

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós- Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

DETERMINAÇÃO DE TANINOS
EM EXTRATOS VEGETAIS

VÂNIA RODRIGUES LEITE E SILVA

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Prof. Dr. JORGE LUIZ SEFERIN MARTINS

15771

SÃO PAULO
1998

DEDALUS - Acervo - CQ



30100001649

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S586d Silva, Vânia Rodrigues Leite e
Determinação de tanino em extratos vegetais / Vânia Rodrigues
Leite e Silva. -- São Paulo, 1998.
85p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Martins, Jorge Luiz Seferin

1. Fármaco : Controle de qualidade 2. Fitoterapia I. T. II.
Martins, Jorge Luiz Seferin, orientador.

615.19015 CDD

VÂNIA RODRIGUES LEITE E SILVA

**DETERMINAÇÃO DE TANINOS
EM EXTRATOS VEGETAIS**

**COMISSÃO JULGADORA
DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO
DE GRAU DE MESTRE**

**Prof. Dr. Jorge Luiz Serefin Martins
(Orientador Presidente)**

**Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos
1º Examinador**

**Prof. Dr. Vicente de Oliveira Ferro
2º Examinador**

São Paulo, 07 de maio de 1998.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1. Generalidades sobre as plantas estudadas.....	4
2.1.1. Alecrim.....	4
2.1.2. Alfazema.....	6
2.1.3. Barbatimão.....	7
2.1.4. Castanha da Índia.....	8
2.1.5. Confrei.....	9
2.1.6. Hamamélis.....	10
2.1.7. Sálvia.....	11
2.2. Taninos.....	12
2.2.1. Estrutura, classificação e propriedades físico-químicas.....	12
2.2.2. Metodologia analítica para determinação de tanino.....	18
2.2.2.1. Métodos de identificação.....	18
2.2.2.2. Métodos de determinação quantitativa.....	19
2.2.2.2.1. Hemoanálise.....	19
2.2.2.2.2. Precipitação por um sal metálico.....	19

2.2.2.2.3. Método colorimétrico.....	20
2.2.2.2.4. Reação com substâncias proteicas.....	21
2.2.2.2.5. Métodos da afinidade relativa pelo azul de metileno.....	21
2.2.2.2.6. Métodos que empregam alcalóides e a oxidação de taninos.....	22
2.2.2.2.7. Método HPLC (Cromatografia líquida de alta performance)...	22
3. OBJETIVOS.....	23
4. MATERIAIS.....	24
4.1. Drogas vegetais.....	24
4.2. Extratos vegetais do mercado.....	26
4.3. Solventes e reagentes.....	27
4.4. Substância de referência.....	27
4.5. Equipamentos.....	28
5. MÉTODOS.....	29
5.1. Preparação dos extratos fluidos.....	29
5.1.1. Processos gerais de preparação.....	29
5.1.2. Preparação dos extratos de referência.....	31
5.2. Densidade dos extratos.....	34
5.3. Determinação do teor de tanino	35
5.3.1. Preparo do ácido fosfotúngstico R ou reagente Folin Denis	35
5.3.2. Preparação e doseamento do padrão.....	35
5.3.3. Solução de carbonato de sódio R.....	35
5.3.4. Dosagem de polifenóis totais.....	36
5.3.5. Cálculo do teor de tanino.....	37
5.4. Aplicação do método em extratos comerciais e de referência.....	38
5.5. Pesquisa de interferência nos veículos.....	40

6. RESULTADOS.....	41
6.1. Teor de tanino.....	42
6.2. Pesquisa de interferência nos veículos.....	50
6.2.1. Solução álcool/água 2:1.....	50
6.2.2. Solução glicerina 70% em água.....	50
6.2.3. Glicerina pura.....	50
6.2.4. Glicerina 50% em água.....	50
6.3. Cálculo do coeficiente de variação e limite de confiança.....	51
7 .DISCUSSÃO.....	58
8. CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
RESUMO.....	74
SUMMARY.....	75

À Deus, pela vida

“Em todas estas coisas, porém somos mais
que vencedores, por meio daquele que nos ama.”

Romano 8:37

Aos meus pais *Dan* e *Celina*,
pelo amor, dedicação e exemplo de vida
que foram as bases da minha formação humana.

Ao meu marido **Nelson**, que sempre esteve
presente e compartilhou deste momento
de emoção e vitória.

**Aos meus irmãos Gustavo e Augusto,
pelo amor e por tudo que representam.**

Ao Professor Jorge Seferin Martins,
pela orientação, incentivo e confiança a mim
depositados durante a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao *Professor João Fernandes Magalhães* pela demonstração de interesse e pelas valiosas sugestões.

À minha prima *Lilian* pela preciosa revisão na redação do texto.

À minha cunhada *Simone* pela ajuda na versão português/inglês do resumo do trabalho.

Aos meus amigos *Fábio Pagliarini* e *Suzzi Ferraz*, pelo apoio e paciência na confecção das figuras e auxílio na editoração.

À bibliotecária *Moema Rodrigues dos Santos*, pela atenciosa revisão das referências bibliográficas.

À *Elizabete Teran*, farmacêutica da Centroflora, pelas amostras das plantas trabalhadas e pelo incentivo.

À Capes e CNPq, pelo auxílio financeiro.

Aos colegas *Daverson Rodrigues*, *Regina Maura Rojas*, *Elaine Midori*, *Fátima Cristina Franco*, *Hyun Sun Cho*, *Virgínia Maria Borges* e *Iria R. da Silva* pelo apoio, incentivo, ajuda e amizade.

À minha *Tia Lili*, pela sempre carinhosa e fundamental acolhida.

À todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Obrigada!

1 - INTRODUÇÃO

A história das plantas com potencial terapêutico confunde-se com a história do próprio homem. No momento em que este foi capaz de se estabelecer como uma comunidade fixa, o Reino Vegetal passou a ser o recurso natural mais observado e participante do cotidiano. É natural, pois, que os vegetais tenham sido o primeiro alimento a ser usado na terapêutica.

Tanto para medicamento como para cosmético, os produtos naturais (principalmente os de origem vegetal) são importantes ingredientes.

As plantas elaboram vários princípios ativos que apresentam propriedades definidas, ressaltando-se que seus extratos são amplamente utilizados pelas indústrias.

Atualmente, tem-se um problema muito grande para controlar a qualidade desses extratos vegetais, pois são vendidos às indústrias sem qualquer especificação que permita estabelecer a sua qualidade.

Os chamados extratos glicólicos, por exemplo, não estão inscritos em nenhum compêndio oficial e não há literatura disponível sobre sua composição, modo de fabricação, líquido extrator e método de análise.

Somente no dia 6 de fevereiro de 1995, foi publicada no Diário Oficial, uma portaria com normas para registro de fitoterápico.(6)

A publicação dessa portaria aumenta a importância de um controle mais efetivo por parte dos fabricantes e revendedores de fitoterápicos pois institui novas normas e regras para produção desse medicamento.

Consta na mesma que a fabricação e a comercialização de produtos fitoterápicos serão efetuadas somente após a autorização de funcionamento da empresa e registro de produtos junto ao órgão competente do Sistema Único de Saúde. Para esse registro deverá ser elaborado um relatório técnico que contenha informações sobre a matéria prima vegetal, droga vegetal, preparo de fitoterápico intermediário produto fitoterápico, segurança e eficácia terapêutica, como por exemplo:

- Dados sobre a planta fresca(nomenclaturas botânica oficial e popular, teste de pureza, identificação de matéria prima vegetal com métodos empregados e laudo do profissional responsável, parte usada para preparação do fitoterápico, obtenção do vegetal(indicando método de cultivo e de coleta), características organolépticas, macroscópica e microscópica, testes de pureza, análise quantitativa e qualitativa dos princípios ativos, entre outros.

- Dados sobre a droga vegetal (todos os itens citados para planta fresca), operações empregadas como método de secagem, estabilização, conservação e tamisação,etc.

- Dados sobre o produto fitoterápico intermediário.

Também, define termos usados na fitoterapia como matéria prima vegetal, droga vegetal, produto fitoterápico, preparado fitoterápico intermediário, princípio ativo e marcadores.

Com essas novas normas, obriga-se o fabricante a exercer um controle mais efetivo em seus produtos, como teor de ativos, efeitos colaterais, ação terapêutica, entre outros.

As indústrias intermediárias como, por exemplo, a indústria cosmética, que compra os extratos vegetais para aplicação em cremes e xampus, muitas vezes recebem esse material sem comprovar as especificações apresentadas pelos fabricantes.

Ainda não houve, por parte da fiscalização, uma atuação efetiva e a comercialização dos fitoterápicos continua a ser feita sem os parâmetros de qualidade.

Para começar esse controle seria mais fácil iniciar com a análise de grupamentos conhecidos e com métodos já inscritos em farmacopéias. Temos, como exemplo, a determinação de taninos, o qual é encontrado em extratos vegetais bem conhecidos e amplamente utilizados como os de Alfazema, Alecrim, Barbatimão, Castanha da Índia, Confrei, Hamamélis e Sálvia.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Generalidades sobre as plantas estudadas

2.1.1. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Seu nome latino *ros marinus* significa: "orvalho que vem do mar" (5).

Na antigüidade, era considerada uma planta com poderes místicos, usada para proteção contra maus espíritos nos casamentos e funerais (43, 45).

Em geral, é uma planta de 0,5 a 1,0 m de altura, podendo chegar a 2 m. Floresce durante quase todo o ano (22).

O Alecrim é nativo da região mediterrânea, mas é cultivada em várias partes do mundo (Califórnia, Inglaterra, França, Espanha, Portugal, Iugoslávia, Marrocos, China, etc.) (29).

Sua composição química é bem variada, mas ela se destaca pelo óleo essencial, que é utilizado em medicina popular para preparação de banhos aromáticos e linimentos estimulantes (23).

As folhas e extremidades contém tanino, 0,15% (derivado do ácido rosmarínico) de saponina ácida e pequenas quantidades de glicosídeos (22).

Possui propriedades antiespasmódica, ligeiramente diurética, sendo também utilizada nas dores articulares com compressas e massagens e dores de cabeça (22, 45,53).

É um estimulante cardiotônico, anti-séptico pulmonar e aumenta a secreção biliar (28). Pode promover crescimento capilar (53).

Em cosméticos, o óleo essencial é muito usado como aromatizante, principalmente em sabonetes, detergentes, cremes, loções e perfumes (29).

2.1.2. Alfazema (*Lavandula officinalis* Chaich syn)

O nome latino vem do “lavare” que significa lavar. Os romanos a utilizavam em banhos, pois transmite uma imagem de asseio e frescor natural (28, 49).

Para se desenvolver, a lavanda prefere lugares arejados, luminosos, espaçosos, de temperatura média e, segundo Marcel Lavabre, possui ação calmante por isso é um excelente tratamento para o sistema respiratório como bronquite, asma, gripe e catarro (28,45, 55).

Planta originária da região mediterrânea, é mais cultivada no sul da França. Alcança aproximadamente 1 metro de altura (8). As flores têm vários tons e se comprimem em volta de uma única haste (59). A parte utilizada são as flores frescas, as quais contém até 3% de óleos essenciais, constituídos por mais de 100 componentes, como linalol, geraniol, cineol, cânfora, limoneno e sesquiterpenos (8, 23, 29, 43).

A alfazema possui outros componentes importantes como os taninos (5-12%)derivados do ácido rosmarínico, cumarinas, flavonóides e triterpenos (29,55).

Possui efeito carminativo, espasmódico, antidepressivo, rubefaciente, diurético, anti-reumático, cicatrizante, sedativo e bactericida. Também, é utilizada como aromatizante para cremes, perfumes e sabonetes (8, 29, 49, 59).

O óleo essencial pode ser usado externamente, em tratamentos de acne, dermatites, queimaduras, picadas de insetos e xampu para cabelos oleosos (28,55).

Sua infusão é empregada para dores de cabeça (53).Pode ser usado em tratamento da síndrome pré-menstrual e contra os sintomas da menopausa (45).Usado em banhos para relaxamento, contra depressão e cansaço, artrite e dores musculares (43).

2.1.3. Barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Mimosa barbatiman Vell.)

Pequena árvore de caule e ramos tortuosos, dotada de casca espessa que existe em todo o cerrado central, Amazonas, bem como na região compreendida entre Piauí e Sergipe. A exploração é puramente extrativa, embora a árvore cresça com extrema lentidão (13, 27, 47).

Popularmente também é conhecido como Barba-de-timão, barbatimão verdadeiro, chorãozinho-roxo, casca-da-virgindade ou da mocidade, Ibá-timão, Paricarana (Pará), Vabatima e Vabatimo (27).

A casca produz tinta vermelha que, se precipitada adequadamente, produz tinta de escrever (13).

Contém cerca de 20 a 35% de tanino condensado, mas, possui também, amido, resinas, mucilagem, ácido gálico, ácido elágico e corantes (12, 27, 47).

As formas farmacêuticas habituais são: infuso, decocto, extrato fluido, pó, tintura, elixir, vinho e xarope (12).

Devido a grande quantidade de tanino, possui propriedades anti-hemorragica, antidiarreica, antigonorreica, adstringente, tônica e antiemética. Muito utilizada, também, nas anemias, fraquezas gerais, debilidades, escorbuto, hemorragias uterinas, leucorréias e nos tratamentos de úlcera, e feridas (12, 27).

2.1.4. Castanha da Índia (*Aesculus hippocastanum* L.)

Originária dos Balcãs e cultivada na Índia, Pérsia e alguns outros países da Ásia, estende-se agora por toda a Europa (11).

É uma árvore de grande porte cujas flores são brancas e muito vistosas. O fruto é grande, globuloso, e libera a castanha de sabor muito amargo (22).

A composição química da Castanha da Índia é um pouco complexa, contendo taninos até 2%, heterosídeos cumarínicos (esculosídeo), saponinas triperpênicas (8 - 28%), principalmente aescina e aescigenina, pectina, flavonóides, alantoína, aminoácidos, fitosterol e vitaminas B, K1, C, pró-vitamina D. (11, 30, 38, 55).

