

## HAMAMELIS, extrato fluido

### *Hamamelidis extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de folhas secas de *Hamamelis virginiana* L., contendo, no mínimo, 3,0% de taninos (p/p) expressos em pirogalol (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>, 126,11).

#### PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por maceração ou percolação, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) como líquido extrator.

#### CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração verde escura.

#### IDENTIFICAÇÃO

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

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

*Fase móvel:* acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (60:20:20:15).

*Solução amostra:* tomar 1 mL do extrato e secar até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60°C. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

*Solução referência (1):* dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido gálico em álcool metílico, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

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

*Revelador:* cloreto férrico a 1% (p/v).

*Procedimento:* aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com cloreto férrico a 1% (p/v), aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos. Examinar sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido gálico: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Hamamelitanino: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

## TESTES

**Densidade relativa (5.2.5).** 1,0394 a 1,0409.

**Álcool etílico (5.3.3.8.1).** Método II, Líquidos com mais de 30% de álcool etílico. 38% (v/v) a 44% (v/v).

**Álcool metílico e álcool isopropílico (5.4.2.2.1).** Cumpre o teste.

**Resíduo seco (5.4.2.2.2).** No mínimo de 30,0% (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

*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:* pipetar 750 µL de extrato fluido de hamamelis e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar a pipeta com água destilada, completar o volume para 250 mL com

água e homogeneizar. Deixar a solução em repouso para que os sólidos precipitem. Filtrar em papel de filtro de 125 mm de diâmetro. Descartar 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 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 carbonato de sódio SR e homogeneizar. 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 vigorosamente durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro com 125 mm de diâmetro. Diluir 5 mL desse filtrado em balão volumétrico de 25 mL 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 SR e homogeneizar. 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, 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 SR e homogeneizar. 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 totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

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 do extrato fluido utilizado, determinada a partir da densidade;

$m_2$  = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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