

NORME INTERNATIONALE

ISO
8432

Première édition
1987-10-01



INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION
ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION
МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ

Huiles essentielles — Analyse par chromatographie liquide sous pression — Méthode générale

Essential oils — Analysis by high performance liquid chromatography — General method

(standards.iteh.ai)

[ISO 8432:1987](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e4ee390c-069c-4353-909f-de3e34662b99/iso-8432-1987>

Numéro de référence
ISO 8432:1987 (F)

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est normalement confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO. Les Normes internationales sont approuvées conformément aux procédures de l'ISO qui requièrent l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 8432 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 54, *Huiles essentielles*.

[ISO 8432:1987](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e4ee390c-069c-4353-909f-de3e34662b99/iso-8432-1987)

L'attention des utilisateurs est attirée sur le fait que toutes les Normes internationales sont de temps en temps soumises à révision et que toute référence faite à une autre Norme internationale dans le présent document implique qu'il s'agit, sauf indication contraire, de la dernière édition.

Huiles essentielles — Analyse par chromatographie liquide sous pression — Méthode générale

1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode générale d'analyse par chromatographie liquide sous pression des huiles essentielles, dans le but de doser un composé spécifique et/ou de rechercher un profil caractéristique.

2 Référence

ISO 356, *Huiles essentielles — Préparation de l'échantillon pour essai*.

3 Principe

La chromatographie liquide sous pression est une méthode de séparation fondée sur des phénomènes d'absorption, de partage, d'échange d'ions et/ou d'exclusion. Elle permet l'analyse de petites quantités d'huiles essentielles, d'arômes ou d'autres matières premières pour l'industrie de la parfumerie sur une colonne de chromatographie avec un remplissage et des conditions opératoires appropriées, la localisation éventuelle des différents constituants, et la détermination quantitative des composés spécifiques par mesure de l'aire ou de la hauteur de leurs pics.

4 Réactifs et produits

4.1 Substance de référence, correspondant au composé à doser ou à localiser. Elle sera indiquée dans chaque Norme internationale particulière. La substance de référence devra être récemment purifiée.

4.2 Étalon interne ou étalon externe.

L'étalon interne ou l'étalon externe doit être précisé dans la Norme internationale particulière appliquée, et doit éluer aussi près que possible du composé à doser et ne se superposer à aucun des composés de l'huile essentielle détectables par le système de détection utilisé.

4.3 Phase mobile.

La composition de la phase mobile peut rester constante pendant toute la durée (élution isocratique) ou varier selon un programme défini (gradient d'élution). Elle sera définie dans chaque Norme internationale particulière.

4.4 Solvant d'élution.

La nature et la qualité des solvants seront choisies selon l'échantillon à analyser, la colonne et le détecteur utilisés. Les solutions doivent être exemptes de particules solides inférieures à 0,5 µm.

4.5 Gaz.

Si le système de pompage nécessite l'utilisation d'un gaz, celui-ci doit être inerte. On utilise l'hélium, l'azote ou l'argon.

5 Appareillage

5.1 Système de séparation.

5.1.1 Chromatographie.

5.1.2 Système de pompage ou tout autre système, permettant d'obtenir et de maintenir un débit constant ou programmé.

5.1.3 Système délivrant le solvant.

5.1.4 Système de dégazage des solvants.

5.1.5 Système de détection approprié, permettant de déterminer des quantités de composés présents dans l'échantillon.

5.2 Enregistreur et, éventuellement, intégrateur, dont les performances sont compatibles avec l'ensemble de l'appareillage.

5.3 Colonne, en matériau inerte (par exemple, verre, acier inoxydable), dont les qualités mécaniques permettent de supporter la pression.

La nature et la granulométrie de la phase stationnaire doivent être précisées dans chaque Norme internationale particulière.

La température de la colonne peut être stabilisée ou programmée.

6 Préparation de l'échantillon pour essai

Voir l'ISO 356.

Si l'échantillon pour essai à injecter doit subir une préparation spéciale, celle-ci sera indiquée dans la Norme internationale particulière.

7 Mode opératoire

7.1 Température

Si la température est différente de la température ambiante, elle sera précisée dans la Norme internationale particulière.

7.2 Débit du solvant d'éluion

Régler le débit de manière à obtenir les séparations des composés à doser.

8 Performance de la colonne

8.1 Test d'inertie chimique

S'assurer que les produits à identifier ne sont pas dégradés.

