

HUILE ESSENTIELLE DE BERMAGOTE

Bergamotae aetheroleum

L'huile essentielle de bergamote est extraite sans chauffage et par des traitements mécaniques du péricarpe du fruit frais de *Citrus aurantium* L. sub sp. Bergamia (Wight et Arnott) Engler. L'huile essentielle de bergamote contient de 0,15 pour cent à 0,35 pour cent de bergaptène.

CARACTÈRES

Liquide mobile, vert-jaune, limpide mais présentant parfois un dépôt solide.

Si nécessaire, effectuez l'identification, les essais et le dosage sur l'huile essentielle de bergamote homogénéisée.

IDENTIFICATION

Les identifications A et B peuvent être omises quand l'identification C est effectuée. L'identification C peut être omise quand les identifications A et B sont effectuées.

A. Opérez par chromatographie sur couche mince (2.2.27) en utilisant une plaque recouverte de *gel de silice G R*.

Solution à examiner. Dissolvez 1 g d'huile essentielle de bergamote dans l'*éthanol anhydre R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Solution témoin. Dissolvez 0,1 g de *linalol R* et 0,4 g d'acétate de *linalyle R* dans l'*éthanol anhydre R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Déposez séparément sur la plaque 5 µL de chacune des solutions. Développez sur un parcours de 15 cm avec un mélange de 5 volumes d'*acétate d'éthyle R* et de 95 volumes de *toluène R*. Laissez sécher la plaque à l'air. Pulvérisez du *réactif à la vanilline R*. Séchez la plaque à 100-105 °C pendant 10 min. Examinez, à la lumière du jour, les chromatogrammes dans les 10 min qui suivent. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente deux taches principales bleu-vert intense semblables quant à leur position et leur coloration aux taches principales du chromatogramme obtenu avec la solution témoin, l'une à un R_f voisin de 0,25 (linalol) et l'autre à un R_f voisin de 0,55 (acétate de linalyle). Il présente également une tache bleue à un R_f voisin de 0,15 (α -terpinéol).

B. Opérez par chromatographie sur couche mince (2.2.27) en utilisant une plaque recouverte de *gel de silice G R*.

Solution à examiner. Dissolvez 1 g d'huile essentielle de bergamote dans l'*éthanol anhydre R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Solution témoin. Dissolvez 20 mg de *bergaptène R* et 20 mg de *citroptène R* dans du *chloroforme R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

Déposez séparément sur la plaque 2 μL de chacune des solutions. Développez sur un parcours de 15 cm avec un mélange de 30 volumes d'*acétate d'éthyle R* et de 70 volumes d'*hexane R*. Laissez sécher la plaque à l'air. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente deux taches semblables quant à leur position et leur coloration à celles du chromatogramme obtenu avec la solution témoin, l'une jaune-vert à un R_f voisin de 0,35 (bergaptène) et l'autre bleue à un R_f voisin de 0,40 (citroptène). Il présente également deux autres taches : l'une bleue à un R_f voisin de 0,60 et l'autre jaunâtre à un R_f voisin de 0,70.

- C. Examinez les chromatogrammes obtenus dans l'essai Profil chromatographique. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente six pics semblables quant à leurs distances t_R aux six pics du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

ESSAI

Indice de réfraction (2.2.6) : 1,464 à 1,468.

Densité (2.2.5) : 0,876 à 0,884.

Angle de rotation optique (2.2.7). Déterminé sur une solution d'huile essentielle de bergamote à 10 pour cent *V/V* dans l'*éthanol anhydre R*, l'angle de rotation optique est de + 16° à + 33°.

