

Górna część chromatogramu	
Chamazulen: czerwone lub czerwonoawioletowe pasmo	1 lub 2 niebieskie lub niebieskawioletowe pasma
Octan bornylu: żółtawobrunatne pasmo	Czerwone lub czerwonoawioletowe pasmo (chamazulen)
(-)- α -Bisabolol: czerwonoawioletowe lub niebieskawioletowe pasmo	Brunatne pasmo (en-indicykloeter)
	Czerwonoawioletowe lub niebieskawioletowe pasmo ((-)- α -bisabolol)
Roztwór porównawczy	Roztwór badany

BADANIA

Pokruszona substancja roślinna: nie więcej niż 25%, przechodzącej przez sito (710) (2.9.12); do wykonania badania użyć 20,0 g substancji roślinnej.

Strata masy po suszeniu (2.2.32): nie więcej niż 12,0%; po suszeniu 1,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) 2 h w suszarce w temp. 105°C.

Popiół całkowity (2.4.16): nie więcej niż 13,0%.

ZAWARTOŚĆ

Olejek eteryczny (2.8.12). Użyć 30 g nierozdrobnionej substancji roślinnej, kolby poj. 1000 mL, 500 mL wody OD jako cieczy destylacyjnej i 0,50 mL *ksylenu* OD w kalibrowanej rurce. Destylować 4 h z szybkością 3–4 mL/min. Krótco przed końcem tego okresu zamknąć dopływ wody do chłodnicy, ale kontynuować destylację dopóki niebieskie składniki, lotne z parą wodną nie osiągną dolnego końca chłodnicy. Natychmiast włączyć dopływ wody do chłodnicy, aby uniknąć ogrzania przestrzeni rozdzielania (wody od olejku). Zaprzestać destylacji po dalszych 10 min.

Zawartość 7-glukozydu apigeniny. Chromatografia cieczowa (2.2.29).

Mieszanina rozpuszczalników: faza ruchoma B, faza ruchoma A (25:75 V/V).

Roztwór badany. Sproszkować 40 g substancji roślinnej (500) (2.9.12). Umieścić 2,00 g sproszkowanej substancji roślinnej w kolbie okrągłodennej poj. 500 mL. Dodać 200 mL *etanolu* (96%) OD. Ogrzewać mieszaninę 15 min na łaźni wodnej, pod chłodnicą zwrotną. Ochłodzić i przesączyć. Przemycić sączek i pozostałość kilkoma mililitrami *etanolu* (96%) OD. Do przesączu dodać 10 mL świeżo przygotowanego rozcieńczonego roztworu wodorotlenku sodu OD i ogrzewać mieszaninę ok. 1 h na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną. Ochłodzić. Uzupełnić *etanolem* (96%) OD do 250,0 mL. Do 50,0 mL roztworu dodać 0,5 g *kwasu cytrynowego* OD. Wytrząsać 5 min i przesączyć. Uzupełnić 5,0 mL tego roztworu mieszaniną rozpuszczalników do 10,0 mL.

Roztwór porównawczy (a). Rozpuścić 10,0 mg 7-glukozydu apigeniny CSP w 100,0 mL *metanolu* OD. Uzupełnić 25,0 mL tego roztworu mieszaniną rozpuszczalników do 200,0 mL.

Roztwór porównawczy (b). Rozpuścić 10,0 mg 5,7-dihydroksy-4-metylokumaryny OD w 100,0 mL *metanolu* OD. Uzupełnić 25,0 mL tego roztworu mieszaniną rozpuszczalników do 100,0 mL. Do 4,0 mL tego roztworu dodać 4,0 mL roztworu

porównawczego (a) i uzupełnić mieszaniną rozpuszczalników do 10,0 mL.

Przedkolumna:

- wymiary: długość 8 mm, średnica wewnętrzna 4,6 mm;
- faza nieruchoma: żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi OD (5 μ m).

Kolumna:

- wymiary: długość 0,25 m, średnica wewnętrzna 4,6 mm;
- faza nieruchoma: żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi OD (5 μ m).

