

Huiles essentielles de bergamote, de citron, de bigarade et de limette complètement ou partiellement privées de bergaptène — Détermination de la teneur en bergaptène par chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

Norme Marocaine homologuée

Par décision du Directeur de l'Institut Marocain de Normalisation N°..... , publiée au B.O N°

La présente norme annule et remplace la NM ISO 7358 homologuée en 2008.

Correspondance

La présente norme est identique à l'ISO7358:2021.

Droits d'auteur

Droit 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 accord formel. Ce document est à usage exclusif et non collectif des clients de l'IMANOR, Toute mise en réseau, reproduction et rediffusion, sous quelque forme que ce soit, même partielle, sont strictement interdites.

Avant-Propos National

L'Institut Marocain de Normalisation (IMANOR) est l'Organisme National de Normalisation. Il a été créé par la Loi N° 12-06 relative à la normalisation, à la certification et à l'accréditation sous forme d'un Etablissement Public sous tutelle du Ministère chargé de l'Industrie et du Commerce.

Les normes marocaines sont élaborées et homologuées conformément aux dispositions de la Loi N° 12-06 susmentionnée.

La présente norme marocaine NM ISO 7358 a été examinée et adoptée par la Commission de Normalisation des huiles essentielles et autres extraits de plantes (126).

Projet de norme marocaine

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Réactifs	1
6 Appareillage	2
6.1 Matériel courant de laboratoire.....	2
6.2 Système de CLHP.....	3
7 Préparation de l'échantillon	3
8 Mode opératoire	3
8.1 Conditions opératoires.....	3
8.2 Détermination.....	3
8.2.1 CLHP en phase normale.....	3
8.2.2 CLHP en phase inverse.....	5
9 Calculs — CLHP en phase normale ou inverse	7
9.1 Méthode de l'étalon interne.....	7
9.2 Méthode de l'étalon externe.....	8
10 Fidélité — Répétabilité	8
11 Rapport d'essai	8
Annexe A (informative) Chromatogramme type des substances de référence par chromatographie liquide haute performance (CLHP) en phase inverse	9
Annexe B (informative) Spectre UV/VIS du bergaptène	10
Bibliographie	11

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document 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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 54, *Huiles essentielles*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 7358:2002), qui a fait l'objet d'une révision technique.

La principale modification par rapport à l'édition précédente est la suivante:

- ajout d'une méthode alternative utilisant une colonne en phase inverse.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Huiles essentielles de bergamote, de citron, de bigarade et de limette complètement ou partiellement privées de bergaptène — Détermination de la teneur en bergaptène par chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode d'analyse par chromatographie liquide haute performance (CLHP), en utilisant soit un étalon interne, soit un étalon externe, pour la détermination de la teneur en bergaptène des huiles essentielles de bergamote [*Citrus aurantium* ssp. *bergamia* (Risso et Poit.) Wight et Arn. ex Engl.], de citron [*Citrus limon* (L.) Burm. f.], de bigarade (*Citrus bigaradia* Risso) et de limette [*Citrus aurantiifolia* (Christm.) Swingle et *Citrus latifolia* Tanaka], complètement ou partiellement privées de bergaptène.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 356, *Huiles essentielles — Préparation des échantillons pour essai*

ISO 8432, *Huiles essentielles — Analyse par chromatographie liquide sous pression — Méthode générale*

3 Termes et définitions

Aucun terme n'est défini dans le présent document.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

4 Principe

Les teneurs en bergaptène des échantillons à doser sont déterminées après dilution par CLHP en phase inverse ou par CLHP en phase normale avec gradient d'élution, par une méthode d'étalonnage interne ou externe et une détection par spectromètre UV à barrettes de diodes.

5 Réactifs

Utiliser uniquement les réactifs de qualité analytique reconnue suivants.

5.1 Substance de référence: bergaptène (5-Méthoxyypsoralène), $C_{12}H_8O_4$, masse molaire = 216,19 g/mol de pureté connue ≥ 95 %.

5.2 Étalon interne: coumarine (1-Benzopyran-2-one), $C_9H_6O_2$, masse molaire = 146,14 g/mol de pureté connue ≥ 98 %.

