES DE L'HUILE ESSENTIELLE DE BASILIC

Les variétés de l'huile essentielle de basilic (*Ocimum basilicum*) ainsi que leurs hybrides sont abondants, ce qui implique la difficulté du classement de leurs huiles essentielles. Généralement, elles sont classées en 4 catégories d'après leur origine géographique et leurs constituants chimiques.

Tableau 1 : Les différents types de basilic

TYPES	ORIGINE	CONSTITUANTS
TYPE EUROPEEN	France - Italie, Bulgarie, Hongrie, Egypte, Afrique du Nord, USA	Méthyl chavicol Linalol
TYPE REUNION ou METHYL CHAVICOL	Réunion, Madagascar, Seychelles, Comores	Méthyl chavicol, Camphre
TYPE A CINNAMATE DE METHYLE	Guatemala, Inde, Haiti, Egypte	Méthyl chavicol, linalol Cinnamate de méthyle
TYPE A EUGENOL	Java, URSS, Maroc, Egypte	Eugénol, Ocimène

Nous étudierons le cas de l'huile essentielle de type Réunion qui est cultivé dans les îles de l'Océan Indien.

Tableau 2 : Normes pour l'huile essentielle type REUNION

	AFNOR NFT 75357	EOA (USA)	CODEX(USA0
densité relative à 20°C	0,948 - 0,970	0,954 - 0,975	0,929 - 0,977
indice de refraction 20°C	1,5100 - 1,5200	1,512 - 1,519	1,512 - 1,519
pouvoir rotatoire 20°C - 1° à +2°	0° à +2°	-	-
solubilité dans l'alcool 80°	7 volumes	-	-
indice d'acide	-	inférieur à 1	inférieur à 1
indice d'ester après acétylation	-	24 - 25	

(-) non indiqué

2 - Composition chimique par analyse chromatographique en phase gazeuse

Seule la norme AFNOR (NFT 75 357 Mai 1989) donne les limites par les constituants caractéristiques de l'huile essentielle.

Tableau 3 : Teneur des constituants caractéristiques de l'huile essentielle de basilic type Réunion

CONSTITUANT	% CHROMATOGRAPHIQUE
cinéole 1,8	1 - 3,5
trans B - Ocimène	0,9 - 2,8
camphre	0,15 - 0,50
linalol	0,5 - 3
terpinène - ol4	0,2 - 0,6
Méthyl chavicol	75 - 85
Méthyl eugenol	0,3 - 2,5
eugénol	0,3 - 1,5

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - GUENTHER (E) - The essential oils. Individual essential oils of the plant families Rutaceae and Labiateae. Vol III, New York, D Van Nostrand Co - 1949 - 777p.
- 2 - MASADA (Y) - Analysis of essential oils by gas chromatography and Mass spectrometry. New York, John Wiley Inc. , 1976, 334p.

3 - AFNOR. Recueil de normes françaises. Huiles Essentielles 3è édition. AFNOR, Paris, 1989, 610p.

CONTROLE DE QUALITE DE LA VANILLE (NF V 32 085.)

Dans le commerce il y a 4 présentations de la vanille : les gousses, l'extrait naturel de vanille, l'arôme naturel et l'arôme artificiel.

En ce qui concerne les gousses, l'industrie alimentaire ne les utilise pratiquement jamais pour des raisons bactériologiques et technologiques. Mais elle peut préparer elle-même des extraits dont elle assure la qualité.

- L'extrait naturel de vanille est un produit aromatique obtenu par un procédé physique à partir de la gousse à l'exclusion de tout autre produit végétal ou animal. Il est caractérisé par l'équivalence gousse c'est-à-dire la quantité de gousse mise en œuvre pour 1kg d'extrait.

- L'arôme naturel est composé d'extrait naturel de vanille et d'un certain nombre d'extraits naturels.

- L'arôme artificiel correspond à un arôme naturel auquel on ajoute un peu de vanilline de synthèse ou d'autres produits de synthèse.

Comme nous le savons, le constituant aromatique principal de la vanille est la vanilline. Il est un peu regrettable, pour nous producteurs de vanille de constater qu'actuellement la vanille est très concurrencée par son équivalent synthétique, la vanilline de synthèse, qui est produit par tonnes. A titre indicatif, la vanille naturelle représente aujourd'hui 1500t/an (soit 30t de vanille naturelle) et la vanilline de synthèse 12 000t/an. Par ailleurs, en dehors de la France et des USA, le mot vanille n'est protégé nulle part et la vanilline de synthèse peut en "usurper" le nom.

Signalons aussi que la fraude existe presque depuis les débuts de la culture de la vanille : vente sous la dénomination vanille, des gousses ayant subi un épuisement ou des gousses dont on a simulé le givrage. La vente de flacons de vanille à base d'éthylvanilline est aussi une pratique assez courante. Il s'avère donc important et opportun d'établir une réglementation précise et surtout honnête, pour la commercialisation de la vanille. On a donc défini des critères de qualité pour les gousses de vanille et pour les extraits de vanille. Des banques de données sur les gousses de vanille ont été élaborées et des méthodes d'analysis ont été mises au point pour éviter et rechercher les pratiques frauduleuses.

Les contrôles effectués généralement sont les suivants : détermination de l'humidité, dosage de la vanilline, contrôles organoleptiques et l'analyse isotopique du carbone ¹³C (mais cette dernière n'est pas encore appliquée à Madagascar, faute de matériel).

Mais on peut également y ajouter le dosage des éléments minéraux comme le potassium, le dosage des sucres...

Avant d'entrer en détail dans les méthodes de contrôle, parlons d'abord de la composition chimique de la vanille et des différentes qualités de vanille.

La vanille est constituée d'une centaine de constituants appartenant à de grandes familles chimiques : glucides, lipides, protéines, matières aromatiques, sels minéraux, eau...

Les différentes qualités de vanille sont définies par la norme AFNOR V 32 085.

-extra	sans défaut
- 1ère qualité	gousses noires luisantes
- 2ème qualité	légers défauts (vanille galeuse ou excargotée)
- 3ème qualité	défauts plus marqués
- 4ème qualité	vanille fendue

La longueur des gousses varie par chaque catégorie et pour chaque pays d'origine. Elle est comprise entre 12 cm et 25 cm.

1 - Détermination de l'humidité

Elle se fait de 2 manières :

- par entraînement azéotrope suivant la norme NF V 03402 ou ISO 939 - Mai 1985/
- par mesure de la perte de poids au chauffage (étuve, microonde, IR)

Les résultats dépendent des pays producteurs.

2 - Détermination de la teneur en vanilline

L'équivalence gousse de la vanille est ramenée à la teneur en vanilline (2% en moyenne). Les résultats sont exprimés en taux de vanilline par rapport à l'extrait sec ou par rapport au produit tel quel. Les méthodes officielles sont différentes d'un pays à un autre.

On distingue :

2. 1 le dosage UV en milieu basique

C'est l'une des premières analyses de dosage de la vanilline dans les gousses.

2. 2 - La chromatographie en phase gazeuse CPG

est utilisée pour doser la vanilline mais aussi l'aldéhyde p - hydroxybenzoïque et d'autres constituants qui doivent être présents ou non dans les gousses (coumarine, éthyl vanilline).

2. 3 - La chromatographie liquide Haute performance CLHP

a été adoptée en France pour doser la vanilline, l'aldéhyde p-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide p-hydroxybenzoïque mais aussi de mettre en évidence la coumarine, l'éthyl vanilline et l'acétovanilline.

Les méthodes chromatographiques CCM, CPG, CLHP permettent de caractériser des substances comme la coumarine, le pipéronal ou l'éthyl vanilline, utilisées pour exhauster les caractéristiques organoleptiques des produits vanillés.

3 -Analyse isotopique

L'analyse isotopique du C13 sur la vanilline pour illustrer la ferveur des producteurs de vanille naturelle à combattre les manœuvres frauduleuses. La méthode consiste à mesurer le rapport entre les 2 isotopes stables du carbone qui sont l'isotope 12 et l'isotope 13. En effet, au cours de la synthèse chlorophyllienne, les végétaux assimilent une certaine

quantité de gaz carbonique de l'atmosphère. Les processus biochimique de cette synthèse enduise une discrimination des 2 molécules de CO₂ (au niveau du C) ; le gaz carbonique avec un C12 et CO₂ avec un C13. Par spectrométrie de masse, on arrive à différencier parfaitement les vanillines synthétiques de la vanilline de synthèse. Cette mesure paraissant donc l'arme actuellement absolue. Mais actuellement les fraudeurs sont à même de contourner cette méthode de détection de C13 en mélangeant la vanilline synthétique avec une quantité bien déterminée de vanilline marquée de telle sorte que le rapport C12/C13 se rapproche de la vanilline naturelle. Aussi tout le monde, fraudeurs et contrôleurs fait assaut d'imagination et de technicité sur toute la chaîne de production.

En résumé, nous avons les limites suivantes selon le pays d'origine.

	REUNION	MADAGASCAR	COMORES
% eau	23-25	22-26	25-30
% vanilline soit	1, 8 - 3, 3	1, 6-2, 6	1, 4-2, 5
en moyenne	2, 3	2, 15	2, 05

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - B. FAYET - C. TISSE - M. GUERERE - J. ESTIENNE - Nouveaux critères analytiques dans l'étude des gousses de vanille - Analysis, Vol 15 N° 5 pp 217 - 226 1987
- 2 - Parfums cosmétiques Arômes 1er congrès international de la vanille un produit sensible N° 78 1987.

Le Combava (*Citrus hystrix*) est un Citrus assez rare dont l'aire de répartition recouvre plusieurs îles de l'Océan Indien.

Nous distinguons l'essence de zeste et l'essence de petit grain de Combava.

Définition :

- L'huile essentielle de zeste est obtenue par expression à froid ou par distillation à la vapeur d'eau d'écorces de fruit de Combava.
- L'huile essentielle de petit grain est obtenue par distillation à la vapeur d'eau de jeunes rameaux portant des fruits en voie de développement de combava.

L'essence de combava se distingue par l'originalité de son odeur : caractéristique, fraîche, agréable et puissante mais actuellement, elle n'est pas encore très utilisée en parfumerie. On pourrait élargir son utilisation en transformant le citronellal, constituant majeur de l'huile essentielle de petit grain, en citronellole dont la note rosée est jugée supérieure à celle du citronellole de synthèse.

Nous tenons à signaler que l'essence de combava n'est pas encore répertoriée dans les normes.

Les résultats que nous donnons ci-après ont été recueillis à partir des travaux de recherches.

