

# OLI ESSENZIALI

## NORMAZIONE, CARATTERIZZAZIONE E STANDARDIZZAZIONE

*Parte seconda*

*Prosegue il percorso nella complessa normativa dedicata agli oli essenziali, attraverso le norme ISO che definiscono i requisiti di qualità chimici e fisici di queste importanti materie prime e i metodi analitici per la loro determinazione.*

\* **Giuseppe Salvatore**

L'argomento, per le finalità e la condivisione degli obiettivi da parte di tutti i paesi che riconoscono una propria istituzione di normazione, come rappresentativa e operativa in seno alla commissione internazionale ISO TC 54, è stato oggetto di una presentazione introduttiva già pubblicata<sup>1</sup>. In questa, gli oli essenziali sono stati menzionati tra le fonti di sostanze naturali aromatiche (Vocabulary, ISO 9325:2013; **tabella 1**) (5).

Qui, si parlerà delle singole norme ISO, suggerendone una possibile suddivisione (**A - D**) e tabulazione (**tabelle da 1 - 5**), al solo fine di indirizzo e per agevolare questo *excursus* sui requisiti di qualità, fisici e chimici, degli oli essenziali e sui relativi metodi di determinazione. Nelle note a fondo articolo sono date definizioni e informazioni di utilità su ciascuna norma. Il sito ISO:

[http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue\\_tc/catalogue\\_tc\\_browse.htm?commid=48956](http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_tc_browse.htm?commid=48956)

è stato di riferimento per quanto liberamente accessibile in rete e qui utilizzato, avendone avuto l'opportuno nulla osta. La consultazione completa in rete o l'acquisto delle norme in formato cartaceo è possibile, come già segnalato, con le modalità stabilite da ISO e in Italia da UNI.

#### **A. Norme generali (tabella 2)**

a) relative ai *termini e definizioni* delle materie prime naturali aromatiche e prodotti derivati (Vocabulary, ISO 9325:2013),

le cui correlazioni grafiche e tabellari sono state già riferite nella **tabella 1** della prima nota;

b) norme sulle *informazioni necessarie per la corretta caratterizzazione e nomenclatura* degli oli essenziali, ISO/TR 21092 e ISO 4720:2009 rispettivamente. Nella prima, testualmente è detto che "*Characterization of essential oils by using a single code (for instance, CAS number) would not be complete and it could lead to some confusion*". Infatti, si osserva che in vari contesti (CAS-USA, EINECS, CAS EINECS, FEMA, CE e numeri FDA<sup>2</sup>), nel definire l'identità di un olio sono utilizzati codici numerici e, purtroppo, in modo non appropriato. Ciò, come si è visto, anche in ambito REACH e CLP (2). I nomi botanici, dunque, sono da preferire e utilizzabili secondo i principi di nomenclatura riportati nell'ISO 3218:1976<sup>3</sup>. La consultazione in Internet della ISO 4720:2009 è suggerita, perché fornisce un elenco in ordine alfabetico dei nomi botanici (binomiali latini/autore/varietà e sinonimi) delle principali piante utilizzate per la produzione di oli essenziali (n. 167), la famiglia botanica, il nome comune dell'olio essenziale ("*Oil of...*" oppure "*Essential oil of....*"), i codici numerici delle ISO, la parte di pianta utilizzata ed eventualmente l'indicazione geografica di origine;

c) norme relative ai *contenitori (packaging)* di oli essenziali: - i cui requisiti e raccomandazioni per il *condizionamento (conditioning)* e l'*immagazzinamento (storage)* tengono conto della destinazione d'impiego (alimenti, prodotti farmaceutici, cosmetici, profumeria, campioni di riferimento

o di prova, materie prime industriali) e della conformità alle normative nazionali, europee e internazionali (ISO/TS 210:2014);

- la cui *etichettatura (labeling)* e *marcatura (marking)* debbono consentire l'individuazione dei contenuti (ISO/TS 211:2014).

#### **B. Norme per la preparazione del campione e l'analisi dei parametri chimico-fisici (tabella 3)**

a) relative al *campionamento (sampling)* di oli essenziali in quantità rappresentative di partite da cui gli stessi provengono senza modifiche della composizione originaria; ciò per la determinazione delle caratteristiche organolettiche, fisiche e chimiche<sup>5</sup> (ISO 212:2007);

b) relative alla preparazione del *campione di prova* da sottoporre ad analisi di laboratorio (ISO 356:1996)<sup>6</sup>;

c) relative alla determinazione di *parametri chimico-fisici*: densità relativa (ISO 279:1998)<sup>7</sup>; indice di rifrazione (ISO 280:1998)<sup>8</sup>; rotazione ottica (ISO 592:1998)<sup>9</sup>; miscibilità in etanolo (ISO 875:1991)<sup>10</sup>; punto di congelamento (ISO 1041:1973)<sup>11</sup>; valore CD mediante spettrometria UV (4735:2002)<sup>12</sup>; punto di infiammabilità (ISO/TR 11018:1997)<sup>13</sup>.

#### **C. Norme sui metodi di determinazione di parametri chimici e di specifiche sostanze (tabella 4)**

a) I *metodi generali* riguardano principalmente la *gas cromatografia (GC)* con colonne impaccate (ISO 7359:1985)<sup>14</sup>, colonne capillari (ISO 7609:1985)<sup>14</sup> e colonne chirali (ISO 22972:2004)<sup>15</sup>. La standardizzazione dei metodi gas

cromatografici con colonna capillare per l'individuazione dei componenti rappresentativi e caratteristici e la ricerca dei gas cromatogrammi tipici e del profilo gas cromatografico di un olio essenziale è oggetto della ISO 1124-Part 1 e Part-2:1998<sup>14</sup>. La ISO 8432:1987<sup>14</sup> tratta la *cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC)*, il cui ricorso per gli stessi fini, però, è comparativamente minore rispetto alla precedente tecnica.

- b) I *parametri chimici* seguenti, unitamente al gas cromatogramma tipico e al profilo gas cromatografico, sono espressione di qualità di un olio essenziale: indice di acidità (ISO 1242:1999)<sup>18</sup>; indice di esteri (ISO 709:2001)<sup>16</sup>; indice di esteri, prima e dopo acetilazione, e contenuto libero e totale di alcoli (ISO 1241:1996)<sup>17</sup>; indice di esteri per oli contenenti esteri difficili da saponificare (ISO 7660:1983)<sup>23</sup>; alcoli terziari (ISO 3794:1976)<sup>21</sup>; indice di carbonile (ISO 1271:1983; ISO 1279:1996)<sup>19</sup>; fenoli (ISO 1272:2000)<sup>20</sup>; residuo all'evaporazione (ISO 4715:1978)<sup>22</sup>; contenuto d'acqua (ISO 11021:1999)<sup>24</sup>; indice di perossidi (ISO 21093:2003)<sup>25</sup>.
- c) *determinazione di singole sostanze* (esempi tra quelle rappresentative): citrale (nerale + geraniale) (ISO 3214:2000 e 3217:1974); acido glicirrizico (ISO 11023:1999)<sup>26</sup>; bergaptene (ISO 7358:2002)<sup>25</sup>; residui di benzene (ISO 14714:1998)<sup>27</sup>; contenuto di etanolo (ISO 17494:2001)<sup>28</sup>; *trans*-cinnamaldeide (ISO 3216:1997, ISO 11025:1998); irone (ISO 18054:2004); carotenoidi totali (ISO 9910:1991); cedrolo (ISO 4724:2004); geraniolo (ISO 4727:1988); mentolo (ISO 9776:1999).

