
**Vanille [*Vanilla fragrans* (Salisbury)
Ames] —**

**Partie 2:
Méthodes d'essai**

Vanilla [*Vanilla fragrans* (Salisbury) Ames] —
Part 2: Test methods
(standards.iteh.ai)

[ISO 5565-2:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/aa4433b7-c419-402c-903e-c810f19055ef/iso-5565-2-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/aa4433b7-c419-402c-903e-c810f19055ef/iso-5565-2-1999>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5565-2:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/aa4433b7-c419-402c-903e-c810f19055ef/iso-5565-2-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/aa4433b7-c419-402c-903e-c810f19055ef/iso-5565-2-1999>

© ISO 1999

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 734 10 79
E-mail copyright@iso.ch
Web www.iso.ch

Imprimé en Suisse

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 en général 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. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 3.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments de la présente partie de l'ISO 5565 peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

La Norme internationale ISO 5565-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 7, *Épices*.

Cette première édition de l'ISO 5565-2, en association avec l'ISO 5565-1, annule et remplace l'ISO 5565:1982, laquelle a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 5565 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Vanille* [Vanilla fragrans (*Salisbury*) Ames]:

- *Partie 1: Spécifications*
- *Partie 2: Méthodes d'essai*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5565-2:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/aa4433b7-c419-402c-903e-c810f19055ef/iso-5565-2-1999>

Vanille [*Vanilla fragrans* (Salisbury) Ames] —

Partie 2: Méthodes d'essai

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 5565 spécifie des méthodes d'essai pour l'analyse de la vanille appartenant aux espèces *Vanilla fragrans* (Salisbury) Ames syn. *Vanilla planifolia* Andrews.

Elle est applicable à la vanille en gousses, à la vanille en vrac, à la vanille coupée et à la vanille en poudre. Elle n'est pas applicable aux extraits de vanille.

Trois méthodes d'essai spécifiques à l'analyse de la vanille sont décrites dans la présente partie de l'ISO 5565:

- a) la détermination de la teneur en eau de la vanille en gousses et en poudre (4.1);
- b) le dosage de la vanilline, de l'acide vanillique, de l'aldéhyde 4-hydroxybenzoïque et de l'acide 4-hydroxybenzoïque par chromatographie liquide à haute performance (4.2);
- c) la détermination de la teneur en vanilline par spectrométrie dans l'ultraviolet (4.3).

NOTE Les spécifications de la vanille font l'objet de l'ISO 5565-1:2-1999

2 Référence normative

Le document normatif suivant contient des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente partie de l'ISO 5565. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente partie de l'ISO 5565 sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer l'édition la plus récente du document normatif indiqué ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

ISO 1042, *Verrerie de laboratoire — Fioles jaugées à un trait.*

3 Termes et définitions

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 5565, le terme et la définition suivants s'appliquent.

3.1

teneur en eau

quantité d'eau entraînée et recueillie selon la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 5565

NOTE La teneur en eau est exprimée comme fraction massique, en pourcentage [dans le passé également exprimée en % (*m/m*)].

4 Méthodes d'essai

4.1 Détermination de la teneur en eau de la vanille en gousses et en poudre

NOTE La méthode générale décrite dans l'ISO 939 n'est pas applicable à la vanille.

4.1.1 Principe

Détermination de la quantité d'eau entraînée par distillation azéotropique, en utilisant un liquide organique non miscible à l'eau. Cette eau est recueillie dans un tube gradué.

4.1.2 Réactif

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de l'eau de pureté au moins égale.

4.1.2.1 Toluène.

Saturer le toluène en l'agitant avec une petite quantité d'eau et distiller. Utiliser le distillat pour la détermination de la teneur en eau.

4.1.3 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

4.1.3.1 Appareil de distillation, consistant en un ballon en verre, chauffé par un moyen approprié, et pourvu d'un réfrigérant à reflux se déversant dans un tube récepteur et relié au ballon.

Les connexions entre le récepteur, le réfrigérant et le ballon doivent être des joints en verre rodé interchangeables. Le tube sert à recueillir et mesurer l'eau condensée et à renvoyer le solvant dans le ballon. Le montage de l'appareil est représenté à la Figure 1, et ses différentes parties sont décrites ci-après.

4.1.3.1.1 Ballon, de 500 ml de capacité, ayant la forme représentée à la Figure 1, en verre résistant à la chaleur, bien recuit et aussi exempt que possible de stries et d'autres défauts similaires.

4.1.3.1.2 Réfrigérant à reflux, en verre, refroidi par l'eau, avec un manchon d'environ 400 mm de longueur et un tube intérieur de 9,5 mm à 12,5 mm de diamètre extérieur.