ISO 7358:2021(F)

5.3 Solvants.

5.3.1 Solvants pour CLHP en phase normale.

5.3.1.1 Chloroforme, de pureté analytique, contenant moins de 2 % (fraction volumique) d'éthanol, à utiliser lors de la préparation de l'échantillon d'huile essentielle contenant du bergaptène, l'étalon interne et la phase mobile.

5.3.1.2 Hexane, de qualité CLHP, à utiliser dans la phase mobile ([5.3.1.4](#)).

5.3.1.3 Acétate d'éthyle, de qualité CLHP, à utiliser dans la phase mobile ([5.3.1.4](#)).

5.3.1.4 Phase mobile. Utiliser des solvants de qualité compatible avec le système de détection utilisé et les préparer en quantité suffisante pour l'ensemble de l'analyse. Préparer, à titre indicatif, un des mélanges suivants:

5.3.1.4.1 Hexane ([5.3.1.2](#)) et **acétate d'éthyle** ([5.3.1.3](#)), mélangés dans un rapport volumique de 80:20.

5.3.1.4.2 Hexane ([5.3.1.2](#)) et **chloroforme** ([5.3.1.1](#)), mélangés dans un rapport volumique de 85:15.

5.3.2 Solvants pour CLHP en phase inverse. Le solvant utilisé pour la phase mobile est un mélange ternaire préparé à partir de ces trois solvants ci-dessous, comme décrit dans le [Tableau 1](#) (voir [8.2.2.3](#)).

5.3.2.1 Eau distillée, de qualité CLHP, à utiliser dans la phase mobile ([5.3.1.4](#)).

5.3.2.2 Acétonitrile, de qualité CLHP, à utiliser dans la phase mobile ([5.3.1.4](#)).

5.3.2.3 Méthanol, de qualité CLHP, à utiliser dans la phase mobile ([5.3.1.4](#)).

5.3.2.4 Solvant de dilution, **méthanol** ([5.3.2.3](#)) et d'**acétonitrile** ([5.3.2.2](#)) mélangés dans un rapport volumique de 80:20.

6 Appareillage

Utiliser le matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Matériel courant de laboratoire

6.1.1 Fioles jaugées: 100 ml, 50 ml, 10 ml.

6.1.2 Pipettes Pasteur; pipettes jaugées: 1 ml, 5 ml, 10 ml et 20 ml; **micropipette:** 500 µl.

6.1.3 Seringues à usage unique.

6.1.4 Filtre PTFE: 0,45 µm.

6.1.5 Flacons pour injection en CLHP.

6.1.6 Balance de précision.

6.2 Système de CLHP

6.2.1 Chromatographe pour phase liquide.

6.2.2 Colonne pour CLHP en phase normale, en acier inoxydable, d'une longueur comprise entre 150 mm et 250 mm, de diamètre intérieur compris entre 4 mm et 5 mm et garnie d'une phase stationnaire de silice granulée de qualité CLHP, présentant une granulométrie voisine de 5 µm.

6.2.3 Colonne pour CLHP en phase inverse, en acier inoxydable, d'une longueur de 150 mm (ou 250 mm), de diamètre intérieur de 4,6 mm et garnie d'une phase stationnaire de type C18 présentant une granulométrie voisine de 3,5 µm (ou 5 µm), par exemple Zorbax Eclipse Plus¹⁾ C18; 3,5 µm (4,6 × 150) mm d'Agilent.

6.2.4 Système à pompe ternaire permettant la programmation de gradients de solvants.

6.2.5 Système de dégazage des solvants (facultatif), par exemple une cuve à ultrasons.

6.2.6 Système de détection, pouvant être réglé à des longueurs d'ondes de 254 nm ou de 312 nm, ou spectromètre UV à barrettes de diodes.

6.2.7 Enregistreur et intégrateur (facultatif), compatibles avec l'ensemble du système de CLHP.

7 Préparation de l'échantillon

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 356.

Dissoudre les éventuels dépôts solides en les chauffant modérément.