ISO TC 54	
ISO/TS 210:2014	Essential oils – General rules for packaging, conditioning and storage
ISO/TS 211:2014	Essential oils – General rules for labelling and marking of containers <sup>4</sup>
ISO 3218:1976	Essential oils – Principles of nomenclature <sup>3</sup>
ISO 4720:2009	Essential oils – Nomenclature
ISO 9235:2013	Aromatic natural raw materials – Vocabulary (5) <sup>1</sup>
ISO/TR 21092:2004	Essential oils – Characterization

Tabella 2. Norme generali ISO TC 54: termini, definizioni, caratterizzazione e nomenclatura.

ISO TC 54	
ISO 212:2007	Essential oils – Sampling <sup>5</sup>
ISO 356:1996	Essential oils – Preparation of test samples <sup>6</sup>
ISO 279:1998	Essential oils – Determination of relative density at 20° C – Reference method <sup>7</sup>
ISO 280:1998	Essential oils – Determination of refractive index <sup>8</sup>
ISO 592:1998	Essential oils – Determination of optical rotation <sup>9</sup>
ISO 875:1999	Essential oils – Evaluation of miscibility in ethanol (and opalescence) <sup>10</sup>
ISO 1041:1973	Essential oils – Determination of freezing point <sup>11</sup>
ISO 4735:2002	Oils of Citrus – Determination of CD value by ultraviolet spectrometric analysis <sup>12</sup>
ISO/TR 11018:1997	Essential oils – General guidance on the determination of flashpoint <sup>13</sup>

Tabella 3. Norme per la preparazione del campione e l'analisi dei parametri chimico-fisici

#### D. Norme specifiche per singoli oli essenziali (tabella 5)

La norma tipo è così strutturata: Premessa. 1 Campo di applicazione. 2 Riferimenti normativi. 3 Termini e definizioni. 4 Specificazioni. 4.1 Aspetto. 4.2 Colore. 4.3 Odore. 4.4 Densità relativa a 20 °C. 4.5 Indice di rifrazione a 20 °C. 4.6 Rotazione ottica a 20 °C. 4.7 Solubilità in etanolo a 20 °C. 4.8 Indici e parametri chimici tra quelli del paragrafo C precedente. 4.9 Profilo cromatografico. 4.10 Punto di infiammabilità. 5 Campionamento. 6 Metodi di analisi. 7 Imballaggio, etichettatura, marcatura e stoccaggio. *Allegati*: - Figure con cromatogrammi tipici di uno o più campioni di olio essenziale con stessa denominazione, eventualmente di tipo o provenienza diversa, effettuati generalmente nelle diverse modalità gascromatografiche con colonne impaccate, capillari, polari, apolari o chirali e raramente mediante cromatografia liquida ad alta risoluzione; - Tabelle con il profilo cromatografico.

La tabulazione che apparirà nel

prossimo numero di Natural I, mostrerà l'elenco completo degli oli essenziali normalizzati, individuati dal codice numerico ISO TC 54, suddivisi per famiglia botanica della pianta e parti di essa da cui gli stessi derivano e per ciascuno di essi i dati identificativi e altre informazioni, in aggiunta a quelle fin qui date per quanto riguarda i requisiti di qualità, fisici e chimici, e dei relativi metodi di determinazione. Queste informazioni possono essere di utilità ed eventualmente di guida per il lettore che volesse approfondire un argomento per lui di particolare interesse.

*È gradito rinnovare un sentito ringraziamento al Dott. Alberto Monteverdi, Head of Communication Area dell'UNI Ente Nazionale Italiano di Unificazione, al Dott. Giampiero Bellini e al Dott. Giovanni Perego, rispettivamente Presidente e Direttore dell'UNICHIM Associazione per l'Unificazione nel settore dell'Industria Chimica, per la sensibilità dimostrata nell'aver espresso il*

ISO TC 54	
ISO 7359:1985	Essential oils – Analysis by gas chromatography on packed columns – General method <sup>14</sup>
ISO 7609:1985	Essential oils – Analysis by gas chromatography on capillary columns – General method <sup>14</sup>
ISO 8432:1987	Essential oils – Analysis by high performance liquid chromatography – General method <sup>14</sup>
ISO 11024-1:1998	Essential oils – General guidance on chromatographic profiles – Part 1: Preparation of chromatographic profiles for presentation in standards <sup>14</sup>
ISO 11024-2:1998	Essential oils – General guidance on chromatographic profiles – Part 2: Utilization of chromatographic profiles of samples of essential oils <sup>14</sup>
ISO 22972:2004	Essential oils – Analysis by gas chromatography on chiral capillary columns – General method <sup>15</sup>
ISO 709:2001	Essential oils – Determination of ester value <sup>16</sup>
ISO 1241:1996	Essential oils – Determination of ester value, before and after acetylation, and evaluation of the contents of free and total alcohols <sup>17</sup>
ISO 1242:1999	Essential oils – Determination of acid value <sup>18</sup>
ISO 1271:1983	Essential oils – Determination of carbonyl value – Free hydroxylamine method <sup>19</sup>
ISO 1272:2000	Essential oils – Determination of content of phenol <sup>20</sup>
ISO 1279:1996	Essential oils – Determination of carbonyl value – Potentiometric method using hydroxylammonium chloride <sup>19</sup>
ISO 3794:1976	Essential oils (containing tertiary alcohols) – Estimation of free alcohols content by determination of ester value after acetylation <sup>21</sup>
ISO 4715:1978	Essential oils – Quantitative evaluation of residue on evaporation <sup>22</sup>
ISO 7660:1983	Essential oils – Determination of ester value of oils containing difficult-to-saponify esters <sup>23</sup>
ISO 11021:1999	Essential oils – Determination of water content – Karl Fisher method <sup>24</sup>
ISO 21093:2003	Oil of dwarf pine ( <i>Pinus mugo</i> Turra), mainly growing in the Alps - Determination of peroxide value <sup>25</sup>
ISO 3214:2000	Oil of Litsea cubeba – Determination of citral content (neral + geranial) by gas chromatography using internal standard method
ISO 3216:1997 e ISO 11025:1998	Oil of cassia, Chinese type ( <i>Cinnamomum aromaticum</i> Nees, syn. <i>Cinnamomum cassia</i> Nees ex Blume) – Determination of <i>trans</i> -cinnamaldehyde content – Gas chromatographic method on capillary columns
ISO 3217:1974	Oil of lemongrass [ <i>Cymbopogon citratus</i> (A.P Candolle) Stapf.] – Determination of carbonyl compounds, expressed as citral
ISO 4724:2004	Oil of cedarwood, Virginian ( <i>Juniperus virginiana</i> L.) – Determination of tertiary alcohol, expressed as cedrol, applying the methods ISO 3794:1976 and ISO 7660:1983
ISO 4727:1988	Oil of palmarosa [ <i>Cymbopogon martinii</i> (Roxburgh) W. Watson var. <i>notia</i> ] – Determination of free alcohols content, expressed as geraniol, applying the methods ISO 709:2001 e ISO 1241:1996
ISO 7358:2002	Oils of bergamot, lemon, citron and lime, fully or partially reduced in bergapten – Determination of bergapten content by high-pressure liquid chromatography (HPLC) <sup>26</sup>
ISO 9776:1999	Oil of <i>Mentha arvensis</i> , partially dementholized ( <i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> Maliv. and var. <i>glabrata</i> Holmes) – Determination of menthol, applying the methods ISO 709:2001 and ISO 1241:1996
ISO 9910:1991	Oil of sweet orange – Determination of the total carotenoids content
ISO 11023:1999	Liquorice extracts ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.) – Determination of glycyrrhizic acid content – Method using high-performance liquid chromatography <sup>27</sup>
ISO 14714:1998	Essential oils and aromatic extracts – Determination of residual benzene content <sup>28</sup>
ISO 17494:2001	Aromatic extracts, flavouring and perfuming compounds - Determination of ethanol content – Gas chromatographic method on packed and capillary columns <sup>29</sup>
ISO 18054:2004	Oils of orris rhizome ( <i>Iris pallida</i> Lam. or <i>Iris germanica</i> L.) <sup>30</sup> – Determination of irone content – Method using gas chromatography on a capillary column

