

LUCRARE DE LABORATOR NR. 1 (01-04 septembrie 2020)
ÎNSUȘIREA METODELELOR DE ANALIZĂ FARMACOGNOSTICĂ
(caractere macroscopice și microscopice)

I. De studiat:

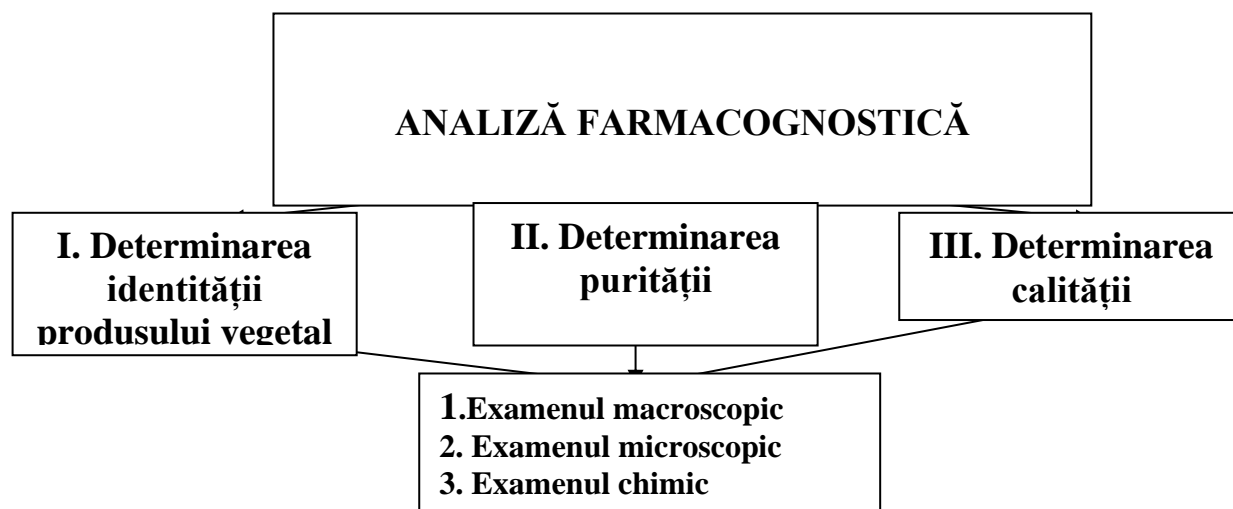
1. Metode generale de analiză farmacognostică a produselor vegetale,
2. Analiza macroscopică a produsului vegetal (părți aeriene, frunze, flori, semințe, fructe, părți subterane: rădăcini, rizomi, tuberculi, bulbi).
3. Analiza microscopică a produsului vegetal.

1. Metode generale de analiză farmacognostică a produselor vegetale

Cunoașterea unui produs vegetal înseamnă caracterizarea acestuia din punct de vedere macroscopic, microscopic și chimic, ceea ce conduce la stabilirea identității lui, urmată de determinarea purității și a calității. Determinările menționate se efectuează prin multiple procedee metodice cu o succesiune concretă și constituie *metoda de analiza farmacognostică*.

Privită în ansamblu, analiza farmacognostică cuprinde două compartimente distincte – *analiza calitativă și analiza cantitativă a produsului vegetal*.

- Analiza farmacognostică calitativă, a cărei finalitate este determinarea identității unui produs vegetal, cuprinde examenul macroscopic, examenul microscopic (prin aplicarea reacțiilor cito- și histo-chimice) și cel chimic.
- Analiza farmacognostică cantitativă prevede determinarea purității produselor vegetale și a conținutului de principii active prin diferite metode: gravimetrică, volumetrică, colorimetrică, spectrofotometrică etc.



Determinarea identității produselor vegetale

Determinarea identității unui produs vegetal sau caracterizarea unui organ vegetal încă nestudiat, în scopul valorificării lui, impune inițial stadiu de investigare – examenul macroscopic, care urmărește identificarea și precizarea caracterelor morfologice, care pot fi observate cu ochiul liber sau cu ajutorul lupei și perceperea organoleptică. În scopul însușirii metodei de analiză macroscopică a produsului vegetal sunt necesare cunoștințe profunde privind morfologia plantelor.

Tehnica analizei macroscopice constă în studierea cu ochiul liber sau cu lupa a aspectului exterior al produsului vegetal și în fractură, măsurarea dimensiunilor părților componente separat, determinarea formei morfologice, efectuarea probelor organoleptice (culoarea, mirosul, gustul) și a reacțiilor microchimice de identificare. Frecvent se folosește

lupa și microscopul, în deosebi la identificarea modului de distribuire a perilor, glandelor secretoare etc.

2. Analiza macroscopică a produsului vegetal

Se efectuează conform documentației analitice de normare (DAN) în vigoare (monografiile farmaceutice, monografiile farmaceutice temporare, specificații ale producătorilor sau alte standarde), aprobate pentru produsul vegetal. O cantitate nu prea mare de produs vegetal uscat se plasează pe o placă, sticlă sau hârtie. Produsul se examinează cu ochiul liber sau cu lupa sub diferite unghiuri și poziții în baza mai multor caracteristici.

Dimensiunile (lungimea și grosimea) produsului vegetal se stabilesc cu ajutorul riglei gradate, iar în cazul organelor foarte mici (unele semințe și fructe) se măsoară cu ajutorul hârtiei milimetrice și se calculează valoarea medie.

Culoarea produsului vegetal se determină la lumina zilei. Se notează culoarea produsului vegetal atât pe suprafață (în cazul frunzei – suprafața superioară și inferioară, iar la scoarță – suprafața internă și externă), cât și în fractură.

Mirosul produsului vegetal uscat se determină, de regulă, la fărâmițare. Produsul vegetal fragil se fărâmițează cu degetele, cel dur, fibros, gros se mărunțește în mojar sau se răzuie cu cuțitul.

Gustul produsului vegetal trebuie apreciat cu precauție, luând în cavitatea bucală fragmente mici, rumegându-le sau decoct 10% fără a înghiți, după ce se clătește gura cu apă. **ATENȚIE! În DAN gustul este indicat numai pentru produsul vegetal netoxic, de aceea se determină, când e clar cu certitudine că nu este toxic.**

Probele organoleptice sunt, de regulă, caractere cu valoare diagnostică determinantă pentru majoritatea produselor vegetale. Aceiași tehnică de analiză macroscopică se aplică și la produsul vegetal umectat sau macerat.

Tehnica analizei macroscopice a produsului vegetal este efectuată în concordanță cu tipul morfologic al organului, care se denumește în limba latină:

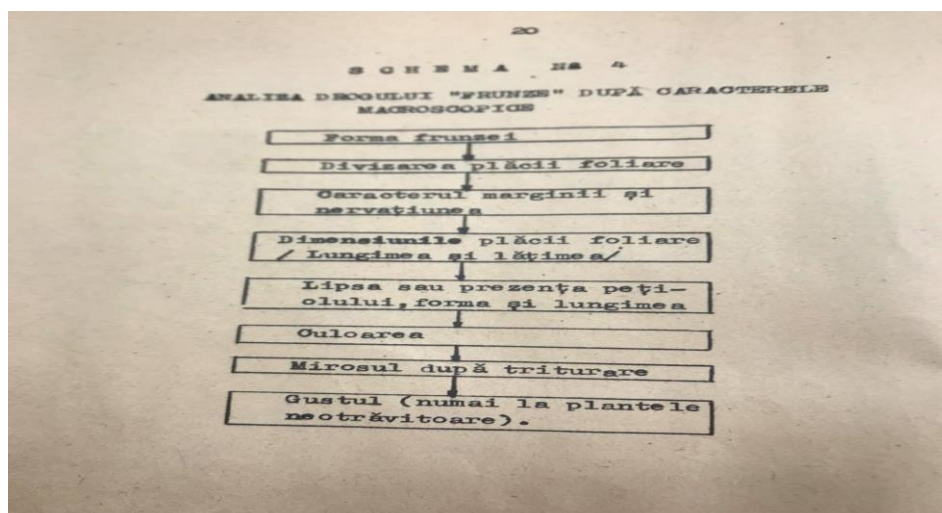
rizomi – rhizomata, rădăcini – radix, bulb – bulbus, tubercul – tuber, scoarță – cortex, butoni – alabastra, muguri – gemma, frunze – folia, pețiol sau peduncul – stipites, flori – flores, partea aeriană – herba, lăstar vegetativ – turiones, fruct – fructus, sămânță – semena.

