

Solução amostra: diluir 0,3 mL da tintura de guaraná a 10 mL com uma solução de metanol e água (1:1).

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção médio para o pico da cafeína é de cerca de 8,5 minutos. Calcular o teor de cafeína, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a \times 10 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TC = teor de cafeína % (p/p);

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

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

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

m = massa em gramas da amostra, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

HAMAMELIS, folha *Hamamelidis folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas, inteiras ou fragmentadas de *Hamamelis virginiana* L., contendo, no mínimo, 3% de taninos, expressos em pirogalol (C₆H₆O₃, 126,11).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A folha é curtamente peciolada, com pecíolo de 1 a 1,5 cm de comprimento. A lâmina foliar é rugosa, apresenta coloração pardo-esverdeada a pardo-acastanhada na face adaxial e verde-clara na face abaxial, mede 7 a 15 cm de comprimento e 6 a 10 cm de largura, é ovalada ou ovalado-romboidal, com base assimetricamente cordada, ápice agudo, algumas vezes obtuso e margem sinuosa, grosseiramente crenada a denteada. A nervação é peninérvea, com nervura principal saliente na face abaxial, nervuras secundárias alternas e retilíneas, terminando nos dentes das margens sem se unirem, nervuras terciárias e quaternárias mais finas e anastomosadas, conferindo aspecto reticulado ao limbo. Folhas jovens com tricomas estrelados, visíveis com lente de aumento.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar é hipostomática e de simetria dorsiventral. A epiderme, em vista frontal, em ambas as faces, apresenta células com paredes periclinais sinuosas, estômatos paracíticos e tricomas estrelados, de paredes espessas. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada em ambas as

faces e os estômatos encontram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas; a cutícula é delgada. O mesofilo é formado por uma camada de células paliçádicas, voltadas para a face adaxial, seguida por quatro a seis camadas de células de parênquima esponjoso. Astroesclereídes atravessam o mesofilo, podendo alcançar de uma epiderme à outra. Os feixes vasculares de menor calibre e da nervura principal apresentam-se envoltos por uma bainha com cristais prismáticos e, geralmente, apresentam fibras esclerenquimáticas ou esclereídes associadas aos tecidos vasculares.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-acastanhada; tricomas com paredes espessas e lúmen visível, agrupados pela base formando tufo (tricomas estrelados); fragmentos da face adaxial da epiderme em vista frontal com células de paredes espessas e contorno ondulado a sinuoso; fragmentos da face abaxial da epiderme em vista frontal com células de paredes espessas de contorno reto a ondulado e estômatos do tipo paracítico, principalmente; feixes de fibras esclerenquimáticas septadas, com paredes levemente espessadas e circundadas por uma bainha de idioblastos com cristais prismáticos de oxalato de cálcio e esclereídes; vasos xilemáticos do tipo anelar ou reticulado associados a fibras lignificadas, bainha de idioblastos com cristais prismáticos e esclereídes, ou cristais e esclereídes isolados; cristais prismáticos de formas variadas; células parenquimáticas com cloroplastídios isolados; fragmentos maiores verde-acastanhados, em vista frontal, mostrando a região das nervuras com cristais prismáticos e o parênquima esponjoso com células de formato irregular e grandes espaços intercelulares.

D. 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, tolueno, ácido fórmico e água (6:2:2:1,5).

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 10 mL de metanol e levar ao banho-maria durante 10 minutos. Filtrar e secar o extrato em banho-maria até resíduo. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e proceder a análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido gálico em metanol, para obter uma concentração de 1000 µg/mL

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de hamamelitanino em metanol, para obter uma concentração de 1000 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 10 µL da *Solução referência (1)* e 10 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar com solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em etanol. Examinar a placa sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa		
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentado	Hamamelitanino: zona de coloração azul-acinzentado	Zona de coloração azul-acinzentado Zona de coloração verde Zona de coloração azul-acinzentado
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 14%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 7%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 7%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

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

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,750 g da droga vegetal pulverizada e transferir para béquer de 250 mL. Adicionar 150 mL de água fervente. Levar ao banho-maria durante 30 minutos. Resfriar em água corrente e transferir para balão volumétrico de 250 mL. O resíduo da amostra deve ser lavado e transferido quantitativamente para o balão volumétrico. Completar o volume para 250 mL com água. Deixar decantar e filtrar em papel de filtro com 125 mm de diâmetro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

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

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

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

Calcular o teor de taninos 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 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, considerando a perda por dessecação; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

