

ROMÃ, pericarpo
Punicae granati pericarpium

A droga é constituída por porções secas do pericarpo do fruto de *Punica granatum* L., contendo, no mínimo, 5,0 % de polifenóis totais, expressos em ácido elágico (C₁₄H₆NO₈, 302,20).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O exocarpo consiste em porções irregulares de até 5,0 cm de comprimento e até 2,5 cm de largura; espessura com até 0,9 cm. A superfície externa, em vista frontal, é amarelo-avermelhada a castanho-amarelada e áspera. São observadas várias lenticelas. A superfície interna, em vista frontal, é amarelada a pardo-amarelada e rugosa. Algumas porções evidenciam restos do cálice persistente.

B. Descrição microscópica

O exocarpo é formado por epiderme unisseriada e coberta por cutícula espessa e lisa. Em vista frontal, as paredes anticlinais das células epidérmicas são retas e espessas. Várias lenticelas estão distribuídas uniformemente no exocarpo. Subjacente às células epidérmicas ocorre parênquima formado por várias camadas de células arredondadas e retangulares onde são observados feixes vasculares colaterais, células esclerenquimáticas arredondadas ou irregulares, isoladas e células pétreas isoladas ou em grupos. O mesocarpo é bem vascularizado e próximo ao floema ocorrem drusas de oxalato de cálcio. Ocorrem fibras de parede espessada e lignificada, evidenciando pequeno lúmen e medindo de 80-150 µm de comprimento e 20-30 µm de largura. Pequenos grãos de amido, circulares e medindo cerca de 5 µm estão distribuídos nas regiões mais internas do mesocarpo.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. Pó de coloração pardo-clara. São observados: fragmentos de epiderme com células conforme descritas, em vista frontal; fragmentos de epiderme com lenticelas, em vista frontal; fragmentos da epiderme, em secção transversal, apresentando cutícula espessa e lisa; fragmentos de parênquima, em secção transversal, contendo feixes vasculares; fragmentos do parênquima, em secção transversal contendo drusas de oxalato de cálcio; fragmentos do parênquima, em secção transversal, com porções de feixes vasculares, fibras observadas em vista longitudinal; drusas isoladas; porções de elementos traqueais com espessamento helicoidal, em vista longitudinal; pequenos grãos de amido.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: tolueno, acetato de etila e ácido fórmico (4:8:2).

Solução amostra: pesar, com exatidão, em balão de fundo redondo de 50 mL, cerca de 0,25 g da droga em pó (250 µm) e adicionar 12,5 mL de metanol. Adicionar pérolas de vidro ao balão e levar a refluxo em banho maria (85 - 95 °C) por 20 minutos. Resfriar o extrato, filtrar, através de algodão, para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir, transferindo uma alíquota de 1 mL para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com metanol.

Solução referência: preparar uma solução a 260 µg/mL de punicalaginas e 50 µg/mL de ácido elágico em metanol.

Revelador (1): dissolver 5 g de Polietilenoglicol 4000 em metanol e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Revelador (2): preparar uma solução de cloreto férrico a 5% em água.

Procedimento: aplicar em duas cromatoplacas, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma por 10 cm. Remover a cromatoplaça, deixar secar ao ar por 15 minutos, em após secar, em estufa, a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 10 minutos. Deixar esfriar e nebulizar a primeira placa com o difenilborato de aminoetanol SR, secar a placa a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 5 minutos, em seguida nebulizar com *Revelador 1*, secar a placa a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 5 minutos (visualizar a placa em 365 nm). Nebulizar a segunda placa com o *Revelador 2* e deixar secar ao ar por 15 minutos (visualizar a placa na luz visível).

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa 1		Parte superior da placa 2	
Ácido Elágico: zona de fluorescência	zona de fluorescência	Ácido Elágico: zona de coloração preta	zona de coloração preta
	zona de fluorescência		
Punicalaginas: zona de fluorescência	zona de fluorescência	Punicalaginas: zona de coloração preta	zona de coloração preta
	zona de fluorescência		
<i>Solução Referência</i>	<i>Solução Amostra</i>	<i>Solução Referência</i>	<i>Solução Amostra</i>

TESTES

Água (5.4.1.4). *Método Gravimétrico.* No máximo 12,0 %.