8.2 Efficacité de la colonne

Déterminer le nombre de plateaux effectifs (N) sur le pic de l'étalon interne spécifié dans chaque norme particulière et en utilisant les solvants également spécifiés, à température isotherme, et dans des conditions isocratiques à l'aide de la formule suivante

$$N = 5,54 \left(\frac{d_r}{b_{0,5}} \right)^2$$

où

d_r est la distance, en millimètres, mesurée sur la ligne de base, entre le point d'injection et une perpendiculaire abaissée du maximum du pic étudié;

$b_{0,5}$ est la largeur, en millimètres, de ce pic à mi-hauteur.

8.3 Résolution

Calculer le facteur de résolution, R , de deux pics avoisinants I et II, à l'aide de la formule

$$R = 2 \frac{d_r(\text{II}) - d_r(\text{I})}{b_{0,5}(\text{I}) + b_{0,5}(\text{II})}$$

où

$d_r(\text{I})$ est la distance de rétention du pic I;

$d_r(\text{II})$ est la distance de rétention du pic II;

$b_{0,5}(\text{I})$ est la largeur, en millimètres, du pic I à mi-hauteur;

$b_{0,5}(\text{II})$ est la largeur, en millimètres, du pic II à mi-hauteur.

(Voir la figure.)

9 Méthodes de dosage

9.1 Conditions générales

Réaliser le chromatogramme comme le précise la Norme internationale particulière.

Dans certaines déterminations de composants spécifiques, la Norme internationale particulière peut prescrire d'opérer en isocratique ou en gradient d'éluion.

Dans ces cas, le débit doit être réglé de telle sorte que l'on obtienne la séparation indiquée dans la Norme internationale particulière.

Après stabilisation des conditions opératoires, injecter une quantité appropriée de la prise d'essai.

On obtient le chromatogramme « A ». Sur le chromatogramme « A » obtenu, vérifier que tous les pics recherchés sont bien séparés.

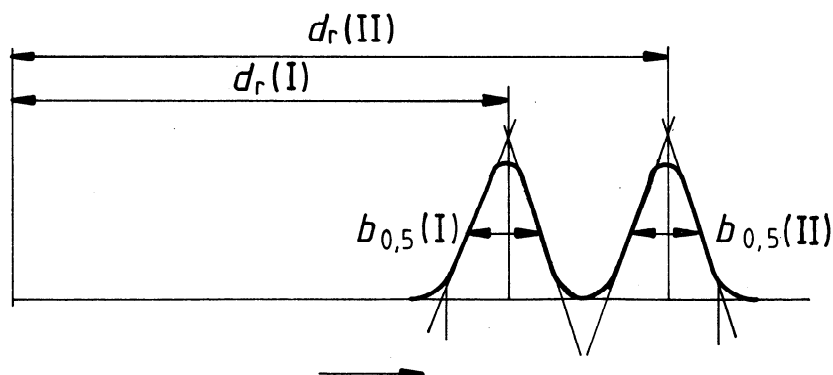


Figure — Calcul du facteur de résolution

9.2 Méthode de l'étalon interne

Réaliser successivement le chromatogramme de l'huile essentielle et celui de l'étalon interne (4.2) en utilisant les mêmes conditions opératoires. Vérifier sur les chromatogrammes, d'une part, que les produits à doser sont séparés des autres constituants de l'huile essentielle et, d'autre part, que l'étalon interne n'interfère avec aucun constituant de l'huile essentielle.

9.2.1 Détermination du coefficient de réponse

Si, pour des dosages quantitatifs, on doit déterminer le coefficient de réponse d'un composant par rapport à l'étalon interne, peser une certaine quantité de l'étalon interne (4.2) et de la substance de référence (4.1) dans des proportions telles que les aires correspondantes des pics soient approximativement égales.

Le solvant utilisé pour les dilutions sera indiqué dans la Norme internationale particulière.

Après stabilisation de l'ensemble du système, injecter une quantité appropriée de ce mélange, et effectuer l'analyse dans les conditions précisées en 9.1. On obtient le chromatogramme « B ».

Calculer le coefficient de réponse K à partir de la formule

$$K = \frac{m_R A_E}{m_E A_R}$$

où

A_R est l'aire du pic, en unités d'intégrateur, correspondant à la substance de référence dont il faut calculer le coefficient de réponse;

A_E est l'aire du pic, en unités d'intégrateur, correspondant à l'étalon interne;

m_R est la masse, en milligrammes, de la substance de référence;

m_E est la masse, en milligrammes, de l'étalon interne.

9.2.2 Dosage

Si la Norme internationale applicable prescrit l'emploi d'un étalon interne, préparer un mélange en pesant à 0,1 mg près, des quantités appropriées de l'huile essentielle et de l'étalon interne. Choisir la quantité d'étalon interne de façon que l'aire du pic du composé à doser et celle de l'étalon interne soient approximativement égales.