8 Mode opératoire

8.1 Conditions opératoires

Régler le débit de la phase mobile (5.3.1.4) de façon à ce que les pics correspondant au bergaptène et à la coumarine soient nettement séparés des autres constituants de l'huile essentielle détectables par le détecteur à UV (6.2.6). Typiquement, le débit se situe entre 1 ml/min et 1,5 ml/min.

Suivre le mode opératoire spécifié dans l'ISO 8432.

8.2 Détermination

8.2.1 CLHP en phase normale

8.2.1.1 Méthode de l'étalon interne

8.2.1.1.1 Optimisation des conditions chromatographiques pour CLHP en phase normale

8.2.1.1.1.1 Séparation

Vérifier sur les chromatogrammes obtenus que le bergaptène est bien séparé des autres constituants de l'huile essentielle. Vérifier ensuite que la coumarine (5.2) utilisée comme étalon interne ne masque pas,

1) Zorbax Eclipse Plus est un exemple d'un produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs du présent document et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

ISO 7358:2021(F)

ni ne coïncide avec, un quelconque constituant de l'huile essentielle. Déterminer les temps de rétention du bergaptène et de la coumarine.

8.2.1.1.1.2 Quantité d'étalon interne

La quantité de coumarine (étalon interne) ajoutée à l'échantillon est considérée comme adéquate lorsque les aires de pic du bergaptène (dans l'huile essentielle) et de la coumarine sont approximativement égales sur les chromatogrammes. Pour déterminer cette quantité, injecter dans le CLHP une solution (par exemple 10 µl) contenant une quantité connue (par exemple 10 mg) de coumarine (5.2) dissoute dans du chloroforme (5.3.1.1, par exemple 10 ml). Ensuite, injecter le même volume d'une solution de l'huile essentielle à doser dissoute dans du chloroforme (5.3.1.1). Ajuster la concentration en masse de ces deux solutions de manière à obtenir des aires de pic comparables.

8.2.1.1.2 Coefficient de réponse K

Préparer une solution d'étalonnage comme suit. Dans une fiole jaugée (6.1.1) de capacité appropriée, peser, à 0,1 mg près, environ 20 mg de coumarine (5.2). Dans la même fiole jaugée, peser, à 0,1 mg près, environ 10 mg de bergaptène (5.1), puis dissoudre les deux composés dans environ 20 ml de chloroforme (5.3.1.1).

Injecter une quantité adéquate (voir 8.2.1.1) de la solution d'étalonnage de façon à rester dans les limites de la gamme de sensibilité du détecteur.

Mesurer les aires des pics du chromatogramme. Un chromatogramme type des substances de référence est donné à l'Annexe A, Figure A.1 et le spectre d'absorbance du bergaptène est donné à l'Annexe B, Figure B.1.

Calculer le coefficient de réponse K à l'aide de la Formule (1):

$$K = \frac{m_R \cdot A_{IS}}{m_{IS} \cdot A_R} \quad (1)$$

où

m_R est la masse, en milligrammes, du bergaptène (substance de référence) (5.1) ajouté à la solution;

m_{IS} est la masse, en milligrammes, de la coumarine (étalon interne) (5.2) ajoutée à la solution;

A_R est l'aire du pic, en unités d'intégrateur, correspondant au bergaptène (substance de référence) (5.1);

A_{IS} est l'aire du pic, en unités d'intégrateur, correspondant à la coumarine (étalon interne) (5.2).

NOTE Dans l'ISO 8432, cette formule équivaut à la présentation suivante:

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

où

m_R est la masse, en milligrammes, du bergaptène (substance de référence) (5.1) ajouté à la solution;

m_E est la masse, en milligrammes, de la coumarine (étalon interne) (5.2) ajoutée à la solution;

A_R est l'aire du pic, en unités d'intégrateur, correspondant au bergaptène (substance de référence) (5.1);

A_E est l'aire du pic, en unités d'intégrateur, correspondant à la coumarine (étalon interne) (5.2).