Cinzas totais (5.4.2.4). No máximo 16,0%.

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

Metais pesados (5.4.5). 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

Polifenóis totais, expressos em ácido elágico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia à líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 256 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida a temperatura de 30 °C; fluxo da fase móvel de 0,7mL/minuto.

Eluente A: água e ácido trifluoracético (100:0,01, v/v).

Eluente B: acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,08, v/v).

Gradiente de fase móvel: adotar sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0-20	100 → 75	0 → 25	gradiente linear
20-23	75 → 50	25 → 50	gradiente linear
23-25	50 → 0	50 → 100	gradiente linear
25-27	0	100	isocrática
27-28	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
28-33	100	0	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, em balão de fundo redondo de 50 mL, cerca de 0,25 g da droga em pó (250 µm) e adicionar 12,5 mL de metanol. Adicionar pérolas de vidro ao balão e levar a refluxo em banho maria (85 - 95 °C) por 20 minutos. Resfriar, filtrar, através de algodão, para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir o extrato, transferindo uma alíquota de 1 mL para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com metanol. Filtrar por membrana 0,45 µm.

Solução referência: Dissolver 5 mg de ácido elágico (pureza 95 %) em metanol e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. Pipetar, 1050 µL desta solução e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente (20 µg/mL).

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL da *Solução referência* e da *Solução amostra* em triplicata, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção das punicalaginas α e β, na solução amostra foram de aproximadamente 10,5 e 12,1 minutos e do ácido elágico, na solução amostra e de referência de aproximadamente 18,6 minutos. Calcular o teor de polifenóis totais, expressos em ácido elágico, na amostra, a partir da substância referência. O resultado é expresso pela média das determinações em porcentagem de droga vegetal, considerando a determinação de água, segundo a expressão:

$$\text{TFT\%} = \frac{C_p \times [(\Sigma A_{\alpha\beta} \times FR) + (A_{ae})]}{A_p \times m} \times FD \times 100$$

em que,

TFT = Teor de polifenóis totais expressos em ácido elágico % (p/p);

C_p = concentração da solução de referência de ácido elágico em g/mL, considerando pureza do padrão;

$\Sigma A_{\alpha\beta}$ = somatório das áreas dos picos correspondentes as punicalaginas α e β no cromatograma obtido com a solução amostra;

A_{ae} = área do pico correspondente ao ácido elágico no cromatograma obtido com a solução amostra;

A_p = área do pico correspondente ao ácido elágico no cromatograma obtido com a *solução de referência*;

FR = Fator de resposta para as punicalagina (3)

m = massa da amostra, em gramas, utilizada na preparação da solução amostra, considerando a perda por dessecação;

FD = Fator de diluição da amostra (125).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