Possui inúmeras aplicações terapêuticas como antitérmica, anti-hemorrágica, antiinflamatória e diminuidora da fragilidade capilar (11). Externamente, pode ser usada no tratamento de lúpus eritematoso (52).

Sua característica adstringente está fortemente ligada à presença de taninos (11).

Um estudo de 4 semanas com o uso de extrato de Castanha da Índia, em 40 pacientes com insuficiência venosa crônica, confirmou o efeito antiedema e a diminuição da dor e do cansaço (38).

Como excelente vasoconstritor, é também utilizado no tratamento de hemorróidas dolorosas, não só acalmando a dor, mas, também, diminuindo o diâmetro das veias, agindo como vasoprotetor(10, 22). Sua tintura preparada com flores frescas é um excelente tratamento contra reumatismo (52).

Na cosmética, pode ser usada para queda de cabelo em forma de xampu ou tônico capilar. (55)

2.1.5. Confrei (*Symphytum officinale* L.)

É uma planta com caule angulosos e ramosos de 40 a 80 cm de altura (22).

Nativa da Europa e Ásia, foi naturalizada na América do Norte (29).

Rica em proteína, é utilizada como alimento para animal e como adubo orgânico (43).

O Confrei contém 0,75 a 2,55% de alantoína, aproximadamente 0,30% de alcalóide pirrolizidínicos (sinfitina e equimidina) , 29,00% de mucopolissacarídeo, 0,63% de caroteno, glicosídeos , açúcares e triterpenos (29,55). Quanto ao tanino, o pirocatecol tanino tem uma concentração de, aproximadamente, 2,4% (16,29, 38) e o pirogalol de 5 a 10% (22).

Um estudo inorgânico analítico de plantas medicinais feito no Ceará, com amostras de chá de Confrei, encontrou, como resultado, 204,18 mg de tanino em 100g de amostra (34).

Muitos efeitos são atribuídos ao Confrei, como estimulador da proliferação celular, adstringente, anti-hemorrágico, antiinflamatório, emoliente, hemostático e expectorante (22, 29, 38).

Usado externamente para úlceras, fraturas e luxação muscular e psoríase. (43, 55).

Na cosmética, é indicado para rejuvenescimento e na revitalização das células e seu extrato é aplicado em cremes de 10 a 15% (55).

2.1.6. Hamamélis (*Hamamélis virginiana* L.)

Seu nome se origina do grego *hama* que significa ao mesmo tempo e *melis* que significa fruto, devido a frutificação ocorrer ainda quando a planta esta florida. *Virginiana* refere-se ao local do Estados Unidos que foi encontrado (55).

Árvore que floresce no outono, mede cerca de 7,5 m de altura. Nativa da América do Norte, distribui-se de Quebec até Geórgia e oeste de Minesota (29).

Droga quase inodora, de sabor adstringente, levemente amarga e aromática (19). A parte mais utilizada são as folhas (55).

O total de tanino ascende a 8%. As folhas contém um tanino cristalizavel, o hamamelitanino, que por hidrólise resulta a hamamelose e ácido gálico. Reconheceram-se, ainda, ácido gálico livre e um tanino amorfo (14,29). Em análise dos polifenóis, contidos em folhas de Hamamélis, foram encontrados 9,6% de tanino (11). Outros constituintes estão presentes, como o ácido gálico, saponinas, resinas, flavonóides, óleos essenciais 0,5% , proantocianidina e ácido fenólico (8, 11, 29, 38).

Possui propriedades adstringente, anti-hemorrágica e antiinflamatória. Tradicionalmente, tem sido usado como antidiarréico e, externamente, para hemorróidas, varizes, inflamações localizadas e contra picadas de insetos (8, 29, 38, 52).

Externamente, também é utilizado para reumatismo muscular, pequenas erupções na pele e queimaduras (43, 52).

As preparações são as mais diversas, variando desde extratos e tinturas até pomadas e remédios homeopáticos (43).

Em cosmetologia é usado em fórmulas de loções capilares e xampus (55).

2.1.7. Sálvia (*Sálvia officinalis*.L.)

Planta com aproximadamente 80 cm de altura, é nativa da região mediterrânea, mas cultivada em várias regiões como Iugoslávia, Albânia, Turquia, Grécia, Itália, Estados Unidos, etc. (29).

A Sálvia tem sido vista como um “cura tudo” desde o começo da história. Seu nome genérico vem do termo “to be saved”(estar salvo) (43).

São tantas as suas propriedades que existe um ditado que diz: “De que poderá morrer um homem que tenha Sálvia plantada em sua horta?” (21).

Trabalhos efetuados com Sálvia comprovam a presença de 8 a 10% de tanino (50, 54) e de 1 a 2,8% de óleos voláteis como 1,8 cineol, borneol, cânfora e triterpenos como ácido ursólico e oleanólico (38, 55).

Muito utilizada em cosméticos como fragrância em sabonetes, cremes, loções e perfumes bem, como, em produtos anti-caspa e estimulante do crescimento capilar, cremes e loções para peles oleosas e acnéicas (21, 55).

Em medicina, é usada como tônico, digestivo, anti-séptico, adstringente e antiespasmódico, antiperspirante e antitérmico. Além do odor aromático, possui um sabor adstringente e amargo (20, 21, 29). Normaliza as funções menstruais tanto na quantidade do fluxo quanto na duração e regularidade do período (21).

Como remédio caseiro, são utilizadas as folhas para calmante das afecções da mucosa bucal (23).

Antigamente, a Sálvia era a planta particularmente indicada para induzir e promover a gravidez (28).

2.2 – Taninos

O tanino compreende um amplo grupo de composto polifenólico largamente difundido em todo o reino vegetal (41).

Nos últimos 30 anos, a literatura tem acumulado trabalhos sugerindo que muitos metabólitos secundários estão intimamente ligados com o meio ambiente. Há evidências que os taninos têm muitas funções no processo fisiológico das plantas sendo, uma delas, a defesa das mesmas. (26).

Ele inibe o ataque ao órgão vegetal por parte dos fungos e bactérias na defesa contra a depredação de herbívoros conseguidas através da redução do poder nutricional de proteínas e da atividade de enzimas digestivas (2, 24) assim como sensação de constrição devido ao poder de adstringência (26).

2.2.1. - Estrutura, classificação e propriedades físico-químicas

A palavra tanino compõe-se de tan, de origem incerta, provavelmente da Inglaterra (to tan = curtir) e do sufixo in que, na época, usava-se para denominar compostos orgânicos naturais (14). Deve-se essa palavra a Seguin, que introduziu esse termo para descrever substâncias que convertiam pele em couro (26).

A sugestão dada por Freudenberg para divisão de taninos hidrolisáveis e taninos condensados é a mais aceita (2, 25) (**Figura 1**).

Os taninos hidrolisáveis, mais numerosos e melhor conhecidos, tiveram suas estruturas elucidadas durante 1950-1980 no período de Schmidt, Mayer e colaboradores (14, 44).

Suas estruturas poliésteres são prontamente hidrolisáveis por ácidos (ou enzimas), geralmente os ácidos gálicos ou elágicos, considerando-se respectivamente os subgrupos galotaninos e elagitaninos (14, 25).

Os galotaninos são ésteres do ácido gálico de alguns dos seus derivados e de poli-álcoois alifáticos. Revelam-se aptos a curtir peles de animais. Encontram-se em muitas espécies e acumulam-se particularmente nas galhas (14, 44).

Os elagitaninos caracterizam-se pela presença do ácido elágico integrado em suas moléculas, e são encontrados com freqüência na natureza (por vezes percentagens elevadas) (14).

Os taninos condensados, ou proantocianidinas, formam um grupo numeroso, mas de constituição pouco conhecida: são amorfos, vermelhos ou castanhos, pouco solúveis em água, solúveis em álcool, álcalis, sulfetos etc.

São produtos condensados de precursores simples, com ligações diretas dos núcleos por intermédio de átomos de carbono, também, de oxigênio sob a forma de éteres, de estrutura muito estáveis e dificilmente destruídas (14).

A mais importante reação da proantocianidina é sua divisão (quebra) em solução levemente ácida para formar um "flavan-3-ol- e quinona methide", que está em equilíbrio com "carbocation" em solução fortemente ácida (44).

Antigamente, chamávamos taninos a todos os compostos que reagiam com pele para formar couro e resultassem em cor azul, negra ou verde, quando, em contato com sais de ferro (11).

Os taninos vegetais não se definem pela sua composição química, mas por um conjunto de propriedades: compostos não nitrogenados, amorfos, adstringentes, precipitam com sais de ferro formando compostos azuis, negros e verdes, pela presença de hidroxilas fenólicas em suas moléculas (11, 14).

Industrialmente, são utilizados como mordente em tintura, na fabricação de tinta, para engomar papel e seda, na estampagem em tecidos, na curtição de couro, como substância coagulante, na fabricação de borracha, em fotografia, entre outros (29, 33).

Para uso terapêutico, são utilizados como ingredientes em supositório para tratamento de hemorróida (29), adstringente hemostático e, em soluções para queimaduras e diarreia (33).

São solúveis em álcool, água, acetona, glicerol, pouco solúveis em éter de petróleo, clorofórmio, benzeno e hexano. Escurecem gradualmente em exposição ao ar e à luz (9, 11, 29, 33, 42).

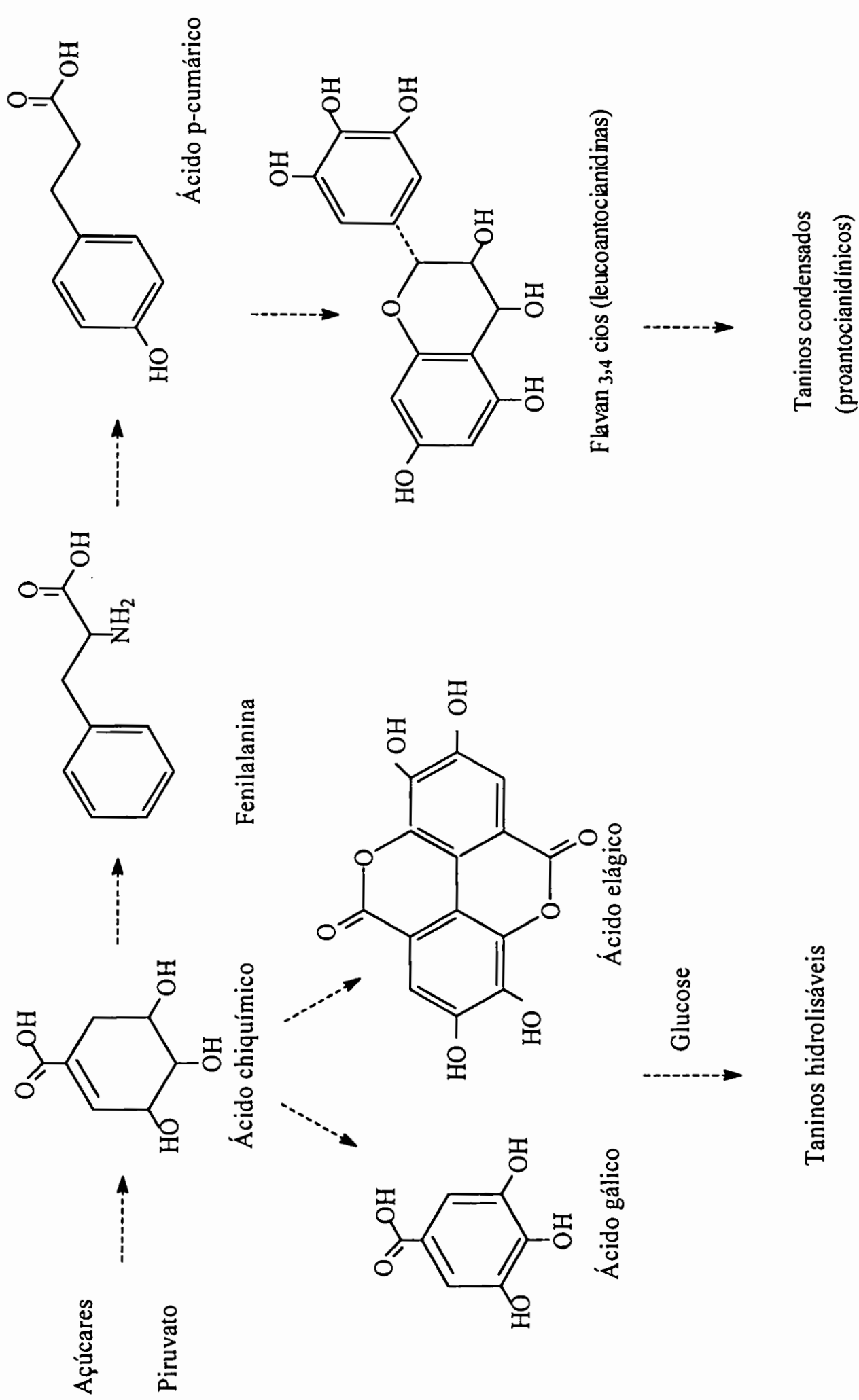
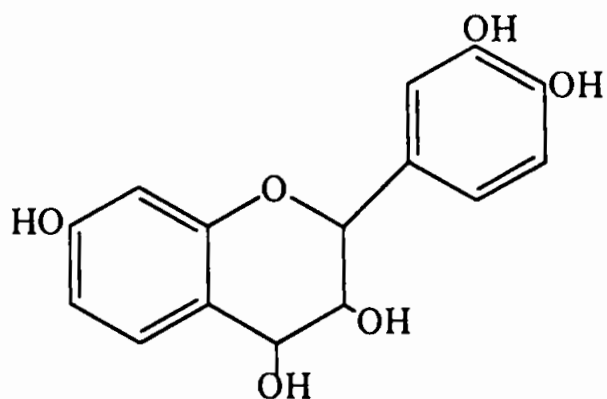


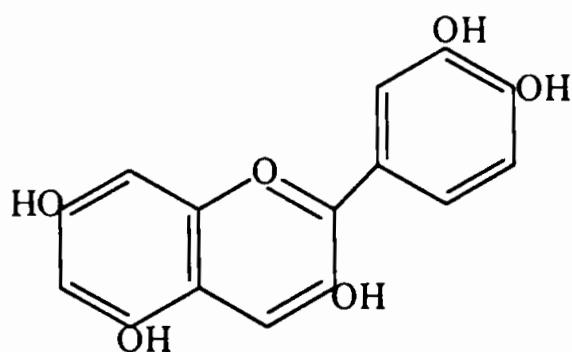
Figura 1 - Origem biosintética de taninos condensados e hidrolisáveis em plantas.

