

# CONSEIL DE L'EUROPE

---

# COUNCIL OF EUROPE

COMMISSION EUROPÉENNE DE PHARMACOPÉE \*

PA/PH/Exp. 13H/T (69) 6 COM Révisé

18 février 1972



COE062250

COMITE DE SANTE PUBLIQUE

COMMISSION EUROPEENNE DE PHARMACOPEE

GROUPE D'EXPERTS N° 13 (PHARMACOGNOSTIE)

OLEA PINGUIA

HUILES GRASSES  
Méthodes générales

La monographie a été adoptée par le Groupe d'experts N° 13 et 13 H, après examen des commentaires des Autorités nationales de Pharmacopée. Le Texte sera soumis à la Commission pour adoption lors de la 22e Session.

Destinataires

Pour suite à donner :

- Secrétaires des Autorités nationales de Pharmacopée
- Membres du Groupe d'experts N° 13 (Pharmacognosie) et 13 H (huiles grasses)
- Membres de la Commission Européenne de Pharmacopée

  
Strasbourg

25.132  
03.53

OLEA PINGUIA

HUILES GRASSES

Les huiles grasses sont des triglycérides naturels d'acides gras, vierges ou raffinées. Les triglycérides reconstitués ne sont pas inclus dans cette définition.

CARACTERES

Les huiles grasses peuvent être soit solides, soit liquides. Elles sont solubles dans l'éther et dans le chloroforme ainsi que dans l'éther de pétrole, sauf indication contraire dans la monographie.

ESSAI

Impuretés à réaction alcaline

Versé dans un tube à essai 10 ml d'acétone R récemment distillée et neutre à la solution de bleu de bromophénol R3 ; ajoutez 0,3 ml d'eau neutre à la solution de bleu de bromophénol R3 et 2 ou 3 gouttes de solution de bleu de bromophénol R3. Le liquide est jaune. Ajoutez 10 ml d'huile à examiner et agitez. Laissez reposer. La couche supérieure ne se colore pas en bleu. Si cette coloration apparaît, elle doit virer au jaune par addition de 0,1 ml de solution d'acide chlorhydrique 0,01N.

REACTIF

Solution de bleu de bromophénol R3

Solution à 0,04 pour cent p/v dans l'alcool R.

Huile d'arachide (⌘)

Introduisez 1 ml d'huile grasse dans une fiole de 100 ml munie d'un réfrigérant à reflux, ajoutez 5 ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 1,5N et chauffez pendant 5 minutes. Après refroidissement à environ 25°, ajoutez 50 ml d'alcool (70 pour cent v/v) et 1,5 ml d'un mélange de 1 volume d'acide acétique R pour 2 volumes d'eau. Agitez fortement et refroidissez dans de l'eau glacée jusqu'à apparition de cristaux. Chauffez prudemment jusqu'à disparition complète des cristaux. Placez un thermomètre dans le mélange et refroidissez prudemment encore une fois. Aucune cristallisation n'a lieu à une température supérieure à celle indiquée ci-dessous :

Ol. Amygdalae 10°

Ol. Olivae 17°

CONSERVATION

Conservez en récipient bien fermé, au frais et à l'abri de la lumière.

./.

---

(⌘) A inclure dans les monographies Ol. Amygdalae et Ol. Olivae.

A N N E X E 1

INDICE D'ACIDE

Définition

L'indice d'acide  $I_A$  est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres présents dans 1 g de substance.

Mode opératoire

Dissolvez la substance à examiner (p g) (entre 5 g et 20 g pour les huiles grasses) exactement pesée, dans 100 ml d'un mélange à volumes égaux d'alcool R et d'éther R et préalablement neutralisé à l'aide d'hydroxyde de potassium 0,1N, en présence de 20 gouttes de solution de phénolphtaléine R.

Après dissolution, titrez par l'hydroxyde de potassium 0,1N.

Le titrage est terminé quand la couleur rose persiste pendant au moins 15 secondes (n ml d'hydroxyde de potassium 0,1N).

Indice d'acide :  $I_A = \frac{n \times 5,611}{p}$  mg KOH pour un gramme.