Faza ruchoma:

- faza ruchoma A: kwas fosforowy OD, woda OD (0,5:99,5 V/V);
- faza ruchoma B: kwas fosforowy OD, acetonitryl OD (0,5:99,5 V/V);

Czas (min)	Faza ruchoma A (% V/V)	Faza ruchoma B (% V/V)
0 – 9	75	25
9 – 19	75 → 25	25 → 75
19 – 24	25	75

Szybkość przepływu: 1 mL/min.

Detekcja: spektrofotometr przy 340 nm.

Wprowadzenie: 20 μ L.

Przydatność układu: roztwór porównawczy (b):

- rozdzielczość: nie mniej niż 1,8 pomiędzy pikami 7-glukozydu apigeniny i 5,7-dihydroksy-4-metylokumaryny.

Obliczyć procentową zawartość 7-glukozydu apigeniny wg poniższego wzoru:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 0,625}{A_2 \times m_1}$$

A_1 = powierzchnia pików 7-glukozydu apigeniny na chromatogramie roztworu badanego;

A_2 = powierzchnia pików 7-glukozydu apigeniny na chromatogramie roztworu porównawczego (a);

m_1 = masa badanej substancji roślinnej użyta do przygotowania roztworu badanego, w gramach;

m_2 = masa 7-glukozydu apigeniny CSP użyta do przygotowania roztworu porównawczego (a), w gramach;

p = procentowa zawartość 7-glukozydu apigeniny w 7-glukozydzie apigeniny CSP.

01/2016:1602

MYRTILLI FRUCTUS RECENS

Owoc borówki czernicy, świeży

Bilberry fruit, fresh; Myrtille (fruit frais de)

DEFINICJA

Świeży lub zamrożony dojrzały owoc *Vaccinium myrtillus* L.

Zawartość: nie mniej niż 0,30% antocyjanów, w przeliczeniu na chlorek 3-O-glukozydu cyjanidyny (chryzantemina, $C_{21}H_{21}ClO_{11}$; m.cz. 484,8) (wysuszona substancja roślinna).

TOŻSAMOŚĆ

- A. Świeży owoc borówki czernicy jest czarnawoniebieską, kulistą jagodą, ok. 5 mm średnicy. Na dolnym końcu posiada bliźnię, lub rzadziej, fragment szypułki. Szczyt jest spłaszczony.

ny zwieńczony resztkami pozostałego słupka i kielicha, który występuje jako kolista fałda. Fioletowa, mięsista śródownia zawiera 4 do 5 komór, a w nich liczne małe, brązowe, jajowate nasiona.

- B. Rozgnieciony świeży owoc ma zabarwienie fioletowoczerwone. Obserwować pod mikroskopem używając *roztworu wodzianu chloralu OD*. Posiada fioletoworóżowe sklereidy z owocni wewnętrznej i śródowni, zwykle w skupiskach, o grubych jamkowanych ścianach; czerwono-brązowe fragmenty owocni zewnętrznej zbudowane z wielokątnych komórek o umiarkowanie zgrubiałych ścianach; brązowo-żółte fragmenty zewnętrznej warstwy łupiny nasiennej zbudowane z wydłużonych komórek o U-owato zgrubiałych ścianach; grube szczawianu wapnia.

- C. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Do 5 g świeżo zmiażdżonej substancji roślinnej dodać 20 mL *metanolu OD*. Mieszać 15 min i przesączyć. *Roztwór porównawczy*. Rozpuścić 0,10 g *suchego wyciągu z owoców borówki czernicy RWP* w 25 mL *metanolu OD*. Mieszać 15 min i przesączyć.

Płytki: płytka TLC z żelalem krzemionkowym F_{254} OD (5–40 μm) [lub płytka TLC z żelalem krzemionkowym F_{254} OD (2–10 μm)].

Faza ruchoma: bezwodny kwas mrówkowy OD, woda OD, butanol OD (16:19:65 V/V/V).

Naniesienie: 10 μL [lub 2 μL], w postaci pasm 15 mm [lub 8 mm].

Rozwijanie: na odległość 10 cm [lub 6 cm].

Suszenie: na powietrzu.