Frunze- **FOLIA**

Acest produs vegetal în practica farmaceutică prezintă frunze uscate sau foliole separate ale frunzei compuse întregi sau fragmente. În cazul frunzelor compuse se colectează în special cele dezvoltate.

Analiza macroscopică a frunzei se efectuează în baza indicilor morfologici:

- forma frunzei, aspectul suprafețelor;
- divizarea plăcii foliare, configurarea limbului (lungime și diametru);
- caracterul marginii și nervațiunii;
- lipsa/prezența pețiolului în secțiune transversală.
- culoarea, mirosul și gustul, care se determină pe materialul uscat.



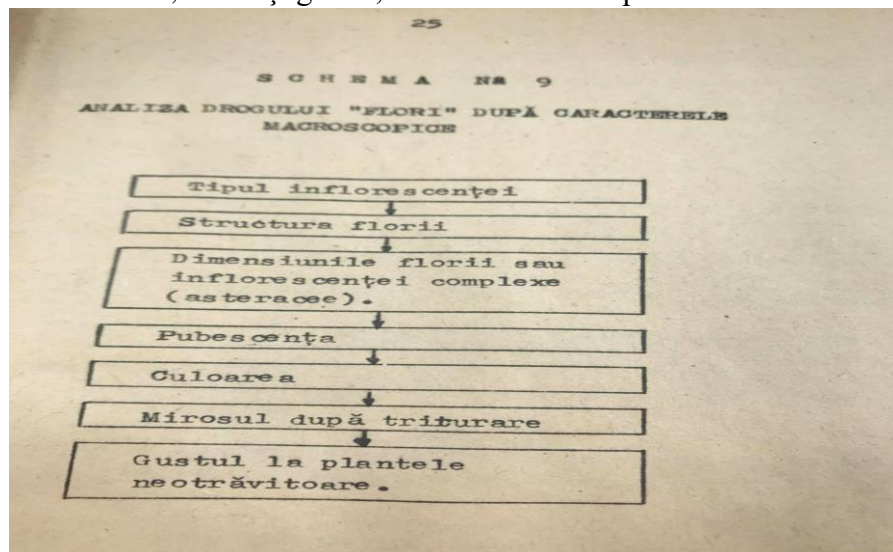
Se atrage atenție la grosimea nervurilor, proeminența lor pe ambele suprafețe (superioară și inferioară a frunzelor). Aceste particularități morfologice, în cazul analizei frunzelor mici și coriacee, se observă mai bine pe materialul vegetal uscat. Frunzele de dimensiuni mari și cu limbul subțire în produsul vegetal uscat necesită pregătirea prealabilă cum ar fi înmuierea materialului într-o cameră umedă sau macerarea prin introducerea lui pentru câteva minute în apă fierbinte, se analizează și cu ajutorul lupei sau a microscopului pentru a evidenția: prezența sau absența perilor și modul de distribuire pe suprafețele limbului, pețiolului și anexelor foliare; prezența sau absența, modul de distribuire pe suprafețele limbului a glandelor și cavităților secretoare. Gustul se stabilește pe produsul vegetal uscat, dar mai frecvent pe cel umectat sau decoctul acestuia, pentru produse netoxice.

Flori **-FLORES**

În practica farmaceutică acest produs vegetal include *flori separate sau inflorescențe* (calatidii, corimb, umbel, capitule) întregi și părțile lor componente (flori aparte, bractei). Inițial este necesar de stabilit dacă produsul vegetal este alcătuit din flori complete sau incomplete, solitare sau în inflorescențe.

Analiza macroscopică a florilor se bazează pe următorii indici morfologici:

- tipul florii și inflorescenței;
- structura florii;
- dimensiunile florii și inflorescenței;
- pubescență;
- culoarea, miros și gustul, care se determină pe materialul uscat.



Pentru studierea structurii florii sau a inflorescenței materialul se înmoaie în prealabil în apă fierbinte timp de 5-10 min și se examinează cu lupa sau cu ajutorul microscopului. Pe produsul vegetal umectat, aranjat pe placa de sticlă, se determină dimensiunile: diametrul florii sau inflorescenței, lungimea și lățimea elementelor florale. Se atrage atenție la prezența sau absența perilor și modul lor de distribuire.

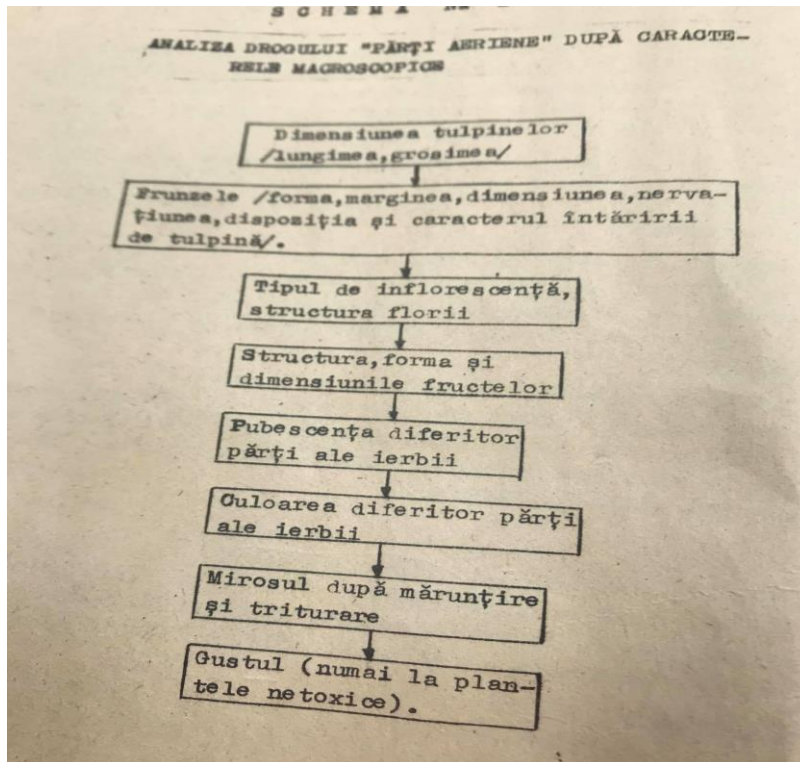
Părțile aeriene **-HERBA**

Acest produs vegetal reprezintă părțile supraterestre înflorite (la diferite etape), uneori fructificate și poate include fragmente de tulpini cu frunze și flori la diferite faze de dezvoltare, uneori cu fructe imature și mature ale plantelor. Examenul macroscopic prevede descrierea morfologică a fiecărui organ în parte din produsul vegetal. Pe produsul vegetal întreg până la separarea organelor constituente, se va determina modul de aranjare a funzelor, tipul inflorescenței și diametru ei. Se vor determina dimensiunile, culoarea, mirosul și gustul

tuturor părților componente. Pentru indentificarea mai reușită a particularităților morfologice ale organelor constituente, produsul vegetal, în prealabil, se macerează în apă fierbinte (5-10min.). Ulterior, părțile componente se aranjează pe o placă de sticlă și se analizează cu ochiul liber și cu ajutorul lupei, atât suprafețele organelor, cât și în fractură, în special tulpina, pețiolul frunzei, receptaculul florii și la necesitate fructul.

Analiza macroscopică a părților aeriene se bazează pe caracterele morfologice ale fiecărui organ aparte:

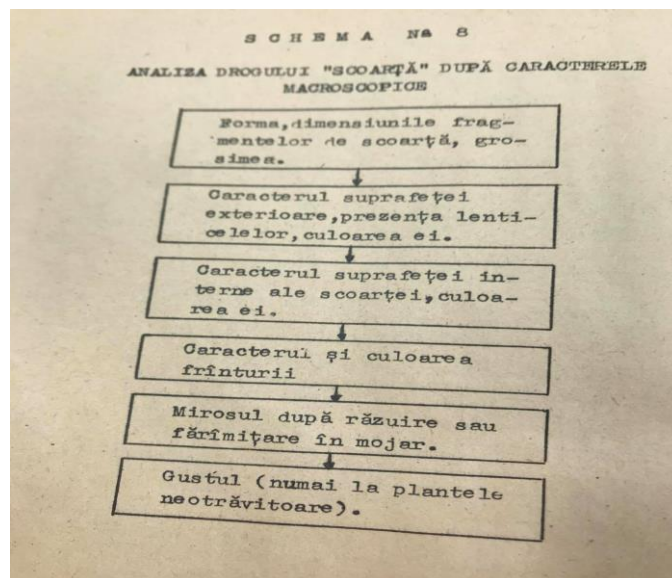
- tipul tulpinii, dimensiunile (lungime, grosime);
- frunzele (forma, marginea, dimensiunile, nervațiunea, prezența sau absența pețiolului și anexelor foliare; configurația limbului, bazei, apexulul; aspectul suprafețelor și consistența limbului);
- florile (tipul florii și inflorescenței), morfologia elementelor componente ale inflorescențelor și a florii (tipul caliciului, corolei, androceului și gineceului);
- fructul (tipul fructului);
- cu ajutorul lupei se analizează gradul pubescentei și modul de distribuire a perilor pe fiecare organ din componența produsului vegetal;
- culoare, miros, gust (pentru produse vegetale netoxice).



