



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

TESE

**PROCESSAMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA
OBTENÇÃO DE EXTRATOS SECOS E LÍQUIDOS**

DOCTORANDA: Clésia Oliveira Pachú

ORIENTADORES:

Prof^a Dr^a Odelsia Leonor Sánchez de Alsina

Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva

Campina Grande – Paraíba

Junho/2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

TESE

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande como parte dos requisitos necessários para obtenção do Grau de Doutora em Engenharia de Processos.

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos

**PROCESSAMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA
OBTENÇÃO DE EXTRATOS SECOS E LÍQUIDOS**

DOUTORANDA: Clésia Oliveira Pachú

ORIENTADORES:

Prof^a Dr^a Odelsia Leonor Sánchez de Alsina
Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva

Campina Grande – Paraíba

Junho/2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

P116p

2009 Pachú, Clésia Oliveira.

Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos / Clésia Oliveira Pachú. — Campina Grande, 2007.
102 f. : il.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia.

Referências.

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Odélsia Leonor Sánchez de Alsina, Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva.

1. Plantas Mediciniais. 2. Secagem. 3. Flavonóides. I. Título

CDU – 633.88(043)

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado em Engenharia de Processos, defendida por Clésia Oliveira Pachú e aprovada pela banca examinadora em 15 de junho de 2007.

Prof^a Dra. Odelsia Leonor Sánchez de Alsina (Orientadora)
UFCG/CCT/UAEQ

Dr. Osvaldo Soares da Silva (Orientador)
UFCG/CCT/UAEQ/Pesquisador PRODOC

TESE

PROCESSAMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS SECOS E LÍQUIDOS

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Odelsia Leonor Sánchez de Alsina
Orientadora (UAEQ/UFCG)

Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva
Orientador (UAEQ/UFCG/PRODOC)

Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Dantas de Medeiros
Examinador Externo (DEQ/UFRN)

Prof. Dr. Wanderley Pereira Oliveira
Examinador Externo (FCFRP/USP)

Prof. Dr. Marcello Maia de Almeida
Examinador Externo (DQ/UEPB)

Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva
Examinador Interno (UAEQ/UFCG)

15 de junho de 2007

“...E ainda se vier noite traiçoeira

se a cruz pesada for

Cristo estará contigo

o mundo pode até

fazer você chorar

mas Deus te quer

sorrindo.....”

Pe Marcelo Rossi

A **DEUS**... é Dele a vitória alcançada em minha vida... Tudo é do Pai.....

A meu pai, Anchieta Pachú (in memoriam), que soube conduzir-me no caminho do bem, sem olhar a quem. Ensinou-me a ver no estudo uma fonte de enriquecimento espiritual e fortalecimento pessoal. Valeu papai.

A minha mãe, Maria José, brava guerreira, que suportou sozinha, a responsabilidade da minha criação desde a adolescência. Obrigada mamãe.

A tio Waldemiro pelo estímulo e carinho constantes.

Aos meus irmãos, Cacilda, Anchieta Filho, Kátia, Cláudia e Simone pela confiança na minha jornada acadêmica.

A Renato Florêncio, fonte de compreensão, companheirismo, dedicação e amizade. Amo você.

As minhas filhas, Larise, Renata e Beatriz, que mesmo pequeninas “entendiam” a responsabilidade assumida por sua mãe e respeitaram pacientemente minha ausência. Adooooooooooooo vocês. Presentes de Deus. Razão da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Prof^a Dr^a Odelsia Leonor Sánchez de Alsina pela competência, dedicação e companhia durante o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada mame.

Ao Dr. Osvaldo Silva Soares pela orientação e discussões enriquecedoras.

A Prof^a Dr. Maria de Fátima Dantas de Medeiros pela iniciação, sugestões e presença marcante na finalização desse estudo.

Aos Professores Doutores Wanderley Oliveira, Marcello Maia, Flávio Honorato, Josilene Cavalcante, Nagel e Vimário Simões pela disposição e competentes colocações quando das arguições.

A Enivaldo Barbosa pela compreensão, companhia e paciência nas horas “quentes” desse trabalho.

Aos funcionários do Laboratório Nogueira, Lopes e Cajá “ os três mosqueteiros”, que não se furtaram em resolver problemas técnicos no decorrer desse estudo.

A Everaldo Monteiro pelo desenvolvimento de esquemas do leito de jorro.

Aos colegas de doutorado, em especial, a Ana Paula e Renato Aragão pela oportunidade de compartilhar, um pouco, de seus conhecimentos.

As companheiras de laboratório Joelma, Sharline, Mércia, Eva, Morgana, Shirley e Karinne por proporcionarem ajuda acadêmica e momentos de descontração laboratorial.

Ao LTF, em especial, a Prof^a Margareth, ao agrônomo Fernando e ao técnico Nonato pela receptividade na coleta e aquisição da milona e, D. Vera pela hortelã que deixou coletar.

A UEPB pela liberação, a UFCG, BNB e SEBRAE/PB pelo apoio financeiro ao projeto.

Aqueles cuja mente me fazem cometer lapso memorial. Perdão. Muitíssimo obrigada.

RESUMO

Neste trabalho, estudou-se o processamento de plantas medicinais, hortelã (*Menta x villosa* Hudson) e milona (*Cissampelos sympodialis* EICHL), para obtenção de extratos secos e líquidos, mediante a secagem convectiva.

No Nordeste Brasileiro, a hortelã é amplamente usada na medicina popular como estomáquico, ansiolítico, contra cólicas menstruais e diarreicas. São também utilizadas no tratamento de afecções parasitárias como a amebíase, giardíase e tricomoniase. Já, a planta *Cissampelos sympodialis* EICHL conhecida popularmente como milona, jarrinha e orelha de onça, cresce abundantemente em locais úmidos da região Nordeste, sendo considerada uma espécie endêmica do Brasil. Do ponto de vista terapêutico, as folhas são utilizadas no tratamento da hipertensão, asma, bronquite, entre outras doenças inflamatórias. No presente trabalho foram investigadas as isotermas de desorção utilizando o equipamento Novasina e a cinética de secagem das folhas frescas de hortelã e milona, bem como, a quantificação de flavonóides, antes e depois do processamento, na expectativa do desenvolvimento de produtos fitoterápicos. As formas farmacêuticas sólidas são adequadas para armazenagem e conservação de princípios ativos. Entretanto, poucos dados são encontrados na literatura incluindo efeitos de temperatura e teor de umidade nas propriedades físicas desses materiais. Nesse trabalho estudou-se as isotermas de desorção, nas temperaturas de 30, 40 e 50 °C, ajustadas pelo modelo de GAB, tendo demonstrado bom ajuste. Analisou-se a influência da temperatura e tempo de secagem e tipo de folha sobre o percentual de flavonóides, teor de umidade e rendimento de sólidos extraíveis das folhas frescas de hortelã e milona durante a secagem convectiva em camada fina num secador convectivo com velocidade do ar de 1,5 m/s e temperaturas de 40, 50 e 60 °C. As curvas da cinética de secagem foram ajustadas pelo modelo de Fick, considerando cinco termos da série, com um bom ajuste do modelo aos dados experimentais. Mediante planejamento experimental, utilizando uma matriz 2^3 com duplicatas e, duas $2^2 + 3$ repetições no ponto central, foi analisado o efeito das variáveis de secagem sobre o rendimento dos sólidos extraíveis no extrato líquido e sobre a percentagem de flavonóides. Os resultados demonstraram que a secagem convectiva das folhas de hortelã e milona é uma técnica viável para futura conservação do produto visando sua utilização no processamento dos fitofármacos, bem como para melhorar a extração dos princípios ativos.

Palavras-chave: Plantas Mediciniais. Secagem. Flavonóides.

ABSTRACT

In this study, the processing of the medicinal plants of mint (*Menta x villosa* Hudson) and milona (*Cissampelos sympodialis* EICHL) was researched for the obtaining of dry and liquid extracts, by means of convective drying.

In the Northeast of Brazil, mint is largely used in folk remedies for stomach problems, anxiety, menstrual and diarrhea cramps. It is also used in the treatment of parasites, such as amoeba, giardia and trichomonas. The *Cissampelos sympodialis* EICHL plant, known popularly as milona, grows abundantly in humid areas of the Northeast, being considered an endemic species of Brazil. From the therapeutic point of view, the leaves are used in the treatment of hypertension, asthma, bronchitis, among other inflammatory diseases. Desorption isotherms were investigated in the study, using Novasina equipment and the drying kinetics of the fresh mint and milona leaves, as well as the quantification of flavonoids, before and after the processing, in the expectancy of the development of plant therapy products. The solid pharmaceutical forms are adequate for storage and conservation of active ingredients. However, few data are found in literature which include temperature and moisture content effects in the physical properties of these materials. In this research, desorption isotherms were studied at temperatures 30, 40 and 50 °C, adjusted by the GAD model, having demonstrated a good adjustment. The influence of temperature and drying time and type of leaf over the percentage of flavonoids, moisture content, and the content of the solids extracted from the fresh mint and milona leaves during convective drying in thin layers on a convective dryer at 1,5 m/s of air velocity and temperatures of 40, 50 and 60 °C were analyzed. The curves of the drying kinetics were adjusted by the model of Fick, considering five terms of the series, with a good adjustment of the model to the experimental data. By means of experimental planning, using a 2^3 matrix with duplicates and two $2^2 + 3$ repetitions at the central point, the effect of the drying variables over the yielding of the extractible solids on the liquid extract and over the percentage of flavonoids was analyzed. The results demonstrate that convective drying of mint and milona leaves is a viable technique for future conservation of the product, aiming at its utilization in the processing of plant medicines, as well as in the improvement of the extraction of active ingredients.

Key words: Medicinal Plants. Drying. Flavonoids.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
------------------	------

LISTA DE TABELAS	x
------------------	---

CAPÍTULO I

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	Objetivo Geral	3
1.2.	Objetivos Específicos	3
1.3.	Justificativa	4

CAPÍTULO II

2.	REVISAO BIBLIOGRAFICA	5
2.1.	Plantas Medicinais	5
2.1.1.	Considerações Gerais sobre Fitoterapia	8
2.1.2.	Legislação para Fitoterápicos	11
2.1.3.	Controle de Qualidade de Medicamentos Fitoterápicos	14
2.1.4.	Padronização Biológica de Extratos de Plantas Medicinais	15
2.2.	Processo de Secagem	16
2.3.	Características da Hortelã e da Milona	18
2.3.1	Aspectos da <i>Mentha x vilosa</i> Hudson –Hortelã	18
2.3.2.	Aspectos da <i>Cissampelos sympodialis</i> EICHL – Milona	19
2.4	Secagem	20
2.4.1.	Atividade de água	20
2.4.2.	Cinética de Secagem	22
2.4.3.	Secagem das folhas	25
2.5.	Técnicas de Extração de Princípios Ativos em Plantas	26
2.5.1.	Maceração	27
2.5.2.	Percolação	28
2.5.3.	Decocção	28
2.5.4.	Infusão	28
2.5.5.	Extração contínua de plantas usando o extrator de Soxhlet	29
2.5.6.	Extração por arraste com vapor d'água	29
2.5.7.	Capacetes de pressão	30
2.5.8.	Extração com ondas ultrassônicas	30
2.5.9.	Extração com microondas	30
2.5.10.	Extração com fluídos supercríticos	31
2.6.	Aspectos Gerais Sobre Flavonóides	31
2.7.	Técnicas Empregadas na Caracterização e Identificação de Flavonóides	33
2.7.1.	Espectrofotometria no Ultravioleta Visível	34
2.7.2.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	36
2.7.3.	Espectrometria de massas	36

CAPÍTULO III

3.	MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1	Matéria-Prima	40
3.1.1	As Plantas	40
3.2	Secagem das Folhas	40
3.2.1	Determinação das isothermas de equilíbrio higroscópico	41
3.2.1.1.	Descrição do Thermoconstanter Novasina (TH-200)	41
3.2.2	Cinética de Secagem	42
3.2.2.1	Descrição do Secador Convectivo	42
3.2.2.2	Câmara de Secagem	43
3.2.2.2.1	Procedimento	44
3.3	Maceração	44
3.4	Obtenção do extrato bruto	44
3.5	Ensaio Preliminares	45
3.6	Caracterização Físico-Química do Material Obtido	45
3.6.1	Caracterização Física	45
3.6.2	Caracterização Química – Análise do Teor de Flavonóides	46
3.7.	Planejamento Experimental Fatorial	48

CAPÍTULO IV

4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1	Secagem das Folhas	52
4.1.1	Isotermas de equilíbrio higroscópico das folhas	52
4.1.2	Cinética de Secagem das Folhas em Camada Delgada	57
4.2	Resultados de estudos preliminares de secagem	64
4.3	Efeitos da secagem convectiva das folhas sobre a extração e teor de flavonóides	67
4.3.1	Análise dos efeitos conjuntos para ambas as folhas	70
4.3.2	Resultados do planejamento Fatorial – $2^2 + 2$ pontos centrais	74
4.3.2.1	Resultados do planejamento para hortelã	75
4.3.2.2	Resultados do planejamento Fatorial – $2^2 + 2$ pontos centrais para milona	85

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSÕES	92
----	------------	----

CAPÍTULO VI

6.	Sugestões para trabalhos futuros	94
----	----------------------------------	----

CAPÍTULO VII

7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
----	----------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Folhas da <i>Mentha x vilosa</i> Hudson	18
Figura 2.2	Folhas frescas de <i>Cissampelos sympodialis</i> EICHL	19
Figura 2.3	Percolador	28
Figura 2.4	Estruturas básicas dos flavonóides	33
Figura 2.5	Formação de complexos entre cloreto de alumínio e <i>o</i> -diidroxilas	36
Figura 2.6	Estrutura geral dos flavonóides	37
Figura 3.1	Processamento das folhas para realização dos experimentos	39
Figura 3.2	Termoconstanter Novasina TH 2000.	42
Figura 3.3	Diagrama esquemático do equipamento utilizado na secagem das folhas em camada fina.	43
Figura 3.4	Gráfico da curva padrão no refratômetro	45
Figura 3.5	Gráfico da curva padrão	47
Figura 4.1	Isoterma de desorção de folhas hortelã a 30 °C	53
Figura 4.2	Isotermas de desorção das folhas de hortelã a 40 °C	53
Figura 4.3	Isotermas de desorção das folhas de hortelã a 50 °C	54
Figura 4.4	Isoterma de desorção de folhas milona a 30 °C	54
Figura 4.5	Isotermas de desorção das folhas de milona a 40 °C	55
Figura 4.6	Isotermas de desorção das folhas de milona a 50 °C	55
Figura 4.7	Curva de secagem para hortelã 40°C	58
Figura 4.8	Curva de secagem para hortelã 50°C	58
Figura 4.9	Curva de secagem para menta a 60 °C	59
Figura 4.10	Curvas de secagem para menta a 70 °C	60
Figura 4.11	Curva de secagem de folhas frescas de Milona a 40° C	60
Figura 4.12	Curva de secagem de folhas frescas de Milona a 50 ° C	61
Figura 4.13	Curva de secagem de folhas frescas de Milona a 60 ° C	61
Figura 4.14	Variação do Coeficiente de difusão efetivo com a temperatura na secagem de folhas de hortelã	62
Figura 4.15	Dependência do Coeficiente de Difusão com a Temperatura na secagem das folhas de milona.	63
Figura 4.16	Concentração de flavonóides em folhas de milona durante a secagem em estufa a 40 °C	65
Figura 4.17	Teor de flavonóides em base seca das folhas de milona durante a secagem em estufa a 40 °C em função do tempo	65
Figura 4.18	Teor de Flavonóides Totais no Extrato seco das folhas de milona processadas em estufa a 40 °C.	66
Figura 4.19	Teor de Flavonóides Totais no Extrato líquido obtido a partir das folhas de milona processados em estufa a 40° C em função do tempo de processamento das folhas.	67
Figura 4.20	Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis de secagem para % de flavonóides, em relação a hortelã.	76
Figura 4. 21	Valores observados em função dos valores preditos – Flavonóides	77

Figura 4.22	Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de flavonóides na base seca para hortelã.	78
Figura 4.23	Gráfico de Pareto dos efeitos do planejamento para umidade, em relação a hortelã	79
Figura 4.24	Valores observados em função dos valores preditos - umidade	81
Figura 4.25	Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de umidade na base seca.	82
Figura 4.26	Gráfico de Pareto dos efeitos do planejamento para rendimento, em relação a hortelã	83
Figura 4.27	Valores observados em função dos valores preditos - rendimento	84
Figura 4.28	Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o rendimento na base seca	85
Figura 4.29	Valores observados versus valores preditos	87
Figura 4.30	Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de flavonóides na base seca	87
Figura 4.31	Valores observados versus valores preditos - umidade	89
Figura 4.32	Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de umidade na base seca	89
Figura 4.33	Valores observados versus valores preditos - rendimento	91
Figura 4.34	Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de rendimento na base seca	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Faixas de absorção de alguns tipos de flavonóides	34
Tabela 3.1	Definição dos Níveis das variáveis de entrada	48
Tabela 3.2	Matriz Experimental	49
Tabela 3.3	Valores codificados da matriz $2^3 \times 2$	51
Tabela 4.1	Parâmetros da Equação de GAB (hortelã)	56
Tabela 4.2	Parâmetros da Equação de GAB (milona)	56
Tabela 4.3	Ajuste pela equação de Fick para a cinética de secagem de folhas de hortelã	62
Tabela 4.4	Ajuste pela equação de Fick para a cinética de secagem de folhas de milona	62
Tabela 4.5	Resultado do Planejamento fatorial $2^2 + 3$ pontos centrais, com realização de duplicatas e dois pontos da amostra <i>in natura</i>	68
Tabela 4.6	Valores codificados e valores reais das variáveis independentes e resposta -	71
Tabela 4.7	Análise dos efeitos sobre o percentual de flavonóides	71
Tabela 4.8	Análise de variância para teor de flavonóides	72
Tabela 4.9	Estimativa dos efeitos para a umidade	72
Tabela 4.10	Análise de variância para umidade	73
Tabela 4.11	Estimativa dos efeitos para o rendimento	73
Tabela 4.12	Análise de variância para o rendimento	74
Tabela 4.13	Planejamento Fatorial $2^2 + 2$ pontos centrais para hortelã	75
Tabela 4.14	Estimativa de valores para Flavonóides em Hortelã	75
Tabela 4.15	ANOVA para flavonóides em hortelã	77
Tabela 4.16	Estimativa de valores para umidade em hortelã	79
Tabela 4.17	Análise de variância para umidade em hortelã	80
Tabela 4.18	Estimativa de valores para rendimento em hortelã	82
Tabela 4.19	Análise de variância para rendimento em hortelã	84
Tabela 4.20	Matriz decodificada para milona	85
Tabela 4.21	Estimativa de valores para Flavonóides em milona	86
Tabela 4.22	Análise de variância para Flavonóides em milona	86
Tabela 4.23	Estimativa de valores para umidade em milona	88
Tabela 4.24	Análise de variância para umidade em milona	88
Tabela 4.25	Estimativa de valores para rendimento em milona	90
Tabela 4.26	Análise de variância para rendimento em milona	90

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O produto fitoterápico é todo medicamento tecnicamente elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário (BRASIL, 2000).