8.2.1.1.3 Détermination de la teneur en bergaptène

Dans une fiole jaugée (6.1.1) de capacité appropriée (par exemple 15 ml), préparer la solution d'essai. Peser, à 0,1 mg près, une quantité adéquate de coumarine (m_{1S}) (environ 10 mg), comme déterminée en 8.2.2.1, et une quantité d'huile essentielle (m_S), de façon à obtenir un chromatogramme dans lequel l'aire du pic correspondant au bergaptène est sensiblement égale à celle correspondant au pic de la coumarine.

Ajouter du chloroforme (5.3.1.1, environ 8 ml) et agiter soigneusement pour dissoudre la coumarine.

La teneur en bergaptène des huiles essentielles varie d'un échantillon à l'autre, selon que l'échantillon est complètement ou partiellement privé de bergaptène. Par conséquent, il peut être nécessaire de préparer plusieurs dilutions de la solution d'essai, de façon à obtenir un chromatogramme présentant des aires des pics du bergaptène et de la coumarine comparables. Choisir le volume de la fiole jaugée, les quantités de coumarine et le volume de chloroforme permettant de répondre à cette exigence.

Dans les mêmes conditions opératoires de CLHP que celles établies en 8.2.1.1.1, injecter une quantité adéquate de la solution d'essai de façon à rester dans les limites de la gamme de sensibilité du détecteur.

Mesurer les aires des pics du chromatogramme.

Mesurer et consigner les aires des pics du chromatogramme correspondant au bergaptène (A_x) et à la coumarine (A_{1S}).

8.2.1.2 Méthode de l'étalon externe

Suivre le mode opératoire spécifié dans l'ISO 8432 relatif à la méthode de l'étalon externe.

8.2.2 CLHP en phase inverse

8.2.2.1 Préparation des solutions de référence destinées à l'étalonnage

8.2.2.1.1 Généralités

Pour chaque étalonnage, utiliser les solutions mères de bergaptène et de coumarine pour préparer la solution étalon. Conserver la solution étalon dans un endroit frais à 4 °C.

8.2.2.1.2 Solutions mères

Dans une fiole de 100 ml, peser exactement environ 50 mg de bergaptène et compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution. Homogénéiser la solution et la laisser 3 min dans le bac à ultrasons pour obtenir la solution mère. Cette solution mère contient environ exactement 500 mg/l de bergaptène.

Dans une fiole de 50 ml, peser exactement environ 50 mg de coumarine et compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant d'élution. Homogénéiser la solution et la laisser 3 min dans le bac à ultrasons pour obtenir la solution mère. Cette solution mère contient environ exactement 1 000 mg/l de coumarine.

8.2.2.1.3 Solutions filles

À partir des solutions mères, préparer une gamme étalon de huit points d'étalonnage de concentration en bergaptène suivantes: 1 mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l et 200 mg/l.

- 1 mg/l de solution étalon: dans une fiole de 50 ml, transférer 100 µl de solution mère de bergaptène et 5 ml de solution mère de coumarine puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution.
- 2,5 mg/l de solution étalon: dans une fiole de 50 ml, transférer 250 µl de solution mère de bergaptène et 5 ml de solution mère de coumarine puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution.

ISO 7358:2021(F)

- 5 mg/l de solution étalon: dans une fiole de 50 ml, transférer 500 µl de solution mère de bergaptène et 5 ml de solution mère de coumarine puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution.
- 10 mg/l de solution étalon: dans une fiole de 50 ml, transférer 1 ml de solution mère de bergaptène et 5 ml de solution mère de coumarine puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution.
- 25 mg/l de solution étalon: dans une fiole de 50 ml, transférer 2,5 ml de solution mère de bergaptène et 5 ml de solution mère de coumarine puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution.
- 50 mg/l de solution étalon: dans une fiole de 50 ml, transférer 5 ml de solution mère de bergaptène et 5 ml de solution mère de coumarine puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution.
- 100 mg/l de solution étalon: dans une fiole de 50 ml, transférer 10 ml de solution mère de bergaptène et 5 ml de solution mère de coumarine puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution.
- 200 mg/l de solution étalon: dans une fiole de 50 ml, transférer 20 ml de solution mère de bergaptène et 5 ml de solution mère de coumarine puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution.