	PETIT GRAIN		ZESTE	
	MADAGASCAR	REUNION	MADAGASCAR	REUNION
<u>Caractéristiques organo-leptiques</u>				
Aspect	Liquide, limpide		Liquide, limpide	
Couleur	Incolore à jaune pâle		jaune pâle	
Odeur	Caractéristique, fraîche		Caractéristique, citronée	
<u>Caractéristiques Physico-chimiques</u>				
Densité à 20°C	0,861 - 0,885	0,859	0,888	
Indice refraction	1,4514 - 1,4554	1,4615	1,4736	
Pouvoir rotatoire	-11°85 A -9°1	-4°2	+40°25	
indice de carbonyle exprimé en citronellal	71,3			
<u>Composition chimique(CPG)%</u>				
pinène	0,4 - 0,5		2,7 - 3,2	
pinène	0,5 - 1,5		35,9 - 42,2	15 - 25
sabinène	2,2 - 4,8		22,8 - 25,9	12 - 18
limonène	0,5	20,3		
L citronellal	45,5 - 83,6	85 - 90	8,6 - 11	22 - 33
TOTAL				
HYDROCARBURES	10		80	
PRODUITS OXYGENES	90		20	

Comparée aux autres citrus, l'essence de zeste de combava se caractérise par une forte teneur en b pinène, en sabinène.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - C. MOREUIL, R. HUET : Le combava, culture et débouchée à Madagascar;Fruits, vol 28
- N°10 pp 703 - 708 1973
- 2 - S. ARCTANDER, Perfume and Flavor materials of natural origin Elisabeth NJ, USA p 188 1960.
- 3 - B. AUBERT, R. VOGEL Premiers résultats de prémunion contre la Tristeza sur combava - Fruits vol 36 n° 6 pp 351 - 359 1981
- 4 - DEMARNE - ROQUE - PERIBATTESTI - DUBOS WAJDA Huile essentielle de Citrus hystrix A de Candolle cultivé à la Réunion. Parfums Cosmétiques Arômes n° 95, pp 107 - 108 1990

**ESSAIS DE CONTROLE DE QUALITE DES HUILE ESSENTIELLE S
PRODUITES AUX ILES COMORES**

Origine: COMORES/S

<u>HEI Qualité</u>	<u>Densité</u>	<u>Indice de réfraction</u>	<u>Pouvoir rotatoire</u>	<u>Solubilité dans Ethanol</u>	<u>Indice d'Acide</u>	<u>Indice d'ester</u>
YLANG EXTRA	0,967; 0,967; 0,969	1,4948; 1,4950; 1,5028; 1,5028	-42° ; -45°	Insoluble V/V	1,41; 1,39; 1,39	117; 140; 148
YLANG PREMIERE	0,955; 0,957; 0,960	1,4962; 1,4963; 1,5028	-45°	Insoluble V/V	1,12; 1,20	131; 129
YLANG TROISIEME	0,913; 0,917	1,5034; 1,5054; 1,5004	-54°; -58°; -62°	Insoluble V/V	0,18; 0,28; 0,30	44; 63; 63
GIROFLE Clous	1,060; 1,059; 1,060	1,5345; 1,5341; 1,5327; 1,5327;	0,5° ; 0,9°		<u>Indice de Phenol</u> 93; 98	
BASILIC	0,937; 0,970	1,5110; 1,5110; 1,511; 1,590	0°; -1,20°	Soluble dans 7 vol. Ethanol à 80°	Non réalisé	IE après acétylation non réalisé
COMBAVA	0,873; 0,875	1,4448; 1,4436; 1,4446; 1,4508	nr	nr	nr	nr

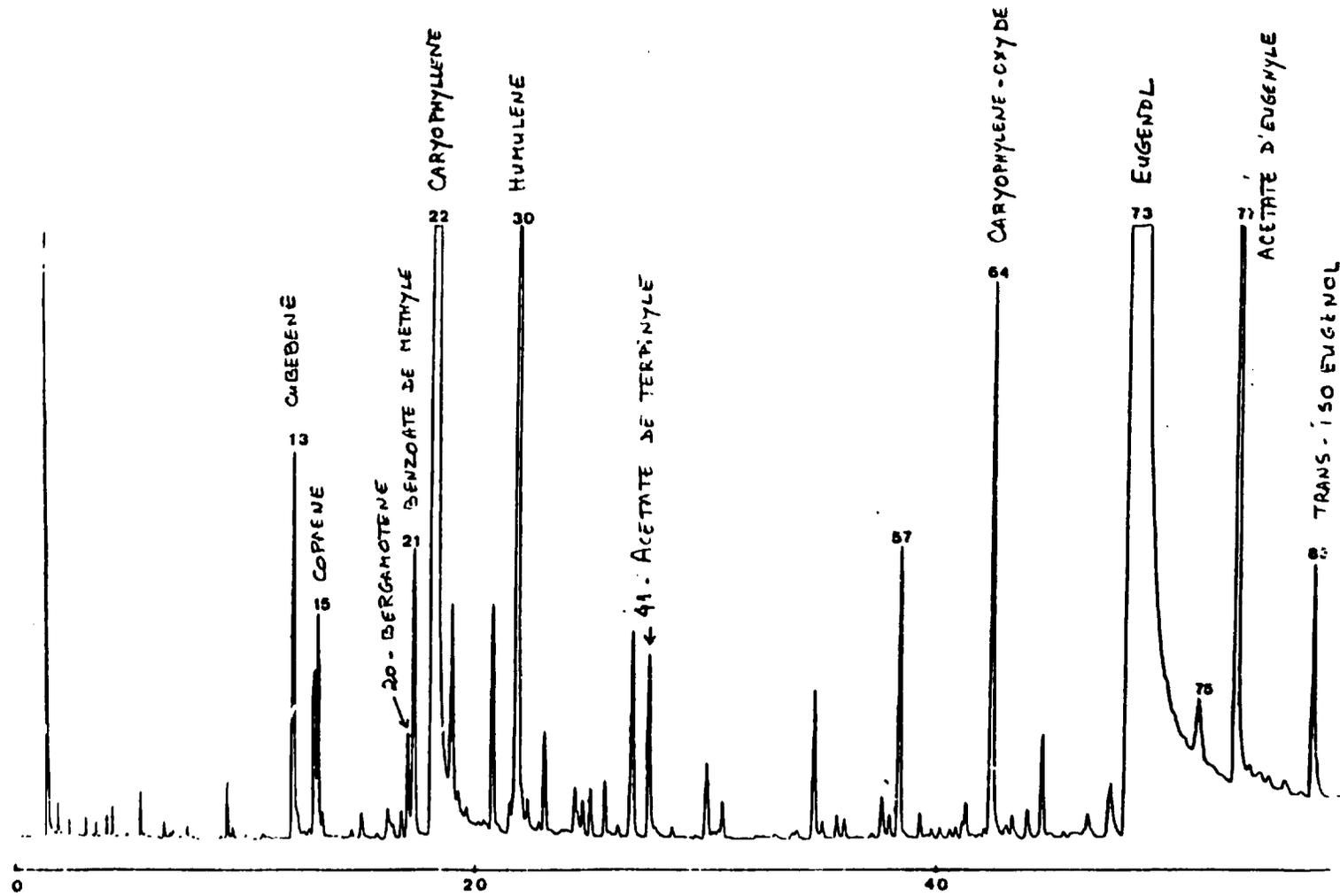
00-99710-01

1.74	α-pinène	
1.82	β-pinène	
1.17		
3.62	cinéole 1,8	
4.70	2-méthyl-3-butène 2-ol	4.47
4.98		
5.69		3.32
6.19		
7.59		8.15
		γ-méthylisole 8.85
9.35	α-copaène	10.25
11.91	benzaldéhyde	12.23
13.27		linalol
		14.39 β-caryophyllène 15.77
16.71		
17.07	α-humulène + E cadinène	16.85
	γ-sesquiolène + camphène	
19.48	germacrène B	
20.17		20.39
		acétate de benzyle
21.16		21.62
22.16	γ-cadinène + (-)-farnésène	22.58
		acétate de geranyl
		23.42
24.55		
25.74		
27.33	geraniol	27.96
32.36		32.47
33.38		33.66
37.16		
38.64		
	acétate de cinnamyle	
43.38		
44.56		
46.74	acétate de farnésyle	
49.94	farnésol	
		benzoate de benzyle
	salicylate de benzyle	

HUILE ESSENTIELLE D'YLANG-YLANG (Cananga odorata)

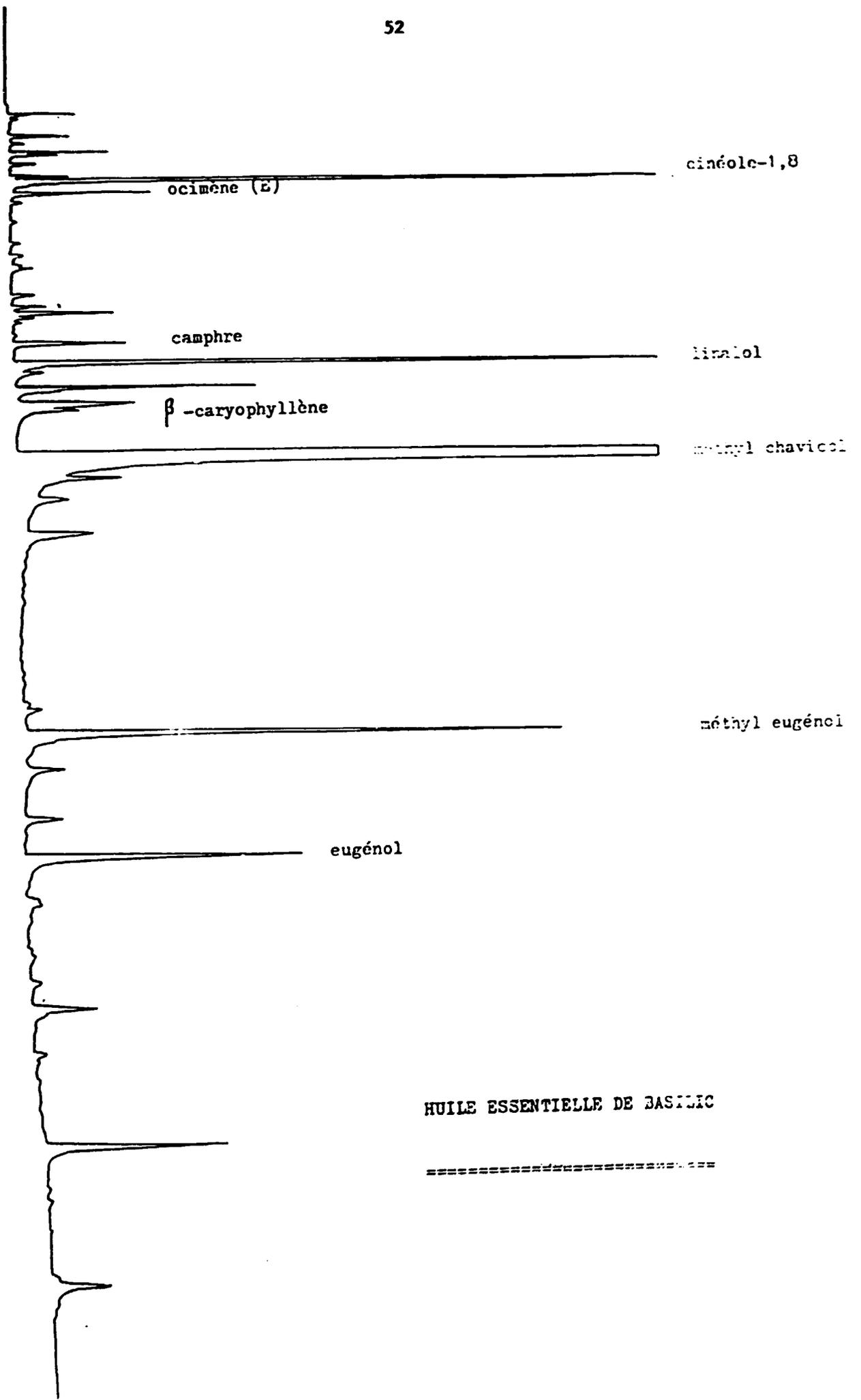
00-99710-01

HUILES ESSENTIELLES
GIROFLE (CLOUS)