Scoarța -CORTEX

Sub denumirea acestui produs vegetal în practica farmaceutică se subînțelege partea exterioară a tulpinilor, ramurilor și rădăcinilor arborilor și arbuștilor. Analiza macroscopică se face pe materialul uscat, determinând culoarea, forma și dimensiunile fragmentelor de scoarță. Deoarece calitatea produsului vegetal depinde și de vârsta arborelui, o atenție deosebită se atrage grosimii scoarței. În produsul vegetal uscat *Cortex*, scoarța poate fi de formă tubulară, fâșii de diferite dimensiuni. Suprafața exterioară a scoarței e acoperită cu suber. În cazul analizei macroscopice se determină culoarea suberului, caracterul suprafeței (netedă, fisurată și modul de fisurare, rugoasă, mată ori cu luciu), forma, culoarea și modul de distribuire a

lenticelilor. Se analizează și suprafața interioară a scoarței netedă sau muchiată) și culoarea ei. Un rol important în identificarea scoarței revine caracterului fracturii transversale, care depinde de prezența tipului elementelor mecanice – sclereide sau sclerenchim fibros. În cazul prezenței sclereidelor (celulelor pietrificate) scoarța va avea un aspect granulat. Pentru determinarea mirosului scoarța uscată se fragmentează, iar la necesitate se răzuiește cu bisturiul.



Pentru identificarea categoriilor de compuși chimici (taninuri, flavonozide, celuloze, lignine, antracenozide etc.) în scoarță se aplică reacțiile chimice calitative pe suprafața interioară a scoarței, pe produsul obținut prin răzuire sau decoct.

Fructe **-FRUCTUS**

Acest produs vegetal în practica farmaceutică poate include diferite tipuri de fructe adevărate; simple, multiple, compuse (aronie, păducel, scoruș) sau pseudofructe întregi sau componentele lor (măceși). La analiza macroscopică a fructelor se atrage atenție la: formă, dimensiuni, culoare, miros și gust. Fructul constă din pericarp și semințe. Pericarpul la maturitate poate fi uscat (fructe uscate) sau cărnos (fructe succulente), Fructele uscate de tip achenă, nucleă, cariposă, foliculă, capsulă, păstaie, siliculă și silicvă se studiază pe material uscat. Fructele succulente (bacă, poamă, drupă etc.), deformată în timpul uscării, inițial se studiază produsul uscat, ulterior macerat (în apă fierbinte timp de 10-20 minute), sau fiert, pe care se va putea determina forma, dimensiunile, aspectul suprafeței și unele particularități morfologice specifice.

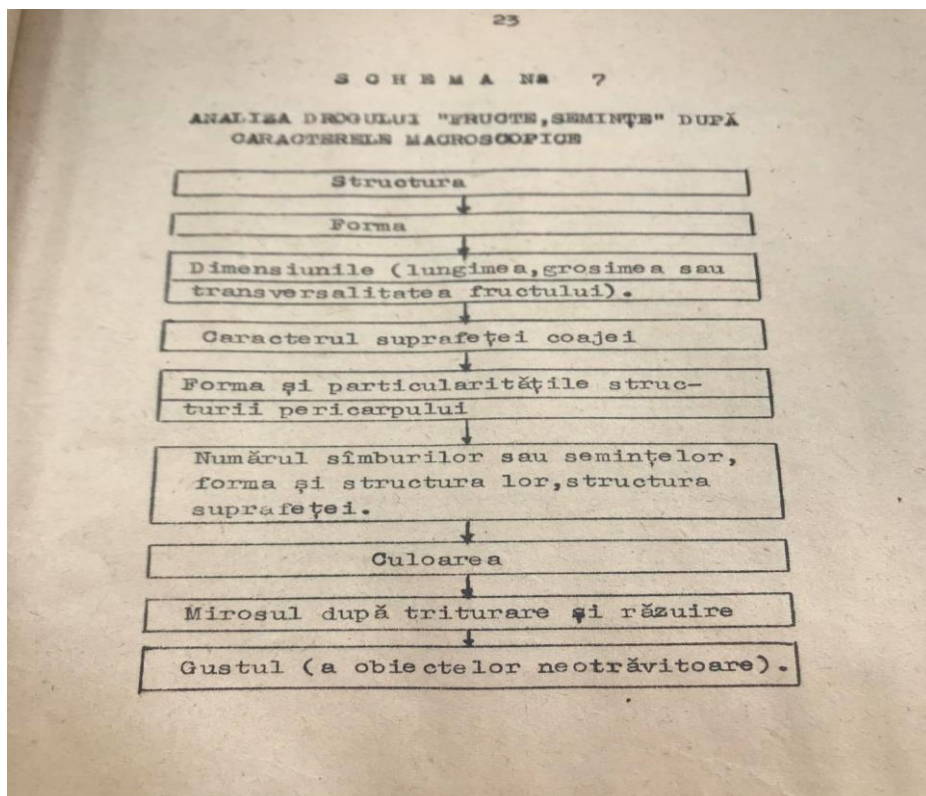
Semințele din fruct se înlătură, iar în cazul fructului de tip drupă – sâmburele, care include sămânța cu endocarpul sclerificat. În unele cazuri se recurge la analiza fructului în secțiune transversală pentru a evidenția numărul de camere seminale, prezența sau absența canalelor, cavităților secretoare și a elementelor mecanice (sclereide solitare sau în grup, fascicule de sclerenchim fibros). La analiza macroscopică a fructelor se aplică lupa și microscopul pentru studiul reliefului suprafețelor, evidențierea coastelor, pubescenta și modul de distribuire a perilor, prezența țepilor..

Semințe **-SEMINA**

În practica farmaceutică în acest produs vegetal se pot întâlni semințe întregi, fragmentate sau cotiledoane separate. Sămânța constă din tegument seminal, endosperm (la unele specii poate lipsi) și embrion. Pentru identificarea autenticității semințelor se determină forma, dimensiunile, culoarea (uni- sau policromată) și relieful tegumentului seminal (neted

sau rugos, glabru sau pubescent, cu luciu sau mat). Analizând tegumentul seminal cu ochiul liber și cu lupa se acordă atenție la formațiunile specifice: hilul (locul de fixare a seminței, micropilul (vizibil pe semințele mature sub forma unei protuberanțe – zona cea mai sensibilă a tegumentului seminal prin care străbate radica în timpul germinării seminței), rafa (o mică proeminență longitudinală) și anexele tegumentului seminal (arilul, ariloidul, carunculul). Prezența sau absența acestora, modul de distribuire, culoarea sunt caractere specifice taxonomice.

Cu ajutorul lupei sau al microscopului sămânța se examinează în secțiuni transversală pentru a evidenția: grosimea și particularitățile tegumentului seminței; caracteristicile țesutului nutritiv de acumulare (endosperm); forma, dimensiunile, numărul de cotiledoane și poziția embrionului.



În funcție de prezența sau chiar absența endospermului se deosebesc semințe exalbuminate (lipsite la maturitate de endosperm, dar cotiledoanele embrionului sunt mari și bogate în substanțe nutritive) la specii din familia Fabaceae. La specii din familiile Brassicaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Borraginaceae semințele exalbuminate dezvoltă cotiledoane mari, dar, totuși conțin 2-3 straturi de endosperm. În funcție de natura chimică a substanțelor de rezervă, endospermul poate fi: amidon (familia Poaceae), oleaginos (familia Brassicaceae, Euphorbiaceae, Apiaceae), aleuronic (familia Poaceae, Apiaceae), coros, bogat în proteine și hemiceluloze (*Phoenix dactilifera*) sau polimeri ai arabinozei și xilozei (*Strychnos nux-vomica*). Forma embrionului este variabilă și constituie un caracter distinctiv de diferențiere a speciilor: embrion drept *Ricinus communis*; curbat *Nicotiana tabacum*; spiralat *Solanum sp.*; circular sau arcuat – specii din familiile Caryophyllaceae, Chenopodiaceae.