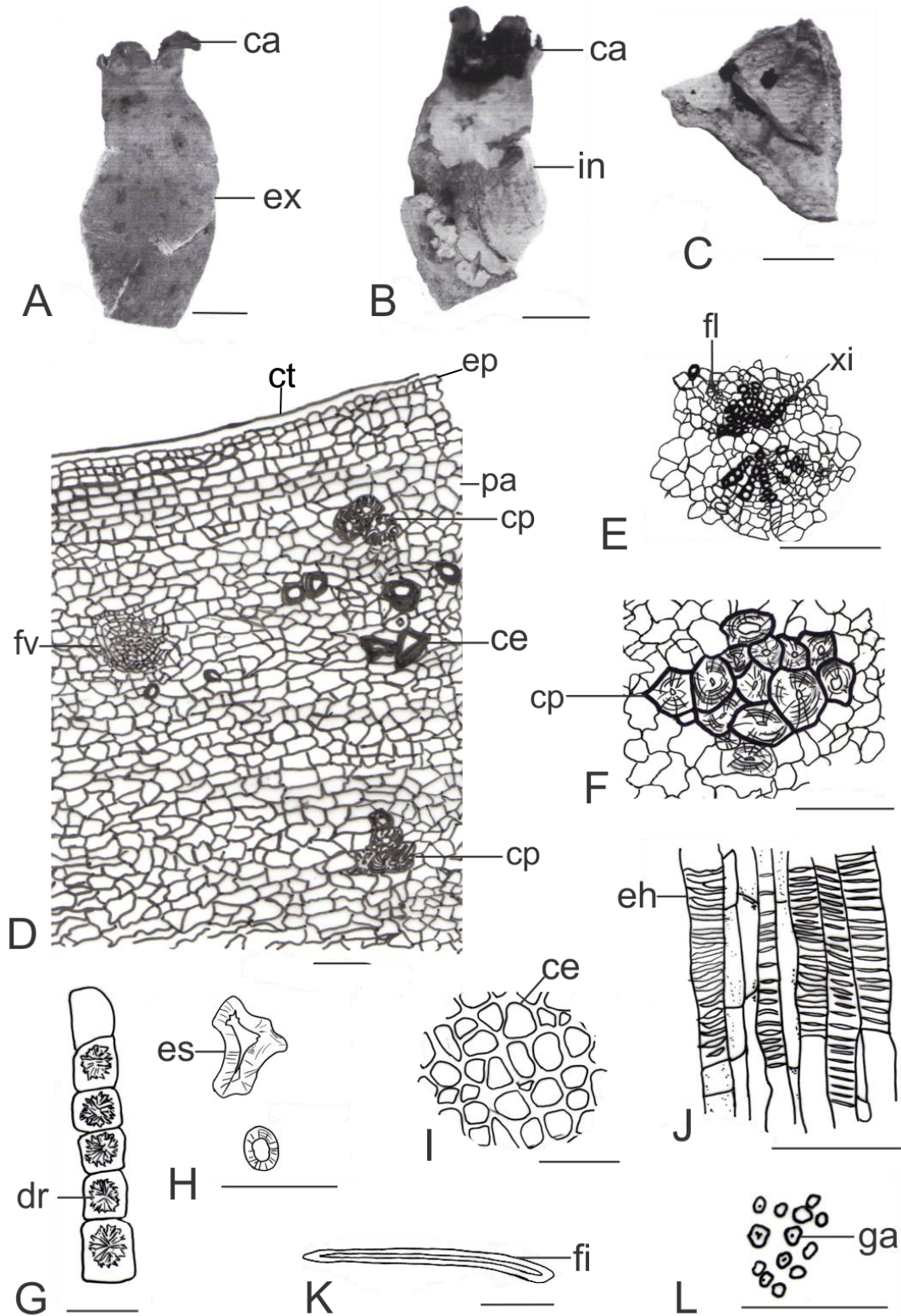


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos e microscópicos do pó em *Punica granatum* L.

As escalas correspondem em A-C a 1 cm; em D-L a 50 μ m.

A – representação esquemática da superfície externa (ex) da casca, em vista frontal contendo cálice persistente (ca). **B** – representação esquemática da superfície interna (in) da casca, em vista frontal contendo cálice persistente (ca). **C** – representação esquemática da superfície interna da casca, em vista frontal. **D** – representação histológica da casca, em secção transversal, mostrando célula esclerenquimática (ce); células parenquimáticas (pa); cutícula (ct); epiderme (ep); feixes vasculares (fv); grupo de células pétreas (cp). **E** – fragmento do parênquima contendo feixe vascular: floema (fl) e xilema (xi). **F** – fragmento de parênquima contendo grupo de células pétreas (cp). **G** – Grupo de células contendo drusas (dr). **H** – Esclereídes isoladas (es). **I** – fragmento contendo células epidérmicas (ce) em vista frontal. **J** – fragmento de

parênquima contendo elementos de vaso com espessamento helicoidal (eh). **K** – fibra (fi) isolada em vista longitudinal.
L – Grãos de amido (ga).