Pour l'identification des pics : se referer au tableau

CHROMATOGRAMME SUR CARBOWAX 20M D'UNE ESSENCE DE CLOUS
DE GIROFLE



HUILE ESSENTIELLE DE BASILIC



RECUEIL DE NORMES OFFICIELLES AFNOR (EXTRAITS)

NORME FRANÇAISE	HUILES ESSENTIELLES RÈGLES GÉNÉRALES D'EMBALLAGE	NF T 75-001 Novembre 1956
-----------------	--	---

AVANT-PROPOS

Etant donné la nature spéciale des huiles essentielles, on reconnaît la nécessité d'en normaliser l'emballage.

OBJET DE LA NORME

La présente norme a pour objet d'établir les règles générales pour l'emballage des huiles essentielles; ces huiles devront être logées dans des récipients qui, par leur nature, n'altèrent pas le produit et le protègent.

EMBALLAGES

Les emballages à utiliser sont :

1 - Les emballages métalliques (fûts, tonnelets, bidons, estagnons) étanches, neufs ou à l'état neuf, propres et secs, n'ayant contenu aucun produit susceptible d'altérer la qualité, la composition et l'odeur de l'huile essentielle, constitués :

- pour les huiles essentielles alimentaires, uniquement par du fer parfaitement étamé (par exemple fer blanc) ou vitrifié, ou revêtu intérieurement de vernis-émail ou peinture-émail inattaquables, ou de l'aluminium;
- pour les autres huiles essentielles, par du fer parfaitement étamé (par exemple fer blanc), vitrifié, ou revêtu intérieurement de vernis-émail ou peinture-émail inattaquables, ou galvanisé, du cuivre étamé ou non, ou de l'aluminium.

Les fûts de capacité supérieure à 100 litres, doivent être munis de bandes de roulement ou de nervures estampées dans la masse. Leur fermeture sera réalisée par une bonde à vis, munie de joints étanches dont le bouchon et le collier percés d'un œillet permettront le passage d'un fil de fer pour la pose du plomb.

Pour les huiles essentielles à l'état solide ou pâteux, la fermeture des fûts sera réalisée par obturateur sertissable ou par fond détachable, avec système de fermeture plombable.

NF T 75-001

- 2 -

Les estagnons de 5, 10 ou 20 litres, munis d'une fermeture étanche cachetée ou plombée, seront emballés dans des caissettes en bois ou carton renforcé, cerclées de deux feuillards, susceptibles de supporter le voyage et contenant chacune :

8 estagnons ou bidons de 5 litres,
 ou 4 estagnons ou bidons de 10 litres,
 ou 2 estagnons ou bidons de 20 litres.

2 - Les récipients en verre, de toute capacité ou de toute forme, à la condition qu'ils soient protégés contre le bris et la lumière;

3 - Les récipients en matière plastique, ou enduits intérieurement de matière plastique, sous réserve qu'ils satisfassent à la définition ci-dessus et, en outre, s'il y a lieu, à des spécifications qui seraient fixées ultérieurement.

FERMETURES

Les fermetures peuvent être en liège, en verre ou en toute matière efficace.

Lorsqu'elles ne sont pas en verre, la surface en contact avec l'huile essentielle doit être en étain, en aluminium ou en matière plastique inerte pour le produit, à l'exception des bandes à vis, conformément à ce chapitre consacré aux récipients.

Les couvercles doivent être protégés par des sceaux de garantie.

NOTE :

Sont signalées les normes d'emballages métalliques :

NF H 31-301 - « Bidons cylindro-coniques ».

NF H 31-305 - « Boîtes et tambours à crochets mobiles ».

ainsi que la norme de fermeture :

NF H 31-351 - « Goulots à double obturateur ».

<p>NORME FRANÇAISE</p>	<p>HUILES ESSENTIELLES RÈGLES GÉNÉRALES D'ÉTIQUETAGE ET DE MARQUAGE DES RÉCIPIENTS</p>	<p>NF T 75-002 Novembre 1936</p>
<p style="text-align: center;">AVANT-PROPOS</p> <p>En vue de l'identification des huiles essentielles, on reconnaît la nécessité de normaliser l'étiquetage et le marquage des récipients destinés à leur emballage.</p> <p style="text-align: center;">OBJET DE LA NORME</p> <p>La présente norme a pour objet d'établir les règles générales d'étiquetage et de marquage des récipients destinés à l'emballage des huiles essentielles.</p> <p style="text-align: center;">DÉFINITIONS</p> <p>On entend par étiquetage d'un récipient un procédé qui en permet l'identification et la spécification, sans que l'étiquette fasse partie intégrante de ce récipient.</p> <p>On entend par marquage d'un récipient un procédé qui en permet l'identification et la spécification, la marque faisant partie intégrante de ce récipient.</p> <p>L'étiquetage et le marquage des récipients d'emballage des huiles essentielles doivent être faits de manière à identifier et à spécifier le produit, du remplissage à l'ouverture définitive.</p> <p style="text-align: center;">ÉTIQUETAGE</p> <p>Tous les récipients non marqués destinés à l'emballage d'huiles essentielles auront une étiquette portant les indications minima suivantes :</p> <p>a) nom et adresse du fabricant ou exportateur, b) désignation commerciale de l'huile essentielle et, éventuellement, de la partie de la plante dont elle est extraite, c) poids brut, tare et poids net.</p> <p>Les indications suivantes devront être portées sur la facture et le contrat pour les emballages d'origine :</p> <p>a) désignation latine la plus courante de cette plante, suivant les règles de la nomenclature botanique, comprenant notamment l'abréviation usuelle du nom de l'auteur du catalogue, b) procédé de fabrication utilisé, c) année et éventuellement, mois de fabrication, d) pourcentage du principal constituant, lorsque de ce dernier dépend la valeur commerciale de l'huile essentielle.</p>		
<p>Homologuée le 20 novembre 1936 L. O. de 15.1.37</p>		

Les étiquettes doivent être apposées au moyen d'un procédé qui en rende le remplacement ou l'utilisation ultérieure impossibles.

MARQUAGE

Quand les étiquettes, par manque de protection ou pour un autre motif quelconque, sont susceptibles d'être totalement ou partiellement détruites, on doit préférer le marquage des récipients destinés à l'emballage des huiles essentielles.

La marque doit être apposée sur le récipient par un procédé qui la rende durable et lisible; elle doit porter les indications minima suivantes :

- a) nom et adresse du fabricant ou exportateur ou marque commerciale,
- b) désignation commerciale de l'huile essentielle,
- c) poids brut, tare et poids net.

EXPRESSION DES RÉSULTATS

densité relative, d_{20}^{20} est donnée par la formule suivante (1) :

$$\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

est la masse, en grammes, du pycnomètre vide (7.2),

est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'eau (7.3),

est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'huile essentielle (7.4).

Arrondir le résultat avec trois décimales.

Remarque : Si l'on désire obtenir la masse volumique de l'huile essentielle, multiplier la densité relative par la masse volumique de l'eau à 20 °C, soit 0,998 23 g/ml.

PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat obtenu. Il doit, en outre, mentionner les détails opératoires non prévus dans la présente norme, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le résultat.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Édité par L'ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION (AFNOR) — Tour EUROPE CEDEX 7 92000 PARIS LA DÉFENSE — Tél. (1) 786-11-11

NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE	HUILES ESSENTIELLES DÉTERMINATION DE L'INDICE DE RÉFRACTION	NF T 75-112 Août 1977
<p style="text-align: center;">AVANT-PROPOS</p> <p style="text-align: center;"><i>La présente norme est en concordance technique avec la norme internationale ISO 280 — 1976, de l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO).</i></p> <p style="text-align: center;">1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION</p> <p style="text-align: center;">La présente norme a pour objet la description d'une méthode de détermination de l'indice de réfraction des huiles essentielles.</p> <p style="text-align: center;">2. RÉFÉRENCES</p> <p>NFT 75-003 — Huiles essentielles — Échantillonnage NFT 75-110 — Huiles essentielles — Préparation de l'échantillon en vue de l'analyse.</p> <p style="text-align: center;">3. DÉFINITION</p> <p>L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.</p> <p>La longueur d'onde spécifiée est (589,3 ± 0,3) nm, correspondant aux radiations D_1 et D_2 du spectre du sodium.</p> <p>La température de référence est 20 °C, sauf pour les huiles essentielles qui ne sont pas à l'état liquide à cette température. Dans ce cas, adopter les températures de 25 °C ou de 30 °C, suivant les points de fusion des huiles essentielles considérées.</p> <p style="text-align: center;">4. PRINCIPE</p> <p>Suivant le type d'appareil utilisé, soit mesurage direct de l'angle de réfraction, soit observation de la limite de réflexion totale, l'huile étant maintenue dans des conditions d'isotropisme et de transparence.</p>		
Homologuée par arrêté du 1977-07-29	La présente norme remplace la norme homologuée de même indice, d'août 1964	© AFNOR 1977 Droits de reproduction et de traduction réservés pour tous pays

6. APPAREILLAGE

6.1 RÉFRACTOMÈTRE

Utiliser un réfractomètre classique permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1,300 0 et 1,700 0, avec une précision de $\pm 0,000 2$.