Rădăcini -**RADICES**, Rizomi -**RHIZOMATA**, Tuberculi -**TUBER**, Bulbi -**BULBUS**

Rădăcinile, rizomii, tuberculii, bulbi sunt organe subterane ale plantei. În practica farmaceutică deosebim următoarele produse vegetale: rădăcini (frecvent fragmentate), rizomi

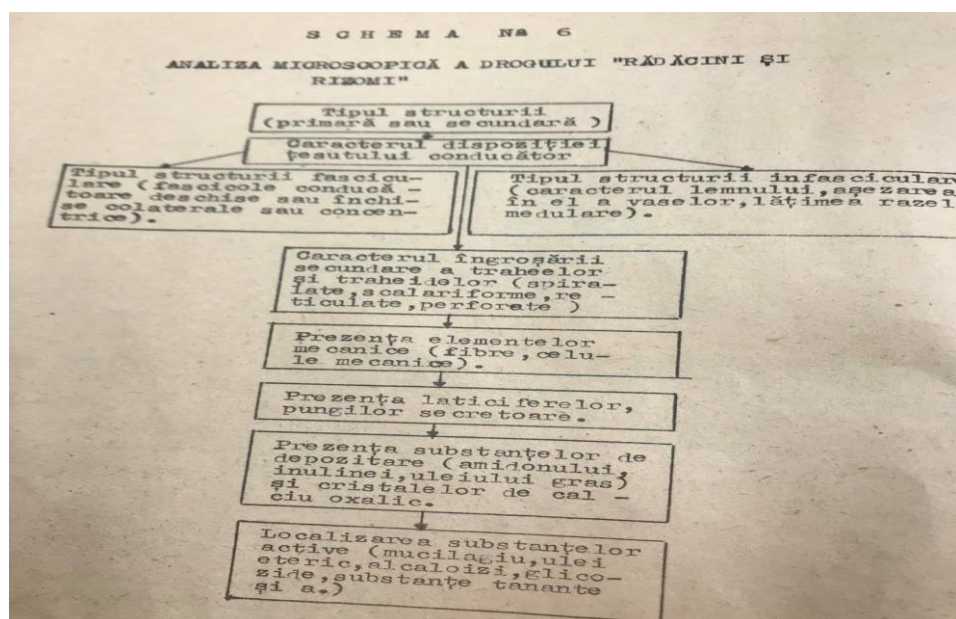
(fragmentați), fragmente separate de rizomi și rădăcini *Rhizomata et radices*; rizomi cu rădăcini *Rhizomata cum radicibus* (rizomii cu rădăcinile neînălțurate), tuberculi (întregi sau fragmentați).

Analiza macroscopică a organelor subterane se efectuează în baza următorilor indici:

- tipul structurii, forma;
- dimensiunile;
- relieful suprafeței;
- culoarea suprafeței și în fractură, mirosul, gustul.

Se acordă atenție analizei aspectului reliefului suprafeței rădăcinilor, rizomilor și tuberculelor, care poate fi netedă sau rugoasă (cu fisuri și cute longitudinale sau transversale), cu cicatrice ale frunzelor anilor precedenți, cu asperități și punctișoare – cicatrice ale tulpinilor și rădăcinilor adventive uscate.

În cazul bulbilor și bulbo-tuberculelor se analizează culoarea și modul de exfoliere a tunicilor uscate. Se studiază și caracterul frânturii rădăcinilor, rizomilor, tuberculelor (netedă, rugoasă, granuloasă, fibroasă, ghimpoasă etc.), determinat de prezența țesuturilor de depozitare, elementelor mecanice (sclereide solitare sau în grup și fibre sclerenchimice celulozice sau lignificate), elementelor conducătoare liberiene și lemnoase (tipul fasciculului conducător. În cazul analizei rădăcinilor și rizomilor în secțiune transversal se atrage atenție la numărul, dimensiunile și modul de aranjare a fasciculelor conducătoare.



3. Analiza microscopică a produsului vegetal

Analiza microscopică a produsului vegetal joacă un rol foarte determinant, în activitatea practică a farmacistului de identificare a produsului vegetal, ce se bazează pe criteriile diagnostice specifice și permite determinarea cu exactitate a autenticității produsului vegetal. Tehnica analizei microscopice se selectează și se aplică în concordanță cu grupa morfologică în care se încadrează produsul vegetal analizat și starea acestuia (întregu, fragmentat sau pulbere). Analiza microscopică a produsului vegetal se efectuează și prin aplicarea reacțiilor cito- și histochimice, rezultatele cărora (culoarea, modul de colorare, culoarea precipitatului, formarea cristalelor) permit evidențierea, vizualizarea și localizarea diferitor structuri și substanțe în funcție de natura chimică.

Tehnica microscopică aplicată la studierea produselor vegetale- prevede confecționarea unui astfel de preparat pentru studierea microscopică, care ar pune în evidență

caracteristicile structurale specifice organului analizat în corespundere cu cerințele diagnosticării produsului vegetal. Aceasta necesită mai multe procedee succesive în vederea pregătirii materialului biologic pentru analizat: curățarea, spălarea, uscarea, fixarea materialului. La selectarea tehnicii microscopice de analizat se ține cont de:

- forma de prezentare a organului (uscat, succulent, macerat, emulsionat, fragmentat, pulverizat etc.);
- tipul preparatului confecționat (superficial sau în secțiune);
- modul de aplicare a secțiunii (longitudinal, transversal, radiar, tangențial etc.);
- tipul lichidului de includere a obiectului pe lama microscopică (apă:glicerol, cloralhidrat etc.);
- tipul și modul de aplicare a reagentului chimic pentru reacția cito- și histochimică.

Tehnica microscopică de aplicare se selectează minuțios în corespundere cu particularitățile specifice ale produsului vegetal supus identificării.

Scopul determinant al tehnicii microscopice aplicate constă în obținerea micropreparatelor cu structuri histologice și citologice clar vizibile în microscop la diferite combinații optice a ocularului și obiectivului prin manevrarea modului de iluminare, aplicarea reagenților chimici pentru colorarea selectivă a structurilor și compușilor chimici, selectarea reușită a lichidelor pentru clarificare și încorporare a obiectului analizat.

Obiectul pentru analizat (pulbere, macerat sau secțiuni) se plasează într-o picătură de lichid de încorporare și se acoperă atent cu lamela. Pentru evitarea formării bulelor de aer lamela se va aplica înclinat, numaidecât cu latura bazală să atingă lichidul, apoi, acoperim obiectul.

Pentru a induce o clarificare mai bună preparatul pregătit cu obiectul de analizat se încălzește. Durata încălzirii se determină în dependență de tipul produsului vegetal. Preparatul se încălzește fiind acoperit cu o lamelă, la flacăra mică a spirtierei sau deasupra reșoului acoperit cu o placă de asbest. La încălzire preparatul se ține înclinat, sub un unghi de 10-15°, astfel sporind gradul de clarificare a obiectului.

Frunzele și florile nu necesită o prelucrare complicată și îndelungată. Pentru înmuiere și clarificare frunzele se fierb în soluție de bază alcalină de 3-5% timp de circa 25 min.

Tehnica de pregătire a micropreparatului din produs vegetal depinde de apartenența morfologică a organului și de felul prezentării lor:

- întreg – *in toto*;
- fragmentat – *concisum*;
- pulverizat – *pulveratum*.

Analiza microscopică se bazează pe înțelegerea profundă a citologiei și histologiei vegetale, cunoștințele cărora permit înțelegerea particularităților structurale specifice ale diferitor tipuri de organe și evidențierea celor ce poartă caracter diagnostic în identificarea cu certitudine a taxonilor.

Frunze -cele subțiri pot fi studiate la microscop pe preparate superficiale. Pentru pregătirea lor frunzele uscate sunt supuse procedurii de clarificare a țesuturilor prin fierbere în soluție de bază de 3-5%. O clarificare bună a țesuturilor poate fi atinsă prin fierberea frunzelor în soluție de cloralhidrat de 30% timp de 10-15 minute, apoi preparate pe lama microscopică într-o picătură de soluție de cloralhidrat.

Pentru examenul microscopic al frunzelor coriacee se recurge la prepararea secțiunilor transversale prin limb. În acest scop frunzele uscate se macerează în apă, apoi se introduc într-un amestec de glicerol-apă-alcool (1:1:1).

Examenul microscopic al frunzei se va efectua prin evidențierea particularităților structurale ale *epidermelor* (superioară și inferioară) și a *mezofilului*.