Homogénéiser chaque solution étalon préparée en l'agitant puis en la filtrant sur un filtre en PTFE de 0,45 µm dans un flacon avant l'injection en CLHP.

8.2.2.2 Préparation d'échantillons d'huiles essentielles de citrus

Pour déterminer la teneur dans les huiles essentielles de citrus avec la gamme étalon réalisée précédemment ([8.2.2.1.3](#)), il est nécessaire de diluer les échantillons avant l'injection en CLHP.

Dans une fiole de 10 ml, peser exactement environ 0,3 g d'huile essentielle de bergamote et 1 ml de solution mère de coumarine ([8.2.2.1.2](#)). Compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution ([5.3.2.4](#)).

Pour les huiles essentielles à faible teneur en bergaptène, adapter la prise d'essai. Par exemple, dans une fiole de 10 ml, peser exactement environ 4 g d'huile essentielle de bergamote partiellement privée de bergaptène et peser exactement environ 1 ml de solution mère de coumarine. Compléter jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution ([5.3.2.4](#)).

Homogénéiser chaque échantillon préparé en l'agitant puis en le filtrant sur un filtre en PTFE de 0,45 µm dans un flacon avant l'injection en CLHP.

8.2.2.3 Détermination par CLHP et étalonnage interne de la teneur en bergaptène des huiles essentielles de bergamote

Conditions expérimentales de CLHP:

- Volume d'injection: 10 µl.
- Température du four: 25 °C.
- Débit d'éluant: 1 ml/min.
- Conditions de détection UV: système de détection UV à barrettes de diodes, longueur d'onde = 312 nm.

Le solvant d'éluant est décrit dans le [Tableau 1](#).

Tableau 1 — Phase mobile: le solvant d'élution est un mélange ternaire

Temps min	Eau %	Méthanol %	Acétonitrile %
0	65	30	5
25	32	63	5
35	0	63	37
37	65	30	5
40	65	30	5

9 Calculs — CLHP en phase normale ou inverse

9.1 Méthode de l'étalon interne

À l'aide de la [Formule \(2\)](#) et en utilisant le coefficient de réponse K déterminé en [8.2.1.1.2](#), calculer la fraction massique, w_x , exprimée en pourcentage, du bergaptène présent dans l'huile essentielle:

$$w_x = K \left(\frac{m_{IS} \cdot A_x}{m_s \cdot A_{IS}} \right) \times 100 \% \quad (2)$$

où

K est le coefficient de réponse calculé selon la [Formule \(1\)](#) (voir [8.2.1.1.2](#));

m_{IS} est la masse, exprimée en milligrammes, de la coumarine (étalon interne) ajoutée à l'échantillon pour essai (voir [8.2.1.1.3](#));

m_s est la masse, exprimée en milligrammes, de l'huile essentielle dans l'échantillon pour essai (voir [8.2.1.1.3](#));

A_x est l'aire de pic, exprimée en unités d'intégrateur, correspondant au bergaptène dans l'échantillon pour essai (voir [8.2.1.1.3](#));

A_{IS} est l'aire de pic, exprimée en unités d'intégrateur, correspondant à la coumarine (étalon interne) (voir [8.2.1.1.3](#)).

NOTE En 10.1 de l'ISO 8432:1987, la fraction massique, c_x , exprimée en pourcentage, du bergaptène présent dans l'huile essentielle, équivaut à la [Formule \(2\)](#) sous la présentation suivante:

$$c_x = \frac{A_x m_E K}{A_E m_x} \times 100 \%$$

où

A_x est l'aire de pic, exprimée en unités d'intégrateur, correspondant au bergaptène dans l'échantillon pour essai (voir [8.2.1.1.3](#));

A_E est l'aire de pic, exprimée en unités d'intégrateur, correspondant à la coumarine (étalon interne) (voir [8.2.1.1.3](#));

m_x est la masse, exprimée en milligrammes, de l'huile essentielle dans l'échantillon pour essai (voir [8.2.1.1.3](#));

m_E est la masse, exprimée en milligrammes, de la coumarine (étalon interne) ajoutée à l'échantillon pour essai (voir [8.2.1.1.3](#));

K est le coefficient de réponse calculé selon la [Formule \(1\)](#) (voir [8.2.1.1.2](#)).