Ajuster l'appareil de manière à donner, à la température de 20 °C, les indices de réfraction suivants :

- 1,333 0 pour l'eau distillée,
- 1,490 6 pour le p-cymène,
- 1,568 6 pour le benzoate de benzyle,
- 1,658 6 pour le bromo-1 naphthalène.

Les produits étalons doivent être purs, de qualité pour réfractométrie.

Certains appareils peuvent aussi être ajustés au moyen d'une lame de verre d'indice de réfraction connu, selon les indications fournies par le fabricant de l'appareil.

6.2 DISPOSITIF POUR LA STABILISATION DE LA TEMPÉRATURE

Utiliser n'importe quel dispositif, par exemple un thermostat, faisant circuler un courant d'eau dans le réfractomètre et permettant ainsi de maintenir l'appareil à la température convenable ($\pm 0,2$ °C).

6.3 SOURCE LUMINEUSE

Effectuer les déterminations à la lumière du sodium, ou, si le réfractomètre est muni d'un compensateur achromatique, à la lumière diffuse du jour ou d'une lampe électrique.

6. ÉCHANTILLONNAGE

Se reporter à la norme NFT 75-003.

7. MODE OPÉRATOIRE

7.1 PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON POUR ESSAI

Se reporter à la norme NFT 75-110.

7.2 DÉTERMINATION

Faire passer un courant d'eau dans le réfractomètre (6.1) afin de maintenir l'appareil à la température à laquelle les lectures doivent être effectuées (Voir chapitre 3.). Cette température ne doit pas différer de la température de référence de plus de $\pm 0,2$ °C, et doit être maintenue à $\pm 0,2$ °C.

Avant de le placer dans l'instrument, porter l'échantillon pour essai à une température à peu près égale à celle à laquelle la mesure doit être effectuée.

Attendre, pour effectuer la lecture, que la température soit stable.

8. EXPRESSION DES RÉSULTATS

8.1 CALCUL

L'indice de réfraction, n_D^t , à la température de référence t , est donné par la formule

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,000 4 (t' - t)$$

où

$n_D^{t'}$ est la valeur de la lecture, obtenue à la température t' , à laquelle a été effectuée la détermination.

Exprimer le résultat avec quatre décimales.

8.2 PRÉCISION

La précision de la détermination doit être de $\pm 0,000 2$.

9. PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat obtenu. Il en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente norme facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le résultat.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Éditée par l'Association Française de Normalisation (Afnor) — leur numéro est dans 7 92000 partie la dénomination — tel. (1) 778-13-28

NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE	HUILES ESSENTIELLES DÉTERMINATION DU POUVOIR ROTATOIRE	NF T 75-113 Juin 1982
-------------------------------	---	-----------------------------

AVANT-PROPOS

La présente norme est en concordance technique avec la norme internationale ISO 692-1981, de l'Organisation internationale de normalisation (ISO).

1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente norme spécifie une méthode de détermination du pouvoir rotatoire des huiles essentielles.

Dans le cas des huiles essentielles solides, partiellement solides, très visqueuses à la température ambiante, ou trop fortement colorées, il est nécessaire d'effectuer cette détermination sur une solution de l'huile essentielle.

2 RÉFÉRENCES

- NF T 75-003 Huiles essentielles — Règles générales d'échantillonnage.
- NF T 75-110 Huiles essentielles — Préparation de l'échantillon pour analyse.

3 DÉFINITIONS

Dans le cadre de la présente norme, les définitions suivantes sont applicables :

3.1 Pouvoir rotatoire (1) d'une huile essentielle α_D : Angle, exprimé en milliradians et/ou degré d'angle, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde 589,3 nm \pm 0,3 nm, correspondant aux raies D du sodium, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100 mm de l'huile essentielle dans des conditions déterminées de température. Si le mesurage est effectué sur une épaisseur différente, la valeur de α_D doit être ramené, par le calcul, à une épaisseur de 100 mm.

3.2 Pouvoir rotatoire d'une huile essentielle en solution (2) (dit « pouvoir rotatoire spécifique apparent ») $[\alpha]$: Quotient du pouvoir rotatoire α_D de la solution d'huile essentielle par la masse d'huile essentielle contenue dans l'unité de volume.

(1) En anglais, « optical rotation ».

(2) En anglais, « specific rotation ».

4 RÉACTIFS

Les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

4.1 Solvant (uniquement pour les huiles essentielles nécessitant une mise en solution).

Utiliser de préférence l'éthanol à 95 % (V/V) ou le tétrachlorure de carbone. Il est recommandé de vérifier que le solvant utilisé a un pouvoir rotatoire nul.

5 APPAREILLAGE

5.1 Polarimètre, de précision au moins égale à $\pm 0,5$ mrad ($\pm 0,03^\circ$), et réglé de façon à donner 0° et 180° avec l'eau.

L'appareil doit également être vérifié avec une lame de quartz de pouvoir rotatoire connu, ou à défaut, avec une solution aqueuse contenant 28,00 g de saccharose pur anhydre pour 100 ml. Le pouvoir rotatoire de cette solution doit être, à la température de 20 °C, de + 604 mrad (+ 34,82°) pour une épaisseur de 200 mm.

L'appareil doit être utilisé dans des conditions de stabilité, et à l'obscurité dans le cas des polarimètres non électroniques.

5.2 Source lumineuse

On peut utiliser un dispositif quelconque permettant d'obtenir une lumière de longueur d'onde 589,3 nm \pm 0,3 nm, de préférence une lampe à vapeur de sodium.

5.3 Tubes d'observation, en général de 100 mm \pm 0,5 mm de longueur.

Pour les échantillons de faible pouvoir rotatoire, peu colorés, on peut utiliser des tubes de 200 mm \pm 0,5 mm de longueur, et, pour les échantillons fortement colorés, des tubes de 50 mm \pm 0,05 mm ou de 10 mm \pm 0,05 mm de longueur et même moins longs si nécessaire.

5.3.1 Mesurage effectué à 20 °C ou à une autre température spécifiée

Utiliser les tubes d'observation à double paroi permettant une circulation d'eau à température convenable, et munis du thermomètre (5.4).

5.3.2 Mesurage à température ambiante

On peut utiliser n'importe quel type de tube, mais il est recommandé d'utiliser également le type de tube prévu en 5.3.1.

5.4 Thermomètre étalonné, gradué en cinquèmes ou en dixièmes de degré Celsius et permettant la détermination des températures au moins entre 10 °C et 30 °C.

5.5 Dispositif thermostabilisé, permettant de porter la température de l'échantillon à 20 °C \pm 0,2 °C, ou à toute autre température spécifiée.

6 ÉCHANTILLONNAGE

Se reporter à la norme NF T 75-003.

Dans le cas de la détermination du pouvoir rotatoire dit « spécifique apparent » (voir 8.2), effectuer la mise en solution de l'huile essentielle dans le solvant approprié (4.1), à la concentration indiquée dans la norme relative à l'huile essentielle analysée.

7.2 DÉTERMINATION

Allumer la source lumineuse et attendre jusqu'à l'ébranlement d'une bonne luminosité.

S'il y a lieu, amener au préalable l'échantillon pour essai (7.1) à 20 °C ± 1 °C ou à une autre température spécifiée (voir le note), et l'introduire dans le tube d'observation approprié (8.2), qui doit être à une température voisine. Mettre en marche la circulation d'eau thermostatée de façon à maintenir l'ensemble à la température spécifiée (± 0,2 °C) pendant la mesure.

Remplir le tube avec l'échantillon pour essai, en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée.

Placer le tube dans le polarimètre (5.1) et lire l'angle de rotation dextrogyre (+) ou lévogyre (-) de l'échantillon pour essai sur l'échelle de l'appareil.

Note : La détermination doit normalement être effectuée à 20 °C, sauf exceptions qui doivent être précisées dans les spécifications relatives à certaines huiles essentielles particulières.

Dans les pays tropicaux, on peut effectuer la détermination à 27 °C, mais on doit déterminer les facteurs de correction dans l'intervalle de 27 à 20 °C, car seule la température de 20 °C reste la température de référence dans les normes.

7.3 NOMBRE DE DÉTERMINATIONS

Effectuer au moins trois mesurages sur le même échantillon pour essai.

Prendre comme résultat la moyenne des valeurs obtenues pour trois mesurages, à condition qu'elles ne diffèrent pas entre elles de plus de 1,4 mrad (0,08°).

8 EXPRESSION DES RÉSULTATS

8.1 MODE DE CALCUL ET FORMULES

8.1.1 Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire, exprimé en milliradians et/ou degrés d'angle, est donné par la formule :

$$[\alpha] = \frac{A}{L} \times 100$$

où :

A est la valeur de l'angle de rotation (voir 7.3), exprimée en milliradians et/ou degrés d'angle.

L est la longueur du tube utilisé, exprimée en millimètres.

Signaler les pouvoirs rotatoires dextrogyres par le signe positif (+) et les pouvoirs rotatoires lévogyres par le signe négatif (-).

Note : Lorsqu'on ne dispose pas d'un appareillage avec tubes d'observation à double paroi pour circulation d'eau, il est nécessaire d'appliquer des facteurs de correction appropriés aux huiles essentielles analysées (par exemple pour les huiles essentielles des agrumes et pour certaines huiles essentielles dont les facteurs de correction sont connus).

Ces facteurs de correction doivent être indiqués dans les spécifications relatives aux huiles essentielles considérées.

8.1.2 Pouvoir rotatoire dit « spécifique apparent »

Le pouvoir rotatoire dit « spécifique apparent », exprimé en milliradians et/ou degrés d'angle, est donné par la formule :

$$[\alpha] = \frac{a \cdot b}{c}$$

où :

a b est le pouvoir rotatoire de la solution d'huile essentielle soluté selon 8.1.1.

c est la concentration de la solution d'huile essentielle, exprimée en grammes d'huile essentielle par millilitre de solution.

8.2 PRÉCISION

La précision du mesurage est de ± 3 mrad (± 0,17°).