Epiderma – reprezintă un important țesut prin accesibilitatea analizei microscopice și multiplele caracteristici structurale. Deoarece epiderma frecvent dezvoltă formațiuni

specifice, care corelează cu apartenența taxonomică, evidențierea lor conduce la identificarea cu certitudine.

Cuticula – reprezintă un strat continuu din partea externă a celulelor epidermale, întreruptă doar de ostiolele stomatelor. Pentru a pune în evidență caracteristicile cuticulei.

Ceara – se acumulează ca formațiuni foarte polimorfe (globuloase, lamelare, aciculare, prizmatice) pe cuticula epidermei. Modul de distribuire (pe toată suprafața limbului, la bază, zona mediană sau apex, de-a lungul nervurilor), densitatea și forma formațiunilor cerifere epicuticulare corelează cu taxonul și variază în funcție de condițiile pedoclimatice a perioadei de vegetație (în anii secetoși – formațiunile cerifere sunt mai multe și mai dense).

Stomate. Tipul stomatelor și modul de distribuire pe epidermele frunzei, caracteristici constante familiilor și speciilor de plante, ce poartă însemnătate majoră în identificarea speciilor. Exemplu: tip *anizocitic* – fam. Brassicaceae, Solanaceae, Rosaceae; *anomocitic* – fam. Ranunculaceae, Malvaceae, Papaveraceae, Scrophulariaceae, Cucurbitaceae, Rosaceae; *diacitic* – fam. Lamiaceae, Caryophyllaceae, *paracitic* – fam. Fabaceae, Rubiaceae.

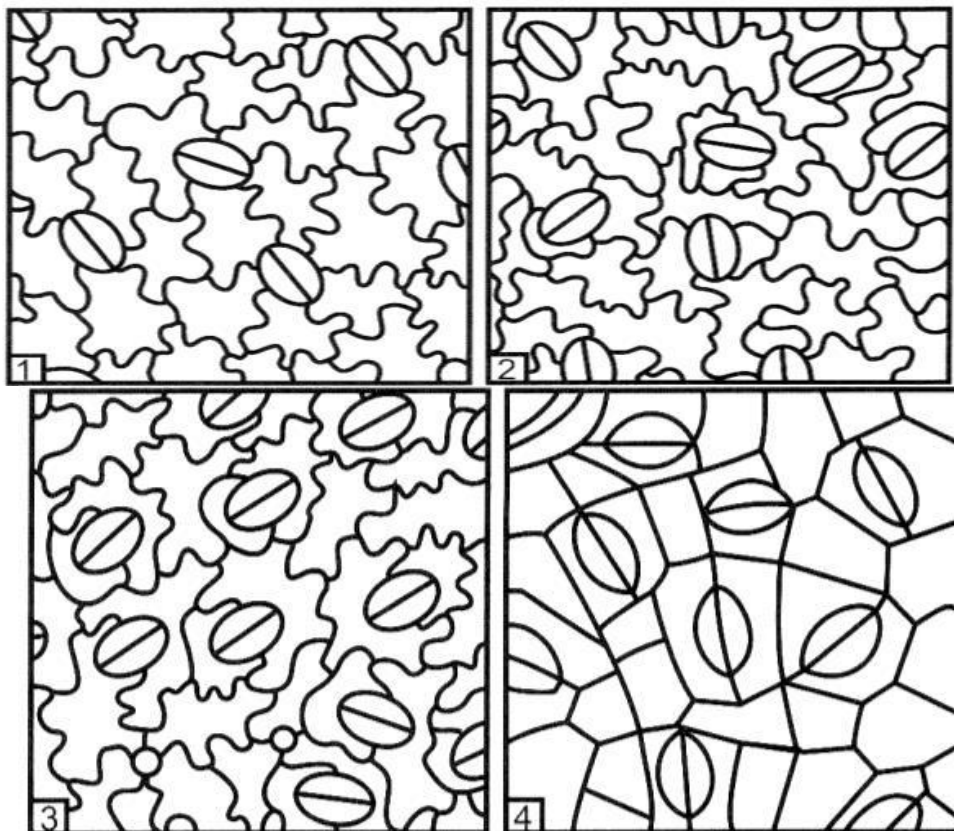


Fig. 1. Tipuri de stomate (Ph Eur 6, FR X): 1 – *tip anomocitic* (stomata este înconjurată de un număr variabil de celule nediferențiate de celelalte celule ale epidermei); 2 – *tip anisocitic* (stomata este înconjurată de trei celule anexe, dintre care una este mai mică decât celelalte două); 3 – *tip diacitic* (stomata este însoțită de două celule anexe paralele între ele și perpendiculare pe axul longitudinal al ostiolei); 4 – *tip paracitic* (stomata prezintă două sau mai multe celule anexe paralele cu axul longitudinal al ostiolei).

Peri (trihomi). Ei constituie unul din elementele diagnostice de bază ale frunzelor grație diversității lor structurale, fiziologice și morfologice, care corelează cu apartenența taxonomică.

Perii tectori pot fi: mono- și pluricelulari (uni-, bi-, tri- și pluriseriați); ramificați (stelați, pluriradiali, pluriterminali) și neramificați (liniari, conici, geniculari și sinuoși); catifelați, aspri, ghimpoși; dimensiuni mici, medii și masivi (giganți); culoare argintie, brună, gri, mov etc. Suprafața perilor poate fi netedă, verucoasă, scuamoasă sau solzoasă în funcție de caracterul stratului cuticulei ce acoperă perișorul.

Perii glandulari se caracterizează prin: dimensiunile și structura piciorușului (mono-, bi- sau pluricelular, lung sau scurt); dimensiunile (mici – se văd doar cu ajutorul microscopului, mari – cu ochiul liber sau cu lupa), structura glandei (mono-, bi-, tetra-, octa- sau pluricelulară, frecvent biserați), forma (sferică, ovală, de cupă sau de faclă), conținutul glandei (cu conținut incolor/pigmentat sau fără conținut). Se întâlnesc peri glandulari cu diferite combinații structurale ale piciorușului și glandei – cu rol determinant în identificarea produsului vegetal și a speciei: picioruș unicelular și glandă uni sau bicelulară pentru specii a genului *Digitalis*; picioruș unicelular și glandă pluricelulară în formă de faclă la speciile genului *Plantago*; picioruș unicelular și glandă pluricelulară biserață la specii din fam. Solanaceae (*Atropa belladonna*, *Hyoscyamus niger*) și din fam. Malvaceae (*Althaea officinalis*, *Malva sylvestris*); picioruș pluricelular uniserat și glandă unicelulară la *Primula veris*; picioruș bi- sau pluricelular biserat și glandă pluricelulară biserață specifici speciilor fam. Asteraceae (*Matricaria chamomilla*, *Artemisia absinthium*, *Calendula officinalis*); peri sesili cu glandă octocelulară, unde celulele secretoare sunt dispuse radiar, acoperite de cuticula circulară specifici speciilor fam. Lamiaceae (*Mentha piperita*, *Lavandula vera*, *Salvia officinalis*, *Origanum vulgare*).

Este important de ținut cont de combinațiile de peri tectori și glandulari pentru a identifica cu certitudine specii din aceeași familie. Exemplu: pentru speciile fam. Lamiaceae – *Salvia officinalis*, *Mentha piperita* și *Lavandula vera* sunt caracteristici perii glandulari octocelulari, dar pentru frunza de izmă bună sunt specifici și perii tectori pluricelulari uniserati, geniculați; la frunza de salvie – peri tectori unicelulari denși, iar pentru frunza de levănțică – peri pluricelulari cu ramificații scurte.

Glande secretoare – sunt alcătuite dintr-un număr mult mai mare de celule secretoare decât glanda perilor glandulari și lipsite de picioruș. Se întâlnesc pe frunza de smirdar *Rhododendron arboreum* și produc balsamuri și rezine.

Pungi secretoare – le identificăm în mezofilul laminei frunzei, sunt de origine endogenă și diferite după modul de formare (schizogene și lizigene). Pungile scizogene (apărute în spațiile intercelulare) sunt specifice speciilor din familia Hypericaceae (cu conținut pigmentat sau incolor) și speciilor genului *Eucalyptus* cu picături de ulei volatil. Pungile lizigene cu conținut de ulei volatil (formate prin lizarea unui grup de celule) sunt caracteristice frunzelor speciilor genului *Citrus*.

Laticifere – tuburi din celule izolate sau mai multe celule dispuse cap în cap, cu sau fără pereți despățitori, care produc latexul de diferite culori în corelație cu compoziția chimică: incolor la *Nerium oleander*, alb-lăptos – *Ficus carica*, galben – *Cannabis sativa*, oranj – *Chelidonium majus*. Prezența laticiferelor reprezintă un criteriu diagnostic foarte informativ pentru identificarea la nivel de familie, gen și specie.