Fitoterápicos são produzidos de plantas frescas ou secas, ou parte das plantas por destilação, percolação, maceração e outras operações. Caracteristicamente, os constituintes ativos são obtidos juntos com outras substâncias presentes na planta. Algumas vezes estas substâncias atuam sinergicamente melhorando a atividade biológica. Para manter a qualidade em um fitoterápico, antes é necessário assegurar a co-existência destas substâncias, ou grupos químicos, presentes na espécie visto que as substâncias responsáveis pela atividade biológica ainda são desconhecidas para muitas espécies de plantas medicinais. Uma qualidade consistente do fitoterápico pode ser alcançada se todas as etapas de processamento da matéria-prima ativa vegetal e manufatura do produto final conservar o constituinte ativo e as substâncias sinérgicas (SCHIMIDT *et al.*, 1993).

Existem duas alternativas para obtenção da matéria-prima ativa vegetal: a coleta das fontes nativas e a cultivada. Por várias razões, o cultivo de plantas medicinais será, no futuro, a principal fonte de matéria-prima vegetal, algumas das razões são: 1) o fato que muitas das substâncias de origem natural não podem ser sintetizadas, ou podem ser sintetizadas somente com grande esforço, necessitando do cultivo da matéria-prima vegetal; 2) a incerteza no fornecimento da matéria-prima ativa vegetal, quando esta é obtida de fontes nativas, mostra a necessidade de cultivo. A quantidade disponível está distribuída em pequenas áreas dispersas, necessitando de “mateiros” que conheçam bem as plantas para poder coletá-las. Todos estes fatores levam a ocorrência de erros na identificação e adulteração da matéria-prima ativa vegetal. 3) o aumento da exigência em relação a um controle maior de pureza das matérias-primas ativas vegetais e na qualidade de fitoterápico. A composição heterogênea das matérias-primas ativas vegetais nativas obtidas em pequena quantidade não permite reprodutibilidade em sua qualidade.

O trabalho com plantas medicinais inicia-se na identificação correta da espécie, coleta adequada, pré-tratamento e armazenamento corretos e termina com a preparação e utilização terapêutica, que também devem ser adequados para que os resultados sejam satisfatórios. Qualquer erro em algum elo desta cadeia vai comprometer o resultado final do processo. Por exemplo, uma espécie identificada erradamente, pode resultar em medicamento fitoterápico inócuo ou até numa intoxicação por planta venenosa; o cultivo em solo ou clima inadequado, o uso de pesticidas, etc. geram uma planta com pouco princípio ativo, o mesmo ocorrendo se a colheita não for na época e de forma adequadas; erros no armazenamento podem comprometer os princípios ativos ou causar contaminação por fungos e produzir intoxicação no paciente. Por fim, a utilização errônea das plantas ou o emprego de técnicas inadequadas de preparação prejudicam os resultados finais ou causam efeitos colaterais.

A fitoterapia esteve, por longo período, sob o domínio popular onde o conhecimento empírico do valor medicinal das plantas prestou um serviço inestimável (MENDONÇA, 1989).

Um conhecimento cada vez mais aprofundado sobre as plantas medicinais desenvolvido através de estudos integrados das áreas de botânica, química, farmacologia, biologia molecular e outras ciências afins se faz necessário (SANTOS, 2002). Isto parece vital para dar suporte a maior longevidade ao uso do potencial florístico ainda existente no planeta. A exploração deve ser racional e sustentada, ainda que o objetivo maior seja a preservação da saúde e da vida humana através da prevenção, controle ou cura das diferentes moléstias que afetam e afligem as populações. Não se pode omitir a necessidade urgente do estabelecimento de uma política multidisciplinar que, de fato, buscando o aprimoramento do emprego das plantas medicinais, melhorem a eficiência na produção e a eficácia na aplicação de fitoterápicos.

As indústrias farmacêuticas têm um especial interesse pelos extratos secos, pois as formas farmacêuticas sólidas apresentam precisão de dosagem e facilidade de manuseio, transporte e armazenagem, além das formas farmacêuticas secas apresentarem maiores estabilidade química, física e microbiológica.

Existem na literatura muitos estudos publicados sobre a produção de extratos secos de plantas medicinais (TEIXEIRA, 1996; SENNA *et al*, 1997; SOUZA, 2003). A maioria destes trabalhos foram desenvolvidos em um processo dito Spray-Dryer.

Entretanto, esse processo apresenta um alto custo, tanto dos equipamentos quanto operacional, o que pode encarecer o produto final obtido. O crescente interesse no estudo da formulação de extratos secos deve-se em parte a questões econômicas relativas ao baixo preço de comercialização dos medicamentos naturais, principalmente frente aos fármacos sintéticos produzidos nos grandes laboratórios multinacionais, o que os torna mais acessíveis à população de baixa renda. No caso da região Nordeste os benefícios sócio-econômicos tanto para população em geral como para os produtores de fitoterápicos são evidentes. Resultados bastante satisfatórios foram encontrados em alguns trabalhos sobre secagem de extratos vegetais, RÉ e FREIRE (1988); PASSOS e MUJUMDAR (1989); RUNHA *et al*, (2001); SOUZA (2003); CORDEIRO e OLIVEIRA (2005), o que estimula a dar continuidade e aprofundar esses estudos.

No Capítulo II, foi realizada uma revisão da literatura sobre o estudo de plantas medicinais, processo de secagem e princípios ativos, em especial, flavonóides. No Capítulo III, Materiais e Métodos, foi descrita a parte experimental da pesquisa. O Capítulo IV, referênciam dados relativos às equações e resultados experimentais, para obtenção dos parâmetros dinâmicos, bem como um estudo das variáveis que influenciam as curvas de secagem e nas conseqüências sobre a extração e porcentagem de flavonóides. No Capítulo V foram apresentadas as conclusões e finalmente no Capítulo VI as perspectivas do trabalho.

1.1 . Objetivo Geral

Com base no exposto, o presente trabalho tem como objetivo geral ampliar os estudos sobre processamento de folhas frescas de plantas medicinais da região Nordeste visando a obtenção de extratos para sua aplicação na indústria farmacêutica.

1.2 .Objetivos Específicos

Pretende-se especificamente ampliar os estudos relativos à secagem de folhas frescas de plantas medicinais da região Nordeste e melhorar a condição de obtenção de extratos para melhoramento na preservação dos princípios ativos, visando uma maior eficiência sem comprometimento da qualidade do produto. Foram escolhidas as plantas

hortelã e milona em virtude da sua utilização pela população como fonte de princípios ativos com potencial profilático e curativo, já cientificamente comprovado, bem como, as diferenças de componentes o que torna possível o estudo comparativo das duas espécies. Para tanto, faz-se necessário a otimização do processo para manutenção dos princípios ativos e conseqüente melhoramento da qualidade do produto fitoterápico. Para tanto, serão estudados os seguintes aspectos:

- Equilíbrio higroscópico das folhas *in natura* ;
- Cinética de secagem em camada delgada no secador convectivo através das curvas obtidas para diferentes temperaturas;
- Efeito das condições de secagem sobre a extração de flavonóides;
- Estudo do rendimento do processo em termos de sólidos solúveis;
- Estudo comparativo entre o comportamento das duas espécies de plantas medicinais;
- Otimização das condições do processo de secagem para manutenção de princípios ativos.

1.3 . Justificativa

A realização deste estudo é justificada tanto pelos aspectos técnico-científicos como econômicos e sociais. O baixo custo de aquisição, instalação e a facilidade de operação do secador convectivo tornam compreensível a preocupação de se buscar esclarecimentos sobre sua utilização na secagem de folhas de plantas medicinais, na tentativa de evidenciar interações e utilização racional das fontes naturais da região, na produção de medicamentos de qualidade e preço acessível.

CAPÍTULO II

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Plantas Medicinais

Desde os tempos pré-históricos o homem tem utilizado parte da flora como fonte de necessidades básicas como alimentação, cura de doenças, moradia, proteção e transporte. Os antigos egípcios, por exemplo, usavam o óleo de cedro para conservação de cadáveres. As mulheres da idade média utilizaram *Atropa belladonna* para tornarem seus olhos mais vislumbrantes (PACHÚ, 1994).

Os produtos da flora brasileira têm despertado curiosidade e interesse econômico científico desde a época da colonização do Novo Mundo. Esta riqueza nacional é revelada, principalmente na flora amazônica, onde são encontradas plantas com propriedades tintoriais, odoríferas, estimulantes, condimentosas, alucinogênicas, resinosas balsâmicas, e ainda plantas utilizadas pelos índios na caça e na pesca, enquanto outras fornecem madeiras úteis para vários fins, portanto, sujeitas a exploração (PACHÚ, 1994).

O uso de plantas medicinais foi talvez uma das primeiras manifestações da humanidade em relação à busca de meios que pudessem aliviar suas dores e enfermidades. Desde os tempos pré-históricos, o homem emprega preparações derivadas de plantas e, embora a crença na origem divina das doenças possa ter adiado um pouco o conhecimento mais profundo desta prática, demonstrações de grande engenhosidade como o reconhecimento das propriedades tóxicas da mandioca pelos índios da América Central e do Sul não era rara. O conhecimento das propriedades curativas destas plantas, adquirido de forma totalmente empírica, e transmitido através do tempo, constituiu-se durante muito tempo na única forma de conhecimento disponível sobre as plantas e suas propriedades medicinais. A maioria da população dos países em desenvolvimento, ainda utiliza as plantas medicinais como fonte principal para suprir as suas necessidades medicamentosas. Mesmo nos países industrializados, uma grande percentagem dos produtos farmacêuticos comercializados provém de produtos naturais e essa proporção se eleva nas regiões do mundo (Ásia, África e América Latina), onde vive a maior parte da população mundial (ELIZABETSKY, 1986).

Entretanto, o reconhecimento de que as plantas curam ou previnem doenças porque contêm substâncias que são capazes de interagir com o nosso organismo, teve que aguardar a revolução científica, que trouxe consigo o método científico e tecnológico tal qual o concebemos hoje em dia e com ele o desenvolvimento da química e das ciências biológicas em geral. O uso do ópio muito antes do isolamento e identificação da morfina é apenas um, dentre muitos exemplos onde a utilização das plantas com propriedades medicinais precedeu a sua validação pela ciência moderna (FARNSWORTH, 1993).

Uma base mais racional para o uso de espécies vegetais como medicamento foi lançada quando estas espécies começaram a ser estudadas de forma sistemática com o objetivo de extrair, isolar e identificar as substâncias cujas propriedades farmacológicas são em, última análise, responsáveis pelas propriedades curativas atribuídas à planta como um todo. Esta metodologia serviu para fornecer o substrato científico para o uso das plantas medicinais na terapêutica, mas mais do que isso, serviu para enriquecer consideravelmente o arsenal terapêutico disponível, que ainda hoje é composto de muitos produtos de origem natural, grande número deles desenvolvidos através de síntese orgânica tendo como protótipo uma substância de ocorrência natural (ELIZABETSKY, 1986).

Com a demanda de medicamentos crescendo cada vez mais e considerando-se o seu elevado custo, a busca de fontes alternativas aos medicamentos industrializados e a implementação de um projeto sistemático para o estudo e validação do uso de plantas medicinais, é completamente justificável. Em 1976, 25% de todos os medicamentos prescritos em países industrializados continham princípios ativos, os quais, ainda eram extraídos de plantas medicinais (FARNSWORTH e MORRIS, 1976). Apesar disso, apenas uma pequena fração do imenso número de espécies de plantas superiores existentes foi adequadamente estudada do ponto de vista químico e ou farmacológico.

Nos países em desenvolvimento, o uso de plantas medicinais na forma de pó, infusão, tinturas, cápsulas ou simplesmente do material botânico seco, impõem uma série de dificuldades no sentido de garantir a segurança e eficácia destas preparações. Baseados apenas em registros da literatura, porém, efeitos colaterais ou reações tóxicas associadas ao uso de plantas medicinais em qualquer das formas citadas acima são raros (FARNSWORTH, 1993), embora isto possa significar tão somente que estas reações não estão sendo adequadamente reportadas. A presença de substâncias tóxicas de

ocorrência natural como alcalóides pirrolizidínicos, ácido aristolóquico, ésteres de forbol, entre outros, contaminantes como microorganismos, metais pesados e aflatoxinas ou a identificação incorreta do material botânico em uso têm sido responsáveis por muitos casos de toxicidade relacionada com o uso de plantas medicinais, alguns bastante graves (FARNSWORTH, 1993). Todos estes problemas, ao menos, são bastante reduzidos, com o uso de princípios ativos isolados em forma pura. Em países desenvolvidos, o uso de plantas medicinais está quase unicamente relacionado ao emprego de princípios ativos isolados em forma pura.

A fitoterapia, tratamento que utiliza as plantas para o tratamento de doenças, é uma terapia milenar, cuja aplicação tem se tornado cada vez mais popular entre os povos de todo o mundo. Com o reconhecimento da OMS (Organização Mundial de Saúde) em 1978, o interesse pelas potencialidades dos produtos vegetais com ação farmacológica vem crescendo, aumentando conseqüentemente a produção dos fitoterápicos na indústria farmacêutica.

Apesar da riqueza da flora brasileira e da ampla utilização de plantas medicinais pela população, os estudos científicos sobre o assunto são insuficientes. Poucos programas têm sido estabelecidos para estudar a segurança e eficácia de fitoterápicos, como proposto pela Organização Mundial de Saúde.

Nos últimos dez anos, entretanto, o interesse por plantas superiores, especialmente por fitoterápicos aumentou expressivamente, não só nos países em desenvolvimento, mas também nos países industrializados. A indústria farmacêutica de rápido crescimento, tem sofrido intensa pressão por parte dos governos de países industrializados, preocupados com os custos de seus sistemas de saúde. Desse modo, as margens de lucro da indústria farmacêutica - usualmente elevadas - vêm sendo comprimidas. Isto tem aumentado o comércio internacional na medicina vegetal e atraído a maioria das companhias farmacêuticas, inclusive multinacionais, para os fitoterápicos.

Outros motivos que incentivaram a volta das terapias com fitomedicamentos foram: a frustração gerada por causa das expectativas criadas em torno dos produtos da grande indústria, fazendo crer que para cada moléstia existiria um grande medicamento, que não puderam ser atendidas; os efeitos indesejáveis e prejuízos causados pelo uso abusivo dos medicamentos produzidos sob o manto científico (basta lembrar talidomida, hexaclofeno, practolol, cloranfenicol) e o reconhecimento de que para o

desenvolvimento de novos medicamentos as pesquisas de plantas medicinais utilizadas na medicina popular apresentam perspectivas inegáveis.

O aumento do mercado internacional de fitoterápicos, o alto custo dos medicamentos sintéticos e o fato de cerca de 50 milhões de brasileiros usarem os fitoterápicos como medida primária de cuidado a saúde, geraram iniciativas para a regulamentação de fitomedicamentos. A publicação da Resolução RDC nº 48, de 16 de março de 2004, atualizou a normatização do registro de fitoterápicos junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Para revalidação do registro de produtos fitoterápicos já comercializados, essa portaria estabeleceu prazo máximo de trezentos e sessenta dias para todos os testes referentes a controle de qualidade. Com isso, ressaltou-se a necessidade da realização de uma extensa avaliação científica, metódica e exata, que permitisse constatar as propriedades terapêuticas propagadas de certas ervas medicinais, bem como identificar outras de suas propriedades benéficas.

2.1.1. Considerações Gerais Sobre Fitoterapia

O ser humano utiliza as espécies vegetais para aliviar, ou tratar suas enfermidades em todas as culturas, desde a antiguidade. Cada povo, cada grupamento humano no planeta, traz consigo conhecimentos ancestrais sobre plantas medicinais. Encontramos registros, desde a.C. que já apresentavam estudos com cerca de oitocentas plantas de uso medicinal (ELDIN *et al.*, 2001).

A medicina alopática em todo o mundo utiliza 119 drogas, com estruturas químicas definidas que são extraídas de cerca de 90 espécies de plantas superiores (CHADWISCK e MARSH, 1990). Podemos citar o taxol, artemisina, efedrina, rutina, papaína, reserpina, ergovina, α -tubocurarina, digitoxina, vincalublastina, vincristina, vincamina e atropina (KOROLKOVAS, 1998).

Numerosos outros compostos naturais se constituem em precursores de sínteses de valiosas substâncias, como é o caso de sapogeninas extraídas dos carás (*Dioscorea ssp.*) ou do sisal (*Agave ssp.*), que são usados como matéria-prima para síntese de hormônios e anticoncepcionais (MATOS, 1994).

Hoje, importantes grupos do mundo inteiro se mobilizam na identificação de novos compostos produzidos por plantas, promovendo modificações químicas em suas estruturas através de processos biossintéticos e sintéticos. Procuram-se novos compostos que possam ser utilizados clinicamente, em altas dosagens, que apresentam

baixa toxicidade, absorvidos por via oral, por períodos prolongados e, ainda, com amplo espectro de aplicação. Vale destacar o taxol, diterpeno isolado da casca de *Taxus brevifolia* utilizado como medicamento em pacientes com câncer de ovário, pulmão, cabeça, pescoço e linfoma. A artimisinina, isolada da *Artemisia annua*, uma lactona sesquiterpênica apresenta um grupo endo-peróxido com um potente desempenho biológico contra a malária (BRAS-FILHO, 1994).

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças apresenta, fundamentalmente, influências de uma cultura indígena, africana e européia (MARTINS *et al.*, 2000). O uso e a forma de preparo das plantas na Medicina popular brasileira são oriundos dos indígenas, que é predominante e pode ser reconhecida, principalmente, pelo nome das espécies, em geral, de origem tupi, como a jurema (*Mimosa sp.*), o juazeiro (*Zizipus juazeiro* Mart.), as jurubebas (*Solanum sp.*) e o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda). De origem européia, que se caracteriza principalmente pela presença de inúmeras espécies cultivadas, trazidas pelos portugueses, como o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), manjerição (*Ocimum basilicum* L.), as hortelãs (*Mentha sp.*) e a africana que pode ser reconhecida pelo uso de plantas cultivadas, originárias da África e cuja utilização se associam rituais místicos e religiosos, como a liamba (*Vitex agnus-castus* L.) e o macassar (*Aeollanthus suaveolens* Mart.) (AGRA, 1996).

Os índios utilizavam a fitoterapia dentro de uma visão mística, em que o pajé ou feiticeiro da tribo fazia uso de plantas entorpecentes para sonhar com o espírito que lhe revelaria então a erva ou o procedimento a ser seguido para cura do enfermo e, também, pela observação de animais que procuravam determinadas plantas quando doentes. Um exemplo é a ipecacunha (*Cephaelis ipecacuanha*). O conhecimento desta planta surgiu da observação de um animal que procurava a sua raiz para se livrar de cólicas e diarreia, desta forma os índios começaram a usar a planta contra a disenteria amebiana, sendo hoje reconhecida pela farmacopéia (MARTINS *et al.*, 2000).

A influência africana é pouco conhecida, mas não menos relevante. Para os negros, quando alguém adoecia é porque estava possuído pelo espírito mau, e um curandeiro se encarregava, então, de expulsá-lo por meio de exorcismo e pelo uso de drogas, muitas vezes também de origem animal (MARTINS *et al.*, 2000).