9 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat obtenu. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires, et notamment si la détermination a été effectuée sur l'huile essentielle ou sur une solution, en spécifiant la nature du solvant et la concentration de l'huile essentielle, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le résultat.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE	HUILES ESSENTIELLES DÉTERMINATION DE L'INDICE D'ACIDE	NF T 75-103 Juin 1982
<p>AVANT-PROPOS</p> <p><i>La présente norme est en concordance technique avec la norme internationale ISO 1242-1980, de l'Organisation internationale de normalisation (ISO).</i></p> <p>1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION</p> <p>La présente norme spécifie une méthode de détermination de l'indice d'acide des huiles essentielles.</p> <p>Cette méthode n'est pas applicable aux huiles essentielles contenant des lactones en proportions notables.</p> <p>2 RÉFÉRENCES</p> <p>NF T 75-003 Huiles essentielles — Règles générales pour l'échantillonnage. NF T 75-104 Huiles essentielles — Détermination de la l'indice d'ester. NF T 75-110 Huiles essentielles — Préparation de l'échantillon en vue de l'analyse.</p> <p>3 DÉFINITIONS</p> <p>L'indice d'acide, I.A., est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g d'huile essentielle.</p> <p>4 PRINCIPE</p> <p>Neutralisation ^{des acides} des acides libres par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titrée.</p> <p>5 RÉACTIFS</p> <p>Au cours de l'analyse, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.</p> <p>5.1 Éthanol, à 95 % (V/V) à 20 °C, récemment neutralisé par la solution d'hydroxyde de potassium (5.2), en présence de l'indicateur coloré (5.3) utilisé pour la détermination.</p>		

Homologuée par arrêté
du 1982-05-24
(J.O. 1982-06-18)

La présente norme remplace la norme de même indice,
homologuée par arrêté du 22 août 1969.

© since 1982
Droits de reproduction
et de traduction réservés
"Paris 1982"

NF T 75-103

— 2 —

5.2 Hydroxyde de potassium, solution éthanolique titrée, $\alpha(\text{KOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ (1) contrôlée dans les 24 h précédant la détermination.

5.3 Indicateur coloré :

5.3.1 Phéno-phthaléine, solution à 2 g/l dans de l'éthanol (5.1),
ou si l'huile essentielle à analyser renferme des constituants contenant des groupes phénoliques :

5.3.2 Rouge de phénol, solution à 0,4 g/l dans de l'éthanol à 20 % (V/V).

6 APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

6.1 Ballon ou fiole de 100 ml

Si l'on désire déterminer ensuite l'indice d'ester sur le même prise d'essai, se reporter au dispositif de sup-
plification décrit dans la norme NF T 75-104.

6.2 Éprouvette, de capacité 5 ml

6.3 Burette, de capacité 25 ml, graduée en 0,1 ml, conforme aux spécifications de la norme NF B 35-301, classe B. 19

6.4 Balance analytique

7 ÉCHANTILLONNAGE

Se reporter à la norme NF T 75-003.

8 MODE OPÉRATOIRE

8.1 PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON POUR ESSAI

Se reporter à la norme NF T 75-110.

8.2 PRISE D'ESSAI

Peser, à 0,5 mg près, $2 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ de l'échantillon pour essai.

8.3 DÉTERMINATION

Introduire la prise d'essai dans le ballon ou la fiole (6.1). Ajouter 5 ml d'éthanol (5.1), et 5 gouttes de solution de phéno-phthaléine (5.3.1) ou de solution de rouge de phénol (5.3.2) selon le cas, comme indicateur (2), et neutraliser le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium (5.2) contenue dans la burette (6.3).

Réserver éventuellement le ballon et son contenu (A) pour la détermination de l'indice d'ester (se reporter à la norme NF T 75-104).

9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

9.1 CALCUL

L'indice d'acide (IA) est donné par la formule :

$$\frac{8,01 V}{m}$$

où :

V est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de potassium (5.2) utilisée.

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

Note : Si le volume d'hydroxyde de potassium est inférieur à 3 ml, recommencer l'essai sur une prise d'essai plus importante.

9.2 PRÉCISION

9.2.1 Répétabilité

Les résultats de l'essai peuvent être considérés comme valables si l'écart entre deux déterminations consécutives effectuées par le même opérateur, ne dépasse pas 0,2.

9.2.2 Reproductibilité

Les résultats obtenus par deux laboratoires différents sont considérés comme concordants si la différence entre eux ne dépasse pas 0,5.

10 EXPRESSION DES RÉSULTATS

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente norme, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE	HUILES ESSENTIELLES DÉTERMINATION DE L'INDICE D'ESTER	NF T 75-104 Juin 1982
-------------------------------	--	-----------------------------

AVANT-PROPOS

La présente norme est en concordance technique avec la norme internationale ISO 709-1980, de l'Organisation internationale de normalisation (ISO).

1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente norme spécifie une méthode de détermination de l'indice d'ester des huiles essentielles.

Cette méthode n'est pas applicable aux huiles essentielles contenant des lactones ou des proportions notables d'aldéhydes.

2 RÉFÉRENCES

- NF T 75-003 Huiles essentielles — Règles générales pour l'échantillonnage.
- NF T 75-103 Huiles essentielles — Détermination de l'indice d'acide.
- NF T 75-110 Huiles essentielles — Préparation de l'échantillon en vue de l'analyse.

3 DÉFINITIONS

L'indice d'ester, I.E. est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1 g d'huile essentielle.

4 PRINCIPE

Hydrolyse des esters par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium, et dosage de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique.

5 RÉACTIFS

Au cours de l'analyse, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.

5.1 Éthanol, à 95 % (V/V) à 20 °C, récemment neutralisé par la solution d'hydroxyde de potassium (5.2), en présence de l'indicateur coloré (5.4) utilisé pour la détermination.

Éditée par l'association française de normalisations (afnor) — leur adresse cédex 7 32000 Paris la Défense — tel. (1) 778-13-26

Remplacé par arrêté
du 1982-05-24
(J.O. 1982-08-18)

La présente norme remplace la norme de même indice,
homologuée par arrêté du 17 août 1980.

© afor 1982
Droits de reproduction
et de traduction réservés

- 2 Hydroxyde de potassium, solution éthanolique titrée, $c(\text{KOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$ (1).
- 3 Acide chlorhydrique, solution titrée, $c(\text{HCl}) = 0,5 \text{ mol/l}$ (1).
- 4 Indicateur coloré :
 - 4.1 Méthylrouge, solution à 2 g/l dans de l'éthanol (8.1), et l'huile essentielle à analyser renferme des constituants contenant des groupes phénoliques :
 - 4.2 Rouge de phénol, solution à 0,4 g/l dans de l'éthanol à 20 % (V/V).

APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

- 1 Dispositif de saponification comprenant un ballon en verre résistant aux alcalis, de capacité 100 à 200 ml, à col rodé auquel peut être adapté un tube en verre à extrémité rodée, ayant au moins 1 m de longueur environ 1 cm de diamètre intérieur, servant de réfrigérant à reflux. Si nécessaire, le tube en verre peut être remplacé par un réfrigérant à reflux.
- 2 Éprouvette, de capacité 5 ml.
- 3 Burette, de capacité 25 ml, graduée en 0,1 ml, conforme aux spécifications de la norme NF B 35-301, classe B.
- 4 Bain d'eau bouillante.
- 5 Balance analytique.

ÉCHANTILLONNAGE

reporter à la norme NF T 75-003.

MODE OPÉRATOIRE

1 PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON POUR ESSAI

reporter à la norme NF T 75-110.

2 PRISE D'ESSAI

peser à 0,5 mg près $2 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ de l'échantillon pour essai.

3 DÉTERMINATION

Dans le ballon (8.1) introduire la prise d'essai, ajouter à l'aide d'une burette (8.3), 25 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (8.2) et des fragments de pierre ponce ou de porcelaine.

Adapter le tube en verre ou le réfrigérant et placer le ballon sur le bain d'eau bouillante (8.4) et l'y laisser pendant une durée précisée dans la monographie de l'huile essentielle à analyser.

Laisser refroidir, démonter le tube et ajouter 20 ml d'eau puis 5 gouttes de la solution de phénolphthaléine (8.4.1) ou de la solution de rouge de phénol (8.4.2) selon le cas (1).

Titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique (8.3).

Notes 1 : Cette détermination peut être effectuée sur la solution provenant de la détermination de l'indice d'acide (contenu A), à condition d'ajouter 8 ml d'éthanol (8.1) dans l'essai à blanc avant les 25 ml de solution d'hydroxyde de potassium. (Ce volume correspond au volume introduit lors de la détermination de l'indice d'acide).

2 : Pour les huiles essentielles à fort indice d'ester, augmenter le volume de la solution d'hydroxyde de potassium (8.2) utilisé, de façon que $(V_0 - V_1)$ (voir chapitre 8) soit au moins égal à 10 ml. Pour les huiles essentielles à faible indice d'ester, effectuer la détermination sur une prise d'essai plus importante.

8.4 ESSAI À BLANC

Parallèlement à la détermination (8.1), effectuer un essai à blanc, dans les mêmes conditions et en utilisant les mêmes réactifs.

9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

9.1 CALCUL

L'indice d'ester (IE) est donné par la formule :

$$\text{IE} = \frac{28,05}{m} (V_0 - V_1) - \text{IA}$$

où :

V_0 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique (8.3) utilisé pour l'essai à blanc (8.4).

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique (8.3) utilisé pour la détermination (8.1).

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai (en général $2 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$).

IA est la valeur de l'indice d'acide déterminée selon NF T 75-103.

Le pourcentage en masse d'ester, par rapport à un ester convenu, est donné par la formule :

$$\frac{M_r \times \text{IE}}{561}$$

où :

M_r est la masse molaire de l'ester utilisé pour exprimer conventionnellement le résultat.

IE est l'indice d'ester calculé comme ci-dessus.

Exprimer l'indice d'ester avec deux chiffres significatifs s'il est inférieur à 100, et avec trois chiffres significatifs s'il est égal ou supérieur à 100.

NFT 75-104

— 4 —

Note : Lorsque la détermination est effectuée sur la solution provenant de la détermination de l'indice d'acide, l'indice d'ester I.E. est donné par la formule suivante :

$$\frac{28,05 (V_0 - V_1)}{m}$$

où :

V_0 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique (5.3) utilisé dans cette détermination ($V_0 - V_1$).

9.2 PRÉCISION

9.2.1 Répétabilité

Les résultats de l'essai peuvent être considérés comme valables si l'écart entre deux déterminations consécutives effectuées par le même opérateur, ne dépasse pas 0,2.

9.2.2 Reproductibilité

Les résultats obtenus par deux laboratoires différents sont considérés comme concordants si la différence entre eux ne dépasse pas 0,5.

10 EXPRESSION DES RÉSULTATS

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente norme, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

V.4.5.8. DOSAGE DES HUILES ESSENTIELLES DANS LES DROGUES VÉGÉTALES

La détermination de la teneur des drogues végétales en huile essentielle est effectuée par entraînement à la vapeur d'eau, dans un appareil spécial, dans les conditions précisées ci-dessous.