Tabella 4. Metodi generali e norme per la determinazione di parametri chimici e di specifiche sostanze

nulla osta per la pubblicazione di questo articolo.

Continua sul prossimo fascicolo

\* **Accademia di Storia dell'Arte Sanitaria, già Dirigente di Ricerca dell'Istituto Superiore di Sanità**

### Bibliografia

(continuazione di quella della prima parte)  
5. G. Salvatore. Normazione, caratterizzazione e standardizzazione. Parte prima, Natural 1, anno XV, n. 140, 74-79, marzo 2015. Sitografia citata nel testo.

## NOTE

<sup>1</sup> La prima parte della nota è stata pubblicata su *Natural* 1, anno XV, n. 140, pag. 74, marzo 2015. La numerazione delle tabelle e della bibliografia, qui, continua con la stessa sequenza.

<sup>2</sup> CAS: Chemical Abstract Service; EINECS: European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances; FEMA: Flavour Extract Manufacturing Association; FDA: Food and Drug Administration; EC: European Council.

<sup>3</sup> Il nome della pianta comunemente accettato (trivial name) dovrebbe seguire l'espressione "Oil of ..." (in disuso) oppure "Essential oil of ..." (come ora preferito da ISO; vedi la definizione 2.11 nella tabella 1). Quando il nome comune non esiste, dovrebbe essere utilizzato il nome completo botanico (binomiale latino, autore, varietà). Se più di una parte della pianta può essere usata per l'estrazione dell'olio essenziale, il nome della parte utilizzata dovrebbe seguire il nome comune della pianta.

<sup>4</sup> La differenza tra i due termini consiste nel diverso modo di caratterizzare e individuare il contenuto, mediante: *a*) etichetta, collana, scritta, non facente parte del contenitore (*labelling*); *b*) marchio, timbro, figura, facente parte del contenitore (*marking*).

<sup>5</sup> Definizioni: *a*) consegna (*delivery*): quantità di olio essenziale, inviata in una sola volta, oggetto di uno specifico contratto o documento di consegna; *b*) partita (*batch*): quantità accertata di olio essenziale, avente caratteristiche uniformi e costituita da uno o più contenitori; *c*) contenitore (*container*): recipiente contenente tutto o parte dell'olio essenziale da campionare; *d*) porzione (*increment*): quantità di olio essenziale prelevata una sola volta in un punto del contenitore da campionare; *e*) campione (*sample*): quantità di olio essenziale ottenuta miscelando più porzioni prelevate da un contenitore.

<sup>6</sup> Si applica a quegli oli essenziali che non possono essere analizzati direttamente, perché solidi o parzialmente solidi a temperatura ambiente o perché torbidi per la presenza di acqua o particelle in sospensione.

<sup>7</sup> *Densità relativa*,  $d_4^{20}$  a 20 °C (pienometro): rapporto (adimensionale) tra la massa di un dato volume di olio a 20 °C e la massa di un uguale volume di acqua distillata a 20 °C. *Densità assoluta* a 20 °C,  $\rho$  g/mL: rapporto tra la massa di un dato volume di olio a 20 °C e lo stesso volume. L'eventuale correzione media da apportare alla misura effettuata ad altra temperatura, prossima a 20 °C, è da 0,0007 a 0,0008 per grado Celsius.

<sup>8</sup> *Indice di rifrazione*,  $n_D$  (rifrattometro): rapporto tra il seno dell'angolo di incidenza e il seno dell'angolo di rifrazione di un raggio di luce di data lunghezza d'onda che passa dall'aria all'olio essenziale mantenuto a temperatura costante. La lunghezza d'onda è di 589,3 nm  $\pm$  0,3 nm, corrispondente alle righe D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> dello spettro del sodio.

<sup>9</sup> *Rotazione ottica di un olio essenziale*,  $\alpha_D$  (polarimetro): angolo, in milliradianti e/o gradi di angolo, descritto dal piano di polarizzazione di una radiazione luminosa di lunghezza d'onda di 589,3 nm  $\pm$  0,3 nm, corrispondente alla linea D del sodio, quando tale radiazione attraversa uno spessore di 100 mm di olio essenziale mantenuto a una data temperatura. La misura effettuata a differenti spessori è rapportata a 100 mm.

*Rotazione specifica di una soluzione di olio essenziale*,  $\alpha$ : rapporto tra la rotazione ottica di una soluzione di olio essenziale  $\alpha_D$ , e la sua massa nell'unità di volume (misurate a temperatura ambiente nel caso di campioni solidi, parzialmente solidi o altamente viscosi o molto colorati).