Por sua vez, a influência européia teve início no Brasil com a vinda dos primeiros padres da companhia de Jesus, chefiados, por Nóbrega, em 1579. Formularam receitas chamadas “Boticas dos Colégios”, à base de plantas para o tratamento de

doenças. A maior parte das ervas medicinais, é de origem européia e, embora não sendo nativas, grande parte delas reproduz espontaneamente e forma genótipos ou variedades distintas daquelas que vieram com os europeus durante a colonização (MARTINS *et al.*, 2000). Essas influências que deixaram marcas profundas nas diferentes áreas de nossa cultura constituem a base da medicina popular que, há algum tempo vem sendo retomada pela medicina natural, que procura aproveitar suas práticas, dando-lhes caráter científico e integrando-as num conjunto de princípios que visam não apenas curar alguma doença, mas restituir o homem à vida natural (MARTINS *et al.*, 2000).

No Brasil, como em muitas partes do mundo, a medicina fitoterápica é praticada tanto por curandeiros populares, para os quais a prática da fitoterapia faz parte da cultura tradicional, como por fitoterapeutas profissionais.

O uso de plantas no tratamento das enfermidades é bastante comum, principalmente no meio rural e urbano, em populações de baixo poder aquisitivo, onde a tradição cultural e os problemas sócio-econômicos dificultam o acesso à medicina convencional (AGRA, 1996). Infelizmente, muitas das informações e práticas sobre os usos das plantas, principalmente daquelas consideradas medicinais estão se perdendo ao longo do tempo, seja pela ausência de estudos etnobotânicos, seja pelo uso inadequado da flora nativa, sem um programa de manejo sustentável, o que tem ameaçado e colocado em risco de extinção inúmeras espécies. Muitas destas são ainda desconhecidas pela ciência (AGRA, 1996).

Dentre as várias formas de preparo na utilização de plantas, as mais comuns são os infusos e os decoctos, popularmente referidos como “chá”, mas que não são preparados à base de **tea sinensis**, o verdadeiro chá; os xaropes caseiros, conhecidos como “lambedor”, principalmente indicado para as doenças infantis, e um tipo de alcoolato, geralmente preparado com vinho ou aguardente, que é conhecido no meio popular como “garrafada” (AGRA, 1996).

A fitoterapia desenvolveu-se na segunda metade do século XX, com um grande número de farmacêuticos e médicos, que se dedicaram à pesquisa e à utilização de amplo recurso, que nossa flora dispunha, além de contar com vários laboratórios especializados na produção de fitoterápicos. Com o surgimento da química moderna, os laboratórios internacionais que detinham esta tecnologia passaram a comandar o mercado, inclusive absorvendo a maior parte dos laboratórios nacionais e substituindo a produção de fitoterápicos por medicamentos alopáticos.

A biodiversidade de nossos vegetais constitui uma riqueza potencial para a saúde humana. Apesar disto, apenas 1% das espécies vegetais conhecidas da terra foram estudadas e várias delas estão sendo dizimadas num ritmo alarmante, com uma redução crescente de grande parte desta biodiversidade, ocorrerá também uma enorme perda científica e econômica, principalmente para os países menos desenvolvidos que são os detentores da maior parte das reservas vegetais do mundo. Nos últimos vinte anos ressurgiu o interesse pelo uso das plantas medicinais, e hoje é cada vez mais crescente a busca de fitoterápicos, que atuem como uma alternativa terapêutica eficaz, de baixo custo, e com menores efeitos colaterais.

A fitoterapia ressurgiu como uma opção medicamentosa bem aceita e acessível aos povos de todo o planeta. É tecnicamente apropriada e satisfaz as necessidades locais de centenas de municípios brasileiros. A utilização da fitoterapia chega a obter uma economia em torno de 300% na produção própria de medicamentos fitoterápicos cientificamente comprovados. É extremamente importante o desenvolvimento de investigação do uso popular de plantas medicinais. A difusão e pesquisa dos fitoterápicos devem ser amplamente incentivadas e incorporadas aos sistemas de saúde (ELDIN e DUNFORD, 2001).

Houve um crescente aumento do estudo das propriedades das plantas medicinais, e o futuro bem próximo revelará princípios ativos de grande utilização na terapêutica.

2.1.2. Legislação para Fitoterápicos

Os primeiros atos normativos de expressão referentes às plantas medicinais no Brasil eram regimentos portugueses e estavam relacionados com as atividades ligadas à saúde e perdurou até a chegada da família real (CARRARA e MEIRELLES, 1996). O alvará de 23.11.1808 e a lei de 30.8.1828 regularizavam a situação do boticário, estabelecendo parâmetros de comportamento e de prática de produção (PIRAGIBE, 1880).

Até 1929, o Codex Medicamentarius Gallicus, representava o código oficial para a manipulação de produtos oriundos da flora nacional (SIMÕES *et al.*, 2001). A publicação da primeira edição da Farmacopéia Brasileira representou um esforço significativo para regulamentar a manipulação de produtos derivados de plantas

medicinais brasileiras (SILVA, 1929). Elaborada por Rodolfo Albino, num prazo de doze anos, essa obra contemplou mais de duzentos e oitenta espécies botânicas nacionais e estrangeiras (PEREIRA *et al.*, 1989), contendo as monografias a serem usadas como referência nos aspectos de controle da qualidade na produção de medicamentos. Esta obra refletia, assim, as características da terapêutica, majoritariamente fundamentada em fitoterápicos e produtos biológicos (FRENKEL *et al.*, 1978).

Os decretos 19606 e 20377, em 1931, marcam o início formal das atividades de vigilância sanitária estabelecendo toda uma estrutura de sistema no qual se inserem as atividades farmacêuticas. Porém, sobre as plantas medicinais esses decretos incluíam, somente, o comércio de plantas medicinais de aplicações terapêuticas, direto com o consumidor.

Na segunda edição da Farmacopéia Brasileira (1959), ocorre a exclusão de cerca de duzentas espécies vegetais expressivas. Os argumentos para esse procedimento foram a nulidade de ação terapêutica e completo desuso dessas drogas, que na sua maioria, sempre estiveram presentes na medicina popular e científica e também no rol da atividade industrial farmacêutica, mantendo-se dessa forma mesmo após a exclusão citada.

Com relação à questão de eficácia terapêutica, deve-se afirmar que a inclusão dessas drogas na primeira edição da Farmacopéia Brasileira não se baseou em dados de eficácia, em função das características da época, e sua retirada, trinta anos depois, seguiu o mesmo caminho, não se baseando em dados experimentais (SIMÕES *et al.*, 2001). Já na sua terceira edição, a Farmacopéia Brasileira (1977), descreve apenas vinte e quatro drogas vegetais.

Durante os anos 80 e 90, período de grande aumento no consumo de plantas medicinais decorrente do modismo naturalista (TEIXEIRA, 1985), surgiram várias regulamentações setoriais complementares, que regulamentavam a fabricação e a venda de alguns desses produtos. Em 1986, a portaria SNVS nº 19 (BRASIL, 1986), tornou obrigatório o registro das especiarias e ervas destinadas a infusões e chás.

A inclusão da fitoterapia, em 1988 pela resolução nº 8 da CIPLAN (Comissão Internacional de Planejamento) (BRASIL, 1988), no sistema público de saúde, embora não concretizada definitivamente, e as divergências na interpretação e na avaliação dos

pedidos de registro de produtos de origem vegetal ocorridas nesse período, com possíveis conseqüências prejudiciais à saúde da população, levaram a comunidade científica a solicitar aos órgãos de vigilância sanitária a elaboração de regulamentação específica para o registro desses medicamentos (PETROVICK, 1989).

Diante de tantas lacunas, deixadas pela legislação, sentia-se uma necessidade de atualização, o que originou diversas propostas, num contexto típico da vigilância sanitária, que culminaram na elaboração da portaria SVS nº 6 de 31.1.1995, basicamente composta por conceito inequívoco de fitoterápico, padronização dos conceitos técnicos da área, exigência de atenção aos critérios de segurança e eficácia nos moldes farmacológicos adequados (toxicologia aguda e crônica, farmacologia pré-clínica e clínica) e fixação de normas de qualidade para matéria-prima, processamento e produto final (BRASIL, 1995).

Em 2004, surge a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC/ANVISA-nº 48 que aprimora a portaria SVS nº 6, e redefine a denominação dessa classe de medicamentos, agora chamada de medicamentos fitoterápicos e não mais produtos fitoterápicos, como medicamento farmacêutico obtido por processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais e caracterizado pelo conhecimento da eficácia, dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Também classifica grupos de produtos, para os quais exige critérios de registro diferenciados, sendo eles:

- Medicamento Fitoterápico Novo: aquele cuja eficácia, segurança e qualidade sejam comprovadas cientificamente quando do seu registro junto ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária.

- Medicamento Fitoterápico Tradicional: aquele elaborado a partir de planta medicinal de uso alicerçado na tradição popular, sem evidências conhecidas ou informadas de risco à saúde do usuário ou cuja eficácia e validade através de levantamentos etnofarmacológicos e de utilização, documentações tecnocientíficas ou publicações indexadas.

- Medicamento Fitoterápico Similar: aquele que contém as mesmas matérias-primas vegetais, na mesma concentração do princípio ativo ou marcadores, utilizando a mesma via de administração, forma farmacêutica, posologia e indicação terapêutica de medicamento fitoterápico de referência.

Para efeito de registro de medicamento fitoterápico novo, a portaria exige a apresentação de relatório técnico com uma gama de informações que abrangem desde a identificação botânica da planta, análise qualitativa e quantitativa dos princípios ativos e/ou marcadores, até estudos farmacológicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos, bem como relatório descritivo de fabricação e controle da qualidade. Quando da inexistência de metodologia química adequada para o controle da qualidade, este deve ser baseado na ação farmacológica preconizada (BRASIL, 2000). A publicação da Resolução RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000, instituiu e normatizou o registro de fitoterápicos junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Para revalidação do registro de produtos fitoterápicos já comercializados, essa portaria estabeleceu prazo máximo de cinco anos para os estudos de eficácia clínica. Com isso, passou a ser necessária a realização de uma extensa avaliação científica, metodológica e exata, que permitisse constatar as propriedades terapêuticas propaladas de certas ervas medicinais, bem como identificar outras de suas propriedades benéficas.

2.1.3. Controle da Qualidade de Medicamentos Fitoterápicos

A indicação de medicamentos fitoterápicos na terapêutica humana não deve sugerir a substituição de medicamentos convencionais registrados, mas aumentar as opções terapêuticas oferecendo produtos de boa qualidade e respeitando os preceitos éticos que regem a utilização de substâncias com finalidade terapêutica.

Um fitoterápico deve ser tratado como um produto estranho ao organismo, nele introduzido com finalidade terapêutica, e como tal, apresenta-se potencialmente tóxico até prova em contrário.

O uso popular e mesmo tradicional não são suficientes para validar as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros (SIMÕES *et al.*, 2001). Neste sentido, as plantas medicinais não se diferenciam de qualquer outro produto sintético. Se a intenção é utilizar uma planta medicinal como medicamento, ela deve ter sua ação comprovada e sua toxicidade potencial avaliada cientificamente como qualquer outro medicamento.

Para garantir a uniformidade da composição de um fitoterápico, é necessário que os diferentes produtos intermediários sejam caracterizados através de seus constituintes químicos ou de sua atividade farmacológica. Nenhuma das duas alternativas é rápida ou de fácil execução.

A opção mais segura seria identificar e quantificar as substâncias ativas, o que nem sempre é possível devido ao grande número de componentes presentes no extrato. A utilização de substâncias marcadoras, relacionando a concentração das substâncias mais abundantes, ou de grupos químicos com a atividade biológica, é uma alternativa a ser avaliada. Portanto, até que se obtenha um método adequado que relacione composição química com atividade biológica, apenas o estudo farmacológico poderá garantir a eficácia e a uniformidade de um fitoterápico (SIMÕES *et al.*, 2001).

A partir do estabelecimento dos parâmetros de qualidade para a matéria-prima, e considerando-se um planejamento adequado e um controle do processo de produção do produto final, a qualidade do medicamento estará, em grande parte, assegurada (IHRING e BLUME, 1992). Portanto, a qualidade da matéria-prima vegetal é a determinante inicial da qualidade do fitoterápico, mas não garante a eficácia, a segurança e a qualidade do produto final.

A segurança e a eficácia dependem de diversos fatores, tais como, metodologia de obtenção, formulação e forma farmacêutica, entre outros e, portanto, devem ser definidas para cada produto, estabelecendo-se os parâmetros de controle da qualidade do produto final.

A qualidade adequada das matérias-primas deve ser realizada de acordo com bases científicas e técnicas. Nos procedimentos rotineiros de análise da qualidade, geralmente é preconizado o emprego de metodologias físico-químicas e biológicas, sendo necessária a correlação entre os parâmetros analisados e a finalidade a que se destina o medicamento.

2.1.4. Padronização Biológica de Extratos de Plantas Medicinais

O extensivo uso de plantas como medicamento tem apontado que as plantas medicinais não são tão seguras como freqüentemente são aclamadas (COPASSO *et al.*, 2000).

Atualmente a maioria das plantas medicinais disponíveis no mercado não são submetidas aos rigorosos testes científicos, e sua qualidade é extremamente variável. Somando-se a isso a natural inconstância na composição química desses produtos, devido a fatores genéticos, climáticos, qualidade do solo e outro fatores externos, que desafia a garantia de eficácia e segurança dos fitoterápicos. Apesar das vantagens adquiridas com o cultivo de plantas medicinais, e o desenvolvimento de métodos

modernos de processamento e conservação dos produtos naturais, como a liofilização ou desidratação através de secagem a vácuo, que ajudam a manter a qualidade por um tempo maior.

Uma forma de garantir a eficácia das plantas medicinais seria através de padronização. Já é bem conhecido que a eficácia terapêutica das plantas medicinais não é influenciada por um único composto ou até mesmo por uma simples classe de compostos. Portanto, a análise química não pode se limitar a um simples composto – tal como um único marcador químico – mas deve estender-se a vários grupos de constituintes, de maneira a se obter uma caracterização química tão completa quanto possível. Conseqüentemente, a atividade não pode ser prevista com precisão somente com a identificação de um constituinte ou grupo de constituintes, o que dificulta a padronização do material por análise química.

Diante dessas circunstâncias, a resposta biológica surge como um sinal analítico capaz de ser utilizado como parâmetro de qualidade, através de ensaios de potência farmacológica, pelos quais pode-se ter uma visão da real eficácia do produto, sugerindo-se a padronização biológica dos extratos de plantas medicinais, como procedimentos de controle da qualidade desses produtos.

2.2. Processo de Secagem

A secagem é uma das mais antigas técnicas de preservação de produtos, tendo sido praticada pelo homem primitivo, mais tarde pelos persas, gregos e egípcios. A necessidade de se utilizar fontes de calor e modificações que favorecessem a circulação do ar foi verificada a partir da observação do fenômeno na secagem natural. Posteriormente, estas necessidades foram consideradas na construção de secadores (estufas e fornos), precursores dos atuais. Com exceção de regiões desérticas, a secagem natural, submetida aos caprichos da natureza, sempre foi uma ação lenta e arriscada. A necessidade de escapar de intempéries e conseqüentemente ter segurança e melhor qualidade levou o homem a criar aparatos que protegessem e acelerassem o processo (LIMA, 2001).

De acordo com os fatos históricos, as guerras modernas, com a necessidade de transportar grandes volumes a grandes distâncias, foram os elementos que impulsionaram o desenvolvimento do processo de secagem. Na I Grande Guerra

Mundial, a prática de secagem se disseminou e o processo começou a ser estudada mais cientificamente, atingindo o seu ápice durante a II Guerra Mundial (LIMA, 2001).

A secagem é definida como a operação de eliminação de um líquido volátil contido em um substrato não volátil, através da evaporação do líquido (CASEDEBAIG *et al.*, 1989). A escolha de um método de secagem para uma solução extrativa vegetal específica envolve uma série de fatores, tais como natureza do produto que deve ser seco, a massa de solvente ou de água a ser removida, a massa de produto a ser processada por unidade de tempo, a estabilidade das substâncias ativas contidas no produto, a higroscopicidade e outras características físicas do produto final, assim como os custos de produção envolvidos (LIST *et al.*, 1989).

As indústrias farmacêuticas têm um especial interesse pelos extratos vegetais secos, uma vez que as formas farmacêuticas sólidas apresentam precisão de dosagem, facilidade de manuseio, transporte e armazenagem, além de favorecerem a manutenção da estabilidade química, microbiológica e farmacológica. No Brasil existem cerca de 200.000 espécies vegetais, e segundo alguns autores, pelo menos metade destas espécies pode apresentar alguma atividade terapêutica. As plantas medicinais para uso interno em geral, são utilizadas nas formas de tinturas, xaropes, extratos fluidos e na forma de pós, originados da própria planta seca e moída, ou obtida como produto da secagem de um extrato. As técnicas de secagem comumente empregadas são a liofilização e o spray-drying, (BARBOSA FILHO, *et al.*, 1997; ARAGÃO, 2002) destacando-se pesquisas recentes sobre a utilização do leito de jorro com partículas inertes na produção de extratos secos (RUNHA *et al.*, 2001; RÉ e FREIRE, 1988; CORDEIRO, 2000; CORDEIRO e OLIVEIRA, 2005).

Embora alguns trabalhos já realizados relatem a secagem de folhas de plantas medicinais em secador convectivo, poucas informações se tem a respeito da utilização de plantas da região nordeste, com aplicação na medicina popular, o que despertaria um grande interesse por parte dos laboratórios farmacêuticos e governo em virtude do alto gasto com medicamentos na atualidade. Registra-se também a ausência de experimentos mencionando a atividade de água e poucos sobre a degradação de princípios ativos no processo de secagem. Na maioria dos trabalhos consultados a matéria-prima utilizada nos estudos de secagem foi fornecida por empresas tendo sido submetidas a pré-processamento. Um estudo abrangendo as diversas etapas do processo a partir da plantas *in natura*, como proposto no presente trabalho, permitirá acompanhar a

qualidade do produto em termos de constituintes ativos ao longo do processo estabelecendo assim também as condições ótimas de pré-tratamento da matéria-prima a ser utilizada neste estudo.

2.3. Características da Hortelã e da Milona

As propriedades e princípios ativos, de hortelã (*Mentha x vilosa* Hudson) e Milona (*Cissampelos sympodialis* EICHL), foram estudadas por diversos pesquisadores com referência ao emprego no tratamento de doenças (BARBOSA FILHO *et al.*, 1997; MATOS, 1994; MATOS e ANJOS, 1989). Observa-se que a composição das referidas plantas é diferente, sendo a hortelã rica em óleos essenciais. Em relação aos princípios ativos se assemelham em virtude da presença de flavonóides (MATOS, 1994; ARAGÃO, 2002).

