

AROEIRA, casca
Schinus terebinthifolii cortex

A droga vegetal consiste de cascas secas do caule de *Schinus terebinthifolia* Raddi, contendo, no mínimo, 8% de taninos totais, no mínimo, 0,20% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12), e, no mínimo, 0,65% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares secas apresentam-se em fragmentos ligeiramente curvos, rígidos e pouco quebradiços, de 10,0 a 15,0 cm de comprimento, 2,0 a 2,5 cm de largura e 0,2 a 0,5 cm de espessura. Externamente a casca apresenta ritidoma rugoso, marcado por fendas irregulares, de coloração pardo-acinzentada e com manchas esbranquiçadas, devido à presença de líquens. Internamente os fragmentos apresentam coloração pardo-avermelhada, de aparência resinosa e com estrias longitudinais.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o córtex apresenta súber composto por aproximadamente 15 camadas de células achatadas radialmente, com lenticelas visíveis, seguido pela periderme de felogênio indistinto e feloderme, em cujas células parenquimáticas corticais são visíveis várias calotas de fibras esclerenquimáticas e canais secretores. É possível observar os raios parenquimáticos atravessando toda a espessura do córtex. Ao redor dos canais secretores ocorrem células contendo grãos de amido. Em secção longitudinal radial é visível o súber com células achatadas radialmente e as células do parênquima cortical com formatos irregulares e fibras esclerenquimáticas presentes. Faixas de células parenquimáticas se alternam com faixas floemáticas, estas com fibras abundantes, que dificultam a visualização das células do floema. Os raios são heterocelulares, constituídos por células parenquimáticas procumbentes, que são alongadas no sentido radial, e células eretas, estas localizadas nas margens superior e inferior do raio. As células das faixas parenquimáticas mostram-se em sua maioria alongadas longitudinalmente e algumas são arredondadas. No floema é possível observar células parenquimáticas contendo cristais prismáticos. Em secção longitudinal tangencial os raios são bisseriados e os canais secretores são ramificados.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; presença de células pétreas; presença de fragmentos de súber; cristais prismáticos e fragmentos de parênquima.

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄, com espessura de 250 µm.

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

Solução amostra: pesar 1 g da droga moída e colocar em balão de fundo redondo adicionando 10 mL de metanol. Aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar em algodão.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de metanol.

Solução referência (2): 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 (1)*. Em outra cromatoplaça, aplicar, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplaças e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa contendo a *Solução referência (1)* com cloreto férrico a 1% (p/v); e, a placa contendo a *Solução referência (2)*, com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

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

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
<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 11%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 1%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 9%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 8%.

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

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 pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água destilada e aquecer em banho-maria durante 30 minutos, à temperatura entre 85 °C e 90 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo transferindo as águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água destilada. Deixar decantar e filtrar em papel de filtro o líquido sobrenadante. Desprezar 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 desse filtrado 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 anidro 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, transferir para 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 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;

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Ácido gálico e 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 octadecilsilanizada, 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 de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0-10	90 → 75	10 → 25	gradiente linear
10-20	75 → 60	25 → 40	gradiente linear
20-25	60 → 25	40 → 75	gradiente linear
25-28	25 → 90	75 → 10	gradiente linear
28-30	90	10	gradiente linear

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,750 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria durante 30 minutos, à temperatura de 85 °C a 90 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado. Filtrar em unidade filtrante 0,45 μ m.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 6,48 μ g/mL.

Solução referência (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de catequina em água, para obter solução a 18 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção do ácido gálico e catequina na amostra é de aproximadamente 9,9 e 17,7 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de catequina, em porcentagem, separadamente, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de ácido gálico ou de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência (1)* ou (2) em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução referência (1)* ou (2), respectivamente;

A_a = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

FD = fator de diluição (250).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