./.

Cette quantité peut être également exprimée en milliéquivalents par gramme  $[I_A]$

$$[I_A] = \frac{n}{10 p} \text{ milliéquivalents.}$$

Annexe 1

INDICE DE SAPONIFICATION

Définition

L'indice de saponification  $I_S$  est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres et pour saponifier les esters existant dans 1 g de substance.

Mode opératoire

Introduisez dans une fiole de 200 ml en verre résistant à l'alcali et munie d'un réfrigérant à reflux, une prise d'essai ( $p$  g) exactement pesée, voisine de 2 g. Ajoutez 25,00 ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0,5N et quelques billes de verre. Chauffez à l'ébullition sous reflux pendant 30 minutes au bain-marie. Ajoutez 20 gouttes de solution de phénolphthaléine R et titrez immédiatement par l'acide chlorhydrique 0,5N ( $n_1$  ml d'acide chlorhydrique 0,5N).

Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions ( $n_2$  ml d'acide chlorhydrique 0,5N).

Indice de saponification :

$$I_S = \frac{28,05 \times (n_1 - n_2)}{p}$$

Cette quantité peut être également exprimée en milliéquivalents  $[I_S]$ .

$$[I_S] = \frac{(n_1 - n_2)}{2p} \text{ milliéquivalents}$$

INDICE D'IODE

Définition :

L'indice d'iode  $I_I$  est le nombre qui exprime en grammes la quantité d'halogène, calculée en iode, susceptible d'être fixée dans les conditions précisées, par 100 g de substance.

Mode opératoire :

Sauf indication contraire, prenez pour cette détermination :

1,0 g de substance : pour un indice d'iode présumé inférieur à 20 ;

0,5 - 0,25 g de substance : pour un indice d'iode présumé de 20 à 60 ;

0,25 - 0,15 g de substance : pour un indice d'iode présumé de 60 à 100 ;

0,15 - 0,1 g de substance : pour un indice d'iode présumé supérieur à 100.

Introduisez la substance à examiner, exactement pesée (p g) dans un récipient de 300 ml muni d'un bouchon rodé, sec ou rincé avec de l'acide acétique glacial R et dissolvez la prise dans 15 ml de chloroforme R. Faites ensuite couler lentement d'une burette 25,00 ml de solution de bromure d'iode R (\*). Bouchez le récipient et gardez-le à l'obscurité pendant 30 minutes, en l'agitant fréquemment. Après l'addition de 6 ml d'une solution

(\*) Solution de bromure d'iode R.

Dissolvez 20,0 g de bromure d'iode R dans de l'acide acétique glacial R et complétez à 1000,0 ml avec le même solvant.

Annexe I

à 10 pour cent p/v d'iode de potassium R et de 100 ml d'eau, titrez par du thiosulfate de sodium 0,1N en agitant fréquemment et énergiquement jusqu'à ce que la coloration jaune ait presque disparu. Ajoutez 1 ml de solution d'amidon R. Continuez le titrage en agitant de façon énergique, afin de libérer tout l'iode de la couche chloroformique. Ajoutez du thiosulfate de sodium 0,1N, goutte à goutte, jusqu'à ce que la coloration bleue disparaisse ( $n_1$  ml de thiosulfate de sodium 0,1N).

Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions ( $n_2$  ml de thiosulfate de sodium 0,1N).

$$\text{Indice d'iode } I_I = \frac{(n_1 - n_2) \times 1,269}{p}$$

Cette quantité peut également être exprimée en milli-équivalents par gramme  $[I_I]$ .

$$[I_I] = \frac{(n_1 - n_2)}{10 p} \text{ milliéquivalents}$$

INDICE DE PEROXYDES

Définition

L'indice de peroxydes est le nombre qui désigne le poids exprimé en milliéquivalents de peroxyde contenu dans 1 000 g de substance.