Celule secretoare – celule izolate (idioblaste) în mezofilul frunzei, care diferă de celelalte celule parenchimatice prin formă și conținut, de aceea joacă un rol determinant în identificarea produsului vegetal și al speciei. În mezofilul frunzei de: dafin *Laurus nobilis* – cu ulei volatil, ceai *Thea chinensis* – cu conținut taninic, nalbă mare *Althaea officinalis* – cu mucilagii.

Celulele oxalifere sau *cristalifere*, considerate tot celulele secretoare au o importanță majoră în identificarea cu certitudine a unui produs vegetal. Cel mai frecvent sunt întâlnite cristalele de oxalat de calciu, mai rar – cristalele de carbonat de calciu, dioxid de siliciu etc. Forma cristalelor de oxalat de calciu e variată și specifică fiecărei specii de plante, gen sau chiar familii. Oxalatul de calciu se întâlnește sub diferite forme: cubice, prismatice, aciculare, rafide, druze, nisip cristalic (un conglomerat de cristale foarte mici). În unele plante oxalatul de calciu formează cristale de o anumită formă, în altele – de mai multe (2-3) forme. Așa, de exemplu, în mezofilul frunzei de siminichie, plop negu, mesteacăn – druze de oxalat de calciu, iar în teaca fasciculelor conducătoare – celule cu cristale solitare prismatice, ce

formează teaca cristalogenă. În frunzele de măselariță se vor găsi cristale solitare prismatice și cristale compuse – în urma concreșterii a 2-3 cristale prismatice, formând druze sferocristalice, iar unele celule ale parenchimului, amplasate de-a lungul fasciculelor conducătoare mari, conțin nisip cristalic.

Flori- pentru pregătirea micropreparatelor din inflorescențe, flori sau fragmente de floare materialul biologic se fierbe în prealabil timp de 2-3 minute în apă sau în soluție de hidroxid de sodiu 1-2%.

Se atribuie un rol important analizei *epidermei pieselor florale* (bracteele, separele, petalele, receptaculului) deoarece pot avea diferite structuri distinctive: peri (tipul, culoarea, modul de distribuire), papile și glande secretoare și localizarea – pe petale, receptacul, stamine, ovar sau stil. Se acordă atenție cristalelor de oxalat de calciu (tipul morfologic și modul de distribuire).

Un caracter diagnostic important de identificare a produsului vegetal la nivel de familie, gen, specie reprezintă *polenul*, care ușor se depistează în anterele florii sau pe alte componente florale (pe petale, gineceu etc.). Se atrage atenție la culoarea, dimensiunile, relieful suprafețelor și forma granulelor de polen.

În cazul produsului vegetal pulverizat, care se întâlnește relativ rar în practica farmacognostică, se analizează fragmente ale componentelor florale în care se evidențiază elementele structurale cu rol diagnostic: caracteristici ale celulelor epidermale (forma și dimensiunile celulelor, tipul perilor etc.); prezența și tipul elementelor mecanice în bractei, receptacul și caliciu; prezența și tipul cristalelor de oxalat de calciu; caracteristicile granulelor de polen.

Părți aeriene -analiza microscopică a părților aeriene se efectuează, de regulă, prin examenul microscopic al frunzei. Din produsul vegetal fragmentat se selectează frunze sau bucățele de frunze din care se pregătesc preparate superficiale și se analizează conform tehnicii descrise pentru produsul vegetal, evidențiind aceleași elemente cu caracter diagnostic.

În cazul părților aeriene reprezentate prin tulpini exfoliate sau fără frunze se face efectua preparate superficiale ale epidermei tulpinii sau secțiuni transversale prin tulpină. Epiderma se jupește sau se înlătură cu bisturiul după fierberea preventivă a fragmentelor de tulpină în soluția de bază și se examinează preparatul superficial.

Micropreparatele din pulberea părților aeriene se pregătesc analog pulberii din frunze. Părțile mai mari, adică fragmentele de tulpină groase, nu se folosesc, deoarece greu se clarifică și nu prezintă interes diagnostic.

În pulberea părților aeriene în afară de fragmente ale frunzei se vor găsi fragmente de tulpini, flori, bractei și în unele cazuri de fructe și semințe

Scoarța -examenul microscopic al scoarței se realizează frecvent pe secțiuni transversale, mai rar, longitudinale. Preventiv fragmentele de scoarță se înmoaie în apă, apoi, se trec în amestecul de glicerol-apă-alcool (1:1:1). Examenul microscopic al secțiunilor din scoarță se bazează pe următorii indici structurali: culoarea, grosimea și particularitățile structurale ale suberului; prezența/absența colenchimului; tipul colechimului (angular, tabular sau lacunar); corelația grosimii scoarței primare/secundare; frecvența, configurația și dimensiunile razelor medulare; prezența/absența elementelor sclerenchimatice și tipul (fibre liberiene, sclereide) și modul de distribuire în scoarță (în grup/soltar); prezența/absența celulelor cristalifere (tipul cristalelor și modul de distribuire); prezența/absența celulelor taninifere, amilifere; prezența/absența laticiferelor, cavităților și canalelor secretoare.

Un rol decisiv la examinarea microscopică a scoarței revine reacțiilor cito- și histochemice.

Fructe și semințe-pentru examenul microscopic fructele și semințele sunt în prealabil înmuiate în camera umedă. Analiza microscopică se realizează, de regulă, pe secțiuni

transversale, obținute din partea mediană a fructului și seminței, care vor conține toate elementele structurale specifice acestora.

Pe secțiunile obținute din partea apicală/bazală a fructului sau seminței aproape toate elementele sunt amplasate oblic, ceea ce complică studierea structurii lor, iar unele pot lipsi.

În cazul fructelor și semințelor de dimensiuni mici este necesar bloc-suport de parafină. Se pregătesc blocuri de parafină în formă de cub cu mărimea de 1,0- 1,5 cm. În centrul uneia din laturi ale blocului se formează o adâncitură cu capătul fierbinte al acului de disecție, unde se va introduce fructul sau sămânța în poziție necesară: verticală – pentru obținerea secțiunilor transversale, orizontală – pentru cele longitudinale). După întărirea parafinei se efectuează secțiuni, trasând parafina împreună cu obiectul inclus în ea.

Rădăcini, rizomi și alte organe subterane-pentru studiul microscopic al organelor subterane se pregătesc secțiuni transversale (mai rar, longitudinale). În acest scop e mai bine de a se aplica diferite metode de înmuiere rece, deoarece amidonul este important pentru diagnosticarea acestor tipuri de produse vegetale. Pentru determinarea modului de aranjare a țesuturilor conducătoare (fasciculelor conducătoare) sunt necesare secțiuni transversale ale rădăcinii sau rizomului.

Studierea pulberilor rădăcinilor și rizomilor începe, de regulă, cu identificarea substanței nutritive de rezervă prin analiza preparatului în apă, soluție Lugol (amidonul) ori în soluție de sudan III (uleiul gras). Pentru studierea fragmentelor separate ale țesuturilor ce au însemnătate diagnostică se pregătește preparatul în soluție de clorhidrat și se studiază după încălzire (clarificare).

La studierea rădăcinilor și rizomilor se atrage atenție la tipul structurii anatomice (structura primară sau secundară), modul dispunerii țesutului conducător (structura de tip fasciculat sau nefasciculat). În structura de tip fasciculat se va determina tipul fasciculelor conducătoare (deschise sau închise; colaterale, bicolaterale sau concentrice), caracterul dispunerii lor, în cazul tipului nefasciculat – caracterul lemnului, amplasarea în ele a vaselor, lățimea vaselor. Plantele unor familii (Solanaceae, Gentianaceae, Apocynaceae) se caracterizează prin prezența liberului adăugător. De exemplu, în rădăcinile de mătrăgună se întâlnesc sectoare de liber adăugător printre celulele lemnoase, în rizomi de iută – în măduvă. Aceste exemple constituie o excepție a modului de amplasare a țesuturilor conducătoare și de aceea are importanță diagnostică. În unele rădăcini și rizomi pot fi prezente: laticiferele (păpădia); cavitățile secretoare cu uleiuri volatile sau rezine (iarbă mare, ginseng); mucilagiu (nalbă mare) sau uleiuri volatile (odolean). Se atrage atenție la tipul structurii secretoare și modul de dispunere printre țesuturile rădăcinii sau a rizomului.