Le distillat est recueilli dans le tube gradué, en présence de xylène R pour fixer l'huile essentielle, tandis que la fraction aqueuse retourne automatiquement dans le ballon générateur de vapeur. Pour tous les dosages, la vitesse de distillation est réglée par 2 traits tracés sur l'appareil (figure 2).

Appareil. — L'appareil (voir figures 1 et 2 ci-après) de verre résistant, de faible dilatation thermique, comprend:

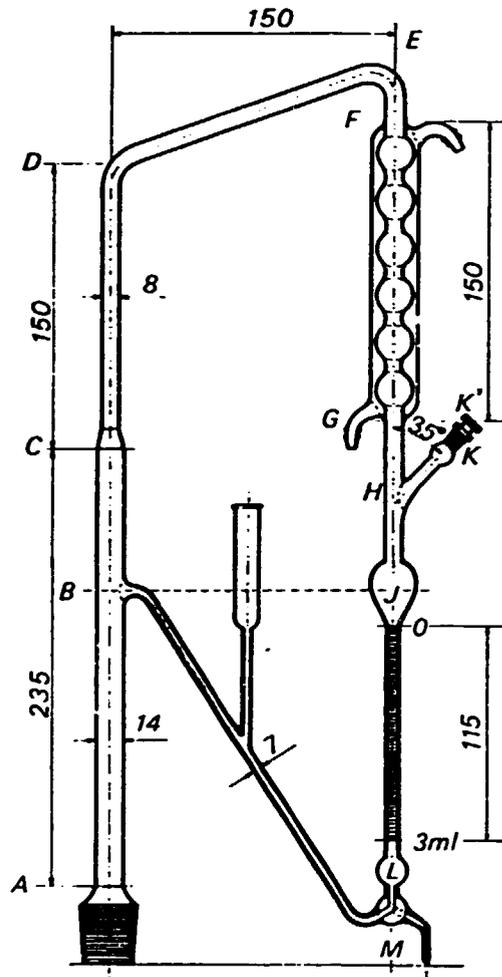
a) un ballon à fond rond de 500 ml ou de 1 000 ml à col court, à rodage d'un diamètre intérieur de 34 mm environ à l'extrémité la plus large.

b) un appareil de condensation s'adaptant exactement sur le ballon, comprenant diverses parties entièrement soudées:

- un tube (AC) vertical, de 210 mm à 260 mm de longueur et de 13 mm à 15 mm de diamètre intérieur,
- un tube (CDE) coudé où (CD) et (DE) font chacun de 145 mm à 155 mm de longueur et de 7 mm à 8 mm de diamètre intérieur,
- un réfrigérant à boules (FG) de 145 mm à 155 mm de longueur et de 8 mm à 10 mm de diamètre aux étranglements, les boules ayant 15 mm de diamètre,
- un bouchon (K') percé et une tubulure (K) de diamètre intérieur de 7,42 mm à 7,58 mm à la partie la plus large du tube rodé; le diamètre extérieur du bouchon rodé est de 4,95 mm à 5,05 mm,
- un tube (GH) de 7 mm à 8 mm de diamètre intérieur et de 30 mm à 40 mm de longueur, la partie (HK) fait un angle (GHK) de 30° à 40°,
- un renflement en forme de toupie (J) de 5 ml,
- un tube gradué (JL) comportant une longueur de graduation de 110 mm à 120 mm, de 3 ml de capacité et divisé en 0,05 ml,
- un renflement en forme de boule (L) de 2 ml environ,
- un robinet à 3 voies (M),
- un tube de communication (BM) de 7 mm à 8 mm de diamètre intérieur et muni d'un tube de sécurité; la jonction (B) est à un niveau supérieur de 20 mm à 25 mm à celui du sommet de la graduation.

c) un bec de gaz à robinet, permettant un réglage précis et muni d'une cheminée, ou un dispositif de chauffage électrique.

d) un support vertical avec un anneau horizontal recouvert d'une matière isolante.



Appareil pour le dosage des huiles essentielles dans les drogues végétales

Figure 1

Dimensions en millimètres

L'appareil (voir figure) est constitué d'un ballon de verre (A) relié par un tube de raccordement (D) à un tube cylindrique de condensation (B) avec tube collecteur gradué (E). Le réfrigérant (C) est placé sur le tube cylindrique (B). Le tube collecteur (E) est gradué en 0,1 ml de telle façon que l'erreur de lecture ne dépasse pas 0,05 ml. Comme source de chaleur, utilisez de préférence un chauffage électrique avec un contrôle à rhéostat ou un bain d'huile. La partie supérieure du ballon et le tube de raccordement peuvent être isolés par de l'amiante.

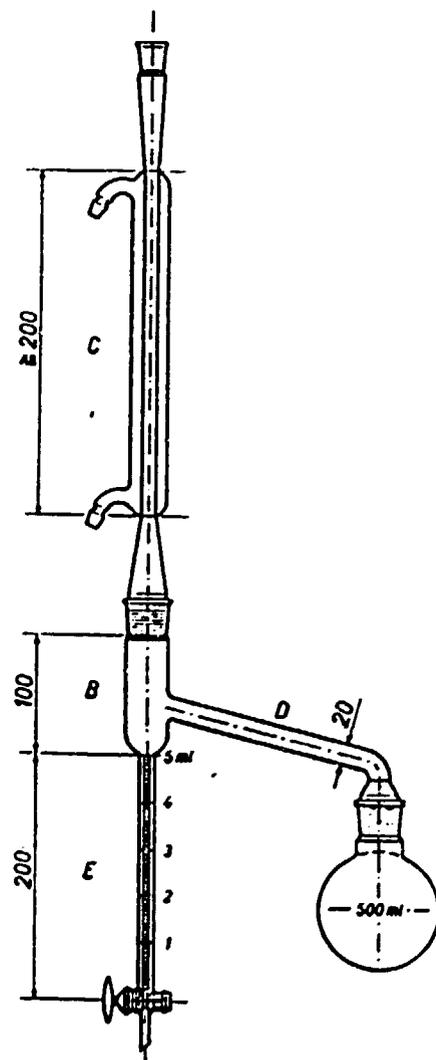
Mode opératoire. — Nettoyez le tube collecteur et le réfrigérant de l'appareil, rincez-les soigneusement à l'eau, puis séchez. Dans un ballon sec, introduisez 200 ml de toluène (R) et 2 ml d'eau environ; distillez pendant 2 heures, laissez refroidir pendant une demi-heure et lisez le volume d'eau avec une précision de 0,05 ml. Introduisez ensuite dans le ballon une prise d'essai de la substance à examiner, pesée au centigramme près, susceptible de donner 2 à 3 ml d'eau environ. Si la substance est pâteuse, pesez-la dans une nacelle constituée d'une feuille de métal. Chauffez doucement le ballon pendant 15 mn en présence d'une substance assurant une ébullition régulière. Lorsque le toluène commence à bouillir, distillez à la vitesse d'environ 2 gouttes par seconde jusqu'à ce que la plus grande partie de l'eau soit entraînée, puis augmentez la vitesse de distillation jusqu'à 4 gouttes par seconde. Lorsque toute l'eau a été entraînée, rincez au toluène (R) l'intérieur du tube réfrigérant. Continuez la distillation pendant 5 mn, arrêtez le chauffage et laissez refroidir le tube collecteur à la température ambiante. Faites tomber les gouttelettes d'eau adhérant encore à la paroi du tube. Lorsque l'eau et le toluène se sont séparés, lisez le volume d'eau et calculez en pourcentage la teneur en eau de la substance à examiner selon la relation

$$\frac{100 (n' - n)}{p}$$

p = poids en g de la prise d'essai de substance à examiner

n = nombre de ml d'eau obtenus dans la première distillation

n' = nombre total de ml d'eau obtenus dans les 2 distillations.



APPAREIL POUR LE DOSAGE DE L'EAU
PAR ENTRAÎNEMENT AZÉOTROPIQUE

Dimensions en mm

norme française

NFT 75-246

Mai 1985

ISO 3063

Huiles essentielles

Huile essentielle d'ylang-ylang

[*Cananga odorata* (Lamarck) J.D. Hooker et Thomson]E: Essential oils — Oil of Ylang-Ylang [*Cananga odorata* (Lamarck) J.D. Hooker and Thomson]D: Ätherische Öle — Ylang-ylangöle [*Cananga odorata* (Lamarck) J.D. Hooker und Thomson]

Norme française homologuée par décision du Directeur Général de l'afnor le 5 avril 1985 pour prendre effet le 5 mai 1985.

Remplace la norme expérimentale, de même indice, de mars 1982.

correspondance La présente norme reproduit intégralement la norme ISO 3063 de l'Organisation internationale de normalisation (ISO).

analyse La présente norme fait partie d'un ensemble de normes applicables aux huiles essentielles, ayant pour objet de caractériser les produits utilisés dans l'industrie de la parfumerie et des arômes.

Elle décrit les spécifications physiques, organoleptiques et chimiques de l'huile essentielle d'ylang-ylang destinées au contrôle de sa qualité.

descripteurs Thésaurus International Technique : huile essentielle, ylang-ylang, propriété organoleptique, propriété physique, propriété chimique, pays d'origine.

modifications Transformation du statut de la norme.

corrections

Huiles essentielles

NF T 75-246

Huile essentielle d'ylang-ylang

Mai 1985

[*Cananga odorata* (Lamarck) J.D. Hooker
et Thomson]

ISO 3063

AVANT-PROPOS

À sa date de publication, la présente norme reproduit intégralement la norme internationale ISO 3063-1983.

La correspondance entre les normes internationales mentionnées au chapitre 2 - Références -, et les normes françaises est la suivante :

ISO/R 210	: NF T 75-001	ISO 280	: NF T 75-112
ISO/R 211	: NF T 75-002	ISO 592	: NF T 75-113
ISO 212	: NF T 75-003	ISO 709	: NF T 75-104
ISO 279	: NF T 75-111	ISO 1242	: NF T 75-103

1 Objet et domaine d'application

La présente Norme Internationale fixe certaines caractéristiques de l'huile essentielle d'ylang-ylang de Madagascar et des Comores, destinées à faciliter l'appréciation de sa qualité.

2 Références

ISO/R 210, *Huiles essentielles* — Emballage.

ISO/R 211, *Huiles essentielles* — Étiquetage et marquage des récipients.

ISO 212, *Huiles essentielles* — Échantillonnage.

ISO 279, *Huiles essentielles* — Détermination de la densité relative à 20 °C (Méthode de référence).

ISO 280, *Huiles essentielles* — Détermination de l'indice de réfraction.

ISO 582, *Huiles essentielles* — Détermination du pouvoir rotatoire.

ISO 708, *Huiles essentielles* — Détermination de l'indice d'ester.

ISO 1242, *Huiles essentielles* — Détermination de l'indice d'acide.

