

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de catequina em água, para obter solução a 7,56 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção da catequina na amostra é de aproximadamente 6,1 minutos. Calcular o teor de catequina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times FD \times 100$$

em que,

TC = teor de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente à catequina na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente à catequina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra;

FD = fator de diluição (10).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

ANGICO, tintura *Anadenantherae tinctura*

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, contendo, no mínimo, 1% de taninos totais e, no mínimo, 0,020% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 1:10 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho escuro.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1).

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: diluir cerca de 1 mL da tintura com 5 mL de metanol.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar em capela de exaustão. Nebulizar a placa vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada (catequina)
	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9272 a 0,9971.

Etanol (5.3.3.8.1). 65% (v/v) a 69% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2% (p/p).

Contagem do número total de micro-organismos mesófilos (5.5.3.1.2). Cumpre o teste.

Pesquisa de micro-organismos patogênicos (5.5.3.1.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 3,0 g da tintura, em balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Filtrar em papel de filtro. Descartar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol em balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1}$$

em que,

TT = teor de taninos totais expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra;

m_2 = massa em gramas de pirogalol;

Catequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida à temperatura ambiente de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Fase móvel (2): metanol e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0-15	70 → 50	30 → 50	gradiente linear
15-16	50 → 25	50 → 75	gradiente linear
16-17	25 → 70	75 → 30	gradiente linear
17-18	70	30	isocrático

Solução amostra: pipetar 50 µL do extrato fluido e transferir para um balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de catequina em água, para obter solução a 7,56 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção da catequina na amostra é de aproximadamente 6,1 minutos. Calcular o teor de catequina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times FD \times 100$$

em que,

TC = teor de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente à catequina na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente à catequina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra;

FD = fator de diluição (10).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado, ao abrigo da luz e do calor.

ANIS-DOCE, óleo

Anisi aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de frutos maduros e secos de *Pimpinella anisum* L.

CARACTERÍSTICAS

Líquido fluído, límpido, incolor ou amarelo claro.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1).