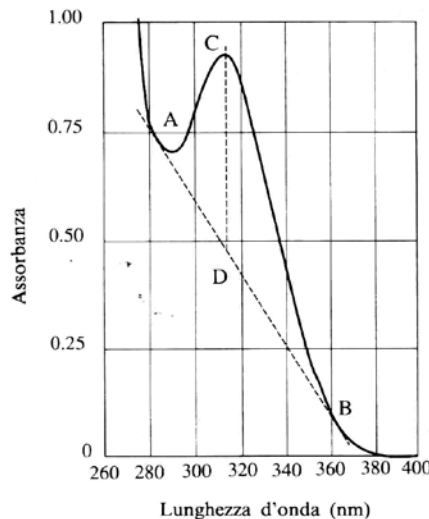
<sup>10</sup> Il metodo consente la *valutazione della solubilità* di un dato volume di un olio essenziale (solitamente 1 mL) nel corso di una aggiunta graduale di una miscela acquosa di etanolo di nota concentrazione (massimo 20 mL) fino a dissoluzione completa e ottenimento di una soluzione limpida. In alcuni casi, per effetto della diluizione, si ha comparsa di intorbidamento o opalescenza della miscela, che però sparisce o meno continuando ad aggiungere la soluzione alcolica per un massimo di 20 mL. I volumi di soluzione alcolica che determinano la dissoluzione completa della miscela e/o della comparsa/scomparsa dell'intorbidamento od opalescenza, sono registrati. Il saggio è condotto a 20 °C  $\pm$  0,2 °C; il titolo dell'etanolo varia da 50 % a 95 % (in volume) e il volu-

me di acqua distillata da aggiungere a 100 mL di etanolo 95% è tabulato per ogni possibile prova. A seconda dei casi la solubilità di un olio essenziale in etanolo di data concentrazione è espressa come segue:

- 1 volume di olio essenziale in V volumi di etanolo di data percentuale (in volume);
- 1 volume di olio essenziale in V volumi di etanolo di data percentuale (in volume) con intorbidamento a V' volumi di etanolo alla stessa percentuale;
- 1 volume di olio essenziale in V volumi di etanolo di data percentuale (in volume) con intorbidamento tra V' e V'' volumi di etanolo di stessa percentuale;
- se appare opalescenza, questa si esprime come "maggiore", "uguale" o "minore" di quella di una soluzione di riferimento di AgNO<sub>3</sub>, preparata di fresco in modo standardizzato.

Di seguito si indicano le percentuali in volume di etanolo utilizzate a 20 °C per la valutazione della solubilità degli oli essenziali normalizzati:

- **95%**: Oil of black pepper, ISO 3061:2008; Oil of cananga, ISO 3523:2002; Oil of cedarwood, Virginian, ISO 4724:2004; Oil of juniper berry, ISO 8897:2010; Oil of cedarwood, Chinese type, ISO 9843:2002; Oil of magnolia flower, ISO 17382:2007; Oil of lime expressed, production area USA, Mexico and Brasil, ISO 23954:2009.
- **90%**: Essential oil of molle, Argentinean type, ISO 16385:2014; Oil of nutmeg, Indonesian type, ISO 3215:1995; Essential oil of aniseed, ISO 3475:2002; Essential oil of mandarin, ISO 3528:2012; Oil of celery seed, ISO3760:2002; Oil of cedarwood, Texas, ISO 4725:2004; Oil of tarragon, ISO 10115:2013; Oil of fir needle, Siberian, ISO 10869:2010; Oil of star anise, 11016:1999; Essential oil of molle, Argentinean type, ISO 16385:2014; Oil of dwarf pine, ISO 21093:2003; Oil of gum turpentine, ISO 21389:2004.
- **85%**: Essenzial oil of neroli, ISO 3517:2012; Oil of parsley fruits, ISO 3527:2000; Oil of melaleuca, terpinen-4-ol type, Tea tree oil, ISO 4730:2004; Oil of mandarin petitgrain, ISO 8898:2003; Oil of lemon petitgrain, ISO 8899:2003; Oil of roots of lovage, ISO11019:1998.
- **80%**: Oil of amyris, ISO 3525:2008; Oil of sage, Spanish, ISO 3526:2005; Oil of citronella, Java type, ISO 3848:2001; Oil of citronella, Sri Lankan type, ISO 3849:2003; Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013; Oil of cumin seed, ISO 9301:2003; Oil of Dalmatian sage, ISO 9909:1997; Oil of basil, methyl chavicol type, ISO 11043:1998; Oil of thyme containing thymol, Spanish type, ISO 14715:2010; Oil of wintergreen redistilled, China, ISO 21390:2005.
- **70% o 75%**: Oil of lavender, ISO 3515:2002.
- **70%**: Crude or rectified oils of *Eucalyptus globulus*, ISO 707:2002; Oil of eucalyptus, Australian type, containing a volume fraction of 80-85% of 1,8-cineole, ISO 3065:2011; Oil of peppermint, ISO 856:2006; Oil of spearmint Native type, Chinese type, Indian type, and Scotch variety, ISO 3033-1-2-3-4:2005; Oil of lavandin Abrial, French type, ISO 3054:2001; Oil of Litsea cubeba, ISO 3214:2000; Oil of cassia, Chinese type, ISO 3216:1997; Oil of lemongrass, se distillato di fresco, altrimenti la solubilità diminuisce con il tempo e l'olio diventa insolubile con etanolo al 90% (V/V), ISO 3217:1974; Oil of sandalwood, ISO 3518:2002; Oil of cinnamon leaf, Sri Lanka type, ISO 3524:20003; Oil of lemongrass, ISO 4718:2004; Essential oil of spike lavender, ISO 4719:2012; Oil of palmarosa, ISO 4727:1988; Oil of wild marjoram, ISO 4728:2003; Oil of pimento leaf, ISO 4729:1984; Essential oil of gèranium, ISO 4731:2012; Oil of cardamom, ISO 4733:2004; Oil of bergamot petitgrain, ISO 8900:2005; Oil of bitter orange petitgrain, ISO 8901:2003; Oil of Dalmatian sage, ISO 9909:1997; Oil of origanum, ISO 14717:2008; Oil of Australia sandalwood, ISO 22769:2009.
- **60%**: Oil of rosewood, ISO 3761:2005.
- <sup>11</sup> *Punto di congelamento*: temperatura costante o temperatura massima, osservate quando l'olio essenziale, in uno stato liquido super-raffreddato, libera il suo calore latente di fusione. L'apparecchiatura consente il raffreddamento lento e progressivo dell'olio essenziale e l'osservazione delle variazioni di temperatura nel passaggio dell'olio dallo stato liquido allo stato solido. Citazioni ISO: Oil of aniseed, ISO 3475:2002; Oil of rose, ISO 9842:2003; Oil of star anise, Chinese type,



ISO 11016:1999; Oil of bitter fennel, ISO 17412:2007; Essential oil of rose, Chinese Kushui type, ISO 25157:2013.

<sup>12</sup> **Valore CD nell'UV** (spettrofotometro): misura del segmento CD, espresso in unità di assorbanza a una data lunghezza d'onda, di una massa esatta di olio essenziale del genere *Citrus*. Si ottiene individuando sulla curva di assorbimento/lunghezza d'onda (vedi figura a lato) un punto di massima assorbanza C, tra due punti di minima assorbanza A e B. Si traccia, poi, la tangente comune a questi ultimi due punti, e la parallela all'asse delle assorbanze passante per il punto C fino a individuare il punto d'inserzione D sulla tangente stessa. Il segmento CD, quale differenza tra due valori di assorbanza (massimo in C e minimo in D) è caratteristico per le varie specie di oli essenziali di *Citrus*. Per esempio, tale valore è generalmente compreso tra 0,20 e 0,96 e per l'essenza di limone tipo Italia non è inferiore a 0,45 alla lunghezza d'onda del massimo assorbimento a  $315 \pm 3$  nm. Citazioni ISO: Oil of lemon, ISO 855:2003; Oil of bergamot, ISO 3520:1998; Oil of lime (cold pressed), Mexican type, ISO 3809:2004; Oil of lime expressed, Persian type, ISO 23954:2009.