TANINOS CONDENSADOS (14,25)

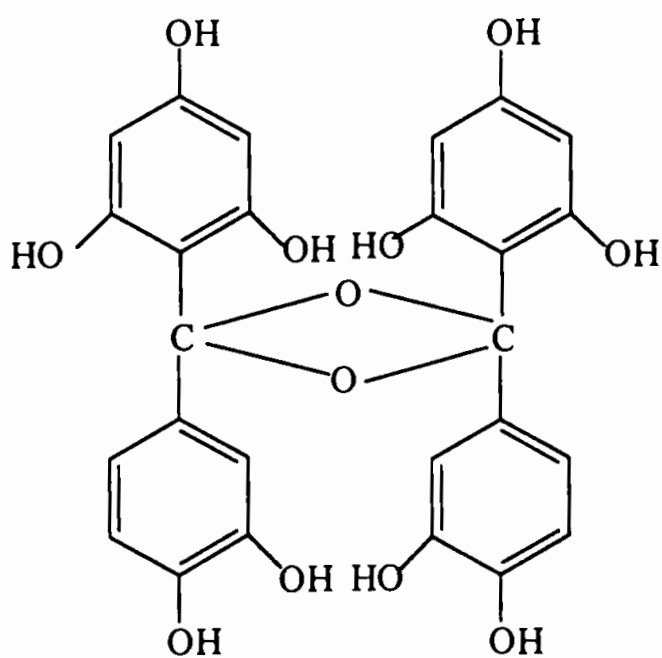
PRECURSORES:



Flavan-3,4-diol



Cianidina



Pentahidroxi-2,4,6,3'.4'-benzofenona

2.2.2. - Metodologia analítica para determinação de tanino

2.2.2.1. - Métodos de identificação

Com albumina, gelatina e alguns alcalóides produzem precipitados insolúveis (33).

Com sais de chumbo formam precipitados volumosos e densos. Reagem com metais resultando compostos geralmente coloridos e, muitas vezes, insolúveis (14, 32).

Com cianeto de potássio, formam precipitado amarelo e reduzem o reagente de Fehling (11, 14).

Com sais de ferro, obtêm-se combinações coloridas, de natureza coloidal (14, 32, 33). Com alcalóides, formam precipitados cristalinos e amorfos (11).

O dicromato de potássio e o ácido crômico precipitam os taninos (14).

Uma de suas principais características é a de converter pele de animais em couro. Essa operação era efetuada nas regiões mediterrâneas aproximadamente 1500 a.C., como relatam os arqueólogos (26).

Estudos feitos com *Gomidesia palustris* utilizaram a cromatografia em camada delgada, utilizando n-butanol/ácido acético/água (4:1:5-fase superior) como eluente, celulose como suporte e como agentes de detecção, a luz ultravioleta 360 nm e cloreto férrico (31).

A Farmacopéia Brasileira 4^a ed. emprega a cromatografia em camada delgada, utilizando sílica-gel GF-254 com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de acetato de etila-ácido fórmico-água (80:10:10), como fase móvel. É aplicada na cromatoplaça, separadamente, 10 µl da solução amostra e da solução referência (19).

2.2.2.2. - Métodos de determinação quantitativa

2.2.2.2.1. - Hemoanálise

Método proposto por Bate-Smith, também chamado de método do eritrócito, está baseado na formação de um complexo tanino-hemoglobina. A quantidade de hemoglobina complexada é calculada a partir da diferença das absorvâncias obtidas por leitura espectrofotométrica a 578 nm da solução não tratada e da solução tratada com ácido tânico. Os resultados são expressos em miligrama de ácido tânico por mililitro de extrato (31).

Kobert baseia-se na aglutinação dos eritrócitos suspensos em soro fisiológico. Usa-se tanino puro para comparação (14).

PORTER (44) descreve o trabalho de Bate-Smith também em doseamento de tanino, usando sangue humano .

2.2.2.2.2. - Precipitação por um sal metálico

Essa técnica baseia-se na formação de complexos insolúveis reagindo o tanino com sais diversos como cobre, chumbo, estanho, ferro, alumínio, etc. (14).

Existem várias maneiras de se dosar o tanino, como, por exemplo,

- A) pesagem dos precipitados obtidos
- B) volumétrica: por processo de diferença
- C) técnica de dosagem limite: verifica-se se contém um mínimo estabelecido de taninos (14)

2.2.2.2.3. - Método Colorimétrico

A maioria dos testes usados nos laboratórios envolve a colorimetria (44).

A reação mais conhecida é a formação do composto de cor azul, resultante da redução do ácido fosfotúngstico à azul de tungstênio por hidroxilas fenólicas, em soluções alcalinas (46, 51). Esse método é chamado de método Folin-Denis (37).

Reação:



Como essa reação não é específica para taninos, faz-se uma primeira leitura da amostra em um espectrofotômetro (760nm) para determinação de todos os componentes redutores (hidroxilas fenólicas) e, a seguir, coloca-se essa mesma amostra em contato com a proteína (a mais usada é o pó de pele cromado). Filtra-se e também adiciona-se o ácido fosfotúngstico. É feita, então, uma segunda leitura no mesmo comprimento de onda e, através da diferença das absorções, calcula-se a porcentagem de tanino. (17).

Pode-se, também, precipitar previamente com acetato de zinco ou de chumbo. Decompõe-se esse precipitado pelo ácido sulfúrico e, só depois, adiciona-se o reagente (14).

2.2.2.2.4. - Reação com substâncias protéicas

Os reagentes mais usados são: a gelatina, albumina do ovo, cola de peixes, tripa e pele de animais (14). Conhecem-se vários métodos, mas somente um gravimétrico indireto, inscrito na Farmacopéia Européia, que utiliza o pó de pele para reação com o tanino da amostra. (14, 17).

Pode-se precipitar o extrato contendo tanino com mucoproteína da saliva, mas torna-se difícil quantificar pois, o precipitado é em forma de gel e não é fácil filtrá-lo ou centrifugá-lo (3).

2.2.2.2.5. - Método da afinidade relativa pelo azul de metileno

Não é sempre conveniente usar sangue ou outro método de precipitação de proteína, portanto, este método apresenta-se como alternativa. Consiste em adicionar uma amostra da solução contendo tanino ao azul de metileno, previamente quantificado, e tampão de fosfato pH=7,0. A mistura é vigorosamente agitada por 30 minutos, centrifugada, determinando-se a absorbância do sobrenadante.

Okuda e seus colaboradores, em 1985, mostraram que a relativa afinidade pelo azul de metileno e o valor da adstringência relativa foram altamente correlacionados (44).

2.2.2.2.6. - Métodos que empregam alcalóides e métodos que se baseiam na oxidação de taninos

Precipitam-se soluções de tanino com alcalóides e, pesa-se o precipitado (14).

No método pela oxidação utiliza-se o dicromato de potássio ou ácido iódico e doseia-se o excesso do reagente com hipoclorito, em presença do verde de metileno (14).

2.2.2.2.7. - Método Cromatografia líquida de alta performance (HPLC)

A determinação de tanino por HPLC é descrita por Vennat em trabalho publicado em 1992, feito em *Hamamelis virginiana*. O método desenvolvido deriva da combinação de alta resolução e velocidade: os compostos são separados claramente em aproximadamente 12 minutos. O doseamento, no entanto, torna-se um pouco complexo devido a mistura de vários componentes presentes no extrato (57).

3 - OBJETIVOS

O mercado farmacêutico de fitoterápicos sempre foi muito vulnerável à presença de produtos cada vez menos controlados e contendo poucas informações como: teor, efeito, composição, etc.

O aumento, no entanto, de produtos dessa categoria, vem crescendo cada vez mais, talvez motivado pelo “marketing do natural” e pela cultura popular. A publicação da portaria nº 6, que institui e normatiza o registro desses produtos junto ao sistema de vigilância sanitária, vem tentar regularizar essa situação.

A carência de métodos analíticos eficientes e a falta de fiscalização, resultam em produtos sem nenhuma especificação, o que motivou o presente trabalho que determina a qualidade de extratos vegetais e compara com o mercado atual, utilizando o tanino, um marcador conhecido e inscrito na farmacopéia, o qual é encontrado em extratos vegetais amplamente utilizados como Alfazema, Alecrim, Barbatimão, Castanha da Índia, Confrei, Hamamélis e Sálvia.

4 - MATERIAIS

4.1. - Drogas vegetais

Alecrim - (*Rosmarinus officinalis* L.) (36)

Parte usada: folha

Procedência: Quimer - São Paulo (S.P.)

Alfazema - (*Lavandula officinalis* Chaich Syn) (36)

Parte usada: flor

Procedência: Paul Müggemburg - Alemanha

Barbatimão - (*Stryphnodendron barbatiman* M.) (12)

Parte usada: casca

Procedência: Ervanário - São Gonçalo (RJ)

Castanha da Índia - (*Aesculus hippocastanum* L.) (22)

Parte usada: semente

Procedência: Paul Müggemburg - Alemanha

Confrei - (*Symphytum officinale* L.) (16)

Parte usada: folha

Procedência: Juquitiba - São Paulo

Hamamélis - (*Hamamélis virginiana* L.) (19)

Parte usada: folha

Procedência: Paul Müggemburg - Alemanha

Sálvia - (*Sálvia officinalis* L.) (7)

Parte usada: folha

Procedência: Paul Müggemburg - Alemanha

Essas drogas foram analisadas, identificadas e correspondem à descrição da literatura.

4.2. - Extratos vegetais do mercado

Empresa A

Extrato glicólico de Alecrim

Extrato glicólico de Confrei

Extrato glicólico de Hamamélis

Extrato glicólico de Sálvia

Empresa B

Extrato glicólico de Alecrim

Extrato glicólico de Sálvia

Empresa C

Extrato fluido de Alecrim 30%

Extrato fluido de Alfazema 30%

Extrato fluido de Barbatimão 30%

Extrato fluido de Confrei 30%

Extrato fluido de Hamamélis 30%

Extrato fluido de Sálvia 30%

Empresa D

Extrato fluido de Alecrim 10%
Extrato fluido de Alfazema 40%
Extrato fluido de Barbatimão 50%
Extrato fluido de Castanha da Índia 40%
Extrato fluido de Confrei 50%
Extrato fluido de Hamamélis 40%
Extrato fluido de Sálvia 50%

4.3.- Solventes e Reagentes

Glicerina P.A. - Synth
Etanol 95% P.A.- Synth
Carbonato de sódio anidro P.A. - Merck
Tungstato de sódio dihidratado P.A. - Merck
Ácido fosfomolibdico P.A. - Merck
Ácido fosfórico P.A. - Merck
Pó de pele cromado - Sigma

4.4. - Substância de referência

Ácido pirogálico P.A. - Anidrol produtos químicos

4.5. - Equipamentos

A - Vidrarias empregadas em laboratório

B - Espectrofotômetro Hitachi modelo U-2000 com cubeta de quartzo com 1cm de caminho ótico.

C - Balança Analítica eletrônica CG Libror 210

D - Condensador a vapor Precision Scientific C.O
CAT nº. 65486

E - Rota-vapor Büchi R-124 com banho Büchi B-480

F - Agitadores eletrônicos Fisaton modelo 753 A e modelo 702

G - Banho-maria SOC.FABBEL LTDA modelo 110 com escala de temperatura 0 - 110 °C

H - Manta Fisaton modelo 22 nº 78422

I - Percolador - dimensão diâmetro maior 17cm e diâmetro menor 10cm

J - Refluxo

5 - MÉTODOS

5.1. - Preparação dos extratos fluidos (18)

5.1.1 - Processos Gerais de Preparação

Processo A — Nesta classe estão incluídos os extratos fluidos obtidos pelo processo comum de percolação, sendo o líquido extrator o álcool ou uma mistura de álcool e água.

Umedeça uniformemente *mil* gramas da droga pulverizada com q.s. do líquido extrator prescrito e deixe em maceração durante 6 horas em percolador e junte-lhe mais líquido extrator de acordo com as regras da percolação. Deixe, então, escoar vagarosamente (10 gotas por minuto), juntando mais líquido extrator até completo esgotamento da droga (teste feito com cloreto férrico). Separe os primeiros *oitocentos e cinqüenta* cm³ do percolato (ou a quantidade indicada na fórmula), destile o restante deste para recuperar o álcool e concentre o resíduo até consistência xaroposa em temperatura inferior a 60°C; dissolva este na porção previamente separada, misture bem e adicione q.s. do líquido extrator para obter *mil* centímetros cúbicos de produto ou o volume determinado por cálculo pelo doseamento.

Processo B — Estão incluídos nesta classe os extratos fluidos em cuja extração são empregados a glicerina e usados sucessivamente dois líquidos extratores; líquido extrator I contém glicerina na proporção exigida para a quantidade de droga empregada e o líquido extrator II, uma mistura de álcool e de água, na proporção indicada, para completar o esgotamento da droga.

Umedeça uniformemente *mil* gramas da droga pulverizada com q.s. do líquido extrator I, deixe em maceração durante 6 horas em percolador; adicione-lhe, então, o resto do líquido extrator I e, quando este tiver desaparecido da superfície, junte, aos poucos, o líquido extrator II, mantendo sempre excesso de líquido sobre a droga. Continue então a percolação com o líquido extrator II, separe os primeiros *oitocentos e cinqüenta* cm³ de percolato (ou o volume especificado na fórmula), esgote completamente a droga, destile este resto de percolato para recuperar o álcool e evapore até consistência xaroposa em temperatura inferior a 60°C; dissolva esse resíduo na porção posta de parte, misture bem e adicione q.s. do líquido extrator II para obter *mil* centímetros cúbicos de produto ou o volume determinado por cálculo pelo doseamento.