Absorbance (2.2.25). Dissolvez 0,100 g d'huile essentielle de bergamote dans de l'*éthanol à 96 pour cent R*, mélangez et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Mesurez l'absorbance de 260 nm à 400 nm. Si le spectrophotomètre utilisé n'est pas à enregistrement automatique, effectuez les mesures d'absorbance à des intervalles de 5 nm à partir de 260 nm jusqu'à 12 nm environ avant le maximum d'absorption escompté. Effectuez ensuite 3 mesures à des intervalles de 3 nm puis des mesures successives à des intervalles de 1 nm jusqu'à 5 nm environ au-delà du maximum et finalement à des intervalles de 10 nm jusqu'à 400 nm. Tracez la courbe du spectre d'absorption en portant en ordonnée les valeurs de l'absorbance et en abscisse les longueurs d'onde. Tracez la tangente entre les points A et B du diagramme (voir figure 1) qui constitue la ligne de base. Le maximum d'absorption C est à 312 nm. En partant du point C, abaissez, perpendiculairement à l'axe des abscisses, une ligne verticale qui intercepte la tangente AB en D. Lisez sur l'ordonnée les valeurs d'absorption correspondant aux points C et D. Déduisez cette valeur D de la valeur précédente C. La valeur (C-D) est de 0,8 à 1,2.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

Pharmacopée française 1991

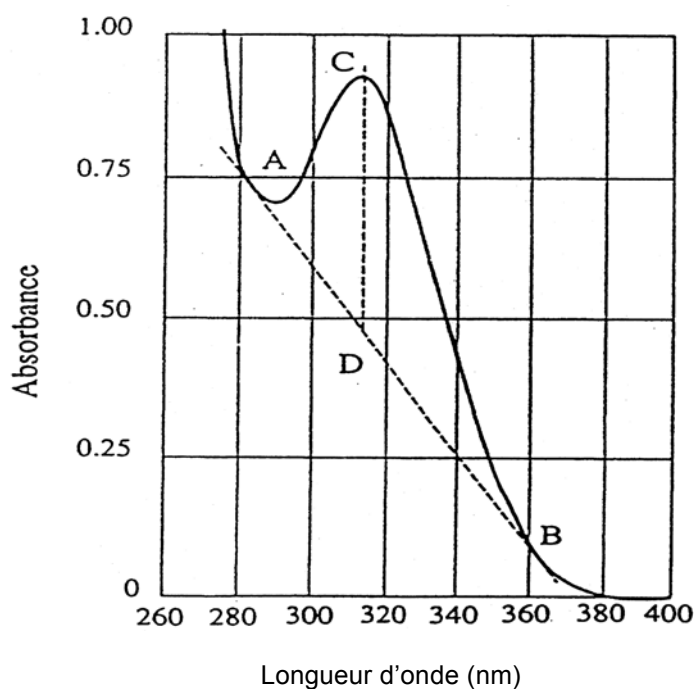


Figure 1

Diagramme caractéristique d'une huile essentielle de bergamote

Indice d'acide (2.5.1). Dissolvez 2,00 g d'huile essentielle de bergamote dans 5 mL du mélange de solvants prescrit. L'indice d'acide n'est pas supérieur à 2.

Résidu d'évaporation (2.8.9). Déterminé sur 5 g d'huile essentielle de bergamote homogénéisée, après évaporation pendant 6 h au bain-marie, le résidu d'évaporation est de 4,2 pour cent à 6,5 pour cent.

Profil chromatographique. Opérez par chromatographie en phase gazeuse (2.2.28).

Solution à examiner. Huile essentielle de bergamote à examiner.

Solution témoin. Préparez le mélange suivant en pesant à 20 pour cent près les quantités indiquées. À 1 g d'hexane R, ajoutez 0,1 g de β -pinène R, 0,5 g de limonène R, 0,1 g de γ -terpinène R, 0,3 g de linalol R, 0,5 g d'acétate de linalyle R, et 0,1 g de citral R. Mélangez soigneusement par agitation.

La chromatographie peut être réalisée à l'aide de :

- une colonne capillaire en verre d'une longueur de 25 m à 60 m et d'un diamètre intérieur voisin de 0,30 mm, imprégnée de *macrogol 20 000 R* ;
- *hélium pour chromatographie R* comme gaz vecteur ;
- un détecteur à ionisation de flamme.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

Maintenez la température de la colonne à 60 °C pendant 10 min puis augmentez-la de 2 °C par min jusqu'à 180 °C et maintenez-la à 180 °C ; maintenez la température de la chambre à injection à 180-200 °C et celle du détecteur à 200-250 °C.