<sup>13</sup> **Punto di infiammabilità**: temperatura alla quale il liquido di prova posto in un recipiente chiuso alla pressione di 101,325 kPa e nelle condizioni definite dal metodo, emette vapori che insieme all'aria producono una miscela infiammabile nel recipiente di prova. Poiché esistono numerosi metodi di misura, e non essendo possibile adottarne uno valido in ogni caso, ciascuna norma relativa a un determinato olio essenziale contiene un apposito allegato esplicativo del metodo più appropriato.

<sup>14</sup> Le **tecniche analitiche cromatografiche di separazione** dei componenti di un campione tra due fasi non miscibili tra loro si differenziano per la natura delle fasi stesse, una mobile e l'altra stazionaria che, sia nel caso della **gas cromatografia (GC)** che della **cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC, High performance liquid chromatography)**, è contenuta in una speciale colonna. Lungo questa colonna le sostanze, trasportate dalla fase mobile, si distribuiscono e si separano selettivamente e sequenzialmente secondo meccanismi di adsorbimento, di distribuzione di massa (ripartizione), di esclusione, in funzione anche delle differenze delle proprietà chimico-fisiche e stereochimiche delle molecole stesse. In particolare, la GC è la tecnica di elezione per l'analisi delle sostanze che possono essere volatilizzate alle temperature utilizzate; per questo la fase mobile è gassosa (p.e., elio). L'apparecchio nelle sue parti essenziali è costituito da un iniettore, una colonna che è assemblata all'interno di un forno a temperatura di esercizio programmabile, un sistema di erogazione del gas di trasporto, un rivelatore collegato a un sistema di acquisizione e di analisi dei dati. L'applicazione preferenziale agli oli essenziali è ovvia e descritta dettagliatamente nei metodi generali, di cui alle ISO 7359 e ISO 7609, con riguardo all'uso rispettivamente di colonne impaccate o capillari. In breve, la descrizione riguarda l'idoneità allo scopo del sistema (condizioni operative: temperatura, flusso del gas di trasporto; prestazioni della colonna: test di inerzia chimica, efficienza della colonna, risoluzione e separazione) e i parametri utili per l'identificazione dei picchi, in base alla misura o calcolo degli indici di ritenzione e per la determinazione quantitativa di specifici costituenti mediante la misura dell'area dei picchi, che nel loro insieme grafico forniscono il gas cromatogramma dell'olio in esame. Questo è, poi, valutato per la tipicità e la conformità al profilo gas cromatografico caratteristico dell'olio essenziale in questione, sulla base dei criteri e definizioni fornite dalla ISO 11024 e riferite più avanti.

Invece, nella **cromatografia liquida (HPLC)** la fase mobile è liquida. L'apparecchio è costituito, generalmente, da un sistema di pompaggio

che comanda il flusso del solvente di eluizione, un iniettore, una colonna cromatografica, un rivelatore e un sistema di acquisizione e di analisi dei dati. La fase mobile è contenuta in uno o più serbatoi, dai quali fluisce, prima lungo la colonna a velocità generalmente costante e poi nel rivelatore. La tecnica applicata agli oli essenziali, nel caso della determinazione del contenuto di un composto specifico e/o della ricerca del profilo caratteristico, è descritta nella ISO 8432.

Ritornando alla ISO 11024, nelle due sue parti, fornisce gli orientamenti per procedere alla valutazione dei risultati gas cromatografici:

- **parte prima**, è relativa alla gas cromatografia con colonna capillare, impiegata per stabilire il profilo gas cromatografico di un olio essenziale, che insieme alle specifiche fisico-chimiche caratteristiche della qualità dello stesso olio, ne completa il carattere di standardizzazione. Il profilo gas cromatografico non rappresenta la determinazione della concentrazione vera dei componenti di un olio essenziale, ma è la valutazione delle proporzioni relative degli stessi.

- **parte seconda**, fornisce orientamenti utili per stabilire la conformità di un profilo cromatografico quale standard di un olio essenziale.

**Definizione dei termini utilizzati:**

- **componenti rappresentativi**, sono quelli presenti, in maggiore o minore quantità, in tutti i campioni di olio essenziale. Esempi: geraniol formiato, isomentone, citronellale, geraniolo, ecc., nell'olio essenziale di geranio;

- **componenti caratteristici**, sono uno o più componenti rappresentativi, la cui concentrazione è caratteristica di un dato olio essenziale. La concentrazione può essere pari a zero. Esempi: guaia-6,9-diene è presente in tracce nel geranio Africa e presente in maggiori concentrazioni nel geranio Bourbon; 10-epi- $\gamma$ -eudesmol è assente nel geranio Bourbon e presente nel geranio Africa; canfora è presente in quantità minori di 0,5 % nella lavanda;

- **cromatogramma tipico**, è la rappresentazione grafica riferita a un campione di olio essenziale considerato rappresentativo di una produzione fatta in determinate condizioni operative;

- **profilo cromatografico**, è la lista dei componenti selezionati tra i componenti rappresentativi e caratteristici di un olio essenziale, accompagnata, per ciascuno di essi, dalle concentrazioni limite e, possibilmente, dai rapporti tra queste concentrazioni.

Nelle singole norme ISO, il profilo gas cromatografico è riportato alla voce "Table 1", nel mentre i gas cromatogrammi tipici sono riportati alla voce "Figures, A1 (apolar column), A.2 (polar column)". Con simile notazione progressiva sono riportati i gas cromatogrammi tipici di oli per i quali è indicata una specifica caratteristica dell'olio essenziale, p.e. il tipo, il chemotipo, l'ecotipo, il Paese di provenienza o regione principale di produzione. Di seguito si riportano i riferimenti ISO di oli per i quali è indicato:

- **un chemotipo:**

- **trans-Anethole type** (Oil of bitter fennel, ISO 17412:2007, A.1 and A.2);

- **Methyl chavicol type** (Oil of basil, ISO 11043:1993);

- **Phellandrene type** (Oil of bitter fennel, ISO 17412:2007, A.3 and A.4);

- **Terpinen-4-ol type** (Oil of melaleuca, Tea tree oil, ISO 4730:2004).

- **un ecotipo:**

- **North Africa** (Oil of geranium, ISO 4731:2012, A.1 and A.2).

- **un tipo clonale:**

- **Clonal lavender Australia** (Oil of lavender, ISO 3515:2002, B.5 e B.6 and ISO 3515:2002/Cor. 1);

- **Clonal lavender Bulgaria** (Oil of lavender, ISO 3515:2002, B.3 e B.4 and ISO 3515:2002/Cor. 1);

- **Clonal lavender France "Maillette"** (Oil of lavender, ISO 3515:2002, B.1 e B.2 and ISO 3515:2002/Cor. 1).