În parenchimul de depozitare a rădăcinilor, rizomilor, tuberculilor pot fi prezente diferite tipuri de substanțe nutritive de rezervă. Spre exemplu, amidonul la plantele familiei Malvaceae, inulina – familiei Asteraceae, ulei gras – la gețiană, scara domnului etc. Substanțele nutritive de rezervă au o mare importanță la determinarea rădăcinilor, rizomilor, tuberculilor, în special amidonul, deoarece dimensiunile, tipul și forma granulelor de amidon (simple – sferice, ovale, poligonale, compuse sau semicompuse) sunt caracteristice pentru fiecare specie de plantă. Organele subterane ale plantei pot conține cristale de oxalat de calciu (tipul, dimensiunile, modul de distribuire) cu rol determinat diagnostic. La determinarea rădăcinilor, rizomilor, tuberculilor la microscop se aplică pe larg reacțiile histochemice în scopul, descoperirii unor sau altor principii active (mucilagii, ulei volatil, alcaloizi, heterozide, substanțe tanante).

Aparate optice și instrumente auxiliare

La efectuarea analizei macro- și microscopice a produsului vegetal sunt utilizate aparate optice și instrumente auxiliare: lupa, microscopul optic, stereomicroscopul, micrometru, aparatul de desenat etc.

Lupa-este mai des folosită la analiza macroscopică a produsului vegetal: analiza atât a reliefului suprafețelor externe și interne a obiectului, cât și a fracturilor; determinarea caracterului pubescentei; stabilirea prezenței glandelor eterooleaginoase; examinarea obiectelor mici – semințelor, componentelor florale, fructelor (exemplu familia Apiaceae) etc.

Lupa este un instrument optic alcătuit dintr-o lentilă convergentă cu diferite capacități de mărire, care permite mărirea obiectului de analizat, montată pe un suport circular. Obiectul studiat trebuie să se afle în planul focal din față. Focalizarea ariei de interes se face deplasând lupa și specimenul unul în raport cu celălalt. Lupele pot fi prevăzute cu mâner, suport (stativ) sau alte accesorii, care să-i faciliteze utilizarea mai eficientă.



Lupa este instrumentul optic utilizat pentru observarea detaliilor morfologice care nu pot fi percepute cu ochiul liber. Examenul unui specimen biologic cu ajutorul lupei nu necesită în general prelucrarea acestuia, este ușor manevrabilă și poate fi utilizată la studierea plantelor atât în laborator, atât și în teren.

Microscopul- este instrumentul optic, care utilizează mai multe lentile pentru a obține imagini marite, cu detalii fine, ale obiectelor prea mici, inaccesibile pentru examinare cu ochiul liber. Cu ajutorul microscopului se obține imaginea mărită a obiectelor mici, dar strict necesară pentru studierea structurii histo-anatomice a organelor plantelor.

Microscopul optic este alcătuit din două părți:

partea mecanică cu rol de susținere a lentilelor și de facilitare a observațiilor și partea optică, care realizează mărirea imaginii obiectului analizat.



Partea mecanică (montura) cuprinde talpa, brațul, platina (măsuța port-obiect), tubul microscopului cu revolverul, macro- și microvizele pentru ajustarea imaginii.

Microviza se utilizează la analiza speciemenelor cu obiectivele cu capacitate mai mare de mărire (20x, 40x, 60x, 90x).

Partea optică este constituită din: sistemul de iluminat (sursa de lumină, condensorul, diafragma-iris, inelul port-filtru) și partea optică propriu-zisă (ocularele și obiectivele).

Sursa de lumină este reprezentată de un bec electric fixat în talpa microscopului sub condensorul- alcătuit dintr-un sistem de lentile care are rolul de a focaliza fasciculul de lumină asupra speciemenului. El se află imediat sub platină, în dreptul axului microscopului.

Reguli de utilizare a microscopului

E necesar de a proteja microscopul de praf, fiind acoperit cu husă. Microscopul se conectează la sursa de lumină, iar butonul din partea laterală a talpei se pune în poziția "I".

- Ocularele trebuie să fie îndreptate spre utilizator. Ele sunt ușor manevrabile, de aceea se stabilește poziția comodă, apoi se ajustează distanța dintre oculare pentru a corespunde distanței dintre ochii utilizatorului. Dacă stabilirea distanței s-a făcut în mod corect privind prin cele două oculare se va observa un singur câmp, rotund.

- Se verifică mobilitatea macro- și microvizei și se sterg lentilele cu o bucată curată de tifon sau cu hârtie specială fină pentru lentile.

- Se reglează poziția condensoului: mai jos pentru obiectivele mici –x4, x10 și mai sus pentru obiectivele mari x20, x40, deoarece acestea din urmă necesită o iluminare mai intensă.

- Condensorul trebuie reajustat de fiecare dată când se schimbă obiectivul.

- Cu macroviza se coboară puțin măsura port-obiect pentru a plasa preparatul de examinat pe ea. Preparatul se imobilizează cu ajutorul clemei, astfel încât speciemenul de analizat să se poziționeze în orificiul din măsura port-obiect, care este străbătut de fasciculul luminos provenit de la condensator.

- Observarea micropreparatului începe cu obiectivul cel mai mic, de aceea se rotește revolverul pentru a aduce în dreptul axului optic obiectivul x4.

- Prin rotirea macrovizei se apropie preparatul de obiectivul tubului optic la distanță de aproximativ 1 cm. Aceste manevrări se fac cu mare grijă pentru a nu a contacta lamela preparatului cu obiectivul. De aceea apropierea speciemenului de obiectiv cu macroviza trebuie făcută întotdeauna privind din lateral, nu prin ocular. După ce stabilim distanța admisibilă, privim în ocular și continuăm să rotim macroviza cu mișcări foarte fine și atent (în sus sau în jos), până când se obține o imagine clară.

- Pentru ajustarea clarității imaginii se utilizează microviza, efectuind rotiri fine pe distanțe scurte (nu trebuie de făcut abuz de microviză, utilizând-o în locul macrovizei) pentru a evita dereglarea acesteia și micile incidente nedorite.

- Dacă s-a obținut imaginea clară, se observă speciemenul și la necesitate se trece la obiectivele uscate mai mari x10, x20, x40

- Obiectivele mai puternice necesită o iluminare mai intensă a câmpului microscopic, de aceea se poate mări fluxul de lumină cu manivela de pe latura dreaptă a tălpii microscopului tot odată ridicându-se în acest scop condensorul, iar pentru obținerea contururilor mai clare ale imaginii microscopice se închide treptat diafragma-iris.

După studierea preparatului măsura se coboară, atent se scoate preparatul din clamă. Se sterge platina (în caz că s-a murdărit cu lichid), se aduce microscopul în poziție pasivă – nici un obiectiv să nu fie pe axa tubului optic. Se deconectează sursa de lumină și se îmbracă husa.

II. Lucrare practică cu completare în album:

- ***Lucrare practică Nr. 1: se descrie macroscopic fructele de păducel***

(*CRATAEGI FRUCTUS* – fructe de păducel

Planta producătoare: *Crataegus oxyacantha* L.; *C. sanguinea* Pall – păducel

Fam. **Rosaceae**



Caractere macroscopice: fructe false de tip poamă, ovale sau globulare, tari, cu numeroase zbârcituri, având la partea inferioară restul pedunculului sau cicatricea sa, iar la partea superioară, mai plată, resturile uscate ale marginii receptaculului, caliciului și stigmatelor. Culoarea fructelor – roșie-închisă sau brună-roșiatică (păducel ghimpos), roșie-portocalie sau portocalie (păducel roșu). Pe suprafața fructului se observă frecvent depuneri albe de zahăr cristalizat. Fructul conține 2-3 sămburi (păducelul ghimpos) sau 3-4, uneori 5 (păducelul roșu). Sămburii au formă triunghiulară neregulată, sunt lignificați; suprafața galbenă-deschisă este zbârcită, cu gropițe sau fisuri. În interiorul sămburilor se găsește o sămânță. Dimensiunile fructelor: lungimea 0,8-1,4 cm și lățimea 0,6-1 cm. Gustul amidalac, dulceag, fără miros.

Concluzii: privind corespunderea/ori nu a produsului vegetal prevederilor Farmacopeelor de referință (după caractere macroscopice).