Mode opératoire

Ajoutez à  $5,00 \pm 0,05$  g de la substance à examiner (p g) dans un flacon Erlenmeyer à bouchon rodé, 30 ml de la solution acide acétique-chloroforme. Agitez jusqu'à dissolution de l'échantillon et ajoutez 0,50 ml de solution saturée d'iodure de potassium R. Laissez reposer en agitant de temps en temps pendant une minute exactement, puis ajoutez 30 ml d'eau. Titrez la solution avec le thiosulfate de sodium 0,01N en l'ajoutant lentement avec agitation énergique et continue. Continuez le titrage jusqu'à ce que la coloration jaune ait presque disparu. Ajoutez 0,5 ml environ de la solution d'amidon R. Continuez le titrage en agitant de façon énergique afin de libérer tout l'iode de la couche chloroformique. Ajoutez du thiosulfate de sodium 0,01N goutte à goutte jusqu'à ce que la coloration bleue disparaisse ( $n_1$  ml de thiosulfate de sodium 0,01N).

Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions ( $n_2$  ml de thiosulfate de sodium 0,01N). Le titrage à blanc ne doit pas dépasser 0,1 ml de thiosulfate de sodium 0,01N.

Annexe 1

$$\text{L'indice de peroxydes} = \frac{(n_1 - n_2) \cdot 10}{p}$$

REACTIFS

1) Solution d'acide acétique-chloroforme

Mélangez 3 volumes d'acide acétique glacial R avec 2 volumes de chloroforme R.

2) Solution d'iodure de potassium

Une solution saturée d'iodure de potassium R dans de l'eau récemment bouillie. Il faut s'assurer que la solution reste saturée, ce qui est indiqué par la présence des cristaux non dissous. Conservez à l'abri de la lumière. Vérifiez le réactif en ajoutant à 0,5 ml de la solution d'iodure de potassium R dans 30 ml de la solution acide acétique-chloroforme R 2 gouttes de solution d'amidon R. S'il y a formation d'une coloration bleue qui nécessite plus d'une goutte de thiosulfate de sodium 0,1N pour la faire disparaître, le réactif est à rejeter et on recommence avec une nouvelle préparation.

3) Thiosulfate de sodium 0,01N

4) Solution d'amidon

Une solution à 1,0 pour cent p/v d'amidon soluble R.

INSAPONIFIABLE

Le terme "insaponifiable" s'applique aux substances, non volatiles jusqu'à 105°, obtenues par extraction avec un solvant organique d'une solution de la substance à examiner après saponification. Le résultat est calculé en pourcentage p/p.

Mode opératoire :

Introduisez dans un ballon de 250 ml muni d'un réfrigérant à reflux environ 5,0 g de la substance à examiner, exactement pesée. Ajoutez 50 ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0,5N et chauffez au bain-marie pendant une heure en agitant fréquemment. Transvasez le contenu du ballon dans une ampoule à décantation à l'aide de 100 ml d'eau et agitez le liquide encore tiède avec 3 fois 100 ml d'éther R. Transvasez les extraits étherés réunis dans une autre ampoule à décantation contenant 40 ml d'eau, agitez prudemment pendant quelques minutes, laissez séparer et rejetez la phase aqueuse. Lavez successivement la phase étherée avec 40 ml d'eau jusqu'à ce que la phase aqueuse ne soit plus alcaline à la solution de phénolphtaléine R. Transvasez la phase étherée dans un ballon taré en lavant l'ampoule à décantation avec de l'éther R. Distillez l'éther et ajoutez au résidu 6 ml d'acétone R. Eliminez le solvant complètement à l'aide d'un courant d'air. Desséchez à 100° - 105° et calculez le pourcentage p/p.

Dissolvez le résidu dans 20 ml d'alcool R, neutralisé en présence de solution de phénolphtaléine R et titrez par l'hydroxyde de sodium alcoolique 0,1N en présence de solution de phénolphtaléine R. Si la valeur d'hydroxyde de sodium alcoolique 0,1N excède 0,20 ml, la valeur ne peut pas être prise comme "insaponifiable" et l'essai doit être répété.

./.