- **un tipo nazionale:**

- **Argentinean type** (Essential oil of molle, ISO 16385:2014);

- **Australian type** (Oil of eucalyptus, 80-85% (volume fraction) 1,8-cineole, ISO 3065:2011);

- **Brasilian type** (Oil of rosewood, ISO 3761:2005);

- **China or Chinese type** (Oil of spearmint, *Mentha viridis* L. var. *crispa* Benth, redistilled, ISO 3033-Part 2:2005; Oil of cassia, ISO

- 3216:1997; Oil of cedarwood, ISO 9843:2002; Oil of star anise, 11016:1999; Oil of magnolia flower, ISO 17382:2007; Oil of wintergreen redistilled, ISO 21390:2005);
- *Chinese Kushui type* (Essential oil of rose, ISO 25157:2013);
  - *Dalmatian sage* (Oil of Dalmatian sage, ISO 9909:1997);
  - *French type* (Oil of lavandin Abrial, ISO 3054:2001; Oil of lavandin Grosso, cultivated mainly in the south of France, ISO 8902:2009);
  - *Iberian type* (Oil of turpentine, ISO 11020:1998);
  - *Indian type* (Oil of black pepper, ISO 3061:2008, A.3, A.4; Oil of spearmint, *Mentha spicata* L., redistilled, ISO 3033-Part 3:2005);
  - *Indonesian type* (Oil of nutmeg, ISO 3215:1995);
  - *Italian type* (Oil of bergamot, ISO 3520:1998 and ISO 3520:1998/Cor.1:2002; Essential oil of mandarin, ISO 3528:2012);
  - *Java type* (Oil of citronella, cultivated in South-East Asia, China, India, Indonesia, Central and South America, ISO 3848:2001);
  - *Madagascar type* (oil of black pepper, ISO 3061:2008, A.1, A.2);
  - *Moroccan type* (Essential oil of rosemary, ISO 1342:2012, A.1 and A.2);
  - *Mexican type* (Oil of lime distilled, ISO 3519:2005); Oil of lime, cold pressed, Mexican type. Mexico, the countries of Central America and the islands of the Caribbean are the principal areas of production, ISO 3809:2004, Type A and Type B);
  - *Tunisia type* (Essential oil of rosemary, ISO 1342:2012, A.1 and A.2);
  - *Paraguayan type* (Oil of petitgrain, ISO 3064:2000);
  - *Persian type* (Oil of lime expressed, production area USA, Mexico and Brasil, ISO 23954:2009);
  - *Spanish type* (Essential oil of rosemary, ISO 1342:2012, A.3 and A.4; Essential oil of spike lavender, ISO 4719:2012; Oil of thyme containing thymol, ISO 14715:2010; Oil of origanum, ISO 14717:2008);
  - *Sri Lanka type* (Oil of cinnamon, ISO 3524:2003; Oil of citronella, ISO 3849:2003).
- il paese o luogo principale di produzione o provenienza:
- *Comores* (Oil of ylang-ylang "Super Extra", "Extra", "First", "Second" and "Third" fractions, ISO 3063:2004, A.1/Extra, A.2/Third, A.4/Extra, A.5/Third);
  - *Egypt* (Oil of blue chamomile, ISO 19332:2007);
  - *Haiti* (Oil of Amyris, ISO 3525);
  - *Hungary* (Oil of blue chamomile, ISO 19332:2007);
  - *India* (Oil of pimento leaf, ISO 4729:1984);
  - *Jamaica* (Oil of pimento leaf, ISO 4729:1984);
  - *Madagascar* (Oil of ylang-ylang, "Super Extra", "Extra", "First", "Second" and "Third" fractions, ISO 3063:2004, A.3/Third);
  - *Mayotte* (Oil of ylang-ylang, "Super Extra", "Extra", "First", "Second" and "Third" fractions., ISO 3063:2004).
- un paese o una regione in cui la pianta cresce o è coltivata principalmente:
- *Alps* (Oil of dwarf pine, ISO 21093:2003);
  - *Australia, Western* (Oil of Australia sandalwood, ISO 22769:2009);
  - *Brazil* (Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013);
  - *Bulgaria* (Oil of rose, ISO 9842:2003, A.2);
  - *China or Chinese* ((Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013; Oil of *Mentha arvensis*, partially dementholized, ISO 9776:1999; Essential oil of ginger, ISO 16928:2014, A.1-A.2; Oil of gum turpentine, growing in south of China, ISO 21389:2004);
  - *Comores Island* (Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013);
  - *Haiti* (Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013);
  - *India* (Oil of *Mentha arvensis*, partially dementholized, ISO 9776:1999; Essential oil of ginger, ISO 16928:2014, A.3-A.4);
  - *Indonesia* (Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013);
  - *Italy* (Oil of lemon petitgrain, 8899:2003);
  - *Madagascar* (Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013);
  - *Morocco* (Oil of rose, ISO 9842:2003);
  - *Reunion Island* (Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013);
  - *Siberian* (Oil of fir needle, Siberian, ISO 10869:2010);
  - *Spain or Spanish* (Oil of sage, ISO 3526:2005; Oil of wild marjoram, ISO 4728:2003; Oil of lemon petitgrain, 8899:2003);
  - *Texas* (Oil of cedarwood, ISO 4725:2004);
  - *Turkey* (Oil of rose, ISO 9842:2003, A.1);
  - *United States of America from South Eastern part of Virginia to Eastern Texas* (Oil of cedarwood, Virginian, ISO 4724:2004);
  - *West Africa* (Essential oil of ginger, ISO 16928:2014, A.5-A.6).
- una diversa denominazione:
- *Native type* (Oil of spearmint, *Mentha spicata* L., ISO 3033-Part 1:2005);
  - *Scotch variety* (Oil of spearmint, *Mentha x gracilis* Sole, ISO 3033-Part-4:2005).
- la percentuale di un costituente rappresentativo:
- *carbone 80% minimo o 60% minimo* (Oil of spearmint - Part 2 Chinese type (*Mentha viridis* L. var. *crispa* Benth.), redistilled oil, ISO 3033-2:2005);
  - *carbone 60% minimo* (Oil of spearmint - Part 3: Indian type (*Mentha spicata* L.), redistilled oil, ISO 3033-3:2005);
  - *metile cavicolo o estragolo > 75%* (Oil of basil, methyl chavicol type (*Ocimum basilicum* L., ISO 11043:1998);
  - *1,8-cineolo 70%-75% o 80% - 85%* (Crude or rectified oils of *Eucalyptus globulus* Labill., ISO 770:2002);
  - *1,8-cineolo 80% - 85%* (Oil of eucalyptus Australian Type, ISO 3065:2011);
  - *citrale 75% minimo, come espresso il contenuto di composti carbonilici* (Oil of lemongrass, ISO 3217:1974);
  - *fenoli 65% o 70% minimo* (Oil of pimento leaf [*Pimenta dioica* (Linneus) Merrill], rispettivamente Jamaica o India, ISO 4729:1984).
- <sup>15</sup> Sostanze enantiomere: le colonne chirali gascromatografiche consentono di separare specifiche sostanze enantiomere in un olio essenziale e di valutarne la distribuzione, i rapporti percentuali tra di esse ed eventualmente il superamento del contenuto di uno specifico enantiomero. Un esempio ISO di distribuzione enantiomerica di composti chirali: Essenzial oil of neroli, ISO 3517:2012, Table C.1.
- <sup>16</sup> Indice di esteri, EV (potenziometro): numero di milligrammi di idrossido di potassio richiesto per neutralizzare gli acidi liberati dalla idrolisi degli esteri presenti in 1 g di olio essenziale. Il metodo non è applicabile agli oli essenziali contenenti apprezzabili quantità di lattoni o aldeidi e agli oli difficilmente saponificabili. Citazioni ISO: Oil of lavandin Abrial, French type, ISO 3054:2001; Oil of ylang-ylang, ISO 3063:2004; Oil of petitgrain, Paraguayan Type, ISO 3064:2000; Oil of lavender, ISO 3515:2002; Oil of sandalwood, ISO 3518:2002; Oil of bergamot, ISO 3520:1998; Oil of cananga, ISO 3523:2002; Oil of parsley fruits, ISO 3527:2000; Oil of cubeb, ISO 3756:1976; Oil of patchouli, ISO 3757:2002; Oil of celery seed, ISO 3760:2002; Oil of rosewood, Brazilian type ISO 3761:2005; Oil of palmarosa, ISO 4727:1988; Oil of cardamom, ISO 4733:2004; Oil of mandarin petitgrain, ISO 8898:2003; Oil of bergamot petitgrain, ISO 8900:2005; Oil of bitter orange petitgrain, ISO 8901:2003; Oil of *Mentha arvensis*, partially dementholized, ISO 9776:1999; Oil of rose, ISO 9842:2003; Oil of root lovage, ISO 11019:1998; Oil of magnolia flower, China type, ISO 17382:2007; Oil of wintergreen, China, ISO 21390:2005; Oil of rose, Chinese Kushui type, ISO 25157:2013.
- <sup>17</sup> Indice di esteri prima e dopo acetilazione e contenuto di alcoli liberi e totali. Il metodo consente di valutare il contenuto di alcoli liberi e totali degli oli essenziali previa determinazione dell'indice di esteri, prima e dopo acetilazione mediante anidride acetica in presenza di acetato di sodio. Il metodo non è applicabile:
- agli oli essenziali contenenti quantità notevoli di alcoli terziari (p.e. linalolo e terpineoli), non completamente acetilabili (per questi oli dovrebbe essere usato il metodo indicato in ISO 3794);
  - agli oli essenziali contenenti quantità notevoli di fenoli, lattoni, aldeidi o chetoni, che sarebbero acetilati in aggiunta agli alcoli liberi.
- Citazioni ISO: Oil of citronella, Java type, ISO 3848:2001; Oil of citronella, Sri Lankan type, ISO 3849:2003; Oil of palmarosa, ISO 4727:1988; Oil of *Mentha arvensis*, partially dementholized, ISO 9776:1999.
- <sup>18</sup> Indice di acidità, AV: numero di milligrammi di idrossido di potassio necessari per neutralizzare gli acidi liberi di 1 g di olio essenziale.