Le nombre de plateaux théoriques, calculé à 90 °C sur le pic du limonène, est de 30 000 au minimum, et la résolution, calculée à 120 °C, entre le pic correspondant au linalol et le pic correspondant à l'acétate de linalyle est égale ou supérieure à 1,5.

Injectez environ 0,2 µL de la solution témoin. Identifiez les constituants qui ont élué selon l'ordre de classement des substances dans la formule de la solution témoin. Notez les temps de rétention de ces substances. Injectez environ 0,2 µL de la solution à examiner. À l'aide des temps de rétention déterminés avec le chromatogramme obtenu avec la solution témoin, localisez sur le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner les six composants de la solution témoin (ne tenez pas compte du pic correspondant à l'hexane). Déterminez pour chacun de ces six composants à l'aide du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, le pourcentage de surface du pic considéré par rapport à la surface de l'ensemble des pics.

Ces pourcentages sont compris entre les valeurs suivantes :

β-Pinène	5,0 à	9,5	pour cent
Limonène	33 à	42	pour cent
γ-Terpinène	6,0 à	10,5	pour cent
Linalol	7,0 à	15	pour cent
Acétate de linalyle	22 à	33	pour cent
Géranial ⁽¹⁾	inférieur à	0,5	pour cent

DOSAGE

Opérez par chromatographie en phase liquide (2.2.29).

Solution à examiner. Dissolvez 0,200 g d'huile essentielle de bergamote dans du *chlorure de méthylène R* et complétez à 100 mL avec le même solvant.

Solution témoin (a). Dissolvez 30 mg de *bergaptène R* dans du *chlorure de méthylène R* et complétez à 100 mL avec le même solvant.

Solution témoin (b). Diluez au 1/10 la solution témoin (a) dans du *chlorure de méthylène R*.

Solution témoin (c). Prélevez 10 mL de la solution témoin (b) et complétez à 100 mL avec du *chlorure de méthylène R*.

Solution témoin (d). Prélevez 15 mL de la solution témoin (b) et complétez à 100 mL avec du *chlorure de méthylène R*.

Solution témoin (e). Prélevez 20 mL de la solution témoin (b) et complétez à 100 mL avec du *chlorure de méthylène R*.

¹ Le citral R est un mélange des isomères *E* (géranial) et *Z* (néral). Le néral est élué le premier, puis il est suivi du géranial.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

La chromatographie peut être réalisée à l'aide de :

- une colonne d'acier inoxydable d'une longueur de 250 mm et d'un diamètre intérieur de 4,6 mm remplie de *gel de silice pour chromatographie R* (5 µm) ;
- d'un mélange de 15 volumes d'*acétate d'éthyle R* et de 85 volumes d'*hexane R* à un débit de 1,2 mL/min;
- d'un spectrophotomètre réglé à 310 nm comme détecteur
- d'un injecteur à boucle.

Injectez une fois 10 µL des solutions témoins (c), (d) et (e) et une fois 10 µL de la solution à examiner.

L'essai n'est valable que si le nombre de plateaux théoriques de la colonne, calculé sur le pic du bergaptène dans les conditions du dosage est de 5 000 au minimum, et la résolution entre le pic de bergaptène et celui du citroptène est de 2,5 au minimum (le pic du citroptène, présent dans la solution à examiner, sort avant le pic du bergaptène avec un temps de rétention relatif égal à environ 0,8 fois celui du bergaptène).

Déterminez la droite d'étalonnage en tenant compte de la surface des pics de bergaptène des solutions témoins (c), (d) et (e) et des concentrations de ces mêmes solutions. Calculez, à l'aide de cette droite, la masse de bergaptène contenue dans les 100 mL de la solution à examiner :

m = masse de la prise d'essai d'huile essentielle de bergamote, en gramme,

m' = masse de bergaptène contenue dans 100 mL de solution à examiner, en gramme.

Calculez la teneur en bergaptène à l'aide de l'expression :

$$\frac{(m' \times 100)}{m} \text{ g pour cent de bergaptène}$$

CONSERVATION

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

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.