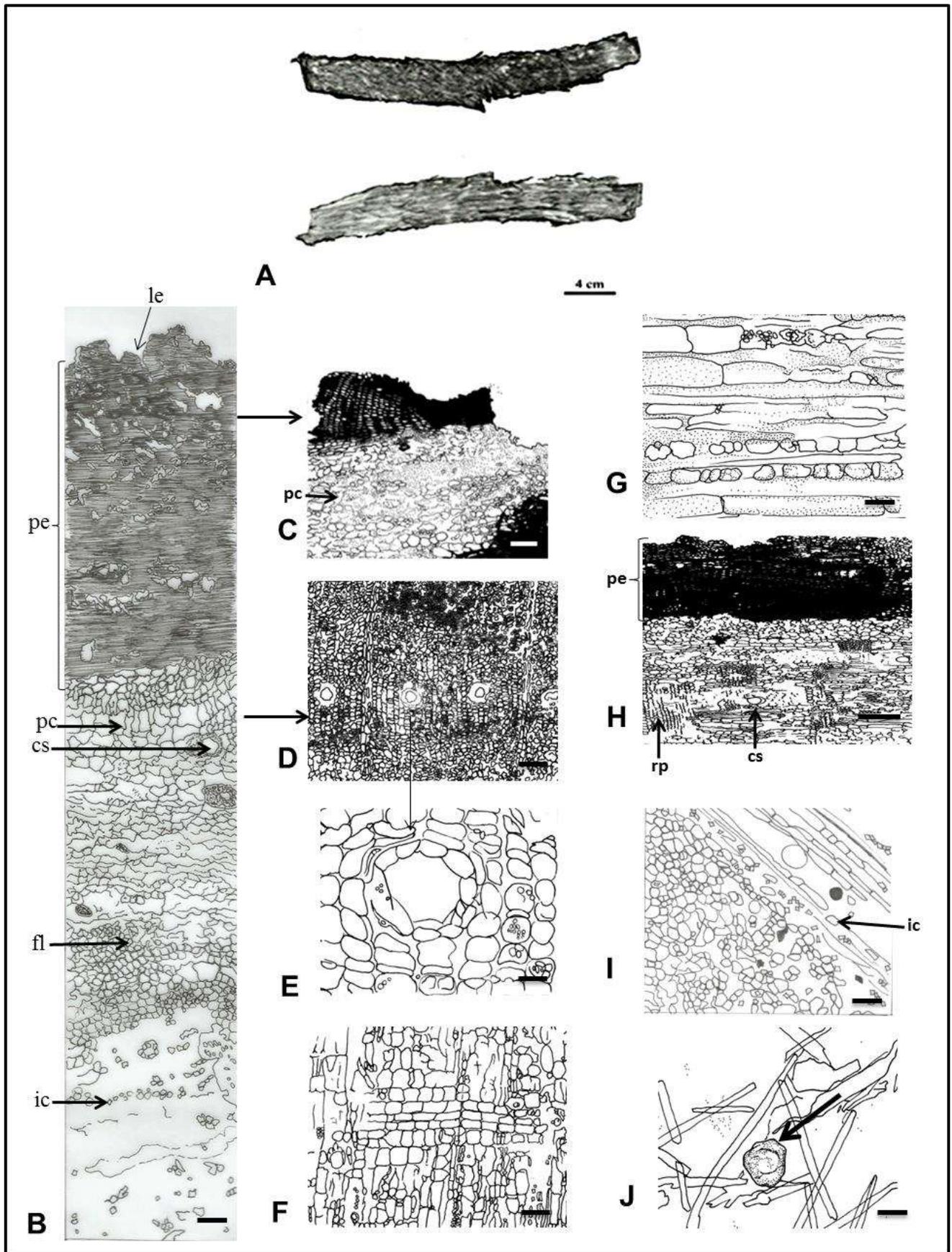


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Schinus terebinthifolia* Raddi

As escalas correspondem em **A** a 4 cm; **B** a 25 μm ; **C** e **J** a 100 μm ; **D**, **F**, **G** e **I** a 200 μm ; e **E** e **H** a 50 μm .

A - aspecto geral da casca do caule, em vista frontal e interna, respectivamente. **B** - detalhe da distribuição dos tecidos da casca do caule, em secção transversal: lenticela (le); periderme (pe); célula do parênquima cortical (pc); canal secretor (cs); floema (fl); idioblasto cristalífero (ic). **C** - detalhe de secção transversal da casca, mostrando periderme; parênquima

cortical (pc). **D** - detalhe de secção transversal da casca, mostrando floema, faixa de parênquima cortical, raios parenquimáticos e canal secretor. **E** - detalhe de secção transversal da casca, mostrando um canal secretor na região cortical. **F** - detalhe de secção longitudinal da casca, com faixas de parênquima cortical e de floema com fibras abundantes. **G** - detalhe de secção longitudinal da casca, com faixas parenquimáticas mostrando células alongadas e algumas arredondadas. **H** - detalhe de secção longitudinal radial da casca mostrando a periderme (pe), canal secretor (cs) e as células parenquimáticas dos raios (rp). **I** - detalhe de secção longitudinal radial da casca com cristais prismáticos em células do floema; idioblasto cristalífero (ic). **J** - célula pétreia (seta).