A N N E X E 2

CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DES HUILES GRASSES

1) Imprégnation. Introduisez une plaque recouverte d'une couche de Kieselguhr G R dans une cuve à chromatographie contenant un mélange de 95 volumes d'éther de pétrole R et 5 volumes de paraffine liquide R (pour l'analyse des triglycérides) ou 90 volumes d'éther de pétrole R et 10 volumes de paraffine liquide R (pour la chromatographie des acides gras non saturés) de façon que 0,5 à 1 cm de la plaque plonge dans le mélange d'imprégnation. Lorsque le mélange s'est élevé d'au moins 14 cm au-dessus du bord inférieur de la plaque, retirez celle-ci et laissez l'éther s'évaporer à la température ambiante pendant 5 minutes.

2) Chromatographie

a) Analyse des triglycérides

Solution à examiner. Dissolvez environ 20 mg (une goutte) d'huile grasse dans 4 ml de chloroforme R (dans le cas de "Ol. Rapae", la concentration est 4 fois plus faible).

Solution témoin. Dissolvez environ 20 mg (une goutte) d'huile de maïs dans 4 ml de chloroforme R.

Déposez séparément sur les plaques 2  $\mu$ l de la solution à examiner et 2  $\mu$ l de la solution témoin. Développez avec de l'acide acétique glacial R dans une chambre saturée sur un parcours de 12 cm. Effectuez la chromatographie dans la même direction que l'imprégnation. Après le développement, desséchez les plaques à 110° pendant 10 minutes. Laissez refroidir à la température ambiante et introduisez les plaques, sauf indication contraire dans la monographie, dans une cuve à chromatographie munie d'un couvercle étanche et saturée de vapeur d'iode (mettez de l'iode R dans une boîte de Pétri ou au fond de la cuve). Après un certain temps, des taches brunes ou jaune-brune deviennent visibles. Sortez la plaque et attendez quelques minutes. Lorsque la coloration brune aura disparu du fond de la couche, vaporisez de la solution d'amidon R. Des taches bleues apparaissent qui peuvent virer au brun à sec et redevenir bleues après vaporisation avec de l'eau. Pour l'interprétation des résultats, recouvrez la plaque immédiatement d'une autre plaque de verre. ./.

Annexe 2

Les chromatogrammes typiques sont reproduits dans le dessin, sur lequel se basent d'éventuels critères de pureté décrits dans les monographies.

b) Contrôle des acides gras non saturés et recherche des huiles de crucifères

Solution à examiner. Dissolvez 40 mg du mélange des acides gras, obtenus à partir de l'huile à examiner, dans 4 ml de chloroforme R.

Solution témoin. Dissolvez 40 mg du mélange des acides gras, obtenus à partir de 19 parties d'huile de maïs et d'une partie d'huile de colza, dans 4 ml de chloroforme R.

Préparez le mélange d'acides gras comme suit : chauffez à reflux pendant 45 minutes environ 2 g d'huile grasse avec 20 ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0,5N. Diluez avec 50 ml d'eau, laissez refroidir et transvasez dans une ampoule à décantation et agitez avec 3 portions de 50 ml chacune d'éther R. Rejetez les extraits étherés, acidifiez la phase aqueuse avec de l'acide chlorhydrique R et extrayez les acides gras avec 50 ml d'éther R. Lavez l'extrait étheré avec 3 fois 10 ml chacune d'eau, séchez l'éther sur du sulfate de sodium anhydre R et filtrez. Distillez l'éther au bain-marie. Utilisez le résidu (mélange des acides gras) pour la chromatographie. (Les acides gras peuvent également être obtenus à partir de la solution de savon lors de la détermination des matières insaponifiables).

Déposez séparément sur la plaque 3 µl de la solution à examiner et 3 µl de la solution témoin. Développez avec un mélange de 90 volumes d'acide acétique glacial R et de 10 volumes d'eau dans une chambre saturée sur un parcours de 8 cm. Effectuez la chromatographie dans la même direction que l'imprégnation. Après le développement, desséchez les plaques à 110° pendant 10 minutes et traitez par des vapeurs d'iode suivant la description donnée pour "l'analyse des triglycérides".