3 Définition

Huile essentielle d'ylang-ylang : Huile essentielle obtenue par distillation à la vapeur d'eau des fleurs fraîches de *Cananga odorata* (Lamarck) J. D. Hooker et Thomson.

Ce produit volatil s'est généralement par recueilli sous la forme d'huile essentielle entière, mais en quatre fractions successives au cours de sa distillation. Ce sont ces quatre fractions, appelées respectivement extra, premières, deuxième et troisième, qui sont habituellement trouvées dans le commerce. ¹⁾

4 Spécifications

Spécification		Fraction	Extra	Première	Deuxième	Troisième
Aspect			Liquide			
Couleur			Jaune pâle à jaune foncé			
Odeur			Caractéristique, douce et juvénile			
Densité relative à 20/20 °C	Madagascar	min. max.	0,950 0,965	0,933 0,945	0,923 0,929	0,905 0,921
	Comores	min. max.	0,955 0,975	0,940 0,950	0,925 0,935	0,905 0,921
Indice de réfraction à 20 °C	Madagascar	min. max.	1,501 0 1,508 0	1,500 0 1,510 0	1,505 0 1,511 0	1,505 0 1,513 0
	Comores	min. max.	1,498 0 1,505 0	1,500 0 1,508 0	1,505 0 1,510 0	1,507 0 1,511 0
Pouvoir rotatoire à 20 °C	Madagascar		Compris entre -45° et -38°	Compris entre -44° et -28°	Compris entre -35° et -40°	Compris entre -63° et -49°
	Comores		Compris entre -40° et -25°	Compris entre -46° et -38°	Compris entre -35° et -42°	Compris entre -63° et -49°
Indice d'acide		Madagascar Comores	Inférieur à 3			
Indice d'ester	Madagascar	min. max.	125 160	90 120	65 80	38 58
	Comores	min. max.	145 185	110 140	75 100	45 70

5 Échantillonnage

Voir ISO 212.

Volume minimal de l'échantillon défilé : 20 ml

6 Méthodes d'essai

6.1 Densité relative à 20/20 °C

Voir ISO 279.

6.2 Indice de réfraction à 20 °C

Voir ISO 280.

6.3 Pouvoir rotatoire à 20 °C

Voir ISO 582.

6.4 Indice d'acide

Voir ISO 1242.

Cette détermination doit être effectuée pour les fractions extra et premières d'huile essentielle en présence de rouge de phénol en raison de la présence de quantités notables de phénols.

6.5 Indice d'ester

Voir ISO 709.

Durée de la saponification : 1 h

7 Emballage, étiquetage et marquage

Voir ISO/R 210 et ISO/R 211.

norme française

NF T 75-207

Février 1991

Huiles essentielles

Huile essentielle de clous de giroflier [(*Syzygium aromaticum* (Linnaeus) Merr. et Perry syn. *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock et S. Harrison)]

E: Essential oils — Oil of clove buds [(*Syzygium aromaticum* (Linnaeus) Merr. and Perry syn. *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock and S. Harrison)]
D: Ätherische Öle — Nelkenöl [(*Syzygium aromaticum* (Linnaeus) Merr. und Perry syn. *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock und S. Harrison)]

Norme française homologuée par décision du Directeur Général de l'afnor le 20 janvier 1991 pour prendre effet le 20 février 1991.

Remplace la norme enregistrée, de même indice, de décembre 1974.

correspondance La présente norme servira de base de révision à la norme internationale ISO 3142: 1974.

analyse La présente norme fait partie d'un ensemble de normes applicables aux huiles essentielles, ayant pour objet de caractériser les produits utilisés dans l'industrie de la parfumerie et des arômes.
Elle décrit les spécifications physiques, chimiques et chromatographiques de l'huile essentielle de clous de giroflier.

descripteurs **Thésaurus International Technique** : huile essentielle, clou de giroflier, caractéristique physique, caractéristique chimique, chromatogramme, pays d'origine.

modifications Révision complète des spécifications et introduction d'un profil chromatographique.

corrections

Membres de la commission de normalisation chargée de l'élaboration de la présente norme

Président : MME DIDIER

Secrétariat : AFNOR

M	AGNEL	Agnels SA
M	BERTHIER	Albert Berthier & Fils et Syndicat des Importateurs de Matières Premières Aromatiques
M	BONTOUX	Clos d'Aguzon
Mlle	BRAY	Parfums Christian Dior
M	BRUGEL	Studio Création Parfumerie — Biolandes
M	BUET	L'Oréal SA
MME	CARBONEL	Ministère Economie finances et budget — DGCCRF — Massy
MME	CLAIR	Faculté de Pharmacie — Paris V
M	DECAUDIN	Givaudan France
M	DERBESY	Ecole Supérieure de Chimie — Marseille
MME	DIDIER	AFNOR
M	DROUET	Faculté de Pharmacie — Nantes
M	DURAND	Manufactures Jacques Dugniolle
MME	ESCARGUEIL	Ministère Economie finances et budget — DGCCRF — Paris
M	FERAL	CAL Pfizer
MME	FLAMION	Fédarom
M	GALFRE	Roure SA
M	GARNERO	
M	GEORGES	Sanofi Bio industries
M	GERBAULT	Société Technique des Parfumeurs de France
M	GUENET	Méro Rousselot Satia SA
M	GUERERE	Ministère Economie finances et budget — DGCCRF — Marseille
MME	HUAN	Roure SA — Argenteuil
M	JAUBERT	IAP International
M	JOULAIN	Sté Robertet
M	LAMATY	Université Sciences Techniques — Montpellier
M	MAGHAMI	Laboratoire Ardeval
M	MARCHAL	IRFA — CIRAD — GERDAT
M	MARCHISIO	Sté V. Mane & Fils SA
M	MARTINFAU	ITEIPMAI
MME	MELONCELLI	Roure SA — Grasse
M	NORTZ	Fédération Française des Industries des Produits de Parfumerie, de Beauté et de Toilette
M	ONIC	Office National Interprofessionnel des Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales
M	PAILLON	Fédération française des syndicats de l'aromatique
M	PECOUT	Arco SA
M	RESIN	Givaudan SA — Suisse
M	ROUZET	Faculté de Pharmacie — Nantes
M	SERENNES	Ministère Economie finances et budget — Services des Laboratoires
M	THIERCELIN	Tradimpex JM Thiercelin SA
M	TOUCHE	Centre d'expérimentation d'agriculture en montagne sèche (CEAMS)
M	TRUCHOT	LARA
M	UNGER	Faculté de Pharmacie — Chatenay-Malabry
MME	VALLET	Direction générale de la santé
M	VIGNE	Syndicat des Producteurs de Matières Premières Aromatiques
M	VOITURIEZ	PB Gelatins France — Prochar
M	VRINAT	Laboratoire Lachartre — Neuilly
M	ZOLA	Adrian SA

1 DOMAINE D'APPLICATION

La présente norme spécifie certaines caractéristiques de l'huile essentielle de clous de giroflier [(*Syzygium aromaticum* (Linnaeus) Merr. et Perry syn. *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock et S. Harrison)], destinées à faciliter l'appréciation de sa qualité.

2 RÉFÉRENCES

NF T 75-001	Huiles essentielles — Règles générales d'emballage, de conditionnement et de stockage.
NF T 75-002	Huiles essentielles — Règles générales d'étiquetage et de marquage des récipients.
NF T 75-003	Huiles essentielles — Règles générales pour l'échantillonnage.
T 75-107	Huiles essentielles — Détermination du point d'éclair.
NF T 75-111	Huiles essentielles — Détermination de la densité relative à 20 °C (méthode de référence).
NF T 75-112	Huiles essentielles — Détermination de l'indice de réfraction.
NF T 75-113	Huiles essentielles — Détermination du pouvoir rotatoire.
NF T 75-116	Huiles essentielles — Évaluation de la teneur en phénols.
T 75-500	Huiles essentielles — Directives générales pour l'élaboration du profil chromatographique.
T 75-501	Huiles essentielles — Directives générales pour l'utilisation du profil chromatographique.

3 DÉFINITION

Huile essentielle de clous de giroflier : huile essentielle obtenue par distillation à la vapeur d'eau des boutons floraux desséchés du giroflier [(*Syzygium aromaticum* (Linnaeus) Merr. et Perry syn. *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock et S. Harrison)], de la famille des *Myrtaceae*.

4 SPÉCIFICATIONS

4.1 Caractéristiques organoleptiques

Aspect	Liquide mobile limpide, parfois légèrement visqueux
Couleur	De jaune à brun clair
Odeur	Épicée et caractéristique de l'eugénoï

1.2 Caractéristiques physiques

Densité d_{20}^{20}

Minimum : 1,042

Maximum : 1,063

Indice de réfraction à 20 °C

Minimum : 1,528 0

Maximum : 1,538 0

Pouvoir rotatoire à 20 °C

Compris entre - 1,5°

et : 0°

1.3 Caractéristiques chimiques

Teneur en composés phénoliques totaux

Minimum : 85 % (V/V)

Maximum : 93 % (V/V)

Profil chromatographique

Réaliser l'analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse et identifier sur le chromatogramme obtenu les constituants représentatifs et caractéristiques dont la liste figure dans le tableau ci-après.

Le pourcentage de chacun de ces constituants indiqué par l'intégrateur doit se situer dans les limites figurant dans le tableau. Cet ensemble constitue le «profil chromatographique» de l'huile essentielle.

Constituant	Minimum	Maximum
	%	%
Eugénol	75	87
β -caryophyllène	2	7
Acétate d'eugényle	8	15

Note : le profil chromatographique est normatif et est à différencier des chromatogrammes-types donnés à titre informatif en annexe A.

5 ÉCHANTILLONNAGE

Se reporter à la norme NF T 75-003.

Volume minimal de l'échantillon pour essai : 25 ml.

Ce volume permet d'effectuer au moins une fois chacun des essais prévus dans la monographie.

6 MÉTHODES D'ESSAI

Densité d_{20}^{20} : Se reporter à la norme NF T 75-111.

Indice de réfraction à 20 °C : Se reporter à la norme NF T 75-112.

Pouvoir rotatoire à 20 °C : Se reporter à la norme NF T 75-113.

Teneur en composés phénoliques totaux : Se reporter à la norme NF T 75-116.

Profil chromatographique : Se reporter aux fascicules de documentation T 75-500 et T 75-501.

7 EMBALLAGE, ÉTIQUETAGE ET MARQUAGE

Se reporter aux normes NF T 75-001 et NF T 75-002.