- **Lucrare practică Nr. 2: a se descrie macroscopic și microscopic părțile aeriene de sovîrf**
ORIGANI VULGARIS HERBA – părți aeriene de sovîrf

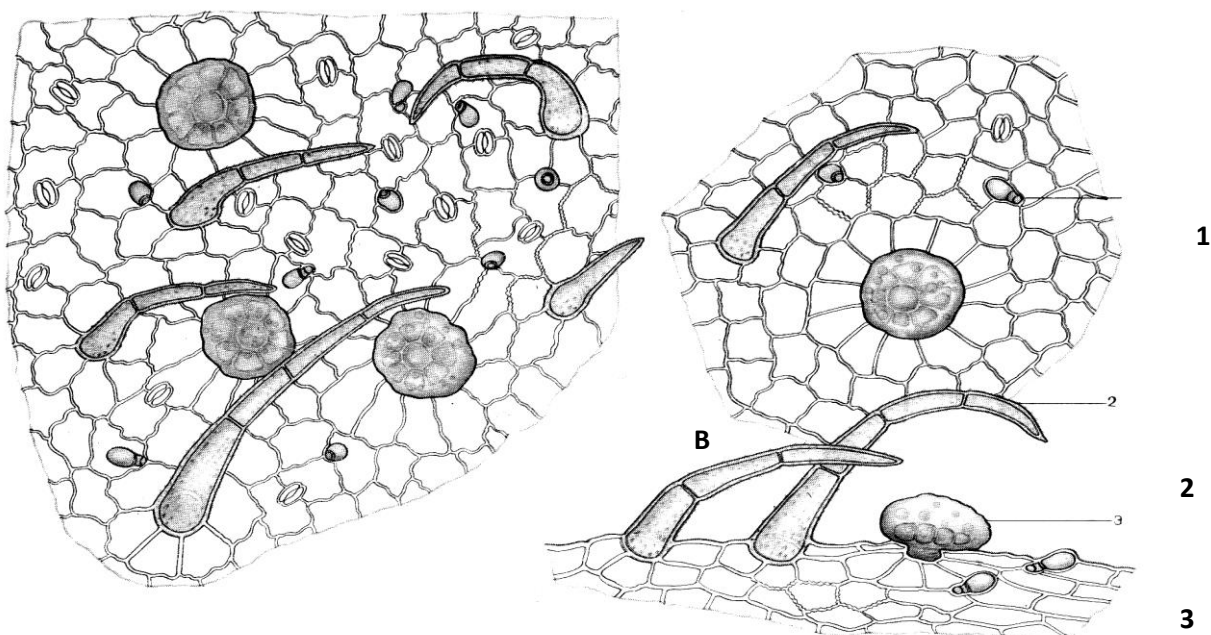
Planta producătoare: *Origanum vulgare* L. – sovîrf

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: amestec din frunze, vârfuri înflorite, flori, obținut în urma înlăturării părților lemnoase ale tulpinii. Tulpina cu 4 muchii, e aspră, acoperită cu peri sau aproape glabră, verde, uneori colorată purpuriu. Frunze opuse, scurt pețiolate, alungit ovale, 2-4 cm lungime, cu marginea întreagă sau ușor dințată, vârf acuminat. Inflorescențe corimbiforme, multiflore, rămuroase. Bracteele sunt mai lungi decât caliciul, alungite, ascuțite, de culoare purpurie-închisă sau verde-purpurie. Caliciul cu dințișori trilanceolați, glabru sau cu peri rari; colorația ca și la bractee. Corola bilabiată, de culoare purpurie-închisă sau roșie-violacee. Miros aromat, gust amărui, puțin astringent.



Caractere microscopice: celulele epidermei superioare au pereții slab sinuoși, pe alocuri cu îngroșare moniliformă, celulele epidermei inferioare sunt mai sinuoase; stomate – numeroase. Structura este caracteristică familiei *Lamiaceae*. Peri de două tipuri: tectori și glandulari. Primii sunt numeroși, aspru-verucoși, mari, situați pe tot limbul frunzei, mai ales din partea inferioară (prin acest caracter diferă frunza de sovârv de cea de izmă-bună, la care perii tectori se întâlnesc în special pe nervuri). Perii glandulari au piciorul și glanda monocelulară și se întâlnesc pe tot limbul frunzei. Glande eterouleeioase 8-celulare, prezente pe suprafața inferioară a frunzei.



Preparat superficial al frunzei de sovârv (x280): A – epiderma inferioară; B – epiderma superioară; C – marginea frunzei. 1 – peri glandulari; 2 – peri tectori; 3 – glandă secretoare.

Concluzii: privind corespunderea/ori nu a produsului vegetal prevederilor Farmacopeelor de referință.

Lucrare practică Nr. 3: a se descrie macroscopic și microscopic părțile subterane de pădăie

TARAXACI RADICES – rădăcini de pădăie

Planta producătoare: *Taraxacum officinale* L. – pădăie

Fam. **Asteraceae**

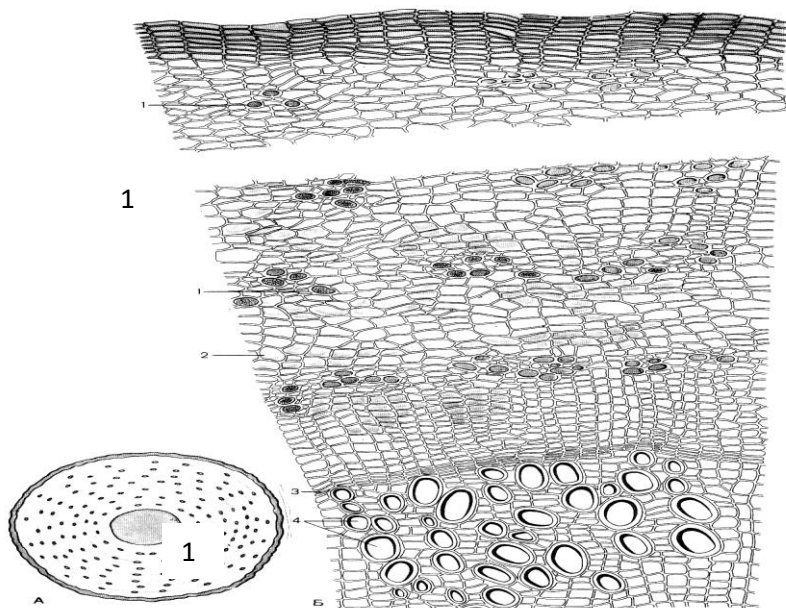
Caractere macroscopice: rădăcini întregi, pivotante, cu suprafața striată longitudinal, tari, fragile. Fractura este netedă, pe care se observă scoarța lată albicioasă și lemnul galben în centru rădăcinii. În scoarță sunt numeroase zone concentrice (exfoliere). Rădăcinile au 10-15 cm lungime și până la 1,5 cm în diametru. Culoarea este cenușiu-gălbuie până la cafeniu.

Gustul amar.



Caractere microscopice: secțiune transversală a rădăcinii (*fig. 37*). Scoarța este lată, străpunsă de numeroase canale laticifere, care împreună cu grupurile de vase ciuruite formează inele concentrice întrerupte. Laticiferele în secțiune sunt rotunde sau ovale cu conținut cenușiu-gălbui. Razele medulare uni- sau biseriate se întâlnesc rar. Zona lemnoasă este mică; vasele ei sunt dispuse haotic. Parenchimul fundamental al scoarței conține inulină în formă de aglomerări incolore sau cenușiu-deschise (a se vedea fără încălzire).

În secțiunea longitudinală a scoarței laticiferele sunt în formă de tuburi ciuruite și anastomoze cu conținut granulos, care se colorează cu sudan III în roșu-portocaliu.



Secțiune transversală a rădăcinii de pădăie. A – schema (sub lupă); B – un fragment al secțiunii transversale (x280). 1,2 – grupuri de laticifere; 3 – celulele parenchimului cu inulină; 4 – cambiu; 5 – vase lemnoase.

Concluzii: privind corespunderea/ori nu a produsului vegetal prevederilor Farmacopeelor de referință.

Surse bibliografice:

1. Nistreanu A. Farmacognozie. Chișinău, 2000.
2. Nistreanu A., Calalb T. Analiza farmacognostică a produselor vegetale medicinale. Compendiu. Chișinău, 2016.
3. Cojocaru-Toma M. Produse vegetale și fitopreparate din Republica Moldova. Compendiu pentru lucrări de laborator la farmacognozie. Chișinău, 2017.
4. European Pharmacopoeia, vol. I , II, 2018
5. Farmacopeea română, ediția X. Editura medicală, București, 1993.
6. Государственная Фармакопея. XI издание. Москва. «Медицина», том 1 и том 2, 1990.
7. Государственная Фармакопея Республики Беларусь. Том II, 2007, Том III, 2009.