5.1.2. - Preparação dos extratos de referência.

Alecrim

Alecrim.....1.000g

Álcool.....q.s.

Água destilada..... q.s.
1.000cm³

Processo A:

Líquido extrator = 2 volumes de álcool

5 volumes de água

Alfazema

Água destilada.....q.s.

Alfazema.....1000g

Glicerina.....100cm³

Álcool..... q.s.
1000cm³

Processo B:

Líquido extrator I = Glicerina.....100cm³

Álcool.....300cm³

Água destilada.....600cm³

Líquido extrator II = 2 volumes de água

1 volume de álcool

5.3. - Determinação do teor de tanino segundo Farmacopéia Européia 2ª ed. e Farmacopéia Brasileira 4ª ed. (17,19)

5.3.1 - Preparo do Ácido Fosfotúngstico R ou Reagente Folin Denis (1)

Ferver 10,0 g de tungstato de sódio a refluxo, com 5,0 ml de ácido fosfórico, 2,0 g de ácido fosfomolibdico e 75 ml de água durante 2 horas. Resfriar e completar o volume para 100,0 ml com água destilada.

5.3.2. - Preparação e doseamento do padrão (17,19)

Dissolver 50,0 mg de pirogalol R em água destilada e diluir para 100,0 ml. Diluir 5,0 ml dessa solução para 100,0 ml com água. Misturar 5,0 ml desta solução com 1,0 ml de solução de ácido fosfotúngstico R e diluir para 50,0 ml com uma solução de carbonato de sódio (15% p/v). Exatamente 2 minutos após a adição do carbonato de sódio, medir a absorvância a 715nm em espectrofotômetro (A_3), usar água como branco.

5.3.3. - Solução de Carbonato de Sódio R

15% p/v em água

Pesar 15,0 g de Carbonato de Sódio R e diluir em um balão volumétrico com água destilada até 100,0 ml.

5.3.4. - Doseamento de polifenóis totais

Misturar 5,0 ml da amostra já diluída com 1,0 ml de solução de ácido fosfotúngstico R e diluir para 50,0 ml com solução de carbonato de sódio R 15%(m/v).

Exatamente 2 minutos após a adição do carbonato de sódio, medir absorvância a 715nm (A_1), usando água como branco.

Doseamento de polifenóis que não precipitam com o pó de pele.

À 10,0 ml da amostra já diluída, adicionar 0,10g de pó de pele SCR e agitar vigorosamente em um agitador mecânico, durante uma hora. Filtrar.

Adicionar 1,0 ml de solução de ácido fosfotúngstico R a 5,0 ml do filtrado (com papel de filtro quantitativo) e diluir para 50,0 ml com solução de carbonato de sódio R (15% m/v).

Exatamente 2 minutos após a adição do carbonato de sódio, medir a absorvância a 715nm (A_2), usando água como branco.

5.3.5. - Cálculo do teor de tanino (51)

$$\% \text{tanino} = \frac{13,12 \cdot (A_1 - A_2)}{m \cdot A_3}$$

A_1 = Absorbância medida antes da adição do pó de pele.

A_2 = Absorbância medida após adição do pó de pele.

A_3 = Absorbância medida com o pirogalol

13,12 = 3,125 x 4,2 que são respectivamente a constante resultante da quantidade de tanino determinada em pirogalol multiplicado pelo fator obtido em comparação com o método gravimétrico (51).

m = Tomada de ensaio (quantidade de droga usada em g).

5.4. - Aplicação do método em extratos comerciais e de referência

Os extratos foram diluídos em água, partindo-se de uma tomada de ensaio numa seqüência de balões volumétricos até atingirem as diluições indicadas nas tabelas 1, 2, 3, 4 e 5.

Tabela 1 - Diluições empregadas nos extratos da empresa A:

Extrato	Diluição
Extrato glicólico de Alecrim	5.000
Extrato glicólico de Confrei	2.500
Extrato glicólico de Hamamélis	5.000
Extrato glicólico de Sálvia	5.000

Tabela 2 - Diluições empregadas nos extratos da empresa B:

Extrato	Diluição
Extrato glicólico de Alecrim	5.000
Extrato glicólico de Sálvia	5.000

Tabela 3 - Diluições empregadas nos extratos da empresa C:

Extrato	Diluição
Extrato fluido de Alecrim 30% (p/v)	20.000
Extrato fluido de Alfazema 30% (p/v)	12.500
Extrato fluido de Barbatimão 30% (p/v)	40.000
Extrato fluido de Confrei 30% (p/v)	1.000
Extrato fluido de Hamamélis 30% (p/v)	40.000
Extrato fluido de Sálvia 30% (p/v)	2.000

Tabela 4 - Diluições empregadas nos extratos da empresa D:

Extrato	Diluição
Extrato fluido de Alecrim 10% (p/v)	5.000
Extrato fluido de Alfazema 40% (p/v)	5.000
Extrato fluido de Barbatimão 50% (p/v)	100.000
Extrato fluido de Castanha da Índia 40% (p/v)	3.125
Extrato fluido de Confrei 50% (p/v)	1.250
Extrato fluido de Hamamélis 40% (p/v)	40.000
Extrato fluido de Sálvia 50% (p/v)	25.000

Tabela 5 - Diluições empregadas nos extratos de referência

Extrato	Diluição
Extrato fluido de Alecrim	100.000
Extrato fluido de Alfazema	50.000
Extrato fluido de Barbatimão	250.000
Extrato fluido de Castanha da Índia	12.500
Extrato fluido de Confrei	12.500
Extrato fluido de Hamamélis	250.000
Extrato fluido de Sálvia	100.000

5.5. - Pesquisa de interferência nos veículos

Aplicamos o mesmo método para doseamento de tanino nas seguintes amostras:

- 1 - Álcool/Água 2:1
- 2 - Glicerina 70% (p/v) em água
- 3 - Glicerina pura
- 4 - Glicerina 50% (p/v) em água

6. - RESULTADOS

Tabela 6 - Densidade dos extratos a 25°C *

Extrato vegetal	Empresa A	Empresa B	Empresa C	Empresa D	Padrão
Alecrim	1,1811	1,0306	0,9415	0,8904	1,0386
Alfazema	—	—	0,9458	0,8691	1,0551
Barbatimão	—	—	0,9697	0,9750	1,0771
Castanha da Índia	—	—	—	0,9120	1,0993
Confrei	1,1871	—	0,9458	0,9585	0,9952
Hamamélis	1,1867	—	0,9218	0,9562	1,0466
Sálvia	1,1815	1,0304	0,9231	0,9358	1,0528

* Média de 3 determinações

6.1. - Teor de Tanino

Tabela 7 - Porcentagem de tanino nos extratos de referência

	Tanino %	A média antes do pó de pele
Extrato fluido de Alecrim	7,17	0,197
Extrato fluido de Alfazema	3,93	0,190
Extrato fluido de Barbatimão	31,16	0,220
Extrato fluido de Castanha da Índia	0,87	0,205
Extrato fluido de Confrei	1,35	0,218
Extrato fluido de Hamamélis	9,15	0,178
Extrato fluido de Sálvia	8,62	0,175

Média de 4 determinações

Tabela 8 - Porcentagem de tanino nos extratos da empresa A:

	Tanino %
Alecrim	0,34
Confrei	0,10
Hamamélis	0,35
Sálvia	0,25

Média de 4 determinações

Tabela 9. - Porcentagem de tanino nos extratos da empresa B:

	Tanino %
Alecrim	0,42
Sálvia	0,38

Média de 4 determinações

Tabela 10 - Porcentagem de tanino nos extratos da empresa C:

	% tanino encontrada	% tanino para um extrato a 100%
Alecrim 30%	1,31	4,36
Alfazema 30%	0,75	2,49
Barbatimão 30%	3,44	11,45
Confrei 30%	0,22	0,73
Hamamélis 30%	3,57	11,88
Sálvia 30%	0,19	0,63

Média de 4 determinações

Tabela 11. - Porcentagem de tanino nos extratos da empresa D:

	Tanino %	% tanino para um extrato a 100%
Alecrim 10%	0,40	4,00
Alfazema 40%	0,30	0,75
Barbatimão 50%	14,40	28,80
Castanha da Índia 40%	0,25	0,62
Confrei 50%	0,06	0,12
Hamamélis 40%	2,90	7,25
Sálvia 50%	1,50	3,00