ANNEXE A

(ne fait pas partie intégrante de la norme)

CHROMATOGRAMMES-TYPES

Huile essentielle de clous de giroflier, Madagascar

Conditions opératoires

Colonne : capillaire, en silice fondue, longueur 50 m, 0,25 mm de diamètre intérieur

Phase stationnaire : OV 101

Température du four : programmation de température de 65 °C à 200 °C, à raison de 1,5 °C/min

Température de l'injecteur : 250 °C

Température du détecteur : 250 °C

Détecteur : à ionisation de flamme

Gaz vecteur : azote

Volume injecté : 0,20 µl environ

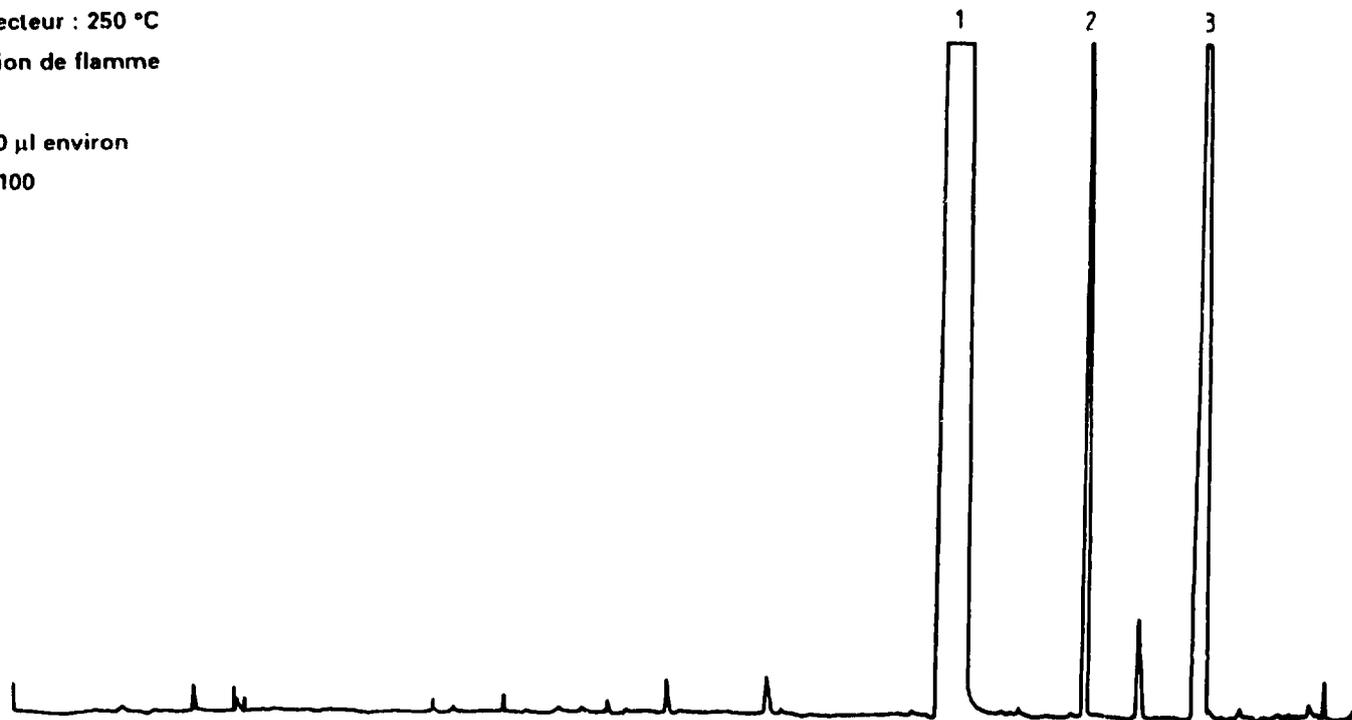
Rapport de fuite : 1/100

Identification des pics

1 Eugénol

2 β-caryophyllène

3 Acétate d'eugényle



Huile essentielle de clous de giroflier, Madagascar

Conditions opératoires

Colonne : capillaire, en silice fondue, longueur 50 m, 0,25 mm de diamètre intérieur

Phase stationnaire : polyéthylène glycol 20 000

Température du four : programmation de température de 65 °C à 200 °C, à raison de 1,5 °C/min, puis à raison de 1 °C/min, jusqu'à 230 °C

Température de l'injecteur : 250 °C

Température du détecteur : 250 °C

Détecteur : à ionisation de flamme

Gaz vecteur : azote

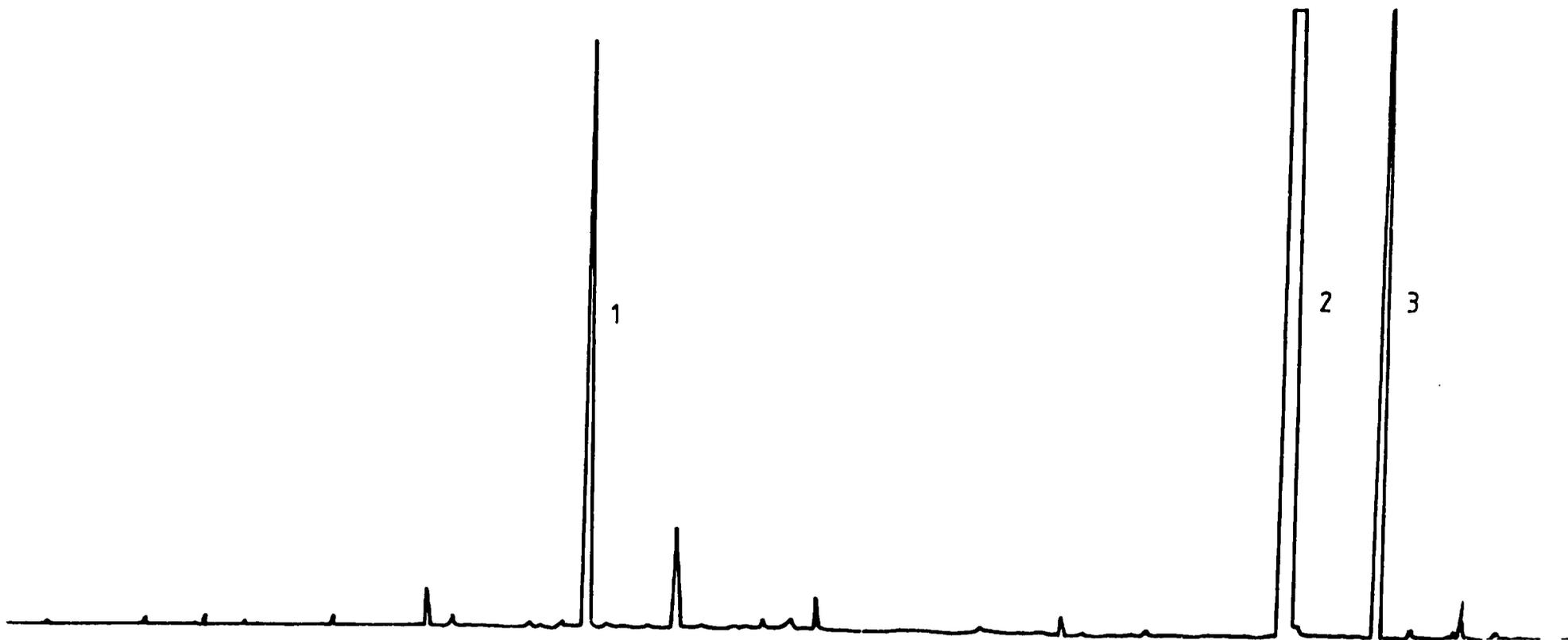
Volume injecté : 0,20 µl environ avec fuite

Identification des pics

1 β-caryophyllène

2 Eugénol

3 Acétate d'eugényle



NF T 75-207

ANNEXE B

(ne fait pas partie intégrante de la norme)

POINT D'ÉCLAIR**B.1 Informations générales**

Pour des raisons de sécurité, les transporteurs, compagnies d'assurance, responsables des services de sécurité, etc. exigent de connaître le point d'éclair des huiles essentielles qui, dans la plupart des cas, sont des produits inflammables.

Une étude comparative des méthodes d'analyses appropriées (voir le fascicule de documentation T 75-107) a permis de constater qu'il était difficile de normaliser une méthode unique car :

- les huiles essentielles sont très nombreuses et leur composition chimique varie beaucoup ;
- le volume d'échantillon préconisé pour l'utilisation de certains appareils est incompatible avec le prix élevé des huiles essentielles ;
- les utilisateurs ne peuvent être tenus d'acheter un type d'appareil plutôt qu'un autre à partir du moment où il en existe plusieurs qui peuvent répondre à l'objectif recherché.

De ce fait, il a été décidé de donner une valeur moyenne de point d'éclair en annexe à chaque monographie, et uniquement à titre indicatif, afin de répondre à la demande des services concernés.

Dans la mesure du possible, on spécifiera la méthode avec laquelle cette valeur a été obtenue.

Pour toutes informations complémentaires, se reporter au fascicule de documentation T 75-107.

B.2 Point d'éclair de l'huile essentielle de clous de giroflier : + 120 °C

Note : valeur moyenne, donnée à titre indicatif, obtenue avec l'appareil «Luchoire».

PRODUCTION D'HUILES ESSENTIELLES DES COMORES (1990-93)

ESTIMATION DE LA PRODUCTION AGRO-INDUSTRIELLE DU SOUS-SECTEUR HUILES ESSENTIELLES/EPICES REPUBLIQUE FEDERALE ISLAMIQUE DES COMORES
--

PRODUIT	SURFACES CULTIVEES (EN Ha)	PRODUCTION AGRICOLE (en tonnes)	PRODUCTION HUILES ESSENTIELLES/EPICES (en tonnes)		TENDANCES DU MARCHÉ 1995 HUILES/EPICES
			1993	1990	
YLANG - YLANG (fleurs)	1 500 à 2 000	3400	Total 38 EXTRA, I. 4 II,III, 34	60 10 50	Demande soutenue En baisse
GIROFLE (CLOUS)	1.300 à 1.500	900 à 1.200	Clous 320 H.E 8	417 11	EPICE : en baisse HE CLOU : moderee HE FEUILLE : en baisse
VANILLE (Gousses)	1.200 à 1.300	VAN VERTE, 600 VAN PREPAREE : 150	GOUSSES 120	110	Fluctuant
POIVRE					
NOIR	-	1 à 1,5	-	-	moderee
VERT		2 à 5,0	-	-	moderee
BASILIC - BOURBON	-	-	HE 2	6	
PALMAROSA	-	-	HE 0,9 à 1	0.25	
AUTRES H.E	-	-	HE 0.6	0.8	

(SOURCES : EUROSTAT ; BDPA; PNUD - BM; GVT - COMORES)