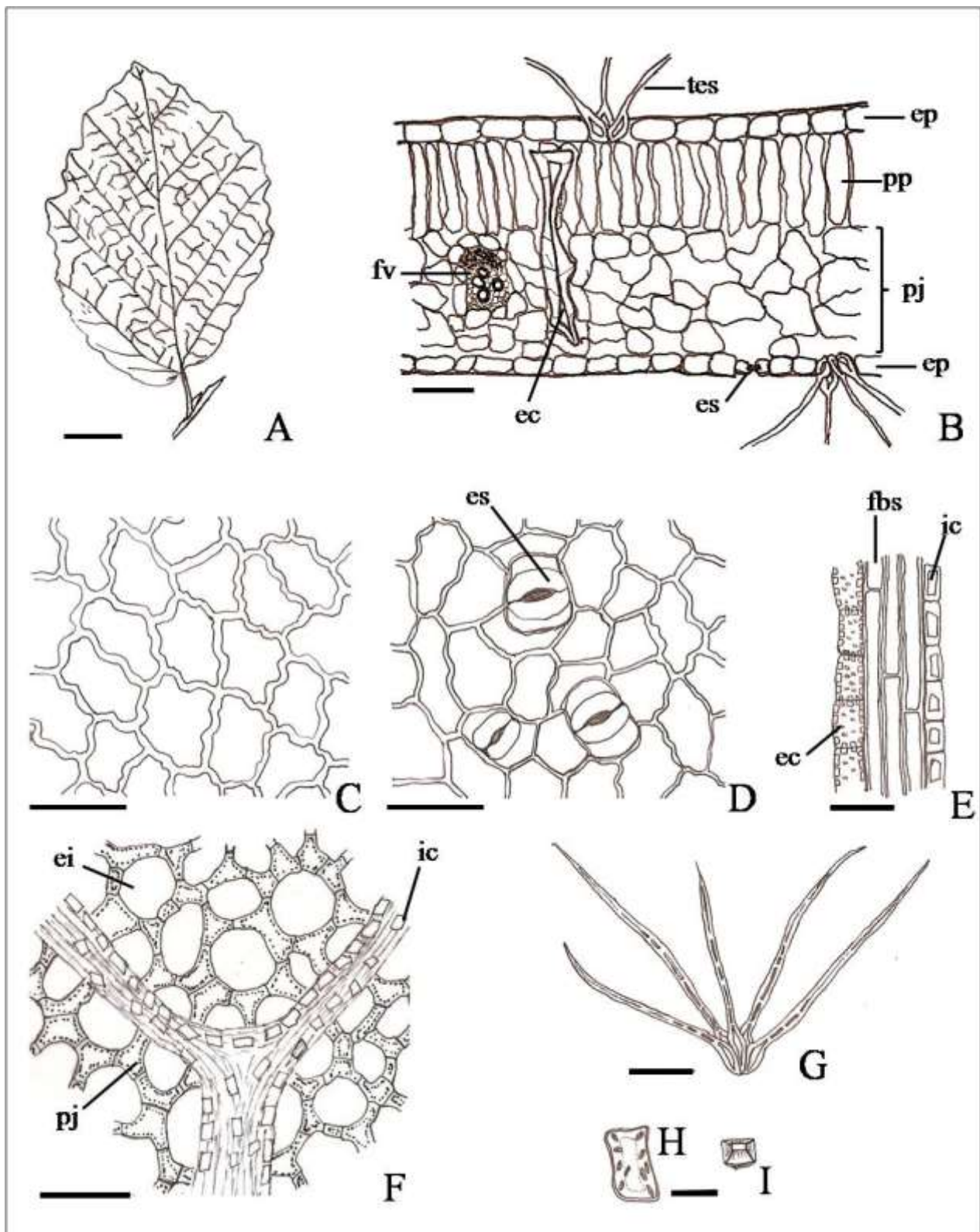


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Hamamelis virginiana* L.

As escalas correspondem em A a 1 cm; B e E a 100 µm; C, D, F e G a 50 µm; H-I a 20 µm.

A - aspecto geral da folha em vista frontal. B - detalhe da porção da lâmina foliar em secção transversal: epiderme (ep); estômato (es); esclereíde (ec); feixe vascular (fv); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); tricomas estrelados (tes). C - vista parcial frontal da epiderme da face adaxial com células de paredes espessas e sinuosas. D - detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial com células de paredes retas a sinuosas e mais delgadas que as da face adaxial; estômato paracítico (es). E - fragmento de feixe de fibras septadas (fbs) com idioblastos cristalíferos (ic) e esclereídes (ec). F - vista frontal de fragmento de folha mostrando a nervação com idioblastos cristalíferos (ic) e parênquima esponjoso (pj) com espaços intercelulares (ei). G - tricoma estrelado de paredes espessadas. H - célula do parênquima paliçádico com cloroplastos. I - cristal prismático isolado.