Média de 4 determinações

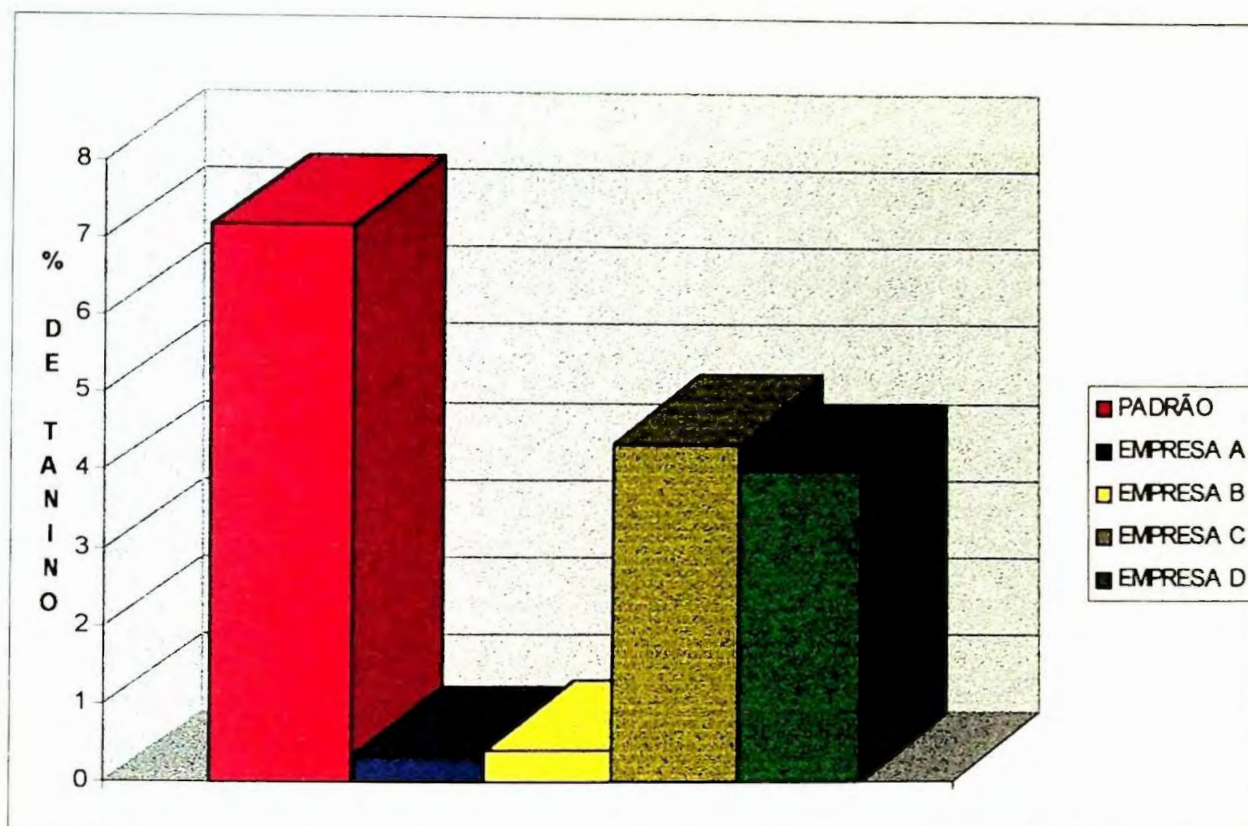


Figura 2 - TEOR DE TANINO NO EXTRATO FLUIDO DE ALECRIM

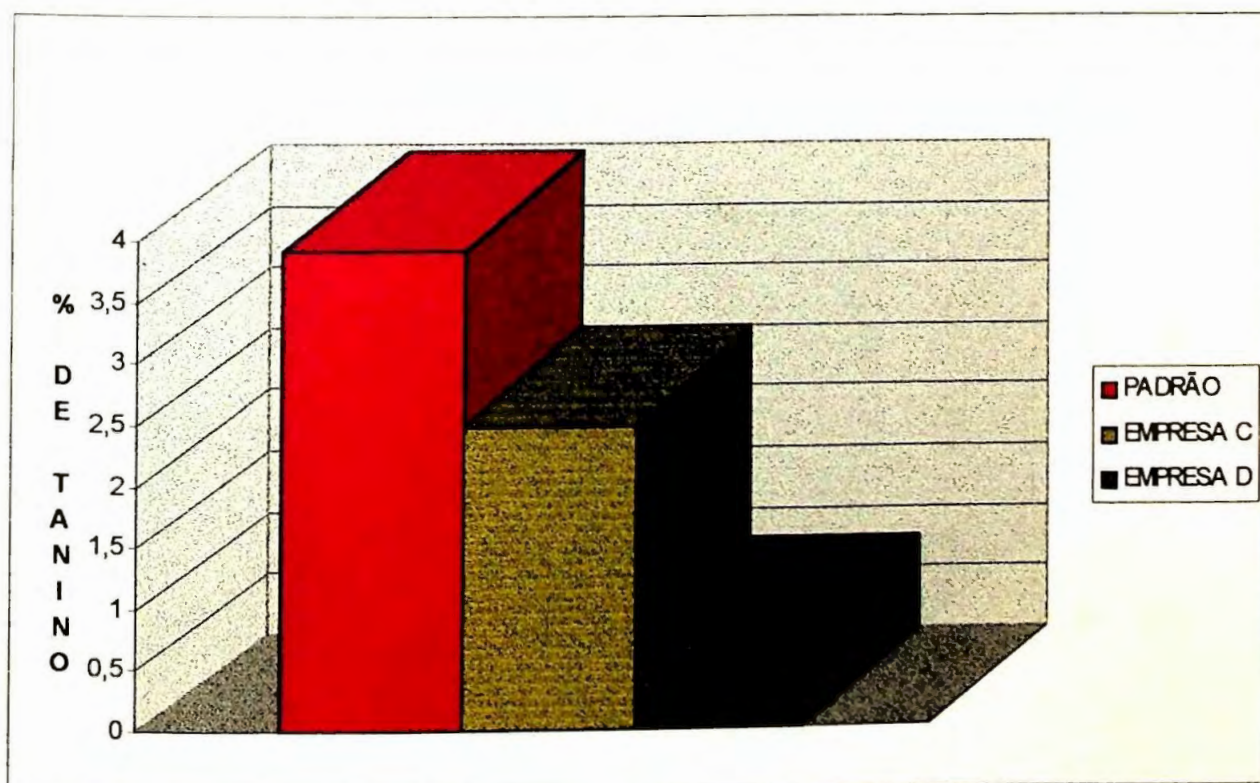


Figura 3 - TEOR DE TANINO NO EXTRATO FLUIDO DE ALFAZEMA

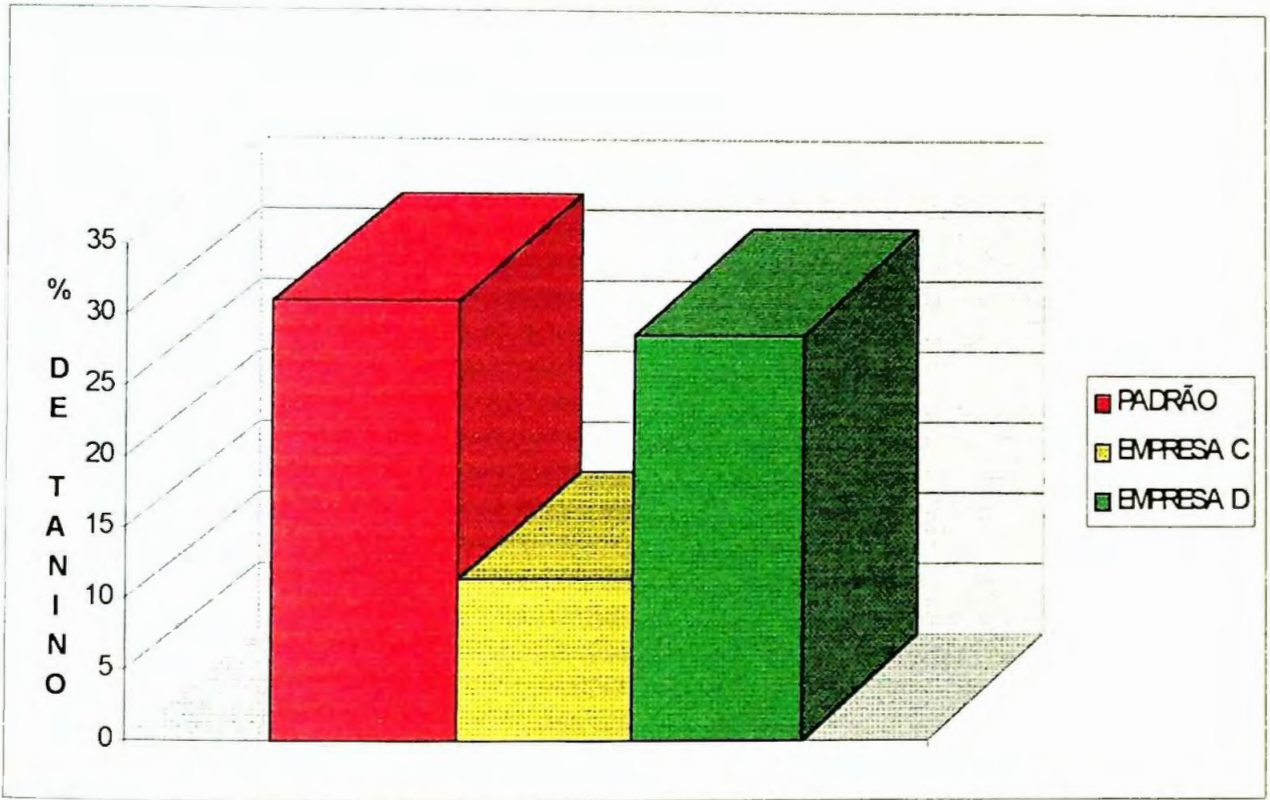


Figura 4 - TEOR DE TANINO NO EXTRATO FLUIDO DE BARBATIMÃO

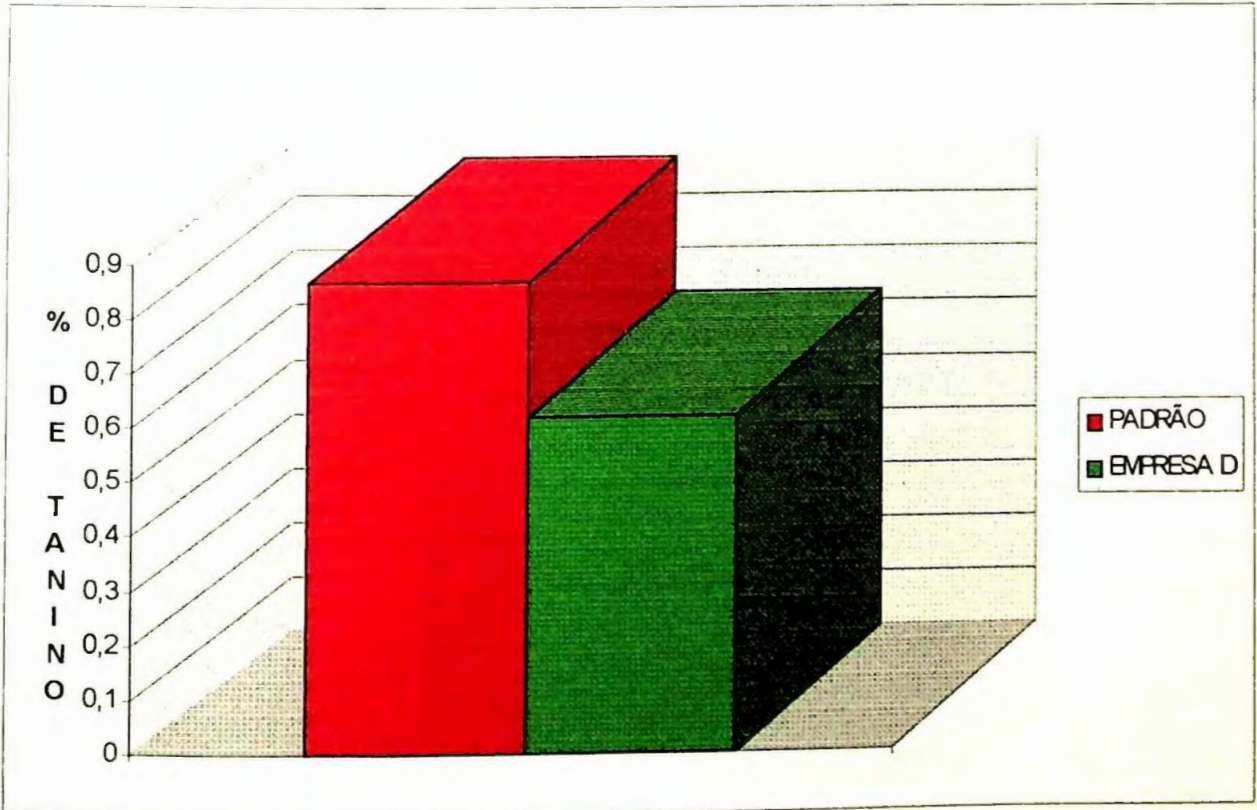


Figura 5 - TEOR DE TANINO NO EXTRATO FLUIDO DE CASTANHA DA ÍNDIA

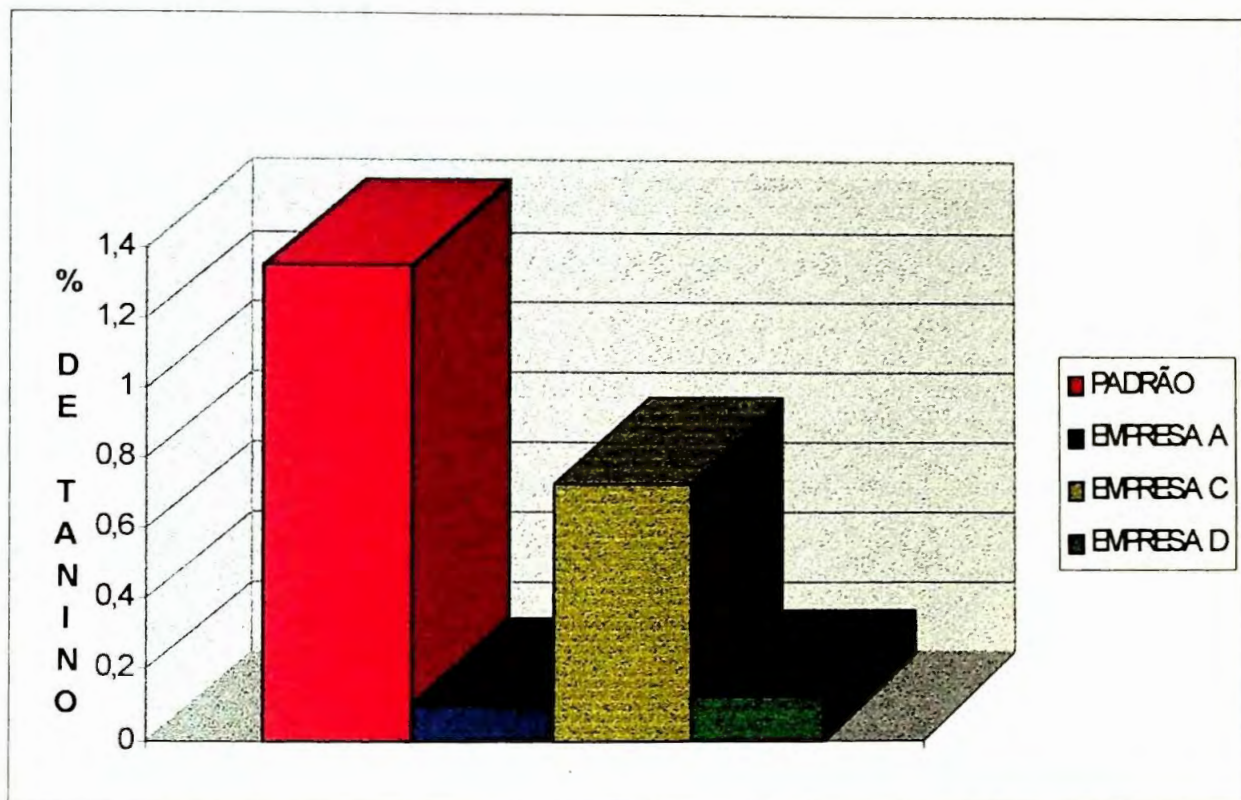


Figura 6 - TEOR DE TANINO NO EXTRATO FLUIDO DE CONFREI

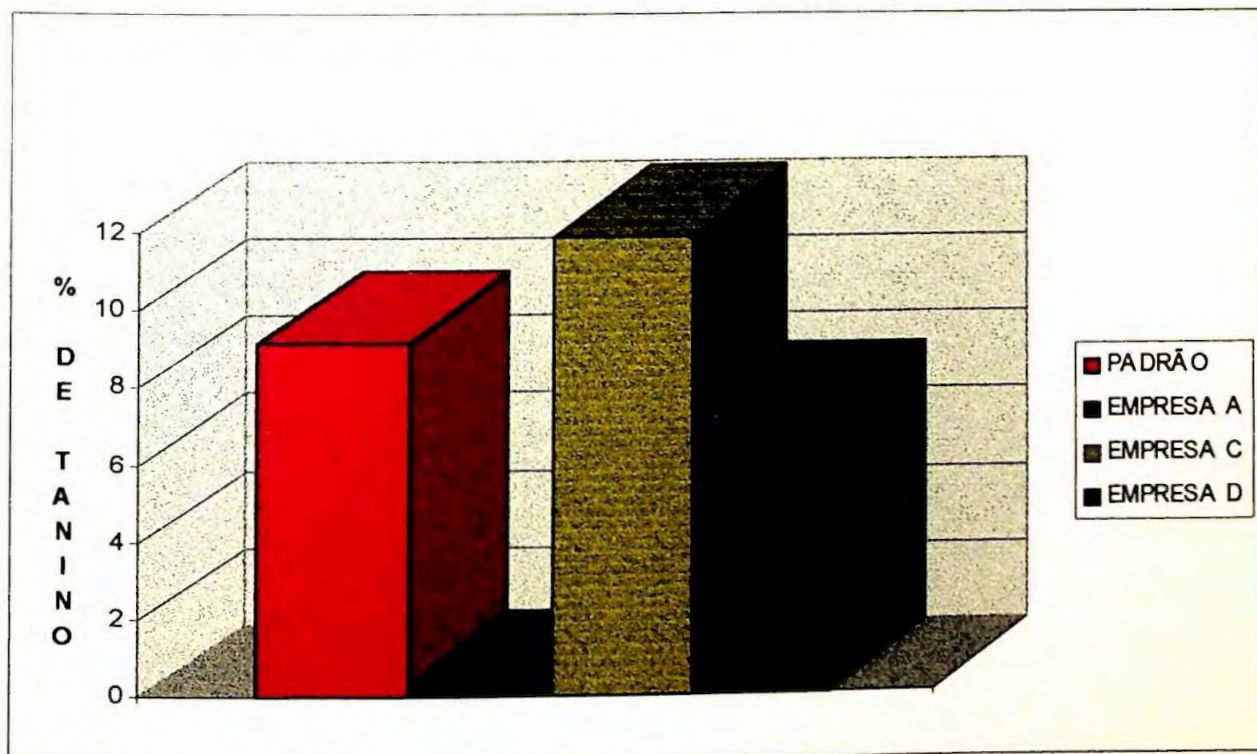


Figura 7 - TEOR DE TANINO NO EXTRATO FLUIDO DE HAMAMÉLIS

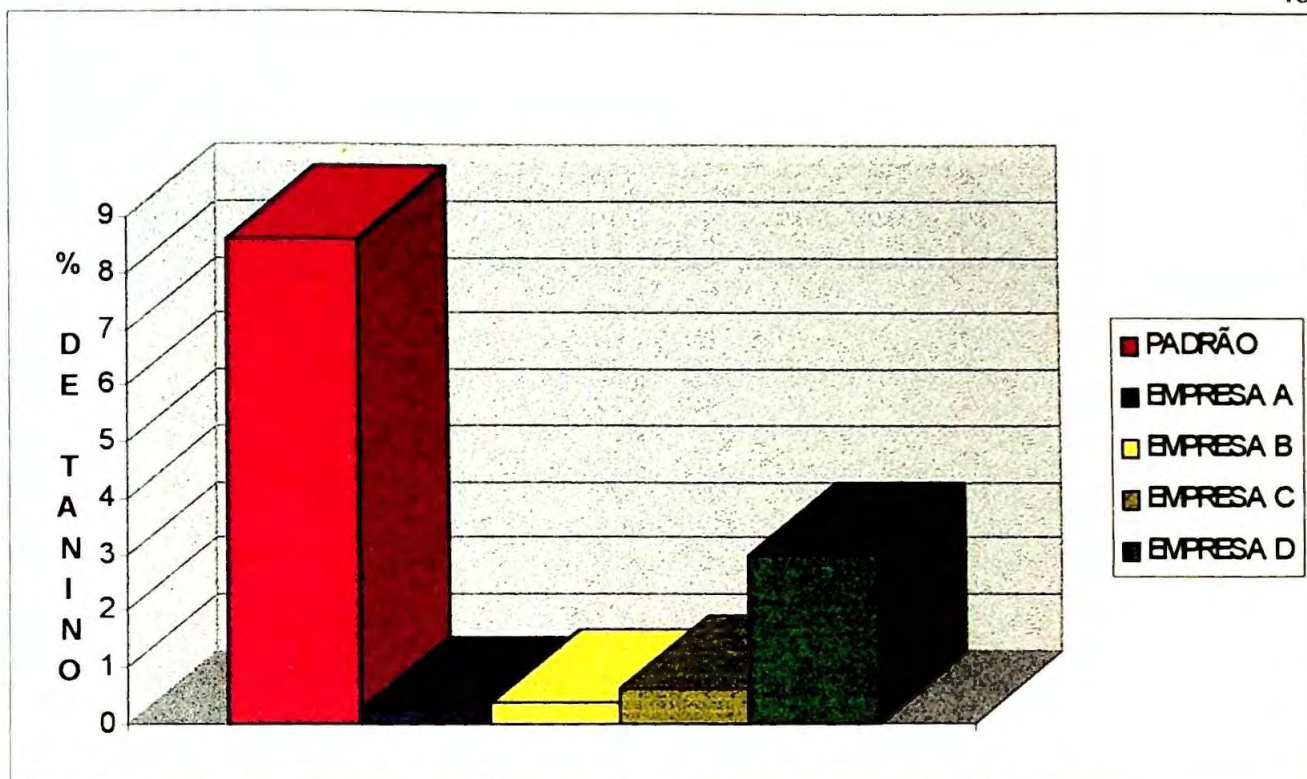


Figura 8 - TEOR DE TANINO NO EXTRATO FLUIDO DE SÁLVIA

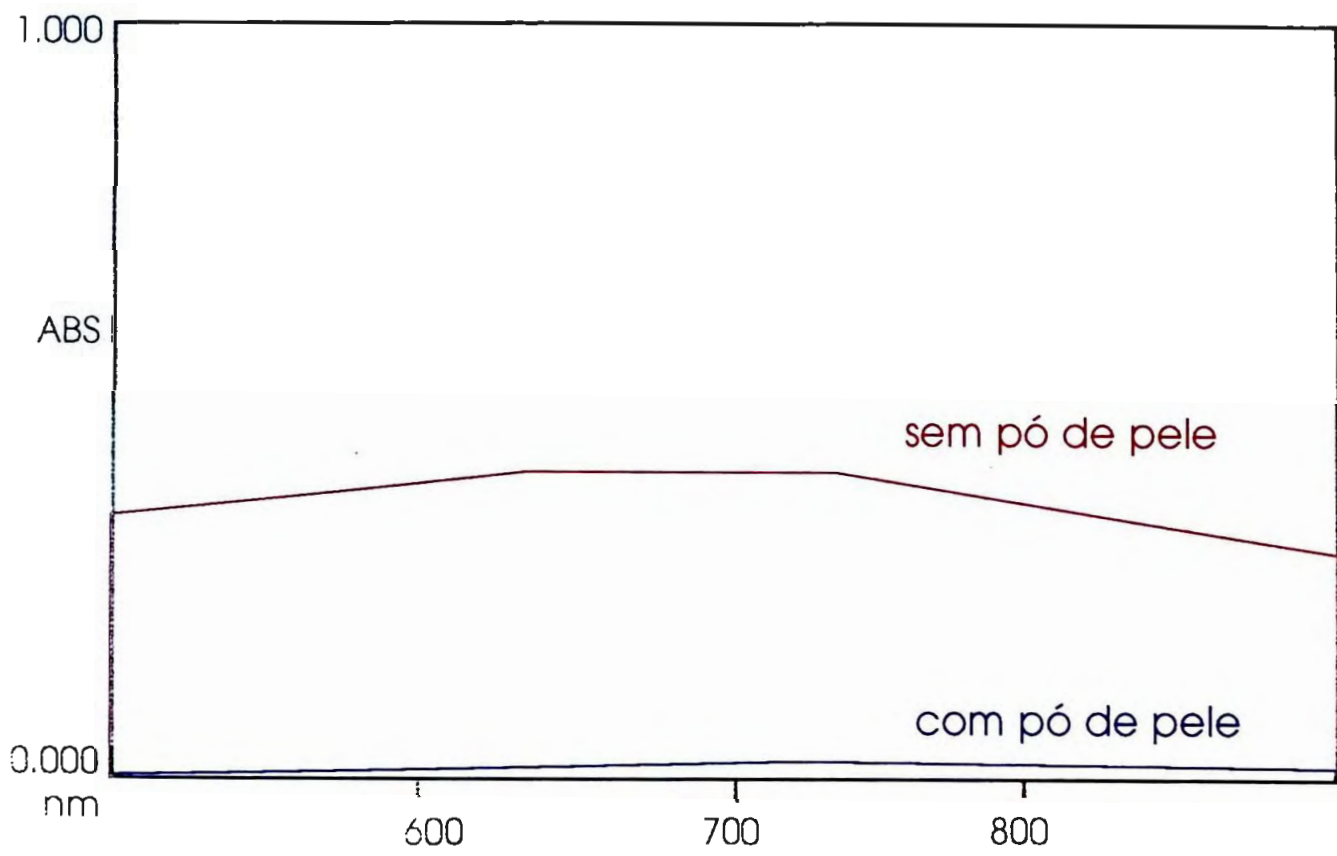


Figura 9

Espectro de absorção da reação do extrato de Barbatimão com reagente de Folin- Denis.

6.2. - Pesquisa de interferência nos veículos

6.2.1. - Solução álcool/água 2:1

Não ocorreu reação

6.2.2. - Solução glicerina 70% em água

Não ocorreu reação

6.2.3. - Glicerina pura

Não ocorreu reação

6.2.4. - Glicerina 50% em água

Não ocorreu reação

Os resultados obtidos com o pó de pele foram praticamente idênticos nos três casos em que a glicerina estava presente.

6.3. Cálculo do coeficiente de variação e limite de confiança (58, 60)

EXTRATO FLUIDO DE ALECRIM

Amostra (nº)	Concentração (x%)	Δ (x - \bar{x})	Δ^2 (x - \bar{x}) ²
1	7,14	- 0,03	0,0009
2	7,15	- 0,02	0,0004
3	7,20	0,03	0,0009
4	7,21	0,04	0,0016
Média	$\bar{x} = 7,17$	$\Sigma \Delta = 0,02$	$\Sigma \Delta^2 = 0,0038$

A variância é dada pela expressão

$$V = \frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{sendo } n = 4$$

$$V = \frac{0,0038}{3} \quad V = 0,0013$$

O desvio padrão S foi calculado :

$$S = \sqrt{V} \quad S = \sqrt{0,0013} \quad S = 0,036$$

O coeficiente de variação foi calculado por expressão:

$$CV = \frac{(100 \times S)}{\bar{x}} \quad CV = 0,50\%$$

O limite de confiança da média para 95% de confiança, foi calculado:

$$LC = \bar{X} \pm t \times S_m \quad \text{onde } t = 3,182 \text{ para 3 graus de liberdade e } S_m = S / \sqrt{n}$$

$$LC = 7,17 \pm (3,182 \times 0,018)$$

$$LC = 7,17 \pm 0,06$$

EXTRATO FLUIDO DE ALFAZEMA

Amostra (n°)	Concentração (x%)	Δ ($x - \bar{x}$)	Δ^2 ($x - \bar{x}$) ²
1	3,95	0,02	0,0004
2	3,96	0,03	0,0009
3	3,89	-0,04	0,0016
4	3,92	0,01	0,0001
Média	$\bar{x} = 3,93$	$\sum \Delta = 0$	$\sum \Delta^2 = 0,003$

A variância é dada pela expressão

$$V = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{sendo } n = 4$$

