

## GOIABEIRA, folha

### *Guajavae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Psidium guajava* L., contendo, no mínimo 10,0% de taninos totais e, no mínimo, 0,3% de derivados glicosilados de quercetina calculados como quercetina (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>, 302,24).

#### IDENTIFICAÇÃO

##### A. Descrição macroscópica

Folhas papiráceo-coriáceas, inteiras, oblongo-elípticas a ovaladas, de 7 a 15 cm de comprimento e 3 a 6 cm de largura; ápice obtuso ou acuminado, base obtusa e margem inteira; áreas translúcidas pouco aparentes; lâminas discolores, face adaxial verde-brilhante e glabrescente e abaxial verde-pálido, com tricomas simples, unicelulares ou bicelulares, mais frequentes na nervura principal, com até 0,5 mm de comprimento, raramente distribuídos em toda lâmina. Venação do tipo camptódroma-broquidódroma; nervuras principal e secundárias evidentes na face abaxial, impressas na face adaxial, as secundárias em número de 11 a 20 pares, mais ou menos paralelas entre si, formando um ângulo de 45° a 60° com a principal, terminando em uma nervura paralela ao bordo da lâmina, mais evidente na face abaxial. Pecíolo de 0,5 a 0,7 cm de comprimento.

##### B. Descrição microscópica

Lâmina com simetria dorsiventral, hipoestomática; estômatos anomocíticos. A epiderme, em vista frontal, apresenta células de paredes periclinais retilíneo-poligonais. Em secção transversal, a cutícula é espessa e a epiderme voltada para a face adaxial é pluriestratificada, com três a cinco camadas, sendo a mais externa formada por células muito menores do que as demais; a epiderme voltada para a face abaxial é uniestratificada, com um grande número de estômatos, geralmente projetados em relação às demais células e tricomas tectores simples, unicelulares ou bicelulares; as células epidérmicas podem conter cristais. Cavidades secretoras são encontradas na epiderme pluriestratificada, chegando até as primeiras camadas do parênquima paliçádico. O mesofilo é compacto, formado por um parênquima paliçádico de duas a quatro camadas de células alongadas e três a seis camadas de células menores; suas células contêm gotas lipídicas e grãos de amido; cavidades secretoras e idioblastos com cristais de oxalato de cálcio também ocorrem nesse parênquima. A nervura principal é do tipo bicolateral, em arco aberto; o xilema organiza-se em raios com até 10 elementos; o floema externo é mais desenvolvido e possui maior quantidade de cristais do que o floema interno; pequenas cavidades secretoras são encontradas no floema; células contendo discretos grãos de amido envolvem o floema externo; compostos fenólicos ocorrem no parênquima do feixe vascular. O parênquima caracteriza-se por conter consideráveis espaços intercelulares, cavidades secretoras, idioblastos cristalíferos (drusas, prismas, monocristais, cristais romboédricos, pequenos cristais agrupados, etc.), células com gotas lipídicas e/ou cloroplastídios, assim como grande quantidade de células contendo compostos fenólicos. O colênquima é do tipo angular e é restrito à face abaxial, sendo formado por três ou geralmente quatro (raramente cinco) camadas de células, podendo apresentar cloroplastídios, cristais, compostos fenólicos e gotas lipídicas.

##### C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de lâminas foliares com pontos translúcidos dispersos; fragmentos de lâminas foliares com restos de epiderme uniestratificada e de parênquima

paliçádico; fragmentos de epiderme pluriestratificada, com ou sem cristais, acompanhada ou não por parênquima paliçádico; fragmentos de lâmina com cavidades secretoras esparsas; restos de cavidades secretoras; porções de lâmina com células epidérmicas de contorno retilíneo, com ou sem gotas lipídicas; fragmentos de epiderme acompanhada de colênquima; tricomas unicelulares e a inserção deles; raros tricomas bicelulares; epiderme com numerosos estômatos anomocíticos, com projeção evidente ou não; células do parênquima paliçádico compactas, com ou sem cloroplastídios, geralmente agrupadas; porções de nervuras com células epidérmicas retangulares e alongadas; elementos traqueais com espessamento helicoidal; cristais de diferentes formas, conforme descrição microscópica, isolados ou inseridos em distintos tecidos.

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

*Fase estacionária:* sílica-gel GF<sub>254</sub>.

*Fase móvel:* acetato de etila, álcool metílico, água e ácido fórmico (20:2,7:2:0,2).