ISO 7358:2021(F)**9.2 Méthode de l'étalon externe**

Calculer la teneur en bergaptène conformément à l'ISO 8432.

10 Fidélité — Répétabilité

Pour K et pour l'expression des résultats (%), prendre la valeur moyenne de plusieurs essais (trois au minimum) effectués sur le même échantillon. Les différentes valeurs (K ou %) prises en considération pour effectuer cette moyenne ne doivent pas s'écarter au-delà de $\pm 5\%$.

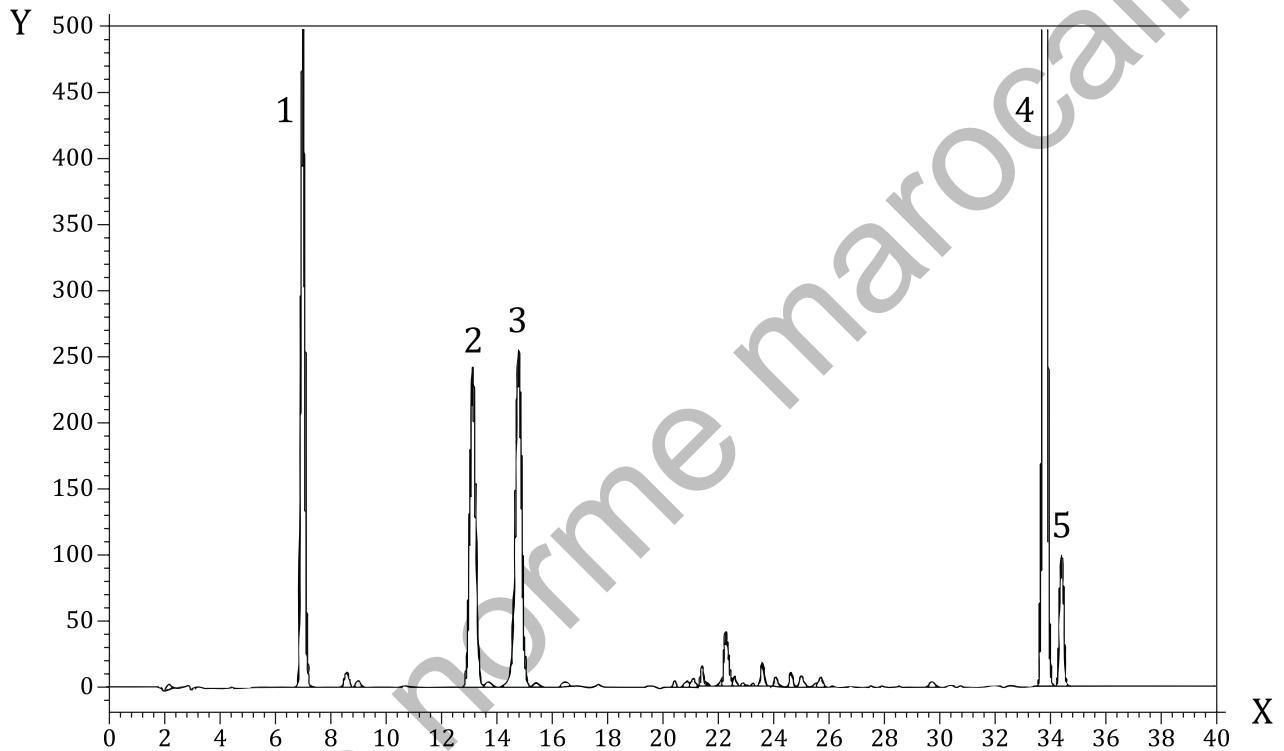
11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes:

- a) les détails relatifs au système CLHP;
- b) une référence au présent document, c'est-à-dire ISO 7358:2021;
- c) les caractéristiques de la colonne (matériau, dimensions, remplissage, phase stationnaire);
- d) les caractéristiques du détecteur (facultatif) et ses conditions d'utilisation;
- e) les caractéristiques de la phase mobile (débit et nature);
- f) l'identification de l'échantillon pour essai (quantité injectée et dilution finale);
- g) les résultats obtenus;
- h) la date de l'essai.