2.3.1 – Aspectos da *Mentha x vilosa* Hudson – Hortelã

A planta *Mentha x vilosa* Hudson, geralmente relatada na literatura como *M. crispata* ou *M. rotundifolia*, pertence a família Lamiaceae sendo conhecida popularmente como hortelã-da-folha-miúda, hortelã-rasteira e hortelã-de-panela (MATOS, 1991; MATOS, 1989). A identificação realizada pelo Dr. R. Harvey do Royal Botanic Garden, Kew (U.K.) demonstra que a *Mentha x vilosa* Hudson trata-se de um híbrido da *Mentha spicata* e *Mentha suaveolens*.



Figura 2.1 – Folhas da *Mentha x vilosa* Hudson

Mentha x vilosa Hudson (Figura 2.1), é uma planta herbácea, rasteira, com raiz fibrosa, caule avermelhado, ereto, ramoso, com folhas aromáticas opostas variando de 2-5 cm de tamanho, o limbo é ovado-lanceolado com borda serrilhada e superfície rugosa e glabra, apresentando pecíolo de 2-3 mm e não são observadas inflorescências (MATOS,1994).

No Nordeste Brasileiro, a *Mentha x vilosa* Hudson é amplamente usada na medicina popular e na indústria fitoterápica. As folhas de *Mentha x vilosa* Hudson são usadas na culinária como condimento. Na medicina popular são utilizadas como estomáquico, ansiolítico, contra cólicas menstruais e diarreicas (MATOS, 1994). São também utilizadas no tratamento de afecções parasitárias como a amebíase, giardíase e tricomoníase (BORBA *et al.*,1990 a e b; BORBA e MELO,1988; BORBA *et al.*,1991).

2.3.2 – Aspectos da *Cissampelos sympodialis* EICHL – Milona

No Estado da Paraíba, o gênero *Cissampelos*, pertencente as Angiospermas , é representado por três espécies: *Cissampelos ovalifolia* DC., *Cissampelos glaberrima* St. Hil. e *Cissampelos Sympodialis* EICHL. Estas apresentam simultaneamente diversidade e uniformidade (BARBOSA-FILHO *et al.*, 1997).



Figura 2.2 – Folhas frescas de *Cissampelos sympodialis* EICHL

A *Cissampelos sympodialis* EICHL (Figura 2.2), conhecida popularmente como milona, abuteira, jarrinha, orelha de onça, pertencente à família Menispermaceae. Trata-se de uma planta trepadeira que cresce abundantemente em locais úmidos, sendo considerada uma espécie endêmica do Brasil. Pode ser encontrada no Nordeste e Sudeste do país, entre os estados do Ceará e Minas Gerais, ocorrendo freqüentemente em áreas abertas sobre arbustos em solo arginosos

(BARBOSA-FILHO *et al.*, 1997).

Do ponto de vista terapêutico, a infusão das suas raízes é usada popularmente no tratamento de asma, bronquite, artrite e infecções urinárias (CORRÊA, 1929). Enquanto as folhas possuem a mesma utilização, e ainda, é utilizada no combate a hipertensão (ARAGÃO, 2002).

2.4. Secagem

Os processos de secagem atualmente vêm sendo muito estudados e avaliados, porém, são poucas as informações existentes de procedimento pós-colheita para as plantas medicinais.

2.4.1. Atividade de água

A desidratação de produtos fitoterápicos é um processo combinado de transferência de calor e massa, no qual a disponibilidade de água é reduzida, dificultando a atividade enzimática, deteriorizações de origem físico-químicas e crescimento microbiano. Os produtos fitoterápicos em pó são atualmente cada vez mais utilizados pela indústria nacional de medicamentos, tendo em vista que tais produtos reduzem significativamente os custos de certas operações, tais como: embalagem, transporte, armazenamento e conservação (JACOB *et al.*, 1984).

O teor de umidade de equilíbrio é a umidade que um determinado produto atinge quando no equilíbrio termodinâmico com ar a uma dada temperatura e umidade relativa. Nesta condição, a pressão de vapor da água na superfície do produto é igual à pressão de vapor da água contida no ar. A importância do conhecimento do teor de umidade de equilíbrio está na determinação das isotermas de secagem que são essenciais no estudo e projeto de secadores.

A atividade de água é uma propriedade fundamental para a conservação e armazenamento de um produto sendo um parâmetro muito mais importante que o pH, teor de umidade e outras propriedades estudadas nos alimentos. Ela não é só função do conteúdo de água, é também função das substâncias as quais exercem o efeito de ligação de água na estrutura do alimento. Desta forma compostos que possuem em sua estrutura a mesma quantidade de umidade podem deste modo, ter diferentes atividades de água dependendo, do seu conteúdo de água ligando substâncias a sua estrutura (HEIDELBAUG e KAREL, 1975).

A atividade de água pode ser definida como:

$$a_w = \frac{P}{P_0} \quad (2.1)$$

Onde:

P = pressão parcial de vapor d' água de um produto

P₀ = pressão de vapor d' água pura a mesma temperatura T

a_w = atividade de água

A atividade de água de uma forma quantitativa é representada como sendo a umidade relativa do ar em equilíbrio com o produto.

$$a_w = \frac{UR}{100} \quad (2.2)$$

onde: a_w = atividade de água

UR= umidade relativa

Para tanto, são observadas as Isotermas que são representações gráficas ou analíticas da dependência da atividade de água e o teor de umidade de um produto a temperaturas e pressões definidas, e são determinadas experimentalmente.

Podem ser classificadas em isotermas de adsorção e dessorção, de acordo com a determinação da umidade do produto, seja durante o processo de umedecimento ou de secagem.

As isotermas de dessorção de umidade em um produto dão informações indispensáveis ao desenvolvimento do processo como, por exemplo, a concentração e a desidratação. É através da isoterma que se determina o valor da monocamada de água ligada ao produto. Segundo TEIXEIRA NETO (1977) não se deve retirar água em quantidade inferior a monocamada, visto que este é o limite abaixo do que se inicia as reações químicas indesejáveis no produto, além de ser nesta região onde irá ocorrer um desperdício maior de energia para a retirada da água residual do produto.

Os modelos matemáticos que representam as isotermas de dessorção são de fundamental importância, visto que através de um certo número de pontos experimentais é possível ajustar uma isoterma e assim fazer a correspondência entre teor de umidade do produto analisado X(bs) e atividade de água(a_w).

Existem vários modelos propostos na literatura, entre eles podemos citar: BET, GAB e HENDERSON.

A equação de GAB (GUGGENHEIM-ANDERSON- de BOER) com três parâmetros é um melhoramento das teorias de BET e LANGMUIR e tem sido sugerida por diversos estudiosos (LOMAURO *et al.*,1985). A equação é expressa como:

$$\frac{X}{X_m} = \frac{C * K * a_w}{(1 - k * a_w)(1 - K * a_w + C * k * a_w)} \quad (2.3)$$

onde

C é a constante de Guggenheim: $C = c' \exp [(H_l - H_m)/RT]$

K é o fator de correção das propriedades das moléculas multicamada com respeito ao volume de líquido

$K = k' \exp (H_l - H_n) / RT$

H_l = calor de condensação do vapor de água pura

H_m = calor de sorção da primeira camada nos sítios primário

H_n = calor de sorção das moléculas de água nas multicamadas

Este modelo apresenta uma boa descrição para uma grande variedade de isotermas na faixa de atividade de água de 0 a 0.90. Os parâmetros determinados através da equação de GAB podem ser obtidas diretamente através da regressão não- linear.

2.4.2.Cinética de Secagem

A secagem artificial vem sendo utilizada como alternativa viável para secagem de diversos tipos de plantas. A cinética de secagem visa a compreensão do mecanismo da secagem e dimensionamento de secadores e fornece informações sobre o comportamento de um material frente a diferentes condições de secagem, possibilitando ajustes de equações que podem auxiliar no entendimento do fenômeno de transferência de massa (CORDEIRO e OLIVEIRA, 2005).

A secagem convectiva sob condições constantes de temperatura e umidade do ar, secagem em camada delgada permite que sejam obtidas as curvas da umidade do sólido em função do tempo.

O período de taxa decrescente inicia-se a partir da condição em que a superfície do sólido deixa de estar totalmente coberta por água. Isto acontece quando a umidade crítica é alcançada. Para valores de umidade superior ao valor da umidade crítica pode-se dizer que existe suficiente quantidade de água na superfície do sólido para manter um filme de saturação. A umidade crítica é aquela a partir da qual a taxa de secagem passa do período de taxa constante para o período de taxa decrescente.

No final do período de taxa constante a superfície do material começa a secar até que a condição de existência do filme de saturação já não é mais mantida. Como consequência, tem-se o primeiro período de taxa decrescente. Como era de se esperar, os fatores que controlam ambos os períodos, taxa constante e primeiros períodos de taxa decrescentes estão relacionados com o fornecimento de água para a superfície do material e a taxa de evaporação através do filme estacionário. Portanto, as variáveis que influenciam a transferência de massa no período de taxa constante e primeiro período de taxa decrescente são, além da estrutura do material, a velocidade, a temperatura e umidade do ar de secagem e a umidade inicial do sólido.

Durante o segundo período de taxa decrescente a superfície do sólido encontra-se seca, portanto a evaporação tem lugar no interior do material. Neste caso, o vapor alcança a superfície por difusão molecular. Uma vez que a difusão de vapor no interior da partícula controla o segundo período de taxa decrescente, este período não é susceptível às mudanças nas condições externas da partícula.

No processo de secagem o transporte de massa em um meio sólido é amplamente explicado através da Lei de Fick expressa em termo de gradiente de umidade. Um dos primeiros estudiosos a interpretar o processo de secagem como um fenômeno difusivo foi LEWIS (1921). SHERWOOD (1939), também confirmou que a difusão interna de um líquido predomina nos mecanismos internos de transferência de umidade.

Para expressar o mecanismo de difusão à velocidade de transferência de umidade, recorre-se a Lei de Fick, que para geometria de placa plana e transferência de calor unidirecional, pode ser escrita por:

$$\frac{dX}{dt} = D_L^* \nabla^2 X \quad (2.4)$$

Onde

D_L^* é o coeficiente de difusão do líquido.

Como muitos sólidos alteram suas características durante a secagem, D_L^* raramente é constante. Para esta equação, além das condições de contorno deve-se conhecer as características de D_L^* . Devido à heterogeneidade apresentada pelos sólidos porosos costuma-se expressar a Lei de Fick em termos de um coeficiente de difusão efetivo.

SHERWOOD (1939) desenvolveu muitas pesquisas sobre a operação de secagem de sólidos, propondo que o movimento da umidade num sólido ocorre pelo mecanismo de difusão em fase líquida, e que a Lei de Fick pode ser aplicada para prever a velocidade do movimento da umidade, expressa como:

$$\frac{\partial X}{\partial t} = D_{ef} \left(\frac{\partial^2 X}{\partial X^2} + \frac{q}{\psi} \frac{\partial X}{\partial x} \right) \quad (2.5)$$

A Equação 2.5 apresenta várias soluções para geometrias diferenciadas: plana ($q = 0$), cilíndrica ($q = 1$) e esférica ($q = 2$); considerando apenas o fluxo na direção radial e com as seguintes condições inicial e de contorno:

Para placa plana: $\psi = L$

$$\frac{\bar{X} - X_e}{X_i - X_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(- (2n+1)^2 \pi^2 \frac{D_{ef} t}{4l^2}\right) \quad (2.6)$$

Segundo MARIZ (1986), o modelo difusional, foi criticado devido as discrepâncias observadas entre os valores experimentais e teóricos. A principal crítica foi no que diz respeito o coeficiente de difusão constante (independente da temperatura e do teor de umidade) e alteração da forma e tamanho do sólido durante a secagem.

O coeficiente de difusão raramente é constante, visto que é variável com o teor de umidade e com a temperatura (PERRY e CHILTON, 1980).

A transferência de massa no processo de secagem pode processar-se por vários mecanismos no interior de um corpo. Os mecanismos mais difundidos na literatura são a difusão de água no estado líquido ou vapor e a migração capilar de água líquida sob a ação da tensão superficial (pressão capilar). O estudo do mecanismo que governa o

processo é feito pela análise de dados experimentais ou utilizando modelos matemáticos. O processo que apresentar maior resistência à transferência é o que predomina.

No caso de produtos agrícolas, foram desenvolvidos muitos trabalhos de secagem em camada delgada. Para este caso, constata-se através de ensaio de secagem, que a maior resistência encontra-se na transferência de massa no interior das partículas (MANCINI, 1996 e BARROZO, 1993). Estes autores chegaram a esta conclusão constando que a vazão do ar de secagem pouco influencia o mecanismo de transferência de massa.

2.4.3 Secagem de folhas

A secagem artificial vem sendo utilizada como uma alternativa viável para a secagem de diversos tipos de plantas. As folhas são secas até níveis de umidade adequados para permitir seu armazenamento, em vista a manutenção dos princípios ativos. A diminuição da atividade de água é também necessária para a conservação das folhas durante seu armazenamento. De acordo com CORDEIRO e OLIVEIRA (2005), na secagem de folhas frescas de *Maytenus ilicifolia*, esclareceram que a umidade adequada para o armazenamento deve ser inferior a 8%.

Nos últimos anos, têm-se explorado novas possibilidades tecnológicas para obtenção de extratos secos para produção de fitoterápicos. Isso ocorre em virtude dos extratos secos apresentarem vantagens, quando comparados aos extratos fluidos. Os extratos secos vegetais são muito mais adaptados às necessidades da indústria farmacêutica, dada a facilidade de padronização e manuseio, contribuindo para a garantia da homogeneidade de preparações farmacêuticas. Estes extratos podem ser preparados a partir de uma solução extrativa vegetal, submetidas as técnicas de secagem como a liofilização, a secagem por spray-dryer ou secagem por nebulização e a secagem em leito de jorro (De PAULA, 1996; TEIXEIRA, 1996; CORDEIRO, 2000; RUNHA *et al.*, 2001; SOUZA, 2003).

Por definição, extratos secos são preparações sólidas, pulverulentas ou granuladas obtidas por evaporação de extratos de plantas medicinais adicionadas ou não de adjuvantes, apresentando o teor de substâncias ativas indicado na respectiva monografia (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988).

2.5. Técnicas de Extração de Princípios Ativos em Plantas

O isolamento dos metabólitos especiais de plantas constitui um trabalho de pesquisa que pode levar a produtos de relevância para a farmacologia, para a agricultura e para a quimiotaxonomia. Exemplos bem conhecidos são digitoxina, morfina, colchicina, os alcalóides de *Catharanthus roseus*, vincristina e vimblastina, os ginkgolídeos e o taxol. Por outro lado, drogas naturais têm servido como protótipos úteis para a síntese de outros medicamentos: a morfina se transformou em hidromorfona, ácido lisérgico foi convertido em metilsergido, cocaína rendeu procaína, salicina foi transformada em ácido acetilsalicílico, só para citar alguns (ARAGÃO,2002).

A Extração é um método conveniente para retirar substâncias de órgãos ou de matrizes onde são originadas e localizadas. A teoria da extração é baseada no fato que se uma substância é solúvel em algum grau num solvente, ela pode ser extraída quando a matriz onde se encontra é posta intimamente em contato com ele. Para uma proposta específica de extração a escolha do solvente é certamente um dos problemas principais a ser considerado. Esse agente extrator é geralmente um líquido orgânico volátil, que pode ser removido por evaporação após ter extraído a quantidade de material desejada.

Os solventes orgânicos mais comuns utilizados em processos de extração são pentano, hexano, éter de petróleo, éter etílico, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, acetona, metanol e etanol. Outros solventes menos usados incluem dissulfeto de carbono, tetracloreto de carbono, tolueno, xileno, isopropanol e butanol entre outros. Cada um desses solventes tem uma característica própria de extração que deve ser levada em conta, além de outras propriedades. Por exemplo, éter etílico é muito usado como solvente extrator, tem ponto de ebulição baixo (34°C) e pode dissolver um número razoável de substâncias orgânicas. Contudo, éter etílico deve ser usado com cuidado, uma vez que é extremamente inflamável e tende a formar peróxidos quando armazenado. Diclorometano mostra a maioria das qualidades do éter etílico e com a vantagem adicional de não ser inflamável. Contudo tem a tendência para formar emulsão.

Perigos potenciais devem sempre ser considerados no momento de selecionar e usar um solvente para extração. Benzeno não é recomendado por causa de sua atividade carcinogênica, a menos que sejam tomadas todas as precauções necessárias. Solventes inflamáveis (éter etílico, éter de petróleo, pentano, etc.) devem ser utilizados em

laboratórios onde não se faz uso de chamas vivas. Precauções devem ser tomadas com todos os solventes para minimizar contato com a pele, com os olhos, inalação de vapores e possíveis exposições a fontes de ignição.

A mudança rápida do mundo moderno, a necessidade em aprimorar técnicas, chama o homem a rever os princípios das coisas, seus fundamentos, reestudar e nunca deixar de buscar e explorar todo o potencial daquilo que convencionamos a chamar de clássico ou tradicional, pois esses serão o ponto de partida, o apoio para todo e qualquer avanço. A extração de princípios ativos de plantas medicinais pode ser realizada por inúmeros métodos extrativos que podem ser técnicas clássicas, como por exemplo, maceração, percolação, decocção, infusão, extração contínua a quente (Soxhlet), arraste com vapor, mas também, técnicas avançadas como, por exemplo, com capacetes de pressão, com ajuda de microondas, de ultrassom e com fluidos supercríticos (THOMA *et al*, 2001).

A extração com solvente como aplicado para plantas compreende a dissolução seletiva da porção solúvel dos seus constituintes num solvente apropriado, sendo a quantidade de material extraído proporcional à massa de planta imersa no solvente. O processo extrativo é também função do tempo em que o material fica em contato com o agente extratante, do grau de trituração da planta, da temperatura, da polaridade do solvente e da reatividade desse frente aos produtos a serem extraídos, da quantidade de solvente usado que deve ser adequada com a quantidade de material, já que deverá embeber as células para retirar delas as substâncias químicas aí existentes.

2.5.1. Maceração

A Maceração explora o fenômeno de difusão do solvente através do tecido vegetal. Nesse procedimento, o material botânico deve ser dividido em pequenos fragmentos e, às vezes pulverizado, de modo a provocar um aumento considerável da área oferecida à ação do solvente extratante que deve ser deixado em contato com o material vegetal por um determinado tempo. É conveniente lembrar que nem sempre a pulverização muito fina é viável, já que há o risco da formação de uma massa compacta, prejudicando a difusão do solvente. Em suas modalidades, a maceração pode ser estática ou dinâmica. No primeiro caso, o contato do solvente com os fragmentos da planta é feito por um tempo estabelecido e em repouso. No caso da maceração dinâmica, a mistura em extração é mantida sob agitação por um tempo determinado (VINATORU,2001).

2.5.2. Percolação

Na percolação, ao contrário da maceração, o solvente percola a camada de planta pulverizada. É importante o uso de percoladores que são aparelhos especiais dotados de características próprias. Devem ser constituídos por um tronco de cone invertido, de vidro, de porcelana, de cobre estanhado ou de aço inoxidável, tendo na base inferior uma parte infundibuliforme prolongada em tubo munido de torneira, devendo sua capacidade ser tal que o pó, umedecido e ligeiramente comprimido não ocupe mais do que dois terços do tronco do cone (Figura 2.3). Nesse tipo de extração, o solvente é renovado continuamente em virtude do seu movimento descendente e a planta estará sempre em contato com novas porções de solvente, o que reduz, contudo, o tempo de equilíbrio entre os líquidos situados dentro e fora da célula (PACHÚ, 2005).