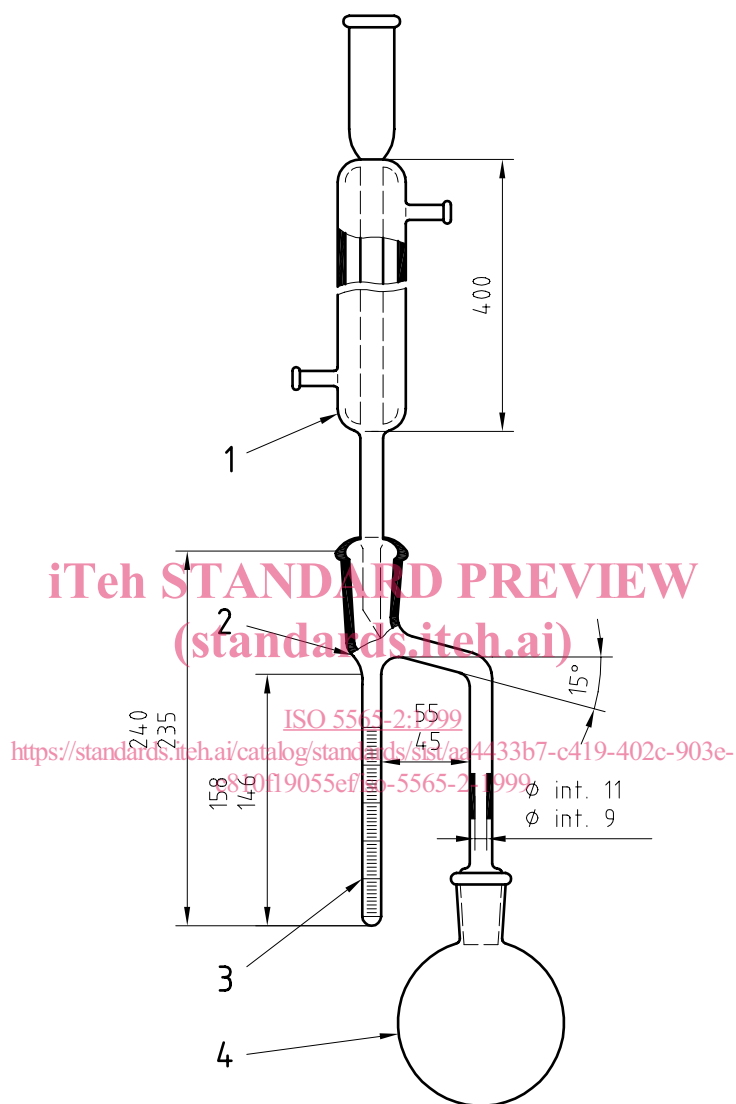
L'extrémité du réfrigérant qui doit être introduite dans le tube récepteur peut être biseautée suivant un angle de 30° par rapport à l'axe vertical du réfrigérant. Lorsque celui-ci est introduit dans le tube récepteur, l'extrémité du réfrigérant doit se trouver entre 6 mm et 7 mm au-dessus de la surface du liquide dans le tube récepteur, après que les conditions de la distillation ont été établies.

4.1.3.1.3 Tube récepteur, de 5 ml de capacité, en verre résistant à la chaleur, bien recuit et aussi exempt que possible de stries et d'autres défauts similaires, muni de joints rodés et ayant la forme, les dimensions et les tolérances indiquées à la Figure 1.

Il comprend essentiellement la chambre supérieure, avec un tube et un joint rodé conduisant au ballon, ainsi que le tube gradué. La partie graduée doit avoir une capacité de 5 ml jusqu'au trait de graduation le plus élevé.

La graduation doit s'étendre de 0 ml à 5 ml par intervalles de 0,10 ml. Les traits de graduation correspondant à chaque millilitre doivent être numérotés et faire le tour complet du tube. Les traits de graduation situés à mi-intervalle entre les traits numérotés doivent s'étendre sur les trois-quarts de la circonférence du tube, et les autres traits doivent s'étendre sur la moitié de cette circonférence. L'erreur sur la capacité indiquée ne doit pas dépasser 0,05 ml.

Dimensions en millimètres

**Légende**

- 1 Réfrigérant à reflux (4.1.3.1.2)
- 2 Tube récepteur (4.1.3.1.3)
- 3 Tube de capacité 5 ml, gradué par intervalles de 0,10 ml
- 4 Ballon (4.1.3.1.1)

Figure 1 — Appareil de distillation

4.1.3.1.4 Source de chaleur, soit un **bain d'huile**, soit **une enveloppe chauffante électrique**, munis d'un rhéostat ou de tout autre moyen de réglage du chauffage.

Il convient que la température de l'huile du bain ne soit pas beaucoup plus élevée que le point d'ébullition du toluène.

4.1.3.1.5 Fil de cuivre, assez long pour pouvoir traverser le réfrigérant, et ayant une extrémité tordue en spirale.

Le diamètre de la spirale doit lui permettre d'entrer juste dans la partie graduée du tube et ensuite de pouvoir s'y mouvoir de haut en bas.