Le chromatogramme de la solution à examiner présente toujours les taches suivantes: A un Rf voisin de 0,5 (acide oléique) et voisin de 0,65 (acide linoléique) correspondant aux taches du chromatogramme de la solution témoin. Dans certaines huiles, l'acide linoléique avec un Rf voisin de 0,75 peut être présent. Contrôlez l'absence d'acide érucique d'un Rf voisin de 0,25 par comparaison avec la tache obtenue dans le chromatogramme de la solution témoin.

1) Ol. amygdalae

a) Analyse des triglycérides

Le chromatogramme est comparable à celui du dessin (page 000) pour l'huile d'amandes. Il ne doit pas y avoir de taches à des Rf correspondant à K et L. La présence de taches nettes correspondant à A, B et C peut indiquer un mélange avec de l'huile de crucifères.

b) Contrôle des acides gras non saturés et recherche des huiles de crucifères

La tache d'acide linoléique est plus petite que celle de l'acide oléique. Il n'y a aucune tache d'acide linoléique.

2) Ol. arachidis

a) Analyse des triglycérides

Le chromatogramme est comparable à celui du dessin (page 000) pour l'huile d'arachide. Il ne doit pas y avoir de taches à des Rf correspondant à K et L.

b) Contrôle des acides gras non saturés et recherche des huiles de crucifères

La tache d'acide linoléique est plus petite que celle de l'acide oléique et n'est que faiblement visible.

./.

---

Note : La C.C.M. des huiles grasses est à inclure dans les différentes monographies.

Annexe 2

3) Ol. Cacao

a) Analyse des triglycérides

Effectuez la chromatographie selon la "Méthode Générale" avec la modification suivante : déposez sur un troisième point de départ 5 µl d'une solution de 100 mg de l'huile à examiner dans 4 ml de chloroforme R. Après développement, desséchez la plaque à 110° pendant 10 minutes, laissez refroidir et pulvériser sur la plaque une solution de rhodamine B à 0,05 pour cent p/v dans le méthanol R. Après quelques minutes, pulvériser énergiquement une solution d'hydroxyde de potassium R à 40 pour cent p/v. Les taches apparaissent, tout de suite ou après quelques minutes, claires sur fond rosé. Laissez sécher la plaque à l'air ou séchez-la à l'aide d'un courant d'air chaud et pulvériser à nouveau de la solution d'hydroxyde de potassium à 40 pour cent p/v.

Le chromatogramme ne présente pas de taches de Rf correspondants de G à L pour la solution concentrée alors que celui obtenu avec la solution diluée présente 3 taches correspondant au schéma (page 000).

4) Ol. lini

Analyse des triglycérides

Le chromatogramme est comparable à celui du dessin (page 000) pour l'huile de lin.

5) Ol. olivae

a) Analyse des triglycérides

Le chromatogramme est comparable à celui du dessin (page 000) pour l'huile d'olive. Certaines huiles d'olive présentent une tache E beaucoup plus forte que la tache F ; pour d'autres, le chromatogramme est semblable à celui de l'huile d'amande. Il ne doit pas y avoir de taches à des

Rf correspondant à K et L. La présence de taches nettes correspondant à A, B et C peut indiquer un mélange avec de l'huile de crucifères.

b) Contrôle des acides gras non saturés et recherche des huiles de crucifères

La tache d'acide linoléique est plus petite que celle de l'acide oléique ; il y a une tache très faible d'acide linoléique