Detekcja: obejrzyć w świetle dziennym.

Wyniki: poniżej podano kolejność pasm obecnych na chromatogramach roztworu porównawczego i roztworu badanego. Ponadto, na chromatogramie roztworu badanego mogą być obecne inne słabe pasma.

Górna część chromatogramu	
Fioletowoczerwone pasmo	Fioletowoczerwone pasmo
Fioletowe pasmo	Fioletowe pasmo
Fioletowe pasmo	Fioletowe pasmo
Szerokie, nierozdzielone niebieskawofioletowe pasmo	Szerokie, nierozdzielone niebieskawofioletowe pasmo
Roztwór porównawczy	Roztwór badany

BADANIA

Strata masy po suszeniu (2.2.32): od 80,0% do 90,0%; po suszeniu 5,000 g świeżo zmiażdżonej substancji roślinnej w suszarce w temp. 105°C.

Popiół całkowity (2.4.16): nie więcej niż 0,6%.

ZAWARTOŚĆ

Zmiażdżyć 50 g substancji roślinnej bezpośrednio przed użyciem. Do ok. 5,00 g zmiażdżonej, dokładnie odważonej substancji roślinnej, dodać 95 mL *metanolu OD*. Mieszać mechanicznie 30 min. Przesączyć do kolby miarowej poj. 100,0 mL. Przemyc

sączek i uzupełnić *metanolem OD* do 100,0 mL. Przygotować 50-krotne rozcieńczenie tego roztworu w roztworze 0,1% (V/V) *kwasu solnego OD w metanolu OD*.

Zmierzyć absorbancję (2.2.25) roztworu przy 528 nm, używając roztworu 0,1% (V/V) *kwasu solnego OD w metanolu OD* jako odnośnika.

Obliczyć procentową zawartość antocyjanów, w przeliczeniu na chlorek 3-O-glukozydu cyjanidyny, wg poniższego wzoru:

$$\frac{A \times 5000}{718 \times m}$$

718 = absorbancja właściwa chlorku 3-O-glukozydu cyjanidyny przy 528 nm;

A = absorbancja przy 528 nm;

m = masa badanej substancji roślinnej, w gramach.

PRZECHOWYWANIE

W przypadku zamrażania przechowywać w temp. –18°C lub niższej.

01/2016:2394

MYRTILLI FRUCTUS RECENTIS EXTRACTUM SICCUM RAFFINATUM ET NORMATUM

Wyciąg suchy oczyszczony i standaryzowany ze świeżych owoców borówki czernicy

Fresh bilberry fruit dry extract, refined and standardised; Myrtille (fruit frais de), extrait sec purifié et titré de

DEFINICJA

Oczyszczony i standaryzowany suchy wyciąg otrzymany ze świeżego owocu borówki czernicy (1602).

Zawartość: od 32,4% do 39,6% antocyjanów, w przeliczeniu na chlorek 3-O-glukozydu cyjanidyny [chryzantemina ($\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{ClO}_{11}$; m.c.z. 484,8)] (wysuszony wyciąg).

WYTWARZANIE

Wyciąg otrzymuje się z substancji roślinnej odpowiednią metodą używając etanolu (96% V/V) lub *metanolu* (nie mniej niż 60%). Oczyszczanie może być wykonane metodą chromatografii jonowymiennej.

WŁAŚCIWOŚCI

Wygląd: ciemny, czerwono-fioletowy, bezpostaciowy, higroskopijny proszek.

TOŻSAMOŚĆ

Tożsamość pierwsza: B.

Tożsamość druga: A.

- A. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Rozpuścić 0,10 g wyciągu badanego w 25 mL *metanolu OD*. Mieszać 15 min i przesączyć.

Roztwór porównawczy. Rozpuścić 0,10 g *suchego wyciągu z owoców borówki czernicy RWP* w 25 mL *metanolu OD*. Mieszać 15 min i przesączyć.

Płytki: płytka TLC z żelalem krzemionkowym F_{254} OD (5–40 μm) [lub płytka TLC z żelalem krzemionkowym F_{254} OD (2–10 μm)].