$$V = \frac{0,003}{3} \quad V = 0,001$$

O desvio padrão S foi calculado :

$$S = \sqrt{V} \quad S = \sqrt{0,001} \quad S = 0,0316$$

O coeficiente de variação foi calculado por expressão:

$$CV = \frac{(100 \times S)}{\bar{x}} \quad CV = 0,80\%$$

O limite de confiança da média para 95% de confiança, foi calculado:

$$LC = \bar{X} \pm t \times S_m \quad \text{onde } t = 3,182 \text{ para 3 graus de liberdade e } S_m = S / \sqrt{n}$$

$$LC = 3,93 \pm (3,182 \times 0,0158)$$

$$LC = 3,93 \pm 0,05$$

EXTRATO FLUIDO DE BARBATIMÃO

Amostra (nº)	Concentração (x%)	Δ (x - \bar{x})	Δ^2 (x - \bar{x}) ²
1	30,91	- 0,25	0,0625
2	31,16	0	0
3	32,30	1,14	1,2996
4	30,27	- 0,89	0,7921
Média	$\bar{x} = 31,16$	$\Sigma \Delta = 0$	$\Sigma \Delta^2 = 0,3603$

A variância é dada pela expressão

$$V = \frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{sendo } n = 4$$

$$V = \frac{0,3603}{3} \quad V = 0,1201$$

O desvio padrão S foi calculado :

$$S = \sqrt{V} \quad S = \sqrt{0,1201} \quad S = 0,3466$$

O coeficiente de variação foi calculado por expressão:

$$CV = \frac{(100 \times S)}{\bar{X}} \quad CV = 1,112 \%$$

O limite de confiança da média para 95% de confiança, foi calculado:

$$LC = \bar{X} \pm t \times S_m \quad \text{onde } t = 3,182 \text{ para } 3 \text{ graus de liberdade e } S_m = S / \sqrt{n}$$

$$LC = 31,16 \pm (3,182 \times 0,1733)$$

$$LC = 31,16 \pm 0,55$$

EXTRATO FLUIDO DE CASTANHA DA ÍNDIA

Amostra (nº)	Concentração (x %)	Δ (x - \bar{x})	Δ^2 (x - \bar{x}) ²
1	0,90	0,03	0,0009
2	0,88	- 0,01	0,0001
3	0,85	- 0,02	0,0004
4	0,84	- 0,03	0,0009
Média	$\bar{x} = 0,87$	$\Sigma \Delta = - 0,03$	$\Sigma \Delta^2 = 0,0023$

A variância é dada pela expressão

$$V = \frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{sendo } n = 4$$

$$V = \frac{0,0023}{3} \quad V = 0,00077$$

O desvio padrão S foi calculado :

$$S = \sqrt{V} \quad S = \sqrt{0,00077} \quad S = 0,0277$$

O coeficiente de variação foi calculado por expressão:

$$CV = \frac{(100 \times S)}{\bar{X}} \quad CV = 3,18 \%$$

O limite de confiança da média para 95% de confiança, foi calculado:

$$LC = \bar{X} \pm t \times S_m \quad \text{onde } t = 3,182 \text{ para } 3 \text{ graus de liberdade e } S_m = S / \sqrt{n}$$

$$LC = 0,87 \pm (3,182 \times 0,01385)$$

$$LC = 0,87 \pm 0,044$$

EXTRATO FLUIDO DE CONFREI

Amostra (nº)	Concentração (x%)	Δ (x - \bar{x})	Δ^2 (x - \bar{x}) ²
1	1,31	- 0,04	0,0016
2	1,38	0,03	0,0009
3	1,37	0,02	0,0004
4	1,34	- 0,01	0,0001
Média	$\bar{x} = 1,35$	$\Sigma \Delta = 0$	$\Sigma \Delta^2 = 0,003$