6) Ol. sesami

a) Analyse des triglycérides

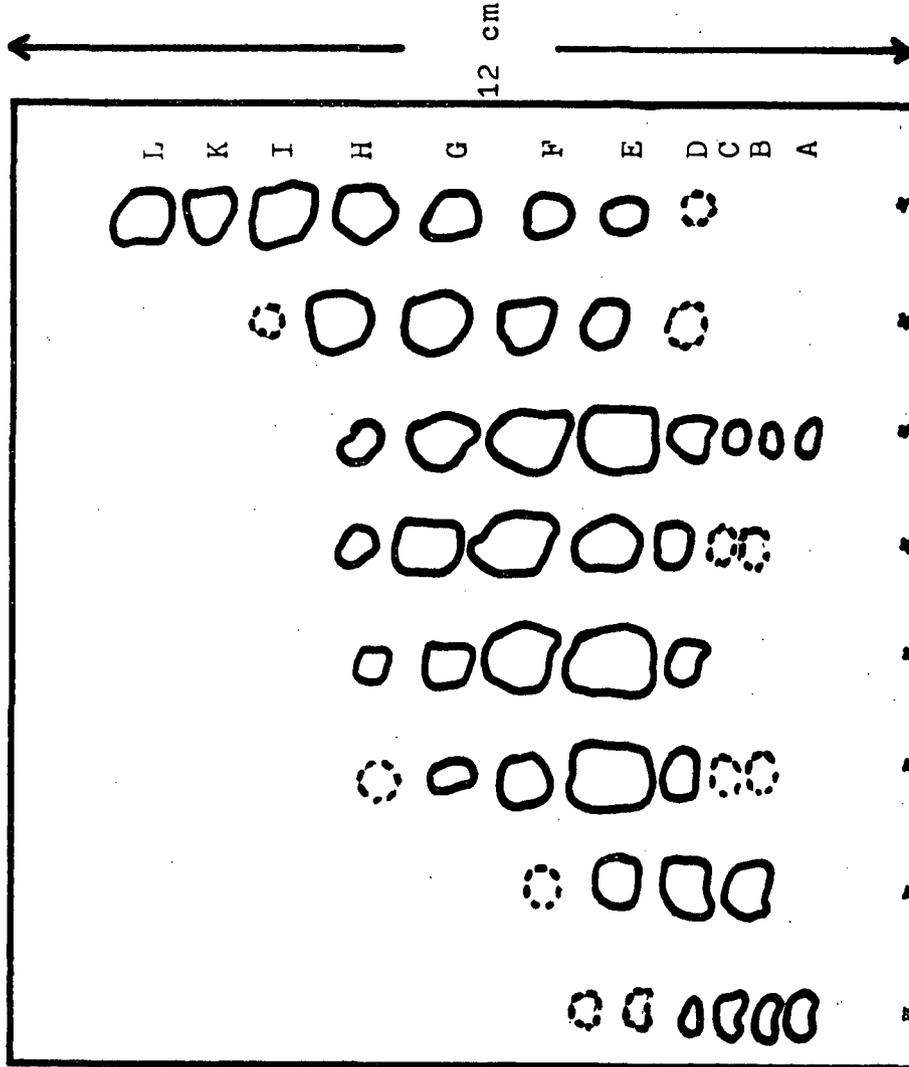
Le chromatogramme est comparable à celui du dessin (page 000) pour l'huile de sésame. Il ne doit pas y avoir de taches à des Rf correspondant à K et L. La présence de taches nettes correspondant à A, B et C peut indiquer un mélange avec de l'huile de crucifères.

b) Contrôle des acides gras non saturés et recherche des huiles de crucifères

La tache d'acide linoléique est aussi intense que celle de l'acide oléique. La tache d'acide linoléique est tout au plus très faible.

7) Ol. ricini

Dans le cas de "Oleum ricini" la chromatographie est superflue, étant donné que cette huile est suffisamment caractérisée par sa solubilité dans l'éthanol.



Kieselguhr G, impregnated with 5 per cent v/v of liquid paraffin R.

Kieselguhr G, imprégné de 5 pour cent v/v de paraffine liquide R.

Solvent : Glacial acetic acid R

Solvant : Acide acétique glacial R.

Path : 12 cm  
Parcours :

Reference solution : Maize oil

Solution de référence : Huile de maïs

Solution to be examined : 2 µl respectively of a solution of about 20 mg (1 drop) in 4 ml of chloroform R.

Solution à examiner : 2 µl d'une solution d'environ 20 mg (1 goutte) dans 4 ml de chloroforme R respectivement.

- 1. 0l. Rapae
- 2. 0l. Cacao
- 3. 0l. Olivae
- 4. 0l. Amygdalae
- 5. 0l. Sesami
- 6. 0l. Arachidis
- 7. 0l. Maxis
- 8. 0l. Lini

faiblement visible