Figura 2.3 - Percolador

2.5.3. Decocção

Decocção é um processo semelhante à maceração, sendo que o solvente utilizado, geralmente água, é aquecido a ebulição juntamente com a planta. Seu emprego deve ser restrito devido a temperatura muito alta, porém, é muito usado para a obtenção de chás.

2.5.4. Infusão

Infusão é uma outra técnica de extração de plantas, muito usada para a obtenção de chás de plantas medicinais. Nessa técnica, o solvente é sempre água que, após seu aquecimento à temperatura de ebulição, é vertida sobre o material vegetal moído e, então, deixado a esfriar até a temperatura ambiente antes do uso. Uma variação dessa técnica é conhecida como abafado, em que após a adição de água fervente, a

mistura extratante é abafada com uma tampa, evitando assim a perda de material volátil com o vapor do solvente, seguindo resfriamento, em repouso.

2.5.5. Extração contínua de plantas usando o extrator de Soxhlet

Essa técnica permite a introdução de solvente puro, continuamente, no reservatório contendo os fragmentos do material vegetal até um determinado volume condicionado pela capacidade do extrator. Por processo de sinfonação, esse volume de solvente, agora arrastando o material extraído do vegetal, é retirado do reservatório contendo a planta. De maneira contínua, gota a gota, nova porção de solvente introduzido na parte do aparelho contendo a planta. E assim se repete automaticamente a troca de solvente em contato com a planta, mantendo a continuidade da extração. A grande vantagem do processo é a pequena quantidade de solvente usado, uma vez que por ebulição e condensação de seus vapores, o mesmo volume de solvente pode ser reutilizado em estado puro por um número variado de vezes. A ação é contínua e a extração é efetuada pelo solvente em ebulição ou próximo à temperatura de ebulição, o que torna o processo mais rápido e mais eficiente. Entretanto, a temperatura elevada do solvente extrator e o tempo de permanência do material extraído em ambiente aquecido, pode resultar em prejuízo para as substâncias termo-sensíveis (ARAGÃO,2002).

2.5.6. Extração por arraste com vapor d'água

Óleos essenciais são produtos de plantas localizados em estruturas especiais de secreção, tais como células, canais, cavidades e pelos oleíferos, de onde podem ser extraídos por arraste com vapor d'água. Os constituintes químicos dos óleos essenciais podem pertencer a diversas classes; de substâncias, porém, predominam os terpenóides e os lignóides.

A obtenção de óleos essenciais pode ser também conseguida através de uma hidrodestilação. Enquanto que pela técnica de arraste com vapor d'água, uma corrente de vapor d'água passa através do material a ser extraído, carreando a parte volátil dos seus constituintes, que após condensação é coletado, a hidrodestilação resulta do aquecimento do material vegetal em água e os vapores resultantes do aquecimento deixa o sistema arrastando consigo o material volátil. Diferentes tipos de extratores podem ser usados nos dois casos. O extrator de Clavenger e suas versões modificadas são comumente utilizadas em hidrodestilação pela sua eficiência e simplicidade.

Arraste com vapor d'água, para extração de óleos essenciais de plantas também pode ser conseguido em aparelho especial que permite extração simultânea, com hexano, dos óleos dispersos na fase aquosa. O tempo de extração dos óleos é de importância crucial para evitar a perda dos produtos voláteis.

2.5.7. Capacetes de pressão

O uso de capacetes de pressão para forçar a penetração de solvente através dos vasos condutores de seiva, com conseqüente expulsão da mesma, tem sido bastante usado. É uma técnica de razoável simplicidade e permite coletar material de seiva sem a contaminação dos outros componentes do lenho da planta.

2.5.8. Extração com ondas ultrassônicas

Sonoquímica é um assunto que começa a aparecer regularmente na literatura especializada, como um método para melhorar as velocidades de reações químicas e aumentar os rendimentos dos produtos das reações fazendo o uso de ondas ultrassônicas. O princípio desse processo consiste no fato que uma corrente de um líquido ou mistura líquida é empurrada sobre pressão para uma lâmina metálica que vibra numa cavidade ressonante, o fenômeno consiste, pois, na conversão de energia elétrica de alta frequência, via vibrações mecânicas em ondas de pressão em solução. Essas ondas criam um enorme número de bolhas microscópicas que implodem violentamente ocasionando que as moléculas aí se tornem intensamente agitadas. Células de tecido vegetal nesse meio podem ter suas membranas arrebentadas, deixando assim extravasar para a solução, os componentes moleculares intracelulares, facilitando grandemente o processo de extração do solvente (THOMA *et al*, 2001).

2.5.9. Extração com microondas

A extração com microondas mostra-se rápida e de eficiência comparável às técnicas tradicionais. Operações contínuas, extrações em série, concentração dos extratos *in situ* e a determinação direta do teor de óleos em plantas, exemplifica a versatilidade do uso desse processo sobre os métodos convencionais.

De princípio relativamente simples, o método implica na imersão do material vegetal em um solvente transparente às microondas. O aquecimento da água contida no material vegetal promove sua dilatação e faz arrebentar as glândulas ou reservatórios oleíferos, podendo mesmo em determinadas condições, arrebentar membranas celulares,

liberando então, as substâncias orgânicas que são dispersas ou solubilizadas nos solventes utilizados.

2.5.10. Extração com fluidos supercríticos

Nesse contexto, na busca de novos extratos e de novas técnicas de extração, é razoável considerar uma nova metodologia de extração que vem adquirindo aceitação muito grande, principalmente no campo de produtos naturais. Trata-se da ação dos fluidos supercríticos sobre os sistemas vegetais a serem extraídos. O termo supercrítico se refere ao estado de uma substância quando a sua temperatura e pressão estiverem acima de valores críticos. Fluido supercrítico é de notável poder solvente, porque acumula propriedades semelhantes às de um líquido, densidade e poder de solvatação e propriedades semelhantes as dos gases, viscosidade e poder de difusão. O conjunto dessas propriedades, indispensáveis para a eficiência do processo extrativo, faz com que extração com fluidos supercríticos seja um processo alternativo às técnicas tradicionais. A preparação da amostra é sempre mais difícil e consome mais tempo do que o processo propriamente dito (THOMA *et al*, 2001). Trata-se de extração feita à temperatura suave e sem a problemática de eliminação de solvente.

2.6. - Aspectos Gerais Sobre Flavonóides

Flavonóides são substâncias amplamente distribuídas no Reino Vegetal, com estruturas baseadas no esqueleto heterocíclico aromático, 2-fenilbenzopirona ou 3-fenilbenzopirona.

Do ponto de vista de sua biogênese, os flavonóides são constituídos de uma unidade C₆ e uma C₉. A unidade C₆, que dá origem ao anel A, é formada pela condensação de três unidades de malonil CoA (com eliminação de três moléculas de dióxido de carbono - CO₂,) , enquanto que a unidade C₉ , que compõe o anel B e os carbonos 2, 3 e 4, é derivada do ácido cinâmico ou um seu derivado oxigenado.

Desta forma, a primeira reação na biossíntese de flavonóides é a condensação do ácido cinâmico ativado com três moléculas de malonil CoA. O primeiro intermediário C₁₅ desta condensação é uma chalcona que, por ciclização, dá origem à flavanona correspondente. Daí em diante, verificam-se as modificações, em uma variedade de caminhos, através de uma série de processos como oxidação, redução,

fechamento de anel, hidroxilação, metilação, rearranjo (migração da arila), prenilação, que levam a uma série de diferentes classes de flavonóides.

Os flavonóides são substâncias fenólicas de baixo peso molecular que estão amplamente distribuídas nas plantas superiores. Os musgos contêm poucos tipos de flavonóides enquanto que, nas algas, nos fungos e nas bactérias, eles não estão presentes. Estas substâncias foram classificadas como metabólitos secundários, pois, inicialmente, pensava-se que tivessem pouca importância biológica, porque sua função na planta não era muito clara. No entanto, eles exibem um espectro variado de funções biológicas e têm um papel importante na interação entre as plantas e o seu meio ambiente. Os flavonóides não somente protegem as plantas contra os efeitos danosos da radiação ultravioleta como, também, possuem um papel crucial no processo de reprodução sexuada. Eles contribuem para a beleza das flores e frutos, estando implicados na sua coloração, as flavonas, conferem as cores amarela ou laranja; as antocianinas, vermelha, violeta ou azul, ou seja, todas as cores do espectro visível, exceto o verde. Alguns têm ação inseticida para proteger a planta de ataques de insetos (isoflavonóides) enquanto outros participam de interações entre a planta e outros organismos, como as associações simbióticas com bactérias e parasitas. Os taninos não hidrolisáveis (flavonóides poliméricos) fazem parte da estrutura de sustentação das plantas. Os flavonóides e antocianinas estão implicados na atração de polinizadores. Para o homem, estes compostos têm sido utilizados há muito tempo como precursores de preparações farmacêuticas, corantes e vários outros fins da indústria química (KOES *et al*, 1994).

Os flavonóides são estruturalmente caracterizados por possuírem dois anéis aromáticos hidroxilados, A e B, unidos por um fragmento de três carbonos (C₆-C₃-C₆). O esqueleto básico é formado a partir de três unidades de malonil-CoA e uma de cinamoil-CoA como iniciador, que é incorporado inalteradamente (KOES *et al*, 1994). Um dos grupos hidroxila é, às vezes, ligado a um açúcar. Podem ser divididos em dois grupos principais: flavonóides (em sentido restrito) e isoflavonóides. Os isoflavonóides são estruturalmente distintos das outras classes de flavonóides por terem seu esqueleto C₁₅ baseado no 1,2-difenilpropano (I). Os outros flavonóides possuem um esqueleto básico C₁₅ do 1,3-difenilpropano (II) e estão amplamente distribuídos em todas as plantas terrestres, estimando-se que sejam conhecidas cerca de 4000 substâncias, entre

agliconas e glicosídeos (Figura – 2.4). Em contraste, a distribuição dos isoflavonóides entre as plantas é relativamente escassa.

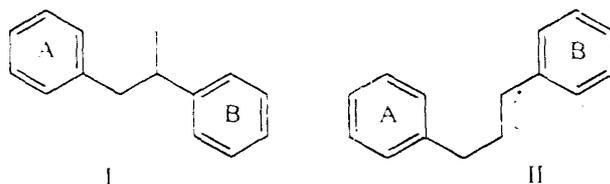


Figura 2.4 - Estruturas básicas dos flavonóides

Os flavonóides podem ser subdivididos em classes, dependendo do nível de oxidação do anel heterocíclico central chalcona, flavona, isoflavona, aurona e antocianina, dentre outras.

2.7. - Técnicas Empregadas na Caracterização e Identificação de Flavonóides

A utilização de plantas medicinais mostra-se um campo para novos e rentáveis investimentos. A sua aceitação, praticamente imediata por parte da população, de um lado interessada em cultivar um modo de vida mais saudável e natural e, de outro, sem possibilidades econômicas de acesso aos medicamentos sintéticos, revela um mercado promissor para esses fitoterápicos. Dessa forma, podemos notar que indústrias, líderes mundiais da produção de medicamentos sintéticos, estão atuando no mercado de plantas medicinais. Este mercado mostra-se promissor, também, para indústria farmacêutica nacional, já que no Brasil encontram-se cerca de 20% das espécies vegetais conhecidas. Contudo, para que o país possa se beneficiar desse inestimável recurso, torna-se necessário, dentre outras providências, o investimento em pesquisas que comprovem, sem dúvida, a eficácia e a não toxicidade das espécies já utilizadas e das novas e um controle da qualidade que possa garantir a espécie da planta, a produção do fitoterápico e a sua comercialização.

É imprescindível o desenvolvimento de novos meios analíticos que possam, inequívoca e rapidamente, estabelecer o perfil de constituintes de cada espécie medicinal, visando a criação de um procedimento de certificação da planta utilizada como sendo a espécie de propriedades medicinais já reconhecidas (ARAGÃO,2002).

2.7.1 - Espectrofotometria no Ultravioleta Visível

A espectrofotometria no ultravioleta visível (UV/VIS) é uma das principais técnicas utilizadas para a análise estrutural de flavonóides. Esta técnica requer uma quantidade pequena de substância pura. A adição de reagentes específicos, que reagem com um ou mais grupos funcionais, pode melhorar as informações obtidas pelo espectro de UV (MABRY *et al.*,1970).

Os flavonóides apresentam, em geral, dois máximos de absorção no espectro no ultravioleta, denominados de bandas. A banda II ocorre na faixa de comprimento de onda de 240-285 nm, correspondente ao anel A, devido ao sistema benzoila; a banda I ocorre de 300-400 nm, anel B, associada ao sistema cinamoila (MABRY *et al.*, 1970).

Na Tabela 2.1 (MABRY *et al.*,1970) são mostradas as faixas de absorção características das bandas I e II de alguns tipos de flavonóides.

Tabela 2.1 - Faixas de absorção de alguns tipos de flavonóides.

TIPO DE FLAVONÓIDE	BANDA I (nm)	BANDA II (nm)
Flavonas	304-350	240-280
Flavonóis	352-380	240-280
Isoflavonas	300-340	247-270
Flavanonas	300-340	270-295
Diidroflavonóis	300-340	270-295
Chalconas	340-390	220-270
Auronas	370-430	220-270
Antocianidinas	465-550	270-280
Antocianinas	465-550	270-280

Fonte: MABRY *et al.*,1970

A intensidade das bandas de absorção constituem, assim como as suas posições, fatores importantes para a identificação dos diversos tipos de flavonóides citados em 2.7. Assim, as flavonas têm faixa de absorção da banda II de 304 a 350 nm, enquanto para os flavonóis, esta faixa é 352-380 nm; as isoflavonas, flavanonas e

diidroflavonóis exibem a banda I com intensidade mais baixa que, às vezes, aparece como um ombro em relação à banda II.

Os espectros no ultravioleta, obtidos a partir de uma solução da substância em metanol, são comparados com os espectros obtidos após a adição de reagentes de deslocamento específico, podendo-se propor o tipo de flavonóide, o número e a posição de hidroxilas e se estas se encontram livres ou não.

Os reagentes mais usados para esta finalidade são o metóxido de sódio, o acetato de sódio, o ácido bórico (na presença de acetato de sódio) e cloreto de alumínio em meio ácido (ácido clorídrico).

O metóxido de sódio é uma base forte e ioniza todos os grupos hidroxilas do núcleo fenólico, tornando difícil correlacionar os deslocamentos obtidos no espectro com a adição desta base.

O acetato de sódio é uma base mais fraca que o metóxido de sódio e ioniza somente os grupamentos hidroxilas mais ácidos em flavonas e flavonóis, ou seja, os que se localizam nas posições 3, 7 e 4. A ionização do grupo hidroxila na posição 7 afeta principalmente a banda II, enquanto que a ionização das hidroxilas em 3 e/ou 4 afeta a banda I.

O ácido bórico, na presença do acetato de sódio, forma quelato com grupos orto-diidróxi do núcleo flavonoídico para todos os flavonóides, exceto para as antocianidinas e antocianinas. Quando os grupos orto-diidróxi se localizam no anel B de flavonas e flavonóis, há um deslocamento da banda I (12-30 nm) e no anel A, nas posições 6, 7 ou 7, 8, o deslocamento é menor. Nas isoflavonas, flavanonas e diidroflavonóis, o deslocamento é de 10-15 nm na banda II (somente no anel A), contudo, se o grupo diidroxil estiver em 5, 6, não haverá deslocamento. Para as auronas e chalconas, um deslocamento de 28-36 nm (na banda I) ocorre quando este grupo está no anel B porém, será menor se estiver no anel A.

O cloreto de alumínio forma complexos com os grupos funcionais: 5-hidroxi-4-ceto, 3-hidroxi-4-ceto e *o*-diidroxil (Figura 2.5).

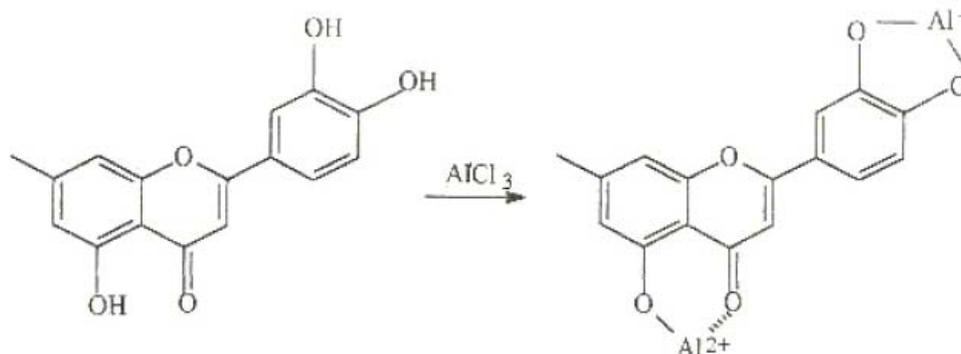


Figura 2.5 - Formação de complexos entre cloreto de alumínio e *o*-diidroxilas.

O método oferece a vantagem de informações estruturais com quantidades pequenas de material. Contudo, torna-se necessário isolar, primeiramente, as substâncias a serem submetidas a este método.

2.7.2. - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A utilização da espectroscopia de ressonância magnética nuclear para a elucidação estrutural de flavonóides está bem estabelecida. Várias agliconas de flavonóides metiladas são solúveis em clorofórmio deuterado, solvente muito usado nas análises por RMN (MENEZES,1996).

Contudo, a maioria das agliconas e todos os glicosilados tem pouca ou nenhuma solubilidade neste solvente. As hidroxilas livres necessitam sofrer derivação com reagentes de trimetilsililação ou então proceder à solubilização das substâncias naturais em solventes deuterados mais hidrofílicos, como acetona, metanol, DMSO e água.

2.7.3- Espectrometria de massas

O espectrômetro de massas é um instrumento que mede a relação massa/carga (m/z) de íons na fase gasosa e a abundância de cada espécie iônica. Embora não faça mais do que isto, o espectrômetro de massas se constitui em uma técnica poderosa dada a sua sensibilidade extremamente elevada um espectro de massas completo pode ser obtido com alguns poucos nanogramas de material (algumas vezes até menos), e íons selecionados podem ser obtidos com poucos picogramas (KITSON *et al.* 1996; DYKE *et al.*, 1971).

Uma das primeiras referências de utilização da EM para a caracterização de flavonóides é de 1963, quando Wilson e Reed (DREWES, 1974) publicaram seu trabalho sobre o espectro de massas de flavonas. De lá para cá, a EM por impacto de

elétrons tem se mostrado uma ferramenta valiosa para a determinação das estruturas de agliconas e glicosídeos de flavonóides (*O*- e *C*-glicosídeos), principalmente quando estão disponíveis em quantidades pequenas. A EM por ionização química - CI - encontra maior utilização na análise de flavonóides glicosilados, mas consegue-se bons resultados com flavanonas e diidroflavonóis.