A variância é dada pela expressão

$$V = \frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{sendo } n = 4$$

$$V = \frac{0,003}{3} \quad V = 0,001$$

O desvio padrão S foi calculado :

$$S = \sqrt{V} \quad S = \sqrt{0,001} \quad S = 0,0316$$

O coeficiente de variação foi calculado por expressão:

$$CV = \frac{(100 \times S)}{\bar{X}} \quad CV = 2,34 \%$$

O limite de confiança da média para 95% de confiança, foi calculado:

$$LC = \bar{X} \pm t \times S_m \quad \text{onde } t = 3,182 \text{ para } 3 \text{ graus de liberdade e } S_m = S / \sqrt{n}$$

$$LC = 1,35 \pm (3,182 \times 0,0158)$$

$$LC = 1,35 \pm 0,05$$

EXTRATO FLUIDO DE HAMAMÉLIS

Amostra (nº)	Concentração (x%)	Δ ($x - \bar{x}$)	Δ^2 ($x - \bar{x}$) ²
1	9,26	0,11	0,0121
2	9,18	0,03	0,009
3	9,06	- 0,09	0,0081
4	9,10	- 0,05	0,0025
Média	$\bar{x} = 9,15$	$\Sigma \Delta = 0$	$\Sigma \Delta^2 = 0,0317$

A variância é dada pela expressão

$$V = \frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{sendo } n = 4$$

$$V = \frac{0,0317}{3} \quad V = 0,0105$$

O desvio padrão S foi calculado :

$$S = \sqrt{V} \quad S = \sqrt{0,0105} \quad S = 0,1024$$

O coeficiente de variação foi calculado por expressão:

$$CV = \frac{(100 \times S)}{\bar{x}} \quad CV = 1,12 \%$$

O limite de confiança da média para 95% de confiança, foi calculado:

$$LC = \bar{x} \pm t \times S_m \quad \text{onde } t = 3,182 \text{ para 3 graus de liberdade e } S_m = S / \sqrt{n}$$

$$LC = 9,15 \pm (3,182 \times 0,0512)$$

$$LC = 9,15 \pm 0,163$$

EXTRATO FLUIDO DE SÁLVIA

Amostra (n°)	Concentração (x%)	Δ (x - \bar{x})	Δ^2 (x - \bar{x}) ²
1	8,61	-0,01	0,0001
2	8,54	-0,08	0,0064
3	8,66	0,04	0,0016
4	8,67	0,05	0,0025
Média	$\bar{x} = 8,62$	$\Sigma \Delta = 0$	$\Sigma \Delta^2 = 0,0106$

A variância é dada pela expressão

$$V = \frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{sendo } n = 4$$

$$V = \frac{0,0106}{3} \quad V = 0,00353$$

O desvio padrão S foi calculado :

$$S = \sqrt{V} \quad S = \sqrt{0,00353} \quad S = 0,05944$$

O coeficiente de variação foi calculado por expressão:

$$CV = \frac{(100 \times S)}{\bar{x}} \quad CV = 0,69\%$$

O limite de confiança da média para 95% de confiança, foi calculado:

$$LC = \bar{x} \pm t \times S_m \quad \text{onde } t = 3,182 \text{ para } 3 \text{ graus de liberdade e } S_m = S / \sqrt{n}$$

$$LC = 8,62 \pm (3,182 \times 0,02972)$$

$$LC = 8,62 \pm 0,095$$

7. - DISCUSSÃO

Inicialmente sabíamos que iríamos encontrar, na execução desse trabalho, muitas dúvidas, muitos problemas, mas não imaginávamos que a maior dificuldade seria a obtenção das amostras dos extratos.

Primeiramente, encontram-se no mercado as mais diferentes concentrações dos extratos e tinturas.

O comércio é livre e visa somente a satisfação do consumidor, sem a preocupação com qualidade.

Por outro lado, algumas empresas não fabricam certos fitoterápicos, o que impossibilitou a complementação da amostragem.

Para determinação de tanino, foi utilizado o método inscrito na Farmacopéia Européia 2ª ed. e Farmacopéia Brasileira 4ª ed.(17,19). que baseia-se na precipitação de tanino por proteínas.(ver 2.2.2.2.3 método colorimétrico)

Como descrito na revisão bibliográfica, existem vários métodos para doseamento de tanino , como o método de doseamento por hemoglobina, diversas proteínas, ou com HPLC. A escolha do método utilizado deveu-se ao seu amplo emprego em pesquisa e rotina, sem esquecer o seu baixo custo-benefício. Além disso os outros citados poderiam nos trazer dificuldades na obtenção, por exemplo, de determinadas proteínas (quanto a sua qualidade) e amostras de sangue. Já o uso do HPLC limita a reprodução do método em empresas menores e que não possuem o aparelho acarretando problemas de custo.

No método espectrofotométrico utilizado, duas alíquotas dos extratos são submetidas a duas situações diferentes. No primeiro caso, ocorre a reação entre o ácido fosfotúngstico e todos os produtos redutores existentes no extrato, inclusive o tanino.

No segundo caso, adiciona-se, previamente, uma quantidade de pó de pele, que tem como finalidade reagir com o tanino e excluí-lo da reação com o ácido fosfotúngstico. Portanto, a diferença na leitura das absorbâncias, uma vez que as reações são conduzidas nas mesmas condições, será devida somente aos taninos, podendo-se, então, calcular o teor existente na amostra.

Apesar do método já ser conhecido houve a necessidade de adaptação, como no caso das diluições.

O pó de pele cromado (tratado antecipadamente com alúmen de cromo) recebeu esse tratamento com o objetivo de reduzir, ao mínimo, as substâncias solúveis da pele e assegurar a sua conservação.

O espectro de absorção da reação do extrato de barbatimão padrão com reagente de Folin Denis, mostra o comportamento do extrato antes e depois do contato com o pó de pele. A leitura da absorbância foi feita no comprimento de onda 715nm. (**Figura 9**).

De início, foi constatado que, para o sucesso da reação, a quantidade de pó de pele necessária deveria ser proporcional à quantidade de tanino existente na amostra analisada. De fato, o pó de pele, dependendo da quantidade de tanino presente no extrato, poderia ser insuficiente para precipitar todo o tanino.

Portanto, a grande dificuldade analítica foi determinar qual seria a quantidade ideal de pó de pele a ser adicionada a uma determinada tomada de ensaio do extrato.

Após várias tentativas, foi observado que o melhor procedimento foi fixar em 0,1g, conforme indica o método farmacopeico (17,19), a quantidade de pó de pele e empregar diferentes diluições dos extratos para ajustar a reação em função da concentração de tanino e de fenóis totais.

As diluições variaram de um produto para outro, em função do teor de tanino, porque houve necessidade de ajustar as reações colorimétricas. Ensaio preliminares foram conduzidos e concluiu-se que, em alguns casos, as condições experimentais previstas no método farmacopeico, caso fossem obedecidas, não permitiriam o cálculo da concentração de tanino porque as absorvâncias ficariam próximas, indicando que o pó de pele não seria suficiente para precipitar uma razoável quantidade de tanino.

Tratando-se de um método espectrofotométrico, sabe-se que no intervalo entre 20% e 65% de transmitância (0,7 e 0,2 de absorvância), o erro devido a medida experimental é o menor possível. Isso acontece porque, para altos valores de transmitância (baixos valores de absorvância), as potências radiantes incidente e transmitida são aproximadamente as mesmas.

Por outro lado, para baixos valores de T, pouca potência radiante alcança o detetor, limitando a exatidão da medida (39).

Em razão disso, todo o trabalho que utiliza espectrofotometria deverá ser adequado de tal maneira que as absorvâncias lidas estejam dentro do intervalo acima indicado. Para podermos seguir o método sugerido, foi necessário trabalhar um pouco fora do limite inferior de absorvância, de maneira que não comprometesse a validade dos resultados (**Figura 10**).

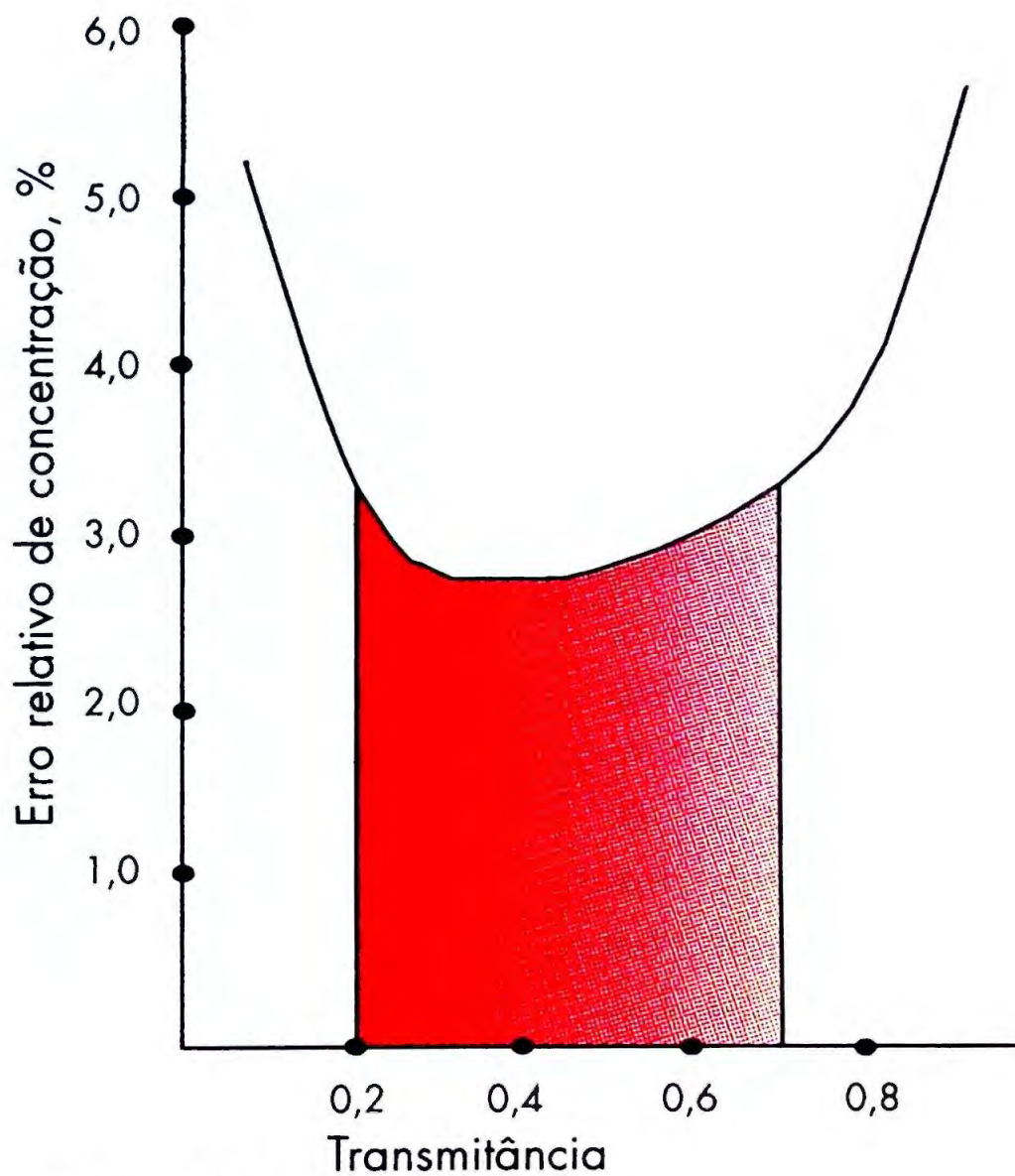


Figura 10

Transmitância	Absorbância
1,00	0
0,95	0,022
0,90	0,046
0,80	0,097
0,70	0,155
0,60	0,222
0,50	0,301
0,40	0,399
0,30	0,523
0,20	0,699
0,10	1,000
0,05	1,301

Com o objetivo de avaliar a dispersão dos resultados para cada extrato, a determinação foi repetida quatro vezes, para o cálculo da média.

Os resultados obtidos, como se pode ver nas **figuras 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8**, mostram a falta de padronização ocorrida no mercado. As análises feitas com extrato de Alecrim, mostram que empresas comercializam o mesmo extrato com até 20 vezes menos tanino que o extrato padrão.

Os extratos de Alfazema, Barbatimão e Castanha da Índia foram os mais homogêneos e, mesmo assim, apresentaram resultados até 5 vezes menor que o esperado.

Nos extrato de Confrei e Hamamélis, as empresas, exceto a empresa A, apresentaram resultados mais próximos do esperado.

Como já é conhecido, o teor de um princípio ativo numa droga vegetal pode variar em função de diversos fatores tais como: a época da colheita, a região da plantação, a temperatura, a iluminação, o ritmo das marés, a umidade atmosférica, a pluviosidade, o processo de extração, a armazenagem, entre outros fatores (4, 15).

Isso explica o porquê de uma quantidade maior de tanino no extrato de Hamamélis da empresa C, em comparação com o extrato padrão (**figura 7**). Por outro lado, os baixíssimos teores encontrados em alguns casos não poderiam ser atribuídos a esses fatores.

No caso da Sálvia, todas as empresas analisadas comercializam extratos com baixo teor de tanino, podendo-se observar variações na quantidade do mesmo, de 3 a 34 vezes menor que o teor encontrado no extrato padrão.

As plantas utilizadas para aplicação do método nem sempre possuem o tanino como princípio ativo principal e muitas vezes não são usados como marcadores para identificar a qualidade da mesma.

Dentro da diversidade encontrada cita-se o exemplo do confrei, uma planta muito conhecida e utilizada devido as propriedades da alantoína. A alfazema é outro exemplo a ser citado pelo uso dos óleos essenciais ,nesse caso, mesmo contendo a quantidade esperada de tanino, não podemos garantir suas qualidades pois os óleos essenciais (que são utilizados como P.A) são voláteis e degradam-se mais facilmente.Por essa razão é do conhecimento que se torna inviável o uso do tanino como marcador para avaliar a qualidade da mesma.Temos ainda a castanha da índia ,o alecrim e a sálvia.

Não foi por acaso que foram escolhidas as plantas constantes no estudo, pois as mesmas apresentam diversidades de concentração de tanino (0,8 - 31%) o que torna os exemplos mais evidentes, podendo, com isso, verificar a eficiência do método empregado em concentrações bem diversificadas,como se pode notar no quadro abaixo.!