Il metodo non è applicabile agli oli essenziali contenenti apprezzabili quantità di lattoni. Citazioni ISO: Oil of lemon, ISO 855:2003; Essential oil of rosemary, ISO 1342:2012; Oil of lavandin Abrial, French type, ISO 3054:2001; Oil of ylang-ylang, ISO 3063:2004; Oil of petitgrain, Paraguayan Type, ISO 3064:2000; Oil of cassia, Chinese type, ISO 3216:1997; Oil of lavender, ISO 3515:2002; Oil of coriander fruit, ISO 3516:1997; Oil of coriander fruit, ISO 3516:1997; Essential oil of neroli, ISO 3517:20012; Oil of bergamot, ISO 3520:1998; Oil of cananga, ISO 3523:2002; Oil of amyris, ISO 3525:2008; Oil of sage, Spanish, ISO 3526:2005; Oil of parsley fruit, ISO 3527:2000; Essential oil of mandarin, ISO 3528:2012; Oil of cubeb, ISO 3756:1976; Oil of patchouli, ISO 3757:2002; Oil of celery seed, ISO 3760:2002; Oil of rosewood, ISO 3761:2005; Essential oil of vetiver, ISO 4716:2013; Essential oil of spike lavender, ISO 4719:2012; Essential oil of geranium, ISO 4731:2012; Oil of cardamom, ISO 4733:2004; Oil of carway, ISO 8896:1987; Oil of juniper berry, 8897:2010; Oil of mandarin petitgrain, ISO 8898:2003; Oil of lemon petitgrain, ISO 8899:2003; Oil of bergamot petitgrain, ISO 8900:2005; Oil of bitter orange petitgrain, ISO 8901:2003; Oil of lavandin Grosso, ISO 8902:2009; Oil of *Mentha arvensis*, partially demontholized, ISO 9776:1999; Oil of hyssop, ISO 9841:2013; Oil of tarragon, ISO 10115:2013; Oil of fir needle, Siberian, ISO 10869:2010; Oil of roots of lovage, ISO 11019:1998; Oil of turpentine, Iberian type (ISO 11020:1998); Oil of galbanum (ISO 14716:1998); Oil of origanum, Spanish type, ISO 14717:2008; Oil of magnolia flower, China type, ISO 17382:2007; Oil of magnolia flower, China type, ISO 17382:2007; Oil of dwarf pine, ISO 21093:2003; Oil of gum turpentine, Chinese, ISO 21389:2004; Oil of wintergreen, China, ISO 21390:2005; Oil of Australian sandalwood, ISO 22769:2009.

<sup>19</sup> **Indice di carbonile:** numero di milligrammi di idrossido di potassio per grammo di olio essenziale, richiesto per neutralizzare l'acido cloridrico liberato dalla reazione di ossimazione con idrossilammonio cloruro (NH<sub>2</sub>OH HCl).

Le ossime (=C=N-OH) si ottengono dalla reazione dei composti carbonilici (=C=O, aldeidi e chetoni) con idrossilammina (NH<sub>2</sub>OH); aldossime (RCH=NOH) e chetossime (RR'=NOH). Nel caso degli oli essenziali, tenuto conto della natura dei composti carbonilici costituenti e della loro facilità o meno a convertirsi in ossime, si applicano due norme:

- ISO 1271:1983 metodo dell'idrossilammina libera, formata in una miscela di idrossilammonio cloruro e idrossido di potassio. L'eccesso di alcali è titolato (colorimetricamente o potenziometricamente) con una soluzione di acido cloridrico. Il metodo è applicabile a oli essenziali contenenti composti carbonilici (specialmente chetoni, esclusi metilchetoni) i quali difficilmente sono convertibili in ossime con il metodo ISO 1279. Il metodo non è applicabile agli oli essenziali contenenti esteri e altri costituenti interferenti con gli alcali.