Os flavonóides apresentam níveis diferentes de oxidação do anel heterocíclico central, o anel C. Este anel é, quimicamente, o que possui as ligações mais frágeis e é ele que primeiro sofre fragmentações sob impacto de elétrons. À primeira vista, a estrutura dos flavonóides, sendo formada por três anéis conjugados entre si, como nas flavonas e flavonóis, nos induz a prever que estas substâncias terão sinais intensos referentes aos íons moleculares. A Figura 2.6 ilustra a estrutura geral dos flavonóides.

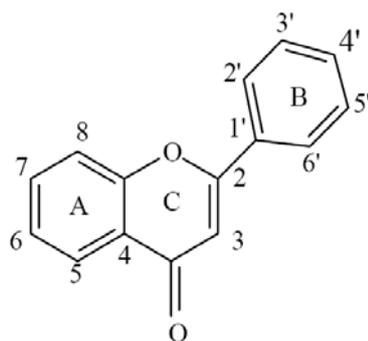


Figura 2.6 - Estrutura geral dos flavonóides

Os flavonóides livres apresentam, em geral, espectros de massas com poucos sinais, como resultado das suas baixas volatilidade e estabilidade. O uso de derivados, na forma de éteres metílicos ou acetatos, veio ajudar a contornar este problema. Fora o aumento da volatilidade, estes derivados fornecem informações não obtidas quando as formas fenólicas são usadas (DREWES, 1974); MABRY *et al* (1970), contudo, defende que a derivação só é necessária quando se trabalha com CG/EM.

Durante muito tempo, desde 1952, quando foi introduzida por James e Martin, a cromatografia com fase gasosa (CG) foi o método de separação destinado quase que exclusivamente, a substâncias voláteis, termorresistentes e de peso molecular baixo. Com o tempo, algumas classes de substâncias sem estas características também puderam vir a ser analisadas pela CG, bastando analisá-las em suas formas derivadas, por serem mais estáveis e voláteis que em seu estado original (DYKE, 1971).

Realmente, a CG/EM é, entre os métodos espectrométricos, a técnica mais poderosa, permitindo não só a identificação como a caracterização das substâncias. Os problemas de interface entre ambas as técnicas já foram superados. Os espectrômetros de massas de baixa e alta resolução são os dispositivos de detecção universal para a CG. Eles podem operar com ionização por impacto de elétrons (EI) ou com ionização química (CI) e nos modos varredura –“*full scan*”- para a identificação de substâncias desconhecidas e monitoração de íons - SIM - para quantificação de uma determinada substância. A maioria dos aparelhos CG/EM já conta com estas duas técnicas de ionização. Estes equipamentos podem ser encontrados com analisadores do tipo “*ion trap*” setor magnético ou quadrupolo. Os limites de detecção variam de 1 ng a 100 pg para EM com quadrupolo e na faixa de 10-100 pg para os EM com “*ion trap*” no modo varredura até a níveis bastante pequenos em pg no modo monitoração de íon Os equipamentos “*ion trap*” têm como desvantagem a fone influência da concentração dos solutos, que pode acarretar em elucidações estruturais incorretas

Em pesquisa de produtos naturais, a CG/EM encontra muitas aplicações na separação, identificação e separação de óleos essenciais e outras substâncias presentes na fração volátil de extratos de plantas. Porém, a sua aplicação, principalmente no que se refere à utilização da cromatografia com fase gasosa para substâncias menos voláteis ou de difícil volatilização, como os flavonóides, é limitada e geralmente é preterida em relação a CL/EM, contudo, pelas características já apreciadas da CG, a CL, por mais ajustada que esteja, não possibilita uma resolução comparável a da CG.

Em relação aos flavonóides, FURUYA (1965) utilizou a CG para a separação e identificação de derivados TMS de agliconas de flavonóides, ainda com colunas empacotadas. Mais tarde, GREENAWAY e WOLLENWEBER, (1988), CREASER *et al* (1991 e 1989) e BANKOVA *et al.* (1992) usaram a CG com coluna capilar, melhorando assim a resolução. Estes autores utilizaram a CG/EM para a identificação de flavonóides diretamente em extratos brutos de plantas, não se fazendo necessário o isolamento prévio das substâncias de interesse. SCHMIDT e MERFORT (1993), contudo, mostraram a possibilidade de efetuar a CG/EM sem derivação das amostras no seu trabalho com flavonóides metoxilados (mais de três grupos metoxila) da *Arnica alpina* e *Heterotheca inuloides* Cass. , sendo assim, a metodologia proposta mostrou-se suficientemente sensível para a extração, detecção e caracterização de substâncias presentes no material lipofílico de folhas em quantidades bastante diminutas.

CAPÍTULO III

3. MATERIAIS E MÉTODOS

No desenvolvimento do presente estudo foram realizados experimentos no sentido de observar o comportamento de plantas medicinais, hortelã e milona, utilizadas pela população para fins terapêuticos, oriundas da região nordeste do Brasil. Vale ressaltar que a composição das referidas plantas diverge, sendo a hortelã rica em óleos essenciais (MATOS,1989; BARBOSA FILHO *et al.*, 1987; ARAGÃO,2002).

O desenvolvimento experimental do projeto foi realizado no **Laboratório de Transferência em Meios Porosos e Sistemas Particulados**, UAEQ/UFCG. O processo de obtenção do extrato seco e líquido inicia com a coleta das folhas *in natura*, seguida da secagem em camada fina e processamento das folhas secas incluindo maceração para obtenção dos extratos das folhas, seguido de evaporação do solvente para obtenção dos extratos em pó.



Figura 3.1 – Processamento das folhas para realização dos experimentos

Na última etapa mostrada no fluxograma (Figura 3.1) foram realizadas análises para determinar a concentração dos princípios ativos. Neste trabalho foi escolhido o teor de flavonóides totais, a umidade na base seca e o rendimento de sólidos extraíveis (mg/100g de folhas frescas) para acompanhar o desempenho do processo.

3.1. Matéria-Prima

3.1.1– As Plantas

No desenvolvimento do presente estudo, propôs-se a utilização de plantas medicinais oriundas da flora paraibana. As plantas *in natura* foram obtidas: hortelã (*Mentha x vilosa* Hudson), no Sítio Cuités, Município de Campina Grande e, milona (*Cisampelus sympodialis*) no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica/UFPB. Após coleta, esse material era acondicionado em sacos plásticos e utilizado imediatamente. Os aspectos desses vegetais foram descritos no CAPÍTULO II, quando da revisão bibliográfica. A escolha dessas espécies foi baseada nas suas propriedades medicinais e utilização pela população na preparação de formas farmacêuticas com finalidade curativa ou mesmo preventiva de doenças. Optou-se por estudar plantas com diferentes constituintes, já mencionados no CAPÍTULO II, quando da revisão bibliográfica, e assim poder realizar um estudo comparativo dos referidos vegetais.

3.2 - Secagem das Folhas

A etapa de secagem foi estudada através do equilíbrio higroscópico e da cinética de secagem. Para acompanhar a secagem e o equilíbrio foi necessário determinar a umidade inicial das folhas pelo método da estufa a 105°C por 24 horas. A umidade inicial pode ser calculada em base seca e base úmida de acordo com as Equações 3.1 e 3.2, respectivamente.

$$X_i = \frac{w_i - w_s}{w_i} \quad (\text{base úmida}) \quad (3.1)$$

$$X_i = \frac{w_i - w_s}{w_s} \quad (\text{base seca}) \quad (3.2)$$

Onde:

X_i umidade inicial

w_i massa inicial

w_s massa seca

A umidade inicial em base seca é obtida para que se possa calcular a percentagem de massa seca e a partir desta, a umidade da amostra em função do tempo de secagem através da perda de massa,

3.2.1 Determinação das isothermas de equilíbrio higroscópico

Com o objetivo de obter as isothermas de equilíbrio higroscópico das folhas *in natura* foi utilizado o método gravimétrico para determinar o teor de umidade enquanto que a atividade de água foi medida mediante o equipamento Novasina. As amostras com diferentes teores de água foram obtidas mediante secagem em estufa com circulação de ar. Amostras de aproximadamente 1,000g de folhas frescas foram pesadas em células plásticas, utilizando balança analítica com precisão de 0,0001g e levadas à estufa com circulação forçada de ar, na temperatura de 60°C por um período de 2hs. Após este tempo a amostra era levada para determinação da atividade de água (a_w) por medida direta no NOVASINA, termostaticado na temperatura desejada. O registro da atividade de água era realizado após atingido o equilíbrio, evidenciado pela estabilização da leitura. Em seguida, pesava-se a amostra e registrava sua massa e o conteúdo de umidade de cada amostra em equilíbrio era calculado. Procedendo a leituras de outras células em tempos de 10 em 10 minutos, este processo se repetia até que a última leitura apresentasse um valor igual ou maior que a penúltima. Este procedimento foi utilizado para obter as isothermas a 30°C, 40°C e 50°C.

3.2.1.1. Descrição do Thermoconstanter Novasina (TH-200)

Para a aquisição dos dados experimentais das isothermas de desorção de folhas, foi utilizado um Thermoconstanter Novasina (TH-200), Figura 3.2, que é um equipamento específico para se determinar a_w (atividade de água) com temperatura controlada.

Neste equipamento a temperatura da câmara é regulada por meio de um controlador localizado no painel frontal do Novasina, que serve para fixar o valor da temperatura ajustada, com variações inferiores a 0,2 °C, em toda escala de trabalho que é entre as faixas de temperatura de 0 à 50 °C. A câmara de medição combina com o regulador de temperatura e forma uma pequena câmara climática.

A cabeça de medição contém um sensor de umidade e temperatura. O BSK Novacina, é o sensor que mede a umidade de equilíbrio e temperatura de pequenas amostras que neste trabalho foi de aproximadamente 8,0000g, que se apresenta na forma

de sólidos, (é possível determinar a umidade de equilíbrio no Novacina de sólidos, líquidos e gel). Este equipamento possui um transmissor RTD -20, que converte os sinais da célula plástica de medição. Os valores medidos de UR (A_w) e de temperatura podem ser lidos diretamente no mostrador frontal do mesmo.



Figura 3.2 - Termoconstanter Novasina TH 2000.

3.2.2. Cinética de Secagem

A cinética de secagem foi determinada mediante experimentos em camada delgada com circulação de ar através de um leito de folhas. Todos os experimentos de secagem foram realizados num secador convectivo utilizando velocidade do ar de 1,56 m/s. Conforme estudos preliminares, espera-se que com essa velocidade a resistência externa à transferência de massa seja desprezível, podendo ser considerado condição de contorno de equilíbrio na superfície.

3.2.2.1. Descrição do Secador Convectivo

A instalação utilizada é basicamente a descrita em trabalhos anteriores apresentados por ARAGÃO et al (2005), ALSINA *et al* (1997) e ALMEIDA (1991). A coluna cônica-cilíndrica, de 17,8 cm de diâmetro e 60 cm de altura. Utilizou-se na parte cônica esfera de vidro para distribuir melhor o ar de secagem. As condições operacionais utilizadas foram: a vazão volumétrica do ar de secagem de 140 m³/h e temperatura de 40, 50, 60 °C.

O equipamento é representado esquematicamente na Figura 3.3, onde pode-se descrever os seguintes constituintes:

- a) Compressor radial para impulsionar o ar no interior da linha de alimentação do leito, tipo S100L2, com 4 Cv e 2920 rpm, fabricado pela Metalúrgica Abramo ERBELE S/A.
- b) Rotâmetro para medir a vazão do ar, tipo R.2.V.C. Haste, capacidade 400 m³/h, fabricado pela OMEL S/A.
- c) Válvula para manter o controle de vazão do ar na linha de alimentação, tipo globo.
- d) Coluna cônico-cilíndrica.
- e) Aquecedor elétrico com nove resistências e potência de 27 KW. No presente trabalho, apenas 3 resistências foram utilizadas.

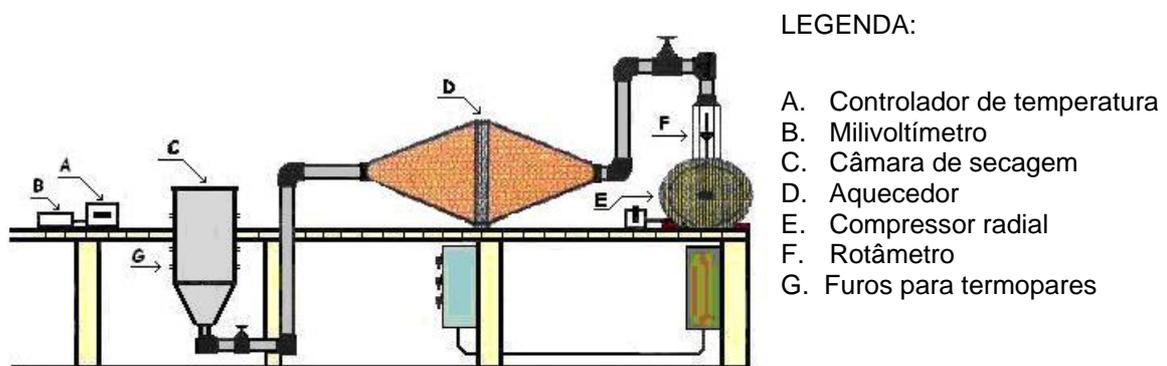


Figura 3.3 – Diagrama esquemático do equipamento utilizado na secagem das folhas em camada fina (ALMEIDA, 2004).

3.2.2.2. Câmara de Secagem

A câmara de secagem é formada por uma coluna cilíndrica de 17,80 cm de diâmetro e 60 cm de altura. Possui uma seção inferior tronco cônica que funciona como um distribuidor de ar onde são colocadas esferas de vidro uniformes, empilhadas aleatoriamente, que permite a uniformidade do ar de secagem em todo o leito. A câmara é isolada termicamente nas laterais com lã de algodão revestida por fina camada de alumínio. Nas laterais contêm furos onde são colocados os equipamentos para aferição da temperatura. Dentro da câmara era colocada uma cesta de alumínio com malha fina para colocação da amostra em estudo e passagem de ar através da referida amostra. Um termopar é inserido no fundo da seção cônica, para se obter a temperatura do ar de

secagem na entrada do secador e um termômetro acima da cesta, medindo assim a temperatura de saída do secador. O conjunto de instrumentos foi aferido, junto com o respectivo instrumento de medida (milivoltímetro) e as temperaturas eram fixadas através do controlador.

3.2.2.2.1. – Procedimento

O soprador era acionado com a vazão especificada e o seletor do controlador era fixado na temperatura desejada. Uma vez estabilizadas as condições operacionais as folhas *in natura* eram colocadas na cesta e pesadas . Sobre a cesta era colocada uma tampa telada para impedir a saída de material por arraste durante a secagem. Em seguida o conjunto era disposto no secador. Em períodos de tempo pré-determinados, a os 3,5,10,20,30,40,50,60,70,80 e 90 minutos, a cesta com o material era retirada rapidamente e pesada. A partir da perda de massa era calculado o conteúdo de água para cada um dos tempos mencionados. O teor de umidade inicial das amostras foi determinado através do método gravimétrico conforme descrito acima..

3.3. Maceração

O produto com baixo teor de umidade, composto pelas folhas secas de hortelã e de milona, foi submetido ao processo de maceração, de acordo com metodologia bastante usual na indústria farmacêutica: pesa-se o material em um recipiente e inicia-se o umedecimento do mesmo com álcool etílico a 70 %. Após umedecido, o material permanece em repouso por 72 h no mesmo recipiente. Observa-se se a mistura e completa-se o recipiente com álcool etílico a 70 % até a superfície. O processo de extração por maceração, à temperatura ambiente (25 – 30 °C), é completado após 72 h de repouso.

3.4. Obtenção do extrato bruto

O extrato bruto foi obtido mediante evaporação do solvente a temperatura de 60 °C em estufa com circulação de ar por períodos variáveis de tempo, de acordo com a quantidade de solvente a evaporar-se. Após a evaporação total o extrato foi preparado para a quantificação de flavonóides totais através do método descrito no ponto 3.9 (SOUZA, 1997).

3.5. - Ensaios Preliminares.

Ensaios preliminares com extratos vegetais foram realizados com a finalidade de testar os equipamentos e instrumentação e promover os ajustes necessários. Verificou-se o teor de sólidos totais nas amostras de extrato para observação das condições de trabalho com o mesmo. Tomou-se o cuidado de determinar a vazão e velocidade do ar no secador, bem como, as temperaturas a serem utilizadas nos experimentos subsequentes, garantindo a manutenção dos princípios ativos. Assim, obtiveram-se as melhores condições para realização dos ensaios com extratos vegetais.

3.6- Caracterização Físico-Química do Material Obtido.

3.6.1. Caracterização Física – O extrato líquido foi caracterizado com relação a concentração de sólidos solúveis e sólidos totais. Para determinação de sólidos solúveis foi utilizado o Refratômetro onde, através deste equipamento verifica-se a leitura direta do índice de refração dos extratos vegetais. Inicialmente, foi construída uma curva de calibração com quercetina, substância padrão para flavonóides, dissolvida em solução alcoólica 70%, para a determinação de sólidos solúveis no extrato líquido. A Figura 3.4 mostra o gráfico da curva padrão. Deve-se tomar o cuidado de aferir o instrumento com água e aguardar que as temperaturas da amostra e do instrumento tornem-se iguais.

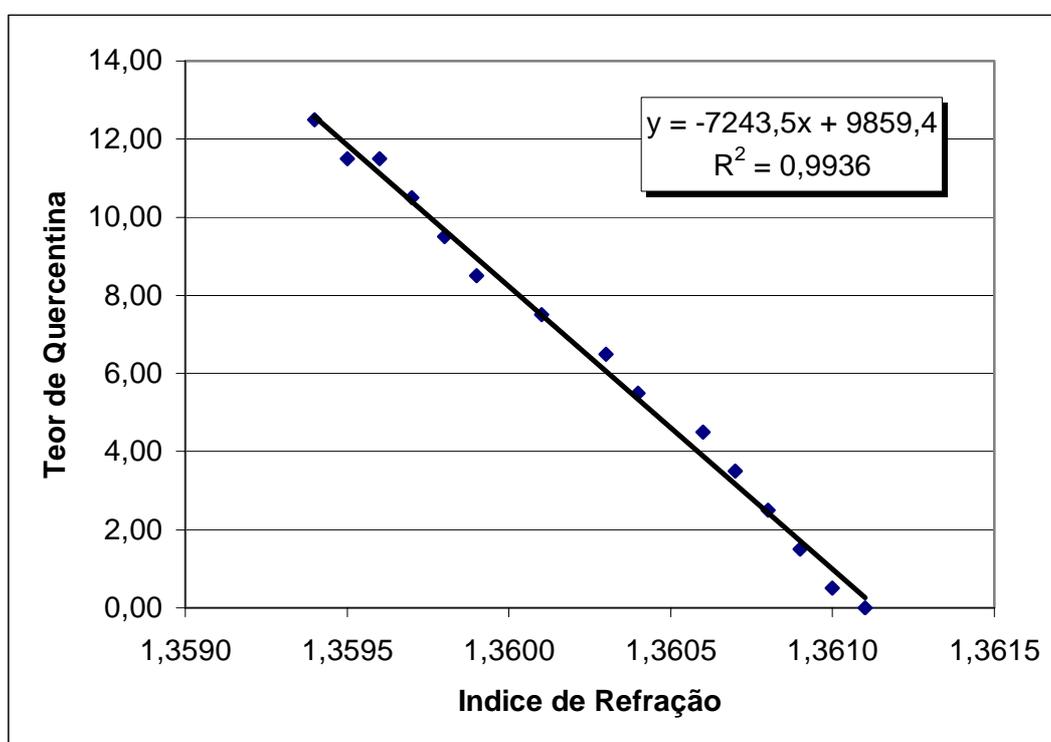


Figura 3.4 – Gráfico da curva padrão no refratômetro

A determinação de sólidos totais foi realizada através do método da estufa, que consiste em pesar uma placa de Petri vazia, depois pesar a mesma placa de Petri contendo certa quantidade de solução extrativa. A seguir, essa placa deve ser levada a estufa a 102 ± 1 °C e deixada no interior deste equipamento até que não haja mais variações de massa, a placa deve ser novamente pesada para o cálculo da concentração de sólidos. Com esses valores determina-se o teor de sólidos.