*Solução amostra:* transferir 0,2 g da droga pulverizada (355) (5.2.11) com 10 mL de álcool metílico para balão de fundo redondo de 50 mL. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 15 minutos. Resfriar e filtrar. Evaporar o solvente em banho-maria. Suspender o resíduo em 2 mL de álcool metílico.

*Solução referência (1):* preparar solução contendo 500 µg/mL de rutina.

*Solução referência (2):* preparar solução contendo 100 µg/mL de quercetina.

*Procedimento:* aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra*, 5 µL da *Solução referência (1)* e 5 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

*Resultados:* no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

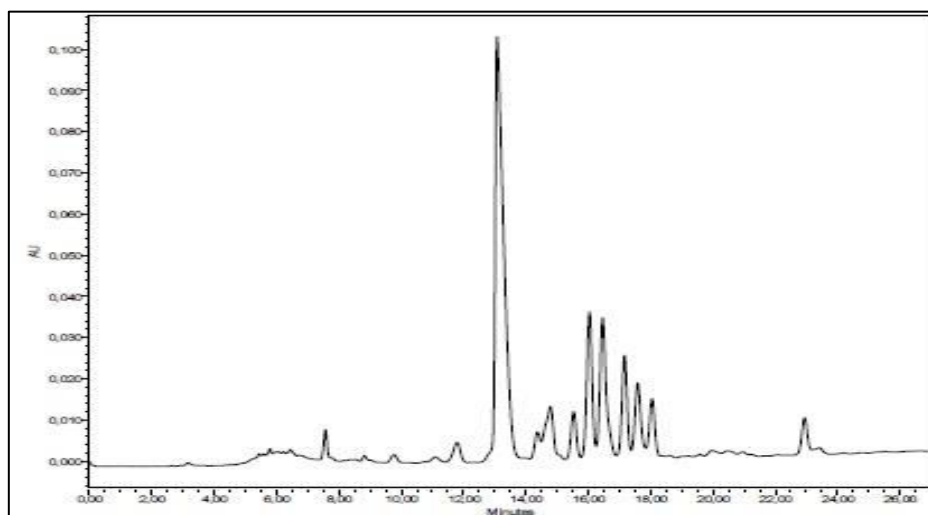
<b>Parte superior da placa</b>	
Quercetina: zona de coloração amarela	Zona de coloração verde azulada
	Zona de coloração alaranjada
Rutina: zona de coloração alaranjada	
<b>Solução referência</b>	<b>Solução amostra</b>

E. Proceder conforme descrito em *Doseamento de flavonoides totais expressos em quercetina*, alterando, o fluxo da *Fase móvel* para 0,5 mL/minuto, e, os seguintes parâmetros:

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Eluente (A) (%)</b>	<b>Eluente (B) (%)</b>	<b>Eluição</b>
0 - 3	85 → 55	15 → 45	gradiente linear
3 - 8	55	45	isocrática
8 - 15	55 → 45	45 → 55	gradiente linear
15 - 25	45 → 35	55 → 65	gradiente linear
25 - 27	35 → 0	65 → 100	gradiente linear

*Solução amostra*: pesar, com exatidão, cerca de 0,200 g da droga vegetal seca e pulverizada (355 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 50 mL. Adicionar 10 mL de álcool metílico e levar ao aquecimento em banho-maria, sob refluxo, em temperatura entre 80 °C e 90 °C, durante 15 minutos. Filtrar o conteúdo, utilizando algodão. Diluir 1 mL do filtrado em 1 mL da *Fase móvel* inicial.

*Procedimento*: injetar 10 µL da *Solução amostra*.



**Figura 1**– Perfil ilustrativo do extrato metanólico das folhas de *Psidium guajava* L.

## TESTES

**Água (5.2.20.2).** *Método azeotrópico.* No máximo 12,0%.

**Metais pesados (5.4.5).** Cumpre o teste.

**Matéria estranha (5.4.1.3).** No máximo 2,0%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 9,0%.

**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 0,75 g da droga pulverizada (355  $\mu\text{m}$ ) (5.2.11), transferir, quantitativamente, para balão de fundo redondo de 250 mL e adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, à temperatura entre 80 °C e 90 °C durante 30 minutos. Resfriar em água corrente, transferir a mistura para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Deixar sedimentar. Filtrar em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado. O restante do filtrado constituirá a *Solução estoque*.