Extrato em ordem decrescente de concentração de tanino % esperado	Valor teórico de tanino % encontrado nas literaturas	Teor de tanino % encontrado nos extratos de referência
Barbatimão	20 – 35	31,16
Hamamélis	8 – 10	9,15
Sálvia	8 – 10	8,62
Alfazema	5 – 12	3,93
Confrei	2 – 3	1,35
Castanha da Índia	máximo 2	0,87

As tabelas 10 e 11 mostram que os extratos das empresas C e D não são 1:1. Portanto, para se comparar com o padrão, faz-se a projeção para 100% como os demais extratos. As diluições em que se encontravam esses extratos foram fornecidas através de laudos pelas empresas respectivas.

Para observação de possíveis interferências dos veículos, a reação colorimétrica foi aplicada, nas mesmas condições já descritas para glicerina, água e álcool, com e sem adição do pó de pele. Os resultados da leitura das absorvâncias demonstraram que não houve diferença nos valores, indicando que a reação não ocorreu em nenhum dos casos e, assim, não há possibilidade de interferência desses componentes.

Na determinação da densidade, os valores encontrados para os extratos que foram preparados nas condições previstas na farmacopéia, e que constitui as amostras do presente trabalho, apresentaram-se compatíveis com os valores esperados. Entretanto, com as amostras comerciais, houve grande discrepância. É provável que não exista padronização do líquido extrator nas diferentes indústrias e, nem tão pouco, da relação concentração do droga x líquido extrator.

Para o consumidor, a má qualidade do extrato, ou seja, uma menor concentração de princípio ativo (no caso o tanino) quando aplicado em medicamento ou cosmético acarreta uma queda na eficiência no tratamento. Por tanto, há necessidade que seja obrigatória a implantação do controle da fabricação e da qualidade nos laboratórios produtores de fitoterápicos.

O Sindicato da Indústria de Produtos Farmacêuticos do Estado de São Paulo publicou um artigo em que comenta que, a publicação da portaria S.V.S. nº6, desencadeou no Brasil um processo de readequação do mercado de fitoterápico em todos os aspectos.

Grupos de empresas realizam reuniões periódicas semanais e promovem debates e cursos sobre a legislação e as formas de seu cumprimento (35).

Desta maneira, pressupõe-se que o próprio mercado preocupa-se com a normalização dessa importante atividade e, assim, haverá menor risco de desobediência às exigências técnicas e legais.

8. CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos na pesquisa, pode-se concluir que:

1. Pelo método proposto pela Farmacopéia Européia 2^a ed. e Farmacopéia Brasileira 4^a ed. é possível determinar quantitativamente o tanino também em extratos vegetais.
2. O método proposto pela Farmacopéia Européia 2^a e Farmacopéia Brasileira 4^a ed. para determinação de tanino, apresentou boa reprodutibilidade e precisão.
3. O método pode ser utilizado no controle de qualidade de fitoterápicos por ser de fácil execução e apresentar baixo custo/benefício.
4. As diluições devem ser modificadas e proporcionais à quantidade de tanino presente na amostra.
5. A determinação da densidade não pode ser utilizada para caracterização dos extratos comercializados.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA*

1. A.O.A.C. Official Methods of analysis. Tannin in Distilled liquors. Spectrophotometric Method, p.703, 1995.
2. ALZIATI, C. Alcalóides e Taninos, marcadores na evolução de angiosperma. São Paulo, 1983, p.5 [Dissertação de Mestrado- Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP]
3. BATE-SMITH, E.C. Haemamelysis of tannins. The concept of relative adstringency Phytochemistry, Oxford , v. 12, p. 907-911, 1973.
4. BLANCK, F.C., Handbook of food and agriculture. Ney York : Reinhold, 1995, p.1 – 21
5. BORNHAUSEN, R.L. As ervas do sítio. 5. ed., São Paulo: M.A.S., 1991, p. 51.

* De acordo com a NBR 6023/89 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI) 1996.

6. BRASIL Leis, Decretos, etc. Portaria S.U.S. nº 6 de 31.01.95. Dispõe sobre normas para registros de fitoterápicos no Brasil. Diário Oficial da União, Brasília, 6. fev. 1995, n.26, Seção 1, p. 1523 – 1524.
7. BRITISH herbal pharmacopoeia, Published by British Herbal Medicine Association, p.185-186, 1983.
8. BRITISH herbal pharmacopoeia, Published by British Herbal Medicine Association, Part 2, 1979 , p. 93 - 129.
9. BRITISH pharmacopoeia. London: Pharmaceutical Press, parte 1, 1973, p. 492.
10. CARLASSARE, M., Proposals for the pharmacopéia: horse chesnut alcoholic extract. Boll. Chim. Farm., Milan, v. 20, p. 738-742, 1981.
11. CASAMADA, R.S.M. - Tratado de Farmacognosia. Barcelona: editorial científico, 1977, p.388-395.
12. COIMBRA, R. Manual de fitoterapia. Belém: Cejusp,1994, p. 48.
13. CORREA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984, v. 1, p. 267-269.
14. COSTA, A.F. Farmacognosia. 2.ed. Lisboa: Fundação Caloustre Gulbenkian, 1977, p. 704-741 ; 1117.
15. DAJOZ, R. Ecologia geral, Petrópolis : editora vozes Ltda. , 1973. p. 36 – 42

16. DUKE, J.A. Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton: CRC Press, 1987, p. 464-466.
17. European pharmacopeia. 2.ed., 1984. pt.2, p. 289-2, 289-3.
18. FARMACOPÉIA brasileira. 1.ed. São Paulo : companhia editora nacional, 1926. p. 249, 350, 384 – 387, 390, 395, 407, 427.
19. FARMACOPÉIA brasileira . 4. ed. São Paulo: Atheneu,1996. pt. 2, p. 30-1 , 30-2.
20. FARMACOPÉIA portuguesa. Lisboa: Imprensa Nacional, 1946. v. 4, p. 473.
21. FONTQUER, P. Plantas medicinales: el dioscorides renovado. Barcelona: Labor,1985. p.58, 59, 161, 167 e 168.
22. FONTQUER, P. Plantas medicinales: el dioscorides renovado. Barcelona: Labor,1993. p. 446 - 653.
23. GILG, E. Farmacognosia. Materia farmacêutica vegetal e animal. Barcelona: Labor, 1926. p. 404-409.
24. HARBORNE, J. B. Phytochemical methods, 2.ed. New York: champman and hall, 1984. p. 84 – 89.
25. HASLAM, E. Chemistry of vegetable tannins. London: Academic Press, 1966. p. 1 - 13.,149-165.

26. HASLAM, E. Plant polyphenols vegetables taninis revisited. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p. 154,155 e 165.
 27. INVENTÁRIO de plantas medicinais do estado da Bahia, Salvador: SEPLAC, 1979. p.162-163.
 28. LAVABRE, M. Aromatherapy. Rochester: Healing Arts Press, 1990. p. 71, 76 - 77.
 29. LEUNG, A.Y. Encyclopédia of common natural ingredients. New York: Wiley, 1980. p. 142-323.
 30. LEWIS, W.H. Medical botany. Nova York: Wiley, 1977. p. 48.
 31. LIMA, M.A.S.P., ORTEGA, G.G., SCHENKEL E.P. Análise qualitativa e quantitativa dos presentes em **Gomidésia palustris**. Rev. Bras. Farm., Rio de Janeiro, v. 76, n.1, p.12 - 16 1995.
 32. MAGALHÃES, H.G., NETO, H.M., DUARTE DE OLIVEIRA, B.A., RAMOS DE ARAÚJO, R.,WIGG, M.D., contribution to the Knowledge of medicinal plants of Brazil centrosena. Rev. Bras. Farm., Rio de Janeiro, v.67 , p.32-47, 1986.
 33. MERCK index. 12.ed. Whitehouse Station: Merck, 1996. p.1550.
- MORAIS, N.M.T., NOGUEIRA, C.M.D., LOPES, M.F.G., VASCONCELOS, N.M.S., SÁ, M.J.H.C. Estudo inorgânico analítico de plantas medicinais. An.Assoc. Bras. Quím., Rio e Janeiro, v. 44, n.4, p.14-19, 1995.

35. MORETTO, L.D., ZERINGOTA, H.F.C., MARQUES, L.C. Contribuição do sub grupo de fitoterápicos do Sindusfarm-SP à estruturação da fitoterapia no Brasil. São Paulo: Sindicato da indústria de produtos farmacêuticos no Estado de São Paulo. 1997. p. 1-8.
36. MORGAN, R., Enciclopédia das ervas e plantas medicinais, 8. ed. São Paulo: Hemus, 1994 p.37, 39, 156.
37. MUGEDO, J.Z.A. WATERMAN, P.G. Alternatives to wattle among indigenous Kenyan Species. Econ. Bot., New York, v. 46, p.55-63, 1992.
38. NEWALL, C.A., ANDERSON, L.A., PHILLIPSON, J.D., Herbal medicines. London: the Pharmaceutical Press, 1996. p. 87,88, 166, 167, 231, 232, 270.
39. OHLWEILER. O.A Química analítica quantitativa. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1974. p. 679-681.
40. OLIVEIRA, F., AKISUE, G.M.K. Farmacognosia. São Paulo: Atheneu, 1991. p.263.
41. PENSO, G. Piante medicinale nella cosmética. Milano: organizzazione editoriale médico farmacêutico, 1980. p.72-73.
42. PHARMACOPOEIA United States of América. 23.ed. Rockville: United States Pharmacopeial, 1995. p. 2040-2041.

43. POLUNIN, M., ROBBINS, C. T. The natural pharmacy. London: Dorling Kindersley , 1992. p. 55, 59, 76, 106 - 127.
44. PORTER, L. J. Tannins. In: DEY, P.M., HARBORNE, J.B., eds. Plant phenolics. London: Academic Press, 1989, v. 1, p. 389 - 418. [Methods in Plant Biochemistry]
45. PRICE, S. Aromaterapia. Barcelona: editorial acanto, 1992. p. 56, 90, 91.
46. PRO, M.J. Report on spectrophotometric determination of tannin in wine and whiskies. J. Assoc. Off. Agric. Chem., Washington, v. 35, n. 2, p. 255 - 257, 1952.
47. RIZZINI, C.T., MORS, W.B. Botânica econômica brasileira. São Paulo: EPU; EDUSP, 1976. p.68.
48. ROBBENS, J.E., SPEEDE, M.K., TYLER, V.E. Pharmacognosy and pharmacobiotechnology. Baltimore: Willians & Wilkins, 1996. p. 1-14.
49. SALLE, L.J. Ototum em fitoterapia. São Paulo: Robe , 1996. p. 100.
50. SAVINK, I. R., MENKOVIC, N., Salvia Sclarea L. From Selvia. Arh. Farm. Belgrade, v. 31, n.1-3, p.31-36, 1981.
51. STAHL, E., SCHILD, W. Pharmazeutische biologie 4. Drogenanalyse 11. Inhaltsstoffe und Isolierungen. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1981. p.305.

52. STEINMETZ, E.T. Matéria médica vegetabilis. Amsterdam, 1954. v. 1, p. 225, 234.
53. STEINMETZ, E.T. Matéria médica vegetabilis. Amsterdam, 1954. v. 2, p. 387, 397.
54. STOJAKOVIC, L.K., SMIT, Z., PETRICIC, J. Gravimetric estimation of taninis in Salvia and Melissa. Farm. Vestn., Ljubljana, v. 40, p. 113-116, 1989.
55. TRENTINI, A. M. M., TESKE, M. Herbarium . Curitiba: herbarium laboratório botânico, 1995. p. 12 – 14, 22 – 24, 92 – 94, 112, 113, 169 – 171, 251 – 253.
56. TYLER, V.E., BRADY, L.R., ROBBERS, J.E. Pharmacognosy. 9.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988. p.518.
57. VENNAT, B., GROSS, D., POURRAT, H., Hamamelis virginiana: identification and assay of proanthocyanidins phenolic acids and flavonoids in leaf extracts. Pharm.Acta Helv., Zurich, v.67, n.1, p.11-14, 1992.
58. WILSON, A .L. The performance characteristics off analytical methods I. London, v.17, 1970. p. 21 – 29 .
59. WORWOOD, S.Aromaterapia. São Paulo: Best Seller, 1995. p. 187-188.
60. ZAR, H. J. Biostatistical analysis, 3 ed. New Jersey: Prentice hall, 1996. p. 100 – 102 , 662 (app 18 e 19).

RESUMO

No dia 06/02/95 foi publicada uma portaria que normatiza e institui o registro de produtos fitoterápicos, junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. Em razão disto, o trabalho adaptou o método de doseamento de tanino, um marcador encontrado largamente no reino vegetal.

Os extratos elaborados para o estudo foram os de Alfazema, Alecrim, Barbatimão, Castanha da Índia, Confrei, Hamamélis e Sálvia por possuírem teores variados de tanino.

No método espectrofotométrico utilizado (inscrito na F.B. 4ª ed. e F.Européia 2ª ed.) a reação colorimétrica deve-se a redução do ácido fosfotúngstico pelas hidroxilas fenólicas formando um composto de cor azul.

Os extratos produzidos foram comparados com extratos do mercado obtendo-se resultados não muito proporcionais.

SUMMARY

On February 6th 1995 was published a decree establishing the rules for the registration of Herbal Medicines in the Sanitary Vigilance. According to this new regulation, this research adapted the tannin dosing method as parameter. Tannin is a substance largely found in the plant kingdom.

The extracts used for this study were *Aesculus hippocastanum* L., *Lavandula officinalis* Chaich syn, *Hamamelis virginiana* L, *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L., *Stryphnodendron barbatiman* Mimosa barbatiman Vell., *Symphytum officinalis* L. for possessing different quantities of tannin.

In the spectroscopy method utilized (inscribed on the 4th edition of the Brazilian Pharmacopoeia and on 2nd edition of the British Pharmacopoeia) the colorimetric reaction is due to the fosfotungstic acid redudtion by fenolic hydroxyl making a composed of blue color.

The produced extracts, were compared with the trade market extracts, which results were not quite proportional.