4.1.3.2 Balance analytique, ayant une résolution de 0,001 g.

4.1.4 Préparation de l'échantillon pour essai

4.1.4.1 Vanille en gousses, vanille coupée et vanille en vrac

Préparer l'échantillon pour essai en coupant la vanille en morceaux de 5 mm au maximum, en prenant soin de ne pas modifier la teneur en eau.

4.1.4.2 Vanille en poudre

Mélanger soigneusement l'échantillon pour laboratoire.

4.1.5 Mode opératoire

4.1.5.1 Préparation de l'appareil

Nettoyer l'ensemble de l'appareil avec un mélange de dichromate de potassium et d'acide sulfurique, afin de réduire l'adhérence des gouttes d'eau sur les parois du réfrigérant et du tube récepteur. Rincer soigneusement à l'eau et sécher complètement avant l'emploi.

4.1.5.2 Prise d'essai

Peser, à 0,1 g près, environ 10 g de l'échantillon pour essai (4.1.4.1 ou 4.1.4.2), de manière que la quantité d'eau recueillie ne dépasse pas 4,5 ml.

4.1.5.3 Détermination

Transvaser quantitativement la prise d'essai (4.1.5.2) dans le ballon de distillation (4.1.3.1.1) en utilisant du toluène (4.1.2.1). Ajouter suffisamment de toluène (environ 75 ml au total) pour recouvrir complètement la prise d'essai, puis mélanger par un mouvement de rotation du ballon. Monter l'appareil et remplir le récepteur (4.1.3.1.3) avec le toluène, en le versant à travers le réfrigérant à reflux (4.1.3.1.2), jusqu'à ce qu'il commence à se déverser dans le ballon de distillation. Insérer, si nécessaire, un tampon lâche de coton en haut du réfrigérant ou y adapter un petit tube contenant du chlorure de calcium pour éviter la condensation de l'humidité atmosphérique dans le tube du réfrigérant.

Afin de régulariser le reflux, envelopper le ballon et le tube conduisant au tube récepteur avec un isolant thermique. Chauffer le ballon de façon que le débit du distillat soit environ de 100 gouttes par minute. Lorsque la plus grande partie de l'eau a été entraînée, augmenter la vitesse de distillation à environ 200 gouttes par minute et continuer jusqu'à ce que l'on ne recueille plus d'eau. Purger le réfrigérant à reflux de temps en temps pendant la distillation avec des fractions de 5 ml du toluène pour faire descendre, par rinçage, toute l'eau adhérent aux parois du réfrigérant.

L'eau du tube gradué peut être séparée du toluène, en passant de temps en temps une spirale de fil de cuivre de haut en bas dans le réfrigérant et le tube gradué, ce qui amène l'eau à se rassembler au fond du tube. Distiller à

reflux jusqu'à ce que le niveau de l'eau reste constant dans le tube durant 30 min, puis arrêter le chauffage. Laver le réfrigérant avec du toluène en utilisant la spirale de fil de cuivre pour enlever toute gouttelette d'eau adhérente, si nécessaire.

Immerger le tube dans l'eau à la température ambiante durant au moins 15 min ou jusqu'à ce que la couche de toluène soit limpide; ensuite, lire le volume d'eau.

4.1.6 Expression des résultats

La teneur en eau, w , exprimée en pourcentage en masse, est égale à:

$$w = \frac{100 V}{m}$$

où

V est le volume, en millilitres, d'eau recueillie;

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

Il est supposé que la masse volumique de l'eau est exactement de 1 g/ml.

4.2 Dosage de la vanilline, de l'acide vanillique, de l'aldéhyde 4-hydroxybenzoïque et de l'acide 4-hydroxybenzoïque dans la vanille en gousses, coupée, en vrac ou en poudre, par chromatographie liquide à haute performance (Méthode de référence)

4.2.1 Principe

Extraction et/ou dilution (selon le cas), puis dosage par chromatographie liquide à haute performance (CLHP), au moyen d'un étalon interne avec détection par spectrophotométrie ultraviolette.

4.2.2 Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de l'eau de pureté au moins égale.

4.2.2.1 Éthanol à 96 % (fraction volumique).

4.2.2.2 Méthanol.

4.2.2.3 Acide phosphorique dilué, $c(\text{H}_3\text{PO}_4) = 0,01 \text{ mol/l}$.

4.2.2.4 Phase mobile (à titre indicatif).

Mélanger 75 parties d'acide phosphorique dilué (4.2.2.3) avec 25 parties de méthanol (4.2.2.2). Filtrer sur membrane (4.2.3.3). Dégazer.

4.2.2.5 Étalons de référence, ayant une pureté minimale de 99 %.

4.2.2.5.1 Vanilline (4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde).

4.2.2.5.2 Acide vanillique (acide 4-hydroxy-3-méthoxybenzoïque).

4.2.2.5.3 Aldéhyde 4-hydroxybenzoïque.

4.2.2.5.4 Acide 4-hydroxybenzoïque.