3.6.2. Caracterização Química – Análise do Teor de Flavonóides

Para acompanhar o processo quanto a quantificação de componentes ativos, foi escolhido o teor de flavonóides totais. A escolha foi baseada em dados da literatura onde ARAGÃO (2002) e MARGARETH (1999) relatam a presença desses princípios nas plantas medicinais ora estudadas. A importância farmacológica desses princípios, bem como a simplicidade da análise contribuíram para a escolha.

A caracterização dos flavonóides pode ser realizada em extratos vegetais por diversas metodologias, permitindo a avaliação simultânea de vários constituintes, podendo ser feita por ensaios cromáticos, cromatográficos, espectroscópicos ou fotométricos.

Nesse estudo utilizou-se preliminarmente de uma metodologia usual no laboratório da realização do presente trabalho, onde o material, folhas frescas de plantas medicinais, foi conduzido a estufa com circulação de ar a 50 °C por diferentes tempos e temperaturas, objetivando a definição de uma matriz de planejamento experimental.

A caracterização química dos extratos foi realizada através da determinação da concentração de flavonóides totais expressos como quercetina. Na Figura 3.5 é mostrado o gráfico da curva padrão.

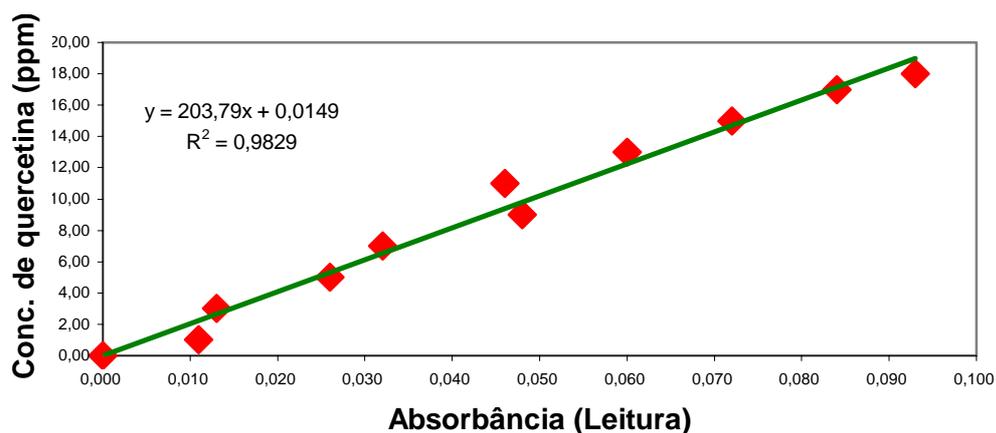


Figura 3.5 – Gráfico da curva de calibração com quercetina no espectrofotômetro

A metodologia para a dosagem de flavonóides totais foi baseada no método descrito por SOUZA (1997). Assim descrita:

Em primeiro lugar, deve-se construir uma curva de calibração com quercetina (padrão analítico).

Foi construída uma curva utilizando 5 mg de quercetina, diluídos em balão volumétrico de 100 mL, com uma solução etanólica a 40% (v/v). Esta solução é o único solvente utilizado na metodologia. Partindo dessa solução padrão faz-se diluições em concentrações pré-estabelecidas, do seguinte modo:

Primeiramente, obtém-se a solução de compensação, partindo de 0,5 mL da solução padrão em balão de 25 mL, completando o volume com solução etanólica a 40%.

Prepara-se a solução amostra da calibração, com 0,5 mL da solução padrão em balão de 25 mL, adiciona-se 2 mL de solução de cloreto de alumínio a 0,5% e completar-se o volume com a solução etanólica a 40%. Obtém-se assim, um valor de concentração de 1 µg/mL. Aguarda-se o tempo da reação que é de 30 minutos após a adição de AlCl_3 e realizam-se as leituras. Logo, obtêm-se os demais pontos da curva. A leitura é realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 425 nm.

No segundo momento, procede-se da mesma forma para amostra experimental, ou seja, extratos vegetais. A massa inicial de extrato seco foi acrescida de 80 ml de solução etanólica a 40% e mantida sob agitação durante 30 minutos. A solução obtida foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e o volume completado. Filtra-se a amostra desprezando os primeiros 30 mL, e o filtrado tem novamente seu volume

completado para 100 mL. Uma alíquota de 10 mL é transferida para balão de 25 mL e o volume completado com solução etanólica a 40% (solução de compensação). Outra alíquota de 10 mL é transferida para balão de 25 mL acrescida de 2 mL de cloreto de alumínio a 0,5% e o volume completado. Aguardam-se os 30 minutos de reação e procedem-se as leituras.

É válido ressaltar, que cada amostra tem uma solução de compensação e que deve ser lida como um branco para cada amostra. Deve-se procurar encontrar a melhor concentração inicial para não “estourar” o limite de detecção do espectrofotômetro.

A quantificação de flavonóides totais baseia-se na propriedade de reação de flavonóides com o cloreto de alumínio formando um complexo que desloca o comprimento da absorção na região 420 nm.

3.7 - Planejamento Experimental Fatorial

Segundo BARROS NETO *et al.* (1996), no planejamento experimental, a primeira atitude, é determinar quais são os fatores (Variáveis de entrada e de Saída) de interesse para o sistema que se deseja avaliar e em seguida, definir que objetivo se pretende alcançar com os experimentos, para determinar que tipo de planejamento fatorial deva ser utilizado. Estes requisitos são indispensáveis para realização do experimento uma vez que, o método utilizado para análise depende diretamente do planejamento realizado (FREIRE, 1992).

Foi estabelecido um planejamento fatorial 2^k onde foram estudados os efeitos das variáveis de entrada: tempo de secagem da planta medicinal, temperatura durante a secagem convectiva e tipo de folha (hortelã-H e milona –M). Os níveis das variáveis de entrada trabalhados são mostrados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Definição dos Níveis das variáveis de entrada

Variáveis	Nível (-)	Nível (+)
Tempo (min)	30	60
Temperatura (°C)	40	60
Tipo de folha	M	H

Foi realizado o planejamento fatorial $2^2 + 3$ pontos centrais, com realização de duplicatas e também foram analisados dois pontos da amostra *in natura*, com essa

configuração a totalidade dos experimentos é mostrada na Tabela 3.2. Como variáveis de saída serão consideradas a quantidade de flavonóides totais, a umidade do produto e rendimento de sólidos solúveis na extração.

Tabela 3.2 – Matriz Experimental

Ensaio	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)	Folha
1	30 (-)	40 (-)	H (-)
2	60 (+)	40(-)	H (-)
3	30 (-)	60 (+)	H(-)
4	60 (+)	60(+)	H(-)
5	30 (-)	40 (-)	M (+)
6	60 (+)	40 (-)	M(+)
7	30 (-)	60 (+)	M(+)
8	60 (+)	60(+)	M(+)
9	30 (-)	40 (-)	H (-)
10	60 (+)	40(-)	H (-)
11	30 (-)	60 (+)	H (-)
12	60 (+)	60 (+)	H (-)
13	30 (-)	40 (-)	M (+)
14	60 (+)	40 (-)	M (+)
15	30 (-)	60 (+)	M (+)
16	60 (+)	60 (+)	M (+)
17	45 (0)	50 (0)	H (0)
18	45 (0)	50 (0)	H (0)
19	45 (0)	50 (0)	H(0)
20	45 (0)	50 (0)	M (0)
21	45 (0)	50 (0)	M (0)
22	45 (0)	50 (0)	M (0)
23	In natura	ambiente	H
24	In natura	ambiente	H
25	In natura	ambiente	M
26	In natura	ambiente	M

Todos os experimentos planejados são mostrados na Tabela 3.2, onde temos as variáveis de entrada, ditas independentes, tempo, temperatura e tipo de folha. As variáveis dependentes, ou de saída, ou ainda, resposta, foram teor de flavonóides, umidade e rendimento. O tempo e a temperatura foram dados em minutos (min) e graus Celsius (°C), respectivamente, já para variável qualitativa, tipo de folha, são Hortelã (H) e Milona (M). As respostas são o percentual de flavonóides extraídos das folhas, expressos na base seca de folhas, a umidade na base seca, e o rendimento, este é considerado como o total de sólidos extraíveis em termos de mg/100g de folha dos referidos vegetais *in natura*.

Inicialmente foram realizados os ensaios observados na Tabela 3.2, analisando inclusive as amostras *in natura* dos dois lotes de cada planta, tendo em vista a realização dos experimentos em etapas: com a amostra inicial foi realizado as quatro primeiras análises e dois pontos centrais, e com uma segunda amostra foi realizado a duplicata e o terceiro ponto central.

Para melhor compreensão do estudo a avaliação dos resultados da secagem das duas espécies vegetais em conjunto: hortelã e milona foi realizada de acordo com o planejamento fatorial $2^3 \times 2$. Em virtude de o estudo contemplar uma variável qualitativa, tipo de folha, no primeiro momento será apresentado o resultado da matrix já referenciada.

Na realização da análise estatística, foi utilizado o programa “Statistica”, cuja matriz das variáveis independentes e de resposta é mostrada na Tabela 3.3. É válido ressaltar que todas as interações entre as variáveis serão analisadas com um limite de confiança de 95 % e dados detalhados, incluindo o desvio padrão e desvios relativos à estimativa dos efeitos das variáveis de composição, de entrada, e de suas interações sobre todas as variáveis respostas, saída, serão mostradas no decorrer da apresentação dos resultados e discussões.

A matriz mostrada na Tabela 3.3 apresenta as principais variáveis independentes, tendo como respostas o teor de flavonóides encontrados nas amostras vegetais, a umidade expressa na base seca e o rendimento observado em mg/ 100g de folhas de ambas as espécies, considerando as interações entre todas as variáveis com um limite de confiança de 95%. O teor de flavonóides será expresso em termos do padrão quercetina, conforme metodologia descrita no capítulo anterior, item 3.6.2, desenvolvida por SOUZA (1997). Já a umidade será realizada pelo método tradicional

da estufa e, o rendimento que será dado pela quantidade em miligrama de sólidos solúveis encontrado em 100 gramas de folhas frescas.

Tabela 3.3 - Valores codificados da matriz $2^3 \times 2$

Ensaio	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)	Folha
1	30 (-)	40 (-)	H (-)
2	60 (+)	40(-)	H (-)
3	30 (-)	60 (+)	H(-)
4	60 (+)	60(+)	H(-)
5	30 (-)	40 (-)	H (-)
6	60 (+)	40(-)	H (-)
7	30 (-)	60 (+)	H (-)
8	60 (+)	60 (+)	H (-)
9	30 (-)	40 (-)	M(+)
10	60 (+)	40 (-)	M(+)
11	30 (-)	60 (+)	M(+)
12	60 (+)	60(+)	M(+)
13	30 (-)	40 (-)	M(+)
14	60 (+)	40 (-)	M(+)
15	30 (-)	60 (+)	M(+)
16	60 (+)	60 (+)	M(+)

E, no intuito, de verificar a ação sobre as variáveis respostas das plantas medicinais em estudo separadamente foi realizada análise estatística através do planejamento da matriz $2^2 + 3$ pontos centrais.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados das isotermas de dessorção das folhas de hortelã e milona, que mostram a relação entre a quantidade de água adsorvida na amostra e a umidade relativa do ar em equilíbrio com as mesmas. Apresentam-se ainda, dados da cinética de secagem de folhas frescas de hortelã e milona.

São informados dados sobre o efeito do tempo e temperatura quando da secagem das folhas em secador convectivo, bem como, resultados do teor de flavonóides totais, umidade e rendimento do processo nas amostras utilizadas nos experimentos citados.

4.1-Secagem das Folhas

4.1.1. Isotermas de equilíbrio higroscópico das folhas

Os dados experimentais das isotermas de dessorção obtidos para as folhas de hortelã as temperaturas de 30, 40 e 50 °C e milona, a temperaturas de 30, 40 e 50 °C, são apresentados nas Figuras 4.1 a 4.6 onde são observadas as curvas de equilíbrio com os dados obtidos de atividade de água (a_w) e umidade de equilíbrio $X(bs)$ para as temperaturas estudadas.

Como se observa nas Figuras 4.1 a 4.6 as isotermas de hortelã e milona se apresentam na forma sigmóide típica e característica de material com alto teor de água. Três diferentes regiões podem ser observadas nas isotermas de dessorção: $0,0 < a_w < 0,3$, correspondendo ao aumento do teor de água com a_w , característico de concentração de grupo polar; a região entre 0,3 e 0,6 da atividade de água que representa material de hidratação, pontes de hidrogênio e forças de Van der Waals e $a_w > 0,6$ onde a força osmótica e a capilaridade predominam.

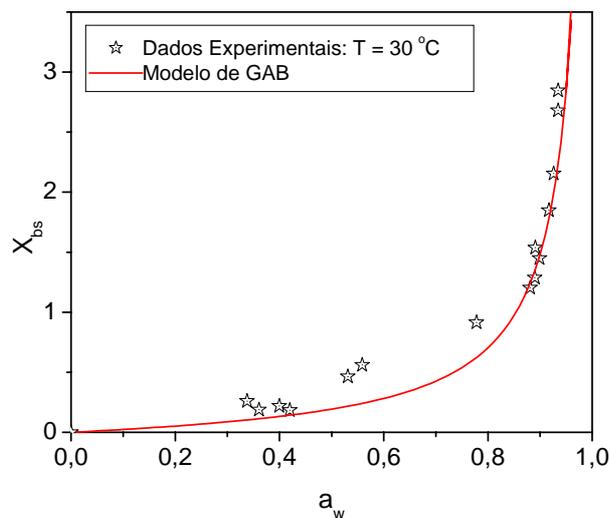


Figura 4.1 - Isoterma de desorção de folhas hortelã a 30 °C

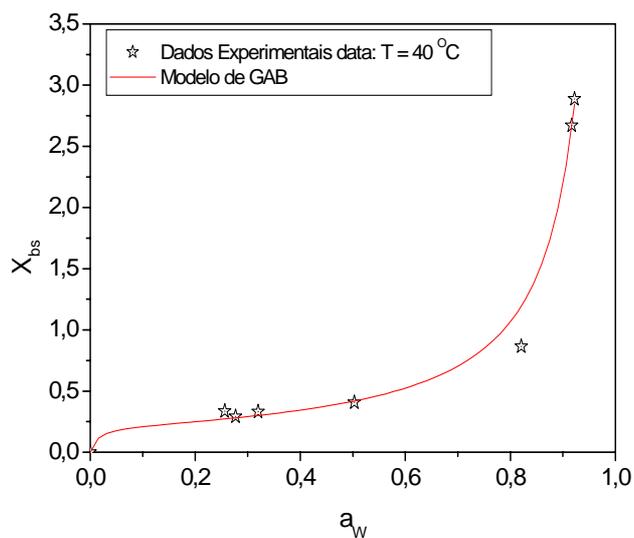


Figura 4.2 - Isotermas de desorção das folhas de hortelã a 40 °C

Verifica-se, ainda que, conforme esperado, a umidade de equilíbrio aumenta com o aumento da atividade de água para todas as temperaturas e que há um decréscimo da umidade de equilíbrio para mesma atividade de água à medida que a temperatura aumenta. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por CORRÊA e ALMEIDA (1999), KECHAOU e MAALEJ (1999) e CORRÊA *et al* (2001) que concluíram em seus trabalhos

para sementes de algodão herbáceo, banana e polpa cítrica peletizada, respectivamente, que a umidade de equilíbrio aumenta quando há um aumento da atividade de água à mesma temperatura e que a mesma diminui quando a temperatura aumenta para a mesma atividade de água.

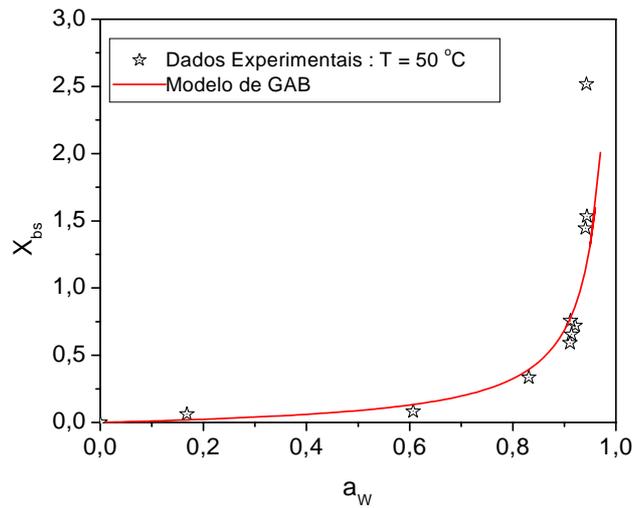


Figura 4.3 - Isotermas de dessecção das folhas de hortelã a 50 °C

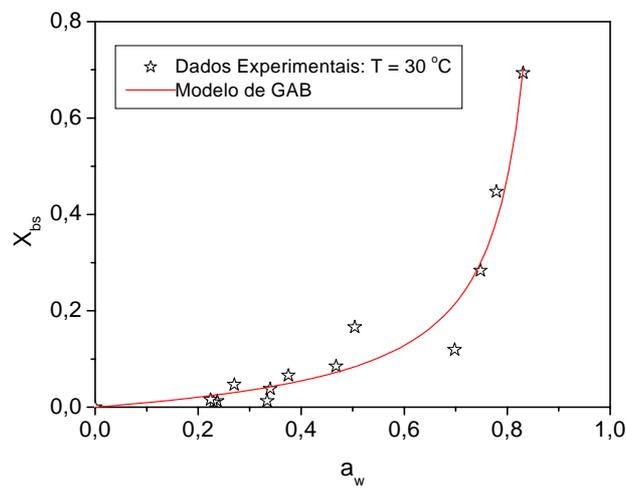


Figura 4.4 - Isoterma de dessecção de folhas milona a 30 °C

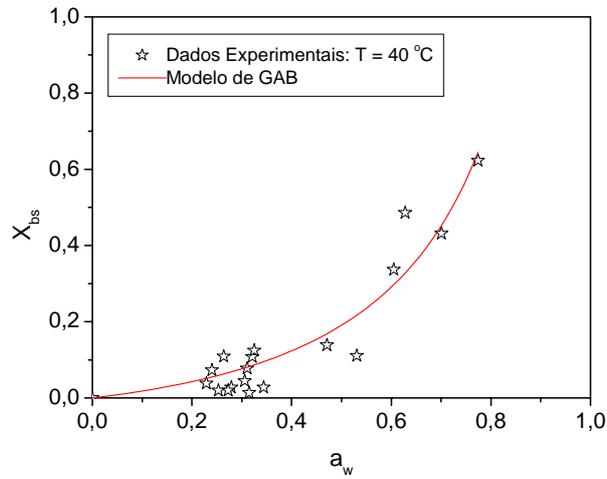


Figura 4.5 - Isotermas de dessecção das folhas de milona a 40 °C

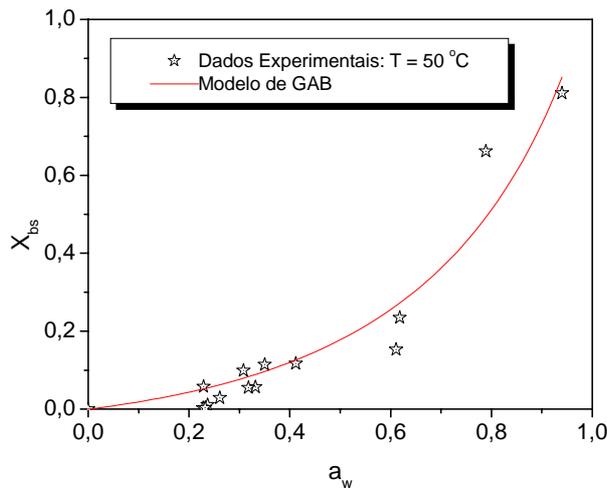


Figura 4.6 - Isotermas de dessecção das folhas de milona a 50 °C

As isotermas foram ajustadas mediante o modelo de GAB (Equação 2.3). As constantes da Equação de GAB obtidas por regressão não linear através de dados experimentais da *hortelã* nas temperaturas de 30, 40 e 50°C são mostradas na Tabela 4.1 e dados de milona na Tabela 4.2.