Après stabilisation de l'ensemble du système, injecter une quantité appropriée du mélange et effectuer l'analyse dans les conditions précisées en 9.1. On obtient le chromatogramme « C ».

9.3 Méthode par addition

Si pour un dosage la méthode de l'étalon interne ne peut être utilisée, employer la méthode par addition.

Pour cela, injecter une quantité appropriée de l'huile essentielle étudiée dans laquelle X est le composé à doser, et Y un composé voisin sur le chromatogramme « D » obtenu.

Puis préparer, en pesant à 0,1 mg près, un mélange de m gramme d'échantillon et de m_X gramme de la substance de référence (4.1) correspondant au composé X à doser.

Injecter une quantité appropriée du mélange. On obtient le chromatogramme « E ».

9.4 Méthode de l'étalon externe

Si pour un dosage, les méthodes décrites en 9.2 et 9.3 ne peuvent pas être utilisées, employer la méthode de l'étalon externe.

Cette méthode n'est applicable que si l'appareillage est muni d'un système d'injection permettant d'injecter des quantités strictement identiques en volumes (par exemple, vanne à boucle).

Préparer des solutions de concentrations croissantes de la substance de référence. Injecter successivement une même quantité de ces différentes solutions. Sur le diagramme, porter les aires des pics de la substance de référence en fonction de sa concentration dans les différentes solutions. On obtient la courbe F donnant l'aire du pic de la substance de référence en fonction de sa concentration dans les solutions.

Injecter une même quantité de l'huile essentielle dans laquelle « Z » est le composé à doser. Mesurer l'aire du pic de « Z ». Porter l'aire de « Z » sur le diagramme. Lire directement la concentration de « Z » sur le diagramme.

10 Expression des résultats

10.1 Méthode de l'étalon interne

Calculer la teneur, c_X , exprimée en pourcentage en masse, du composé à doser à l'aide de la formule

$$\frac{A_X m_E \times K}{A_E m_X} \times 100$$

où

A_X est l'aire du pic, en unités d'intégrateur, correspondant au composé à doser;

A_E est l'aire du pic, en unités d'intégrateur, correspondant à l'étalon interne;

m_X est la masse, en milligrammes, de l'huile essentielle;

m_E est la masse, en milligrammes, de l'étalon interne;

K est le coefficient de réponse du composé à doser par rapport à l'étalon interne.

10.2 Méthode par addition

Calculer la teneur, c_X , exprimée en pourcentage en masse, en composé à doser, à l'aide de la formule

$$\frac{m_R}{m} \times \frac{r}{r' - r} \times 100 \quad (r' > r)$$

où

m_R est la masse, en grammes, de la substance de référence (4.1);

m est la masse, en grammes, de l'huile essentielle;

$$r = \frac{A_X}{A_Y}$$

où

A_X est l'aire du pic correspondant au composé X sur le chromatogramme « D »;

A_Y est l'aire du pic correspondant au composé Y sur le chromatogramme « D »;

$$r' = \frac{A'_X}{A'_Y}$$

où

A'_X est l'aire du pic correspondant au composé X sur le chromatogramme « E »;

A'_Y est l'aire du pic correspondant au composé Y sur le chromatogramme « E ».

10.3 Résultats et répétabilité

Prendre comme résultats pour le coefficient de réponse K et pour la teneur en composé à doser c_X les valeurs moyennes de plusieurs essais (au moins trois) effectués sur le même échantillon. Les différentes valeurs prises en considération pour calculer ces moyennes ne doivent pas s'écarter au-delà d'un certain pourcentage de celles-ci. Ce pourcentage et le nombre d'essais doivent être spécifiés dans les différentes méthodes d'essais ou Normes internationales particulières.

11 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit contenir les indications suivantes :

- a) système d'appareillage;
- b) référence à la présente Norme internationale;
- c) caractéristiques de la colonne (matériau, dimensions, remplissage, phase stationnaire);
- d) caractéristiques du détecteur (facultatif) et conditions d'utilisation;
- e) caractéristiques de la phase mobile (débit et nature);
- f) identification de l'échantillon (quantité injectée et éventuelle dilution);

ISO 8432:1987 résultats obtenus.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e4ee390c-069c-4353-909f-de3e34662b99/iso-8432-1987>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standardsiteh.ai)

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 8432:1987

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e4ee390c-069c-4353-909f-de3e34662b99/iso-8432-1987>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 8432:1987](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e4ee390c-069c-4353-909f-de3e34662b99/iso-8432-1987)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e4ee390c-069c-4353-909f-de3e34662b99/iso-8432-1987>

CDU 665.5 : 543.544

Descripteurs : huile essentielle, analyse chimique, méthode chromatographique, méthode chromatographique sur colonne.

Prix basé sur 4 pages