*Solução amostra para polifenóis totais:* transferir 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR, diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio

SR e homogeneizar. Determinar a absorvância em 715 nm ( $A_1$ ), exatamente três minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

*Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó-de-pele:* adicionar 0,2 g de pó-de-pele a 20 mL da *Solução estoque* e agitar mecanicamente durante 60 minutos. Filtrar. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR, diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Determinar a absorvância em 715 nm ( $A_2$ ), exatamente três minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

*Solução referência:* dissolver 50 mg de pirogalol em água, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Diluir 5 mL desta solução em balão volumétrico de 100 mL com água. Misturar 5 mL desta solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 715 nm ( $A_3$ ), exatamente três minutos após a adição do último reagente e dentro de 15 minutos contados da dissolução do pirogalol, utilizando água para ajuste do zero.

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

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times 13,12}{A_3 \times m}$$

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*;

$m$  = massa em gramas da amostra utilizada, considerando o teor de água determinado.

### Flavonoides totais expressos em quercetina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 371 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5  $\mu$ m), mantida a temperatura de (22  $\pm$  2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

*Eluente (A):* água e ácido fórmico (100:0,1).

*Eluente (B):* álcool metílico.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 – 3	60	40	isocrática
3 – 15	60 $\rightarrow$ 0	40 $\rightarrow$ 100	gradiente linear
15 – 16	0 $\rightarrow$ 60	100 $\rightarrow$ 40	gradiente linear
16 – 21	60	40	isocrática

*Solução amostra:* pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga vegetal seca e pulverizada (355  $\mu$ m) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 20 mL de álcool metílico a 70% (v/v), 1 mL de ácido clorídrico e levar ao aquecimento em banho-maria, sob refluxo, em temperatura entre 80 °C e 90 °C, durante 30 minutos. Filtrar utilizando algodão para outro balão de fundo redondo de

100 mL. Retornar para o primeiro balão o resíduo insolúvel, junto com o algodão, e adicionar 20 mL de álcool metílico a 70%. Proceder ao aquecimento nas mesmas condições já realizadas, durante 10 minutos. Filtrar novamente para o balão de fundo redondo que contém o primeiro filtrado. Repetir mais uma vez esse processo. Após, reduzir o volume, a vácuo, até 10 mL, transferir o volume para funil de separação. Realizar a extração da amostra com 10 mL de acetato de etila. Filtrar a fase orgânica em papel de filtro contendo sulfato de sódio anidro, para um novo balão de fundo redondo de 100 mL. Realizar esse processo de extração mais quatro vezes, totalizando 50 mL. Evaporar a fase orgânica obtida até obter resíduo totalmente seco. Suspender o resíduo com álcool metílico e diluir em balão volumétrico de 5 mL. Transferir, quantitativamente, 2,5 mL dessa solução para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com álcool metílico a 50% (v/v). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Solução referência:* dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em álcool metílico para obter solução a 1 mg/mL. Diluir a solução com álcool metílico a 50% (v/v) para obter solução com concentração de 0,038 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Procedimento:* injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob o pico referente à quercetina. O tempo de retenção médio é de aproximadamente nove minutos. Calcular o teor de quercetina, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TQ = teor de quercetina % (p/p);