Annexe A (informative)

Chromatogramme type des substances de référence par chromatographie liquide haute performance (CLHP) en phase inverse



Identification des pics

- 1 Coumarine
- 2 Citroptène
- 3 Bergaptène
- 4 Bergamottine
- 5 5-Géranyleoxy-7-méthoxycoumarine

Conditions opératoires

Selon les conditions expérimentales de CLHP en [8.2.2.3](#)

Légende

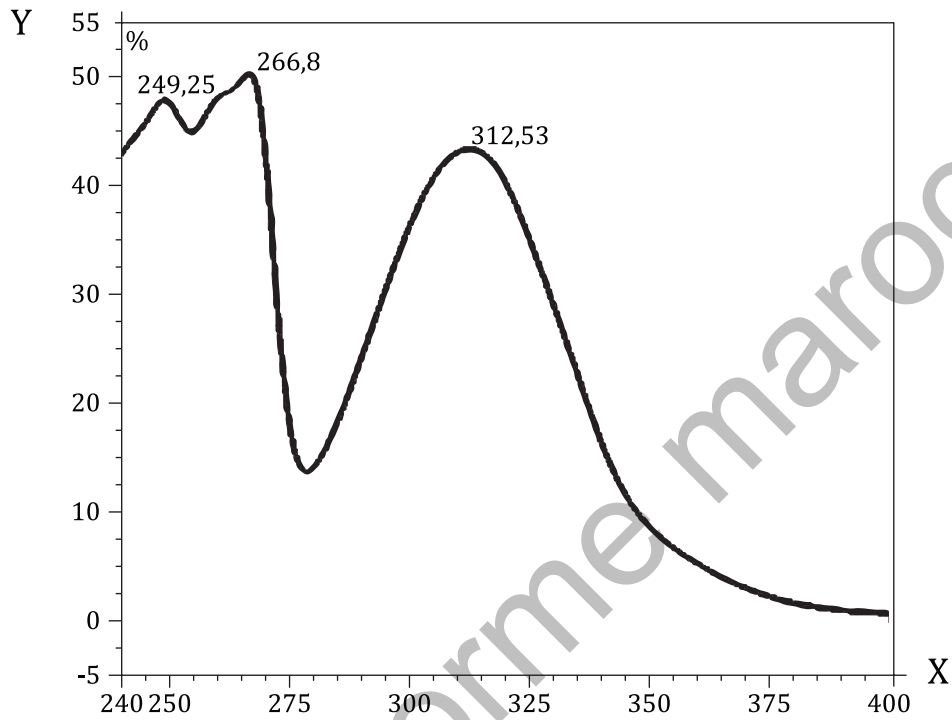
X temps (min)

Y absorbance (mAU)

Figure A.1 — Chromatogramme type des substances de référence par chromatographie liquide haute performance (CLHP) en phase inverse

Annexe B (informative)

Spectre UV/VIS du bergaptène



Légende

Y absorbance normalisée (%)

X longueur d'onde (nm)

Figure B.1 — Spectre UV/VIS du bergaptène

Bibliographie

- [1] ISO 3218, *Huiles essentielles — Principes de nomenclature*
- [2] ISO 4720, *Huiles essentielles — Nomenclature*
- [3] ISO/TR 11018, *Huiles essentielles — Directives générales pour la détermination du point d'éclair*
- [4] ISO/TR 21092, *Huiles essentielles — Caractérisation*
- [5] MACMASTER AP, OWEN N, BREVARD H, HISERODT R, LEIJS H, BAST N, WEBER B, LOESING G, SHERLOCK A, SCHIPPA C, VEY M, FREROT E, TISSOT E, CHAINTREAU A A Quantification of selected furocoumarins by high-performance liquid chromatography and UV detection: Capabilities and limits. *Journal of chromatography*. 2012, 1257, 34-40

Projet de norme marocaine