Tabela 4.1 - Parâmetros da Equação de GAB (hortelã)

T, °C	Constantes K	X _m	C	R ²
30	0,30	8,633	0,956	0,98
40	0,25	5,590	0,989	0,99
50	0,12	0,346	0,956	0,99

Tabela 4.2 - Parâmetros da Equação de GAB (milona)

T, °C	Constantes K	X _m	C	R ²
30	0,1	0,7636	1,109	0,96
40	0,1	1,6545	0,9371	0,90
50	0,1	2,1737	0,729	0,93

Os resultados mostram que o teor de umidade da monocamada diminui com o aumento da temperatura de sorção, como tem sido observado em muitos outros sistemas naturais (KUMAR *et al.*, 2005). No entanto, estes resultados diferem dos obtidos por MOURA *et al.* (2001) e GABAS (1998) que observaram comportamento crescente para o conteúdo de umidade na monocamada em seus trabalhos com secagem de caju e uva. Provavelmente esta divergência seja proveniente das diferenças de estabilidade tanto físicas quanto químicas destes produtos desidratados e das condições psicrométricas do ar de secagem. A constante C de GAB diminui com o aumento da temperatura, enquanto que K praticamente não apresenta variações significativas, mantendo-se em valores próximos de 1,0.

Para as isotermas de hortelã o modelo matemático de GAB apresentou valores para os coeficientes de determinação (R²) superiores a 98 % considerado aceitável segundo grande parte dos pesquisadores. ARAÚJO (2001) determinou as isotermas de dessorção do fruto da goiabeira e observou que o modelo de GAB apresentou os melhores ajustes aos dados experimentais para as temperaturas mais elevadas entre as estudadas.

Para milona o valor de X_m foi deixado constante em virtude do ajuste pelo ponto de inflexão, o C de GAB aumenta com o aumento da temperatura, enquanto K apresenta-se entre 0,7 e 1,1. Já o coeficiente R² foi aproximadamente 95%, o que torna o modelo de GAB aceitável para esse estudo.

Resultado semelhante para o modelo de GAB foi obtido por LOMAURO *et al* (1985) que observaram que a equação de GAB representa com grande precisão as isotermas de sorção em mais de 50 % das frutas, vegetais e carnes, e é amplamente utilizada por diversos pesquisadores para a descrição do comportamento de isotermas de dessecção de diversos produtos agrícolas.

Os resultados obtidos permitem afirmar que o modelo de GAB é viável para realização do ajuste dos dados experimentais das isotermas de dessecção das folhas de hortelã e milona. Assim, dentro das condições estudadas, este modelo é indicado para representar as isotermas de dessecção das folhas de hortelã. Sendo necessário uma melhor avaliação dos dados obtidos para milona.

Foi observado que as folhas de hortelã apresentam-se com maior atividade higroscópica quando comparadas as folhas de milona. Verifica-se que a hortelã adquire o equilíbrio higroscópico mais rapidamente que a milona, nas mesmas condições experimentais. Isso deve-se a presença de óleos essenciais nas folhas de hortelã.

4.1.2. Cinética de Secagem das Folhas em Camada Delgada

A cinética de secagem visa à compreensão do mecanismo da secagem e dimensionamento de secadores e fornece informações sobre o comportamento de um material frente a diferentes condições de secagem, possibilitando ajuste de equações que podem auxiliar no entendimento do fenômeno de transferência de massa.

Nas Figuras 4.7 a 4.10 são representadas as curvas de secagem de hortelã, obtidas em condições de convecção forçada através de camada delgada de folhas frescas. Nas figuras é representada a razão de umidade X^* em função do tempo para as temperaturas de secagem de 40, 50, 60 e 70°C, respectivamente.

A razão de umidade X^* é definida pela equação:

$$X = \frac{X - X_{\infty}}{X_0 - X_{\infty}} \quad (4.1)$$

em que,

X - umidade média na base seca em função do tempo

X_0 - umidade inicial

X_∞ - umidade de equilíbrio com o meio.

A umidade de equilíbrio X_∞ foi estimada a partir da evolução da taxa de secagem com o tempo, obtida mediante diferenciação da curva de secagem, seguida de extrapolação numérica para obter o ponto de taxa de secagem nula, onde $dX/dt=0$.

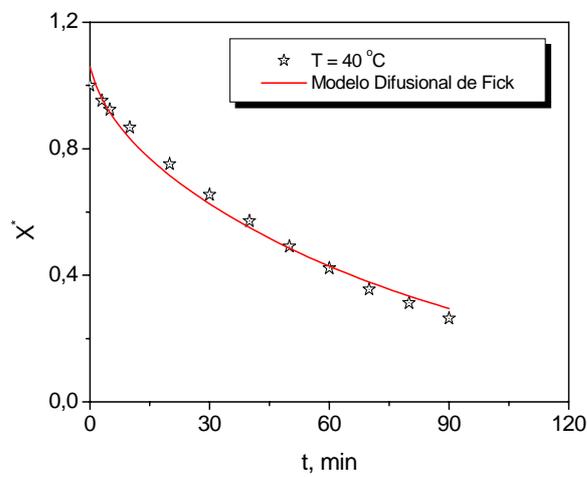


Figura 4.7 - Curva de secagem para hortelã 40°C

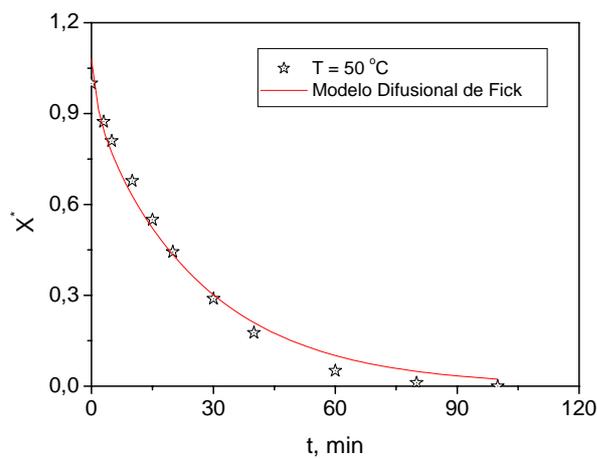


Figura 4.8 - Curva de secagem para hortelã 50°C

Observa-se nas Figuras 4.7 a 4.10 que, como esperado, quanto mais elevada a temperatura, mais rapidamente se processa a secagem. Na FIGURA 4.10, observa-se que as folhas de hortelã, praticamente atingem a umidade de equilíbrio após 30 minutos na temperatura de 70°C e as curvas de secagem, para as temperaturas 40, 50, 60 e 70 °C, tem o mesmo comportamento, reduzindo o tempo de secagem com o aumento da temperatura. Comportamento semelhante foi encontrado nas curvas de secagem em camada delgada de folhas de milona, nas temperaturas de 40, 50 e 60°C, mostradas nas Figuras 4.11 a 4.13. A secagem ocorre no período de taxa decrescente e torna-se mais rápida quanto maior a temperatura de operação. Entretanto, é interessante notar que, se compararmos as curvas obtidas com igual temperatura de operação, as folhas de hortelã apresentaram uma cinética de secagem mais rápida que as de milona. Este fato é facilmente explicável quando se observa que a hortelã é rica em óleos essenciais que evaporam facilmente quanto maior a temperatura utilizada no experimento (MATOS, 1989).

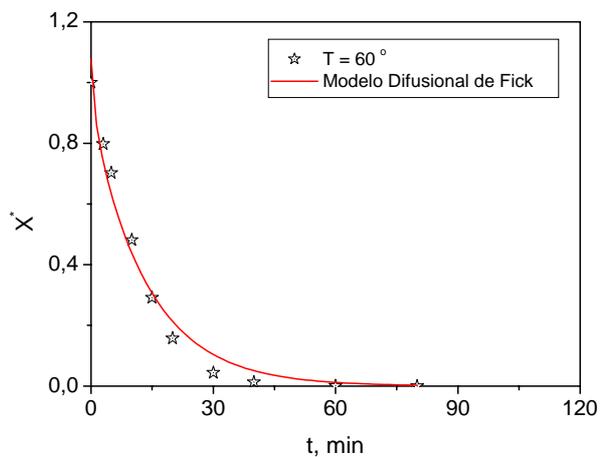


Figura 4.9- Curva de secagem para hortelã a 60 °C

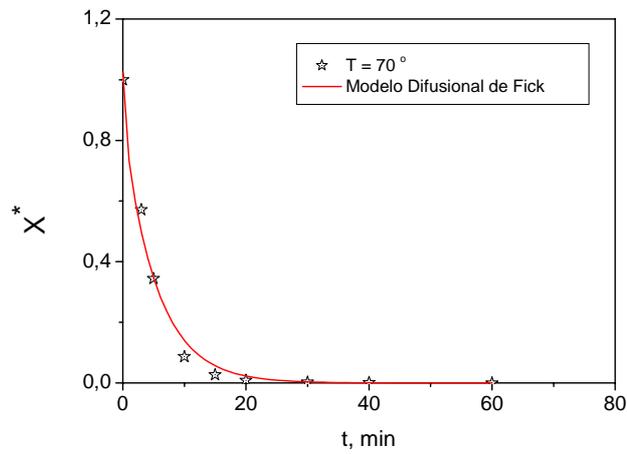


Figura 4.10 - Curvas de secagem para hortelã a 70 °C

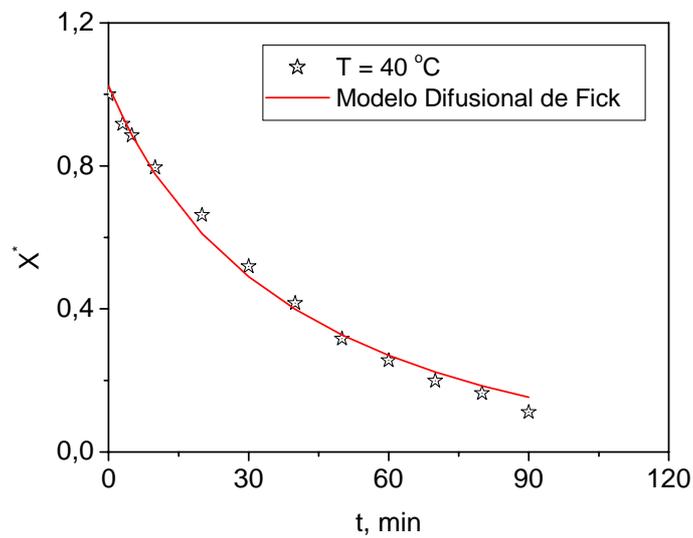


Figura 4.11- Curva de secagem de folhas frescas de Milona a 40° C

A partir das curvas de secagem apresentadas, pode-se verificar que a temperatura possui grande influência na cinética de secagem para as folhas de hortelã e milona.

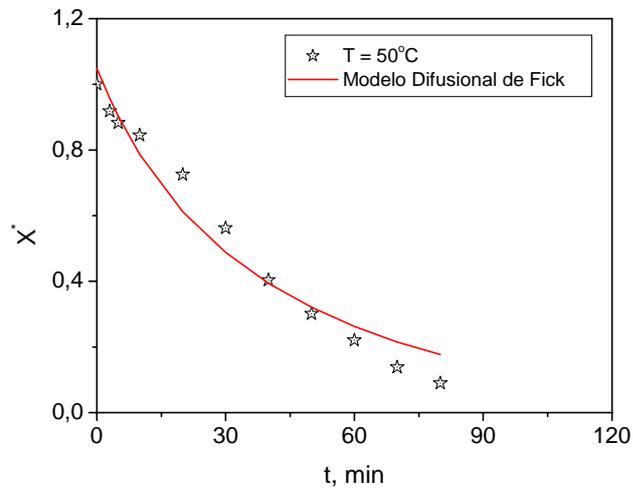


Figura 4.12 - Curva de secagem de folhas frescas de Milona a 50 ° C

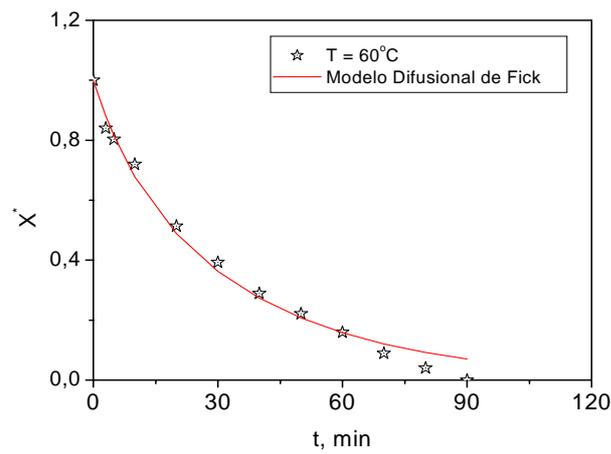


Figura 4.13 - Curva de secagem de folhas frescas de Milona a 60 ° C.

No caso da secagem das folhas de hortelã e de milona em camada delgada foi aplicada a solução da equação de Fick, considerando geometria de placa plana infinita, com coeficiente de difusão constante, tendo como condição inicial, umidade uniforme em toda a placa e com condição de contorno de equilíbrio na superfície (Equação 2.6). Para a estimativa do coeficiente de difusão foram considerados cinco termos da serie e o coeficiente $8/\pi^2=0,81$, foi deixado como parâmetro ajustável, “A”, de modo a verificar as hipóteses do modelo.

O modelo difusional de Fick utilizado foi adequado para prever a cinética de secagem durante a secagem, conforme se mostra nas Figuras 4.7 a 4.13, onde as curvas do modelo acompanham os pontos experimentais com pequenos desvios. O bom ajuste é verificado também nas Tabelas 4.3 e 4.4, que mostram os parâmetros estimados: coeficiente A e coeficiente de difusão efetiva para as folhas de hortelã e milona, respectivamente, onde valores elevados de coeficiente de correlação, maiores que 0,98 foram observados. Como esperado, a difusividade efetiva aumenta com a temperatura e varia de $1,2 \times 10^{-10}$ a 73×10^{-10} m²/s para folhas de hortelã e de $1,89 \times 10^{-11}$ a $2,20 \times 10^{-11}$ m²/s para milona. Os valores em torno de 10 vezes maiores para as folhas de hortelã são consistentes com a observação de taxas mais elevadas de secagem em condições de igual temperatura. Note-se também que os valores obtidos para o coeficiente A são bastante próximos de 0,81, valor teórico esperado. Esta concordância pode ser aceita como validação das hipóteses do modelo, especialmente a consideração de resistência externa desprezível. A diferença com o valor teórico tende a diminuir a medida que o maior número de termos da série, na Equação 2.6 é considerado no ajuste.

Tabela 4.3 - Ajuste pela equação de Fick para a cinética de secagem de folhas de hortelã

T (°C)	A	$D_{ef} \times 10^{10}$ (m ² /s)	R ²
40	0,903 ± 0,0158	1,2 ± 0,015	0,988
50	0,899 ± 0,027	13 ± 0,026	0,988
60	0,896 ± 0,038	29 ± 0,070	0,982
70	0,855 ± 0,029	73 ± 0,047	0,990

Tabela 4.4 - Ajuste pela equação de Fick para a cinética de secagem de folhas de milona.

T (°C)	A	$D_{ef} \times 10^{11}$ (m ² /s)	R ²
40	0,81	1,89	0,985
50	0,83	1,97	0,987
60	0,78	2,20	0,997

Nas Figuras 4.14 e 4.15 a variação da difusividade efetiva com temperatura é representada classicamente pela Equação Arrhenius's para o caso das folhas de hortelã e milona, respectivamente. Comportamento similar foi encontrado por outros pesquisadores em publicações recentes, trabalhando com material biológico, especialmente folhas de

hortelã (PARK *et al.*, 2002), bem como em materiais de características diversas das folhas como, por exemplo, na secagem de feijão em camada fina (FREIRE *et al.* 2004), secagem de soja (FREIRE *et al.*,2004) e secagem de folhas de hortelã em camada fina: DOYMAZ (2005) para temperatura na faixa de 35-60 °C, utilizando um secador de bandeja; PACHÚ *et al.*, (2005) para temperaturas de 50 a 70 °C num secador convectivo e PARK *et al.* (2002) para temperaturas de 30, 40 e 50 °C em estufa.

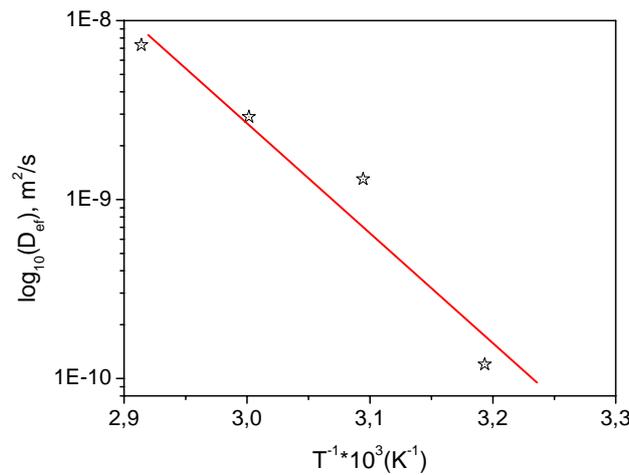


Figura 4.14- Variação do Coeficiente de difusão efetivo com a temperatura na