$C_r$  = concentração da *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

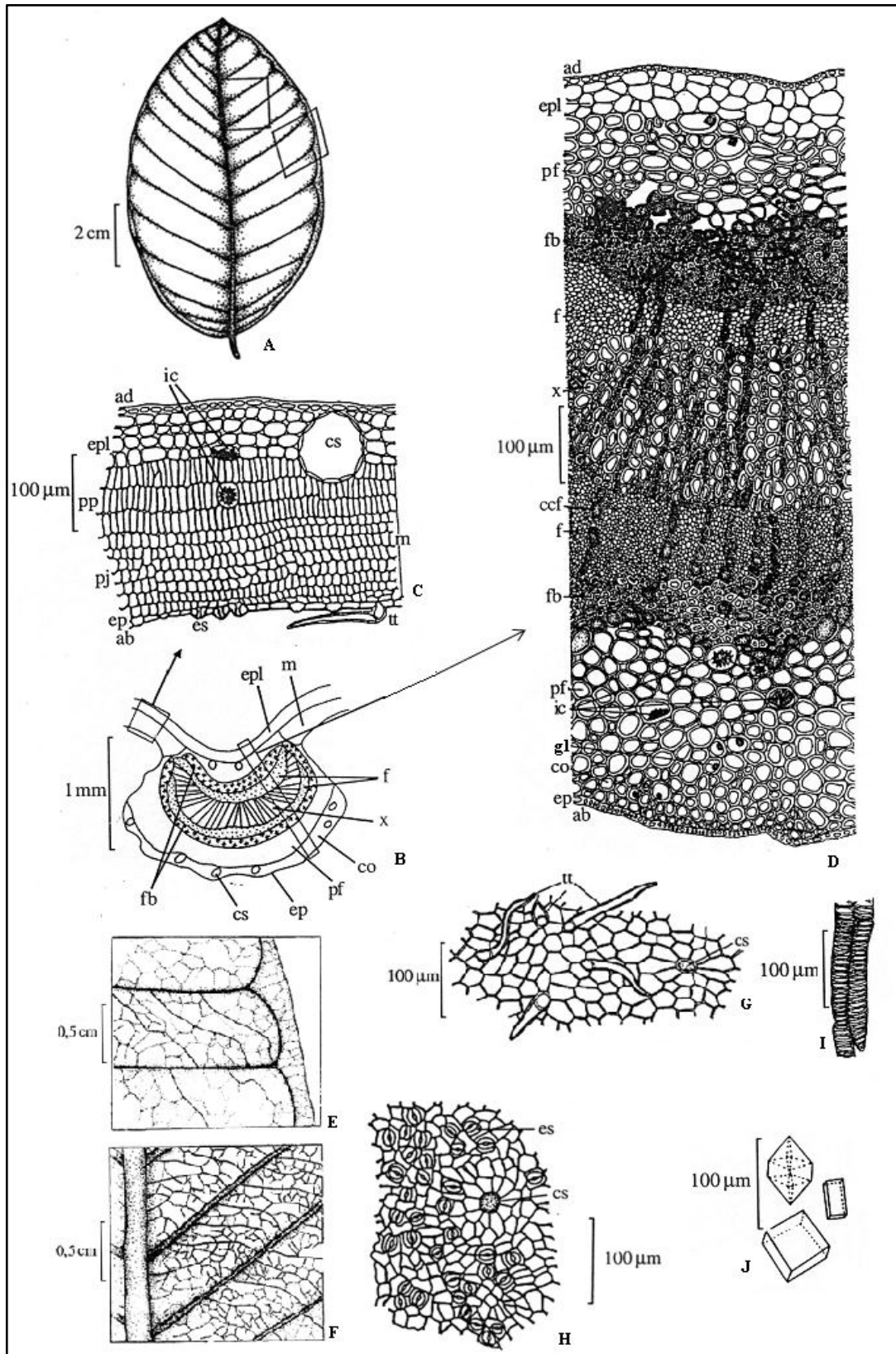
$A_r$  = área sob o pico correspondente à quercetina na *Solução referência*;

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

$m$  = massa em gramas da amostra utilizada, considerando o teor de água determinado.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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



**Figura 2** – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Psidium guajava* L.

As escalas correspondem: em A a 2 cm, B a 1 mm, E e F a 0,5 cm, C, D, G até J a 100 μm.

**A** - aspecto geral da face adaxial da folha. **B** - esquema do aspecto geral da nervura principal, em secção transversal; cavidade secretora (cs); colênquima angular (co); epiderme (ep); epiderme pluriestratificada (epl); floema (f); fibras (fb); mesofilo (m); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **C** - detalhe de uma porção do mesofilo foliar em secção transversal conforme assinalado em B; face abaxial (ab); face adaxial (ad); cavidade secretora (cs); epiderme (ep); epiderme pluriestratificada (epl); estômato (es); idioblasto cristalífero (ic); mesofilo (m); parênquima esponjoso (pj);

parênquima paliçádico (pp); tricoma tector (tt). **D** - detalhe de uma porção da nervura principal, em secção transversal, conforme assinalado em B; face abaxial (ab); face adaxial (ad); células contendo compostos fenólicos (ccf); colênquima (co); epiderme pluriestratificada (epl); floema (f); fibras (fb); idioblasto cristalífero (ic); gotas lipídicas (gl); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **E** - detalhe da nervação da face adaxial de um segmento foliar, na região mediana, em vista frontal (indicado em A); **F** - detalhe da nervação da face abaxial de um segmento foliar, na região do bordo, em vista frontal (indicado em A). **G-J**. Detalhes observados no pó. **G** - vista frontal da face adaxial da epiderme da lâmina foliar; cavidade secretora (cs); tricoma tector (tt). **H** - vista frontal da face abaxial da epiderme da lâmina foliar; cavidade secretora (cs); estômato (es). **I** - detalhe de elementos traqueais com espessamento do tipo helicoidal. **J** - detalhe de alguns tipos de cristais de oxalato de cálcio.