- ISO 1279:1996 applica due metodi differenti tra loro per la diversa temperatura di reazione tra idrossilammonio cloruro e composti carbonilici, aldeidi e chetoni, facilmente ossimabili: - *Metodo 1*, avviene a freddo: non applicabile nel caso del citronellale che necessita di basse temperature per evitare fenomeni di ciclizzazione e acetilazione; - *Metodo 2*, avviene a caldo: applicabile agli oli essenziali i cui costituenti principali sono chetoni ossidabili con difficoltà. Per entrambi la determinazione è potenziometrica.

Citazioni ISO: Oil of lemon, ISO 855:2003; Oil of grapefruit, ISO 3953:2004; Oil of spearmint, Native type, Chinese type, Indian type and Scotch variety, ISO 3033-1-2-3-4:2005; Oil of *Eucalyptus citriodora* Hook, ISO 3044:1997; Oil of Litsea cubeba, ISO 3214:2000; Oil of cassia, Chinese type, ISO 3216:1997; Oil of lemongrass, ISO 3217:1974; Oil of lime, cold pressed, Mexican type, ISO 3809:2004; Oil of citronella, Java type, ISO 3848:200; Oil of citronella, Sri Lankan type, ISO 3849:2003; Oil of caraway, ISO 8896:1987; Oil of cumin seed, ISO 9301:2003; Oil of *Mentha arvensis*, partially demontholized, ISO 9776:1999, free hydroxylamine; Oil of Dalmatian sage, ISO 9909:1997; Oil of magnolia flower, China type, ISO 17382:2007.

<sup>20</sup> **Contenuto di fenoli**, nel caso di: Oil of bay, ISO 3045:2004; Oil of clove leaves, ISO 3141:1997; Oil of clove buds, ISO 3142:1997; Oil

of clove stems, ISO 3143:1997; Oil of clove leaves, ISO 3141:1997; Oil of clove buds, ISO 3142:1997; Oil of clove stems, ISO 3143:1997; Oil of cinnamon leaf, Sri Lanka type, ISO 3524:2003; Oil of pimento leaf, ISO 4729:1984.

<sup>21</sup> **Indice di esteri dopo acetilazione di oli essenziali contenenti alcool terziari:** numero di milligrammi di idrossido di potassio necessari per neutralizzare gli acidi liberati per idrolisi degli esteri contenuti in 1 g di olio acetilato con cloruro di acetile e anidride acetica in presenza di dimetilammina. L'olio acetilato, isolato e seccato, è poi saggiato per l'indice di esteri. Il contenuto di alcoli liberi è calcolato tenendo conto dei valori di esteri dell'olio acetilato o non acetilato. Il metodo è applicabile agli oli contenenti alcoli terziari liberi (p.e. linalolo e terpineolo) e non applicabile agli oli contenenti fenoli, antranilati, lattoni e aldeidi. Citazioni ISO: Oil of rosewood, Brazilian type, ISO 3761:2005; Oil of cedarwood, Texas, ISO 4725:2004.

<sup>22</sup> **Residuo all'evaporazione:** la frazione volatile dell'olio essenziale viene evaporata in un bagno di acqua bollente e il residuo è pesato. Citazioni ISO: Oil of lemon, ISO 855:2003; Oil of grapefruit, ISO 3053:2004; Oil of sweet orange, ISO 3140:2011; Oil of nutmeg, Indonesian type, ISO 3215:1995; Oil of Bergamot, ISO 3520; Essential oil of mandarin, ISO 3528:2012; Oil of lime, cold pressed, Mexican type, ISO 3809:2004; Oil of bitter orange, ISO 9844:2006; Oil of turpentine, Iberian type, ISO 11020:1998; Oil of magnolia flower, China type, ISO 17382:2007; Oil of gum turpentine, Chinese, ISO 21389:2004; Oil of wintergreen redistilled, China, ISO 21390:2005; Oil of lime expressed, production area USA, Mexico and Brasil, ISO 23954:2009.

<sup>23</sup> **Indice di esteri di oli essenziali contenenti esteri difficilmente saponificabili.** L'idrolisi a caldo degli esteri è effettuata in presenza di un dato volume di soluzione titolata di dimetilsolfossido in idrossido di potassio, il cui eccesso è poi titolato con una soluzione standard di acido solforico o acido cloridrico. Dunque il metodo ISO 709 <sup>15</sup> non è applicabile. Citazioni ISO: Oil of cedarwood, Texas, ISO 4725:2004.

<sup>24</sup> **Contenuto di acqua in % (m/m)** mediante il metodo di Karl Fisher. La determinazione è effettuata secondo la ISO 760, applicabile al caso dell'acqua libera o acqua di cristallizzazione nei prodotti chimici solidi o liquidi, organici e inorganici.

<sup>25</sup> **Indice di perossidi**, in meq/kg o mmol/kg, è la quantità di quelle sostanze in un campione, espresse in milliequivalenti o millimoli di ossigeno attivo per kg di olio, che ossidano lo ioduro di potassio nelle condizioni specificate nel metodo ISO 3960:2007 - Animal and vegetable fats and oils - Determination of peroxide value - Iodometric (visual) endpoint determination. Il valore espresso in millimoli di ossigeno attivo per kg di olio è la metà di quello espresso in milliequivalenti di ossigeno attivo per kg di olio.

<sup>26</sup> **Determinazione HPLC del contenuto di bergaptene o 5-metossip-sordalene:** è effettuata, mediante standard interno o esterno, nel caso dei seguenti oli essenziali:

- Oil of bergamot [*Citrus aurantium* ssp *bergamia* (Risso et Poit.) Wight et Arn. ex Engl.], ISO 3520:1998;
- Oil of lemon [*Citrus limon* (L.) Burm. f.], ISO 855:2003;
- Oil of citron (*Citrus bigaradia* Risso);
- Oil of lime [*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle et *Citrus latifolia* Tanaka.], ISO 3519:2005, ISO 3809:2004, ISO 23954:2009.

**Standard interno:** oli essenziali con contenuto di bergaptene maggiore o uguale 1% (m/m). **Standard esterno:** oli essenziali con contenuto di bergaptene 0,1 -1% (m/m).

<sup>27</sup> **Acido glicirrisico:** il metodo HPLC è applicabile agli estratti e non alla radice grezza di liquirizia.

<sup>28</sup> **Tracce residue di benzene in oli essenziali ed estratti aromatici:** il metodo di gas cromatografia a spazio di testa (headspace gas chromatography), è applicabile per un contenuto nell'olio di circa 10 x 10<sup>-6</sup> (10 ppm).

<sup>29</sup> **Contenuto di etanolo:** gli estratti aromatici, aromatizzanti e profumanti sono i prodotti aromatici liquidi o diluiti, il cui contenuto in etanolo è al di sopra di 0,5%; sono escluse le sostanze aromatiche essiccate (quali le spezie).

<sup>30</sup> Commercialmente il prodotto è noto come "orris butter".