AROEIRA, extrato fluido *Schinus terebinthifoliae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, contendo, no mínimo, 7% de taninos totais, no mínimo, 0,08% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12) e 0,49% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% 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 0,2 mL do extrato fluido para 10 mL em metanol.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de metanol.

Solução referência (2): 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 (1)*. Em outra cromatoplaça, aplicar, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplaças e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa contendo a *Solução referência (1)* com cloreto férrico a 1% (p/v); e, a placa contendo a *Solução referência (2)* com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<p>Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada</p> <hr/>	<p>Zona de coloração azul-acinzentada (ácido gálico)</p> <hr/> <p>Zona de coloração azul-acinzentada</p>
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
<p>Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada</p> <hr/>	<p>Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada</p> <hr/> <p>Zona de coloração rósea-avermelhada</p> <p>Zona de coloração rósea-avermelhada</p>
<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9305 a 1,0160.

Etanol (5.3.3.8.1). 68% (v/v) a 71% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 7% (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 0,75 g do extrato fluido em balão volumétrico de 250 mL, adicionar água até completar o volume e homogeneizar. Filtrar em papel de filtro e descartar os primeiros 50 mL.

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 destilada 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 desta 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, transferir para 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 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;

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Ácido gálico e 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 µm), mantida à temperatura de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0-10	95 → 80,7	10 → 25	gradiente linear
10-13,5	80,7 → 75	25 → 40	gradiente linear
13,5-23	75 → 62	40 → 75	gradiente linear
23-25	62 → 25	75 → 10	gradiente linear
25-28	25 → 95	75 → 10	gradiente linear
28-32	95	5	isocrático

Solução amostra: transferir, com auxílio de uma pipeta, 0,080 mL da tintura para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 7,2 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de catequina em água, para obter solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)* 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção do ácido gálico e catequina na amostra é de aproximadamente 12 e 21 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de catequina, em porcentagem, separadamente, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de ácido gálico ou de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência (1)* ou (2) em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução referência (1)* ou (2), respectivamente;

A_a = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou 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.

AROEIRA, tintura *Schinus terebinthifoliae tinctura*

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, contendo, no mínimo, 1% de taninos totais e, no mínimo, 0,01% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12) e 0,05% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

PREPARAÇÃO

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

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho amarelado ou castanho-avermelhado.

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 0,2 mL da tintura para 10 mL de metanol.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de metanol.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)*. Em outra cromatoplaca, aplicar, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplas e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa contendo *Solução referência (1)* com cloreto férrico a 1% (p/v); e a placa contendo *Solução referência (2)* com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada _____	Zona de coloração marrom Zona de coloração azul-acinzentada (ácido gálico) _____
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

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
<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,9098 a 0,9147.

Etanol (5.3.3.8.1). 66% (v/v) a 70% (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 g de tintura de aroeira, transferir para um balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Filtrar a solução em papel de filtro e 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 desta solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada 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 destilada 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, transferir, quantitativamente, para 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 para obter a solução estoque do padrão. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e 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 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;

Ácido gálico e 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 µm), mantida à temperatura ambiente de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0-10	90 → 75	10 → 25	gradiente linear
10-20	75 → 60	25 → 40	gradiente linear
20-25	60 → 25	40 → 75	gradiente linear
25-28	25 → 90	75 → 10	gradiente linear
28-30	90	10	gradiente linear

Solução amostra: transferir, com auxílio de uma pipeta, 0,500 mL da tintura para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 6,4 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de catequina em água, para obter solução a 26 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção do ácido gálico e catequina na amostra é de aproximadamente 12,0 e 21,0 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de catequina, em porcentagem, separadamente, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de ácido gálico ou de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência (1)* ou (2) em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução referência (1)* ou (2), respectivamente;

A_a = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou 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.