

1. Pierwsze kolokwium pisemne – reaktywacje i II termin.
2. Sprawdzenie wiedzy i przygotowania do ćwiczeń przez prowadzących.
3. Analiza organoleptyczna substancji roślinnych:

Agni casti fructus, Hederae folium, Rusci rhizoma, Herniariae herba, Liquiritiae radix, Saponariae radix, Calendulae flos, Hippocastani flos.

4. Analiza mikroskopowa proszków roślinnych:

Preparaty mikroskopowe należy wykonać na gorąco w odczynniku prześwietlającym. Korzystając z rycin, rozróżniać cechy grupowe i charakterystyczne poszczególnych proszków (rysować tylko charakterystyczne). Kończąc pracę, na preparatach z korzeni wykonać reakcję na obecność/nieobecność skrobi. Wyniki zanotować.

– korzeń żeń-szenia (FP XII)

roślina (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

Liquiritiae radix –

rośliny (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

Saponariae radix –

roślina (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

Primulae flos –
roślina (łac./pl.):
rodzina (łac./pl.):

Calendulae flos –
roślina (łac./pl.):
rodzina (łac./pl.):

Hippocastani semen –
roślina (łac./pl.):
rodzina (łac./pl.):

5. Sporządzenie wyciągu do TLC (2 zadania na grupę):

Okolo 0,5 g rozdrobnionej substancji lub proszku roślinnego zalać w probówce ok. 2 mL 70% MeOH.
Podpisane próbówki wstawić do płuczki ultradźwiękowej (pok. A002) na 15 min.

6. Analiza chromatograficzna: rozdzielanie saponin metodą 2D-TLC:

Na kwadratową płytkę do TLC nanosić **PUNKTOWO** ok. 2 kapilary klarownego wyciągu, susząc intensywnie - tak aby powstająca plama była jak najmniejszych rozmiarów). Poprosić prowadzącego o szczegółowe wyjaśnienia.

Wysuszyć.

Rozwinąć chromatogram w komorze pionowej w pierwszym kierunku (zaznaczyć pierwszy kierunek):

Faza stała 1: żel krzemionkowy Si 60,

Faza ruchoma 1: (CH₃COOEt / CH₃COOH / H₂O) = 5 / 1/ 1). Ok. 25 min.

Odwiać **DOKŁADNIE** resztki fazy ruchomej suszarką pod dygestorium. Analizować w świetle UV 366 nm.

grupa:

Ponownie rozwinąć chromatogram w drugim kierunku w drugiej komorze pionowej (zaznaczyć drugi kierunek):

Faza stała 2: żel krzemionkowy Si 60,

Faza ruchoma 2: (CHCl₃ / CH₃COOH / MeOH / H₂O = 60 / 32 / 12 / 8). Ok. 25 min.

Odwiać resztki fazy ruchomej suszarką. Chromatogram wysuszyć w 115-120°C, spryskać delikatnie wodą.

Zanotować obserwowane zmiany, zaznaczyć ołówkiem na chromatogramie plamy zmniejszające napięcie powierzchniowe. Ponownie wysuszyć w suszarce powietrznej i spryskać 10% H₂SO₄ w MeOH.

Suszyć w suszarce powietrznej w 115-120°C aż do uzyskania zabarwienia.

Analizować w świetle widzialnym i UV 366 nm (porównanie R_f rozkładu plam i ich barw). Zapisać wnioski.

Analizowana substancja:

Obserwacje:

.....

.....

.....

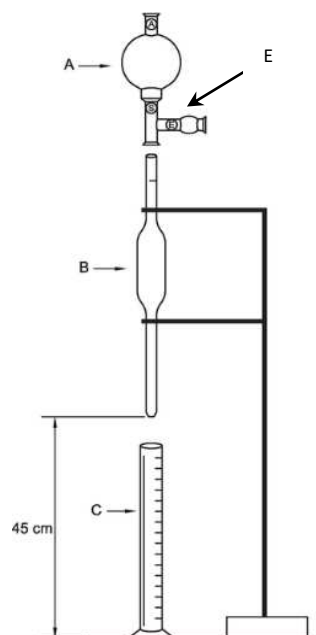
.....

Wniosek:

.....

7. Oznaczanie wskaźnika pienienia wg monografii 07/2019:20824 (1 zadanie na grupę):

Wskaźnik pienienia określa się mierząc wysokość słupa piany wytworzonej, w opisany w monografii sposób, przez odpowiednią ilość przetworu roślinnego będącą równoważnikiem jednego grama substancji roślinnej.



Przygotowanie zestawów (×3, w oparciu o rysunek)

Ostrożnie zamontować pipetę jednomiarową (pełną) B, tak aby jej końcówka znalazła się na wysokości 45 cm od podstawy cylindra miarowego C.

Cylinder C, o objętości 250 mL ustawić tak, aby końcówka pipety B trafiła dokładnie w środek otworu cylindra C. Za pomocą naciągarki trójdrożnej A napełnić pipetę wodą i sprawdzić celność). Oznaczyć położenie cylindra na blacie stołu (np. gęsią skórka). Osuszyć cylinder i pipetę (swobodny wypływ).

Przygotowanie roztworu badanego T (ilość na trzy powtórzenia)

Przepisaną ilość m sproszkowanej substancji roślinnej (sito 355um) lub przetworu opisanego w monografii umieścić w zlewce o objętości 500 mL. Jeżeli monografia nie stanowi inaczej: do 3,5g surowca lub wyciągu ostrożnie dodać (unikając wytworzenia piany) 175 mL wody destylowanej i pozostawić na 30 minut, mieszając w tym czasie 3-5× bagietką (unikając wytworzenia piany). Splukać ostrożnie bagietkę i wewnętrzne ściany zlewki kolejnymi 175 mL wody destylowanej, tak aby maksymalna ilość substancji roślinnej znalazła się w wyciągu. Wyciąg pozostawić w spokoju na kolejne 30 minut.

Po tym czasie delikatnie zamieszać i przefiltrować wyciąg przez sączek z bibuły filtracyjnej do drugiej zlewki o objętości 500 mL, unikając wytworzenia piany. Do badania wykorzystać filtrat (roztwór T; DSR 1:100).

Oznaczenie

Wykonać w trzech powtórzeniach. Do każdego cylindra wprowadzić 50,0 mL roztworu T, starając się nie wytworzyć przy tym piany. Unosząc zlewkę z pozostałą częścią wyciągu, ostrożnie nabrać z niej do każdej z pipet po 50,0 mL roztworu T. Do każdego eksperymentu (zestaw pipeta + cylinder) wykorzystane zostanie 100,0 mL wyciągu T, co jest ekwiwalentem ilości substancji m = 1g. Wypozyjonować cylinder i przygotować linijkę. Otworzyć zawór E naciągarki (wskazany strzałką) tak, aby roztwór T swobodnie wpłynął do przygotowanego poniżej cylindra z pozostałą częścią roztworu T. Zanotować maksymalną wysokość piany H [cm], zanim zacznie ona opadać. Obliczyć wskaźnik pienienia wg poniższego wzoru, jako średnią z trzech powtórzeń:

$$I_F = H \text{ [cm]} / m \text{ [g]}$$

$$I_F (1) = \dots\dots\dots$$

$$I_F (2) = \dots\dots\dots$$

$$I_F (3) = \dots\dots\dots$$

$$\overline{I_F} = \dots\dots\dots$$

Badana substancja roślinna / preparat:

grupa:

8. Analiza otrzymanego proszku (ćwiczenie indywidualne):

W przypadku otrzymania proszku roślinnego, analizować go zgodnie z instrukcjami z klucza do oznaczania sproszkowanych substancji roślinnych i własnymi notatkami.
Zanotować wyniki reakcji grupowych (np. z roztworami I₂, FeCl₃).

Próba pienienia:

Szczyptę substancji pozostawić na chwilę w probówce napełnionej do połowy wodą do spęcznienia, po czym energicznie wytrząsać przez 1 min. w probówce z wodą. W przypadku obecności saponin w substancji powstaje trwała (min. 5-10 min.) warstwa piany. Nietrwałą pianę mogą dawać również inne związki, np. garbniki.

Obserwacja mikroskopowa (*rysunek z opisem*):

Wniosek:
.....
.....

9. Reakcje mikrochemiczne (ćwiczenie indywidualne):**Reakcja Liebermana-Burcharda (na obecność układów: 3-OH steranowego lub 3-OH triterpenowego):**

Szczyptę substancji (frakcja triterpenowa, cholesterol) lub kilka kropel badanego wyciągu rozpuścić w 1 mL CHCl₃ lub CH₂Cl₂. Dodać kilka kropel bezwodnika octowego i ostrożnie podwarstwić 1 mL stężonego H₂SO₄. Zanotować zmianę barwy na granicy warstw.

Wynik próby Liebermana-Burcharda wykonanej na wyciągu z badanej substancji:

.....
Wniosek:

Reakcja Salkowskiego (na obecność układów: steranowego lub triterpenowego):

Szczyptę substancji (frakcja triterpenowa, cholesterol) lub kilka kropel badanego wyciągu rozpuścić w 1 mL CHCl₃ lub CH₂Cl₂. Dodać 1 mL stężonego H₂SO₄. Zanotować zmianę barwy.

Wynik próby Salkowskiego wykonanej na wyciągu z badanej substancji:

.....
Wniosek:

Reakcja Czugajewa (odróżniająca triterpeny od steroli):

Szczyptę substancji (frakcja triterpenowa, cholesterol) lub kilkanaście kropel badanego wyciągu rozpuścić w 1 mL 90% roztworu CCl₃COOH. Ogrzewać początkowo na łaźni wodnej, a następnie (w przypadku braku zmian po ok. 5-10 min.) – ostrożnie – w płomieniu palnika spirytusowego.
Pojawienie się różowej barwy już w ok. 60-70°C wskazuje na obecność steroli, a dopiero w 110-120°C – na obecność triterpenów.

Wynik próby Czugajewa wykonanej na wyciągu z badanej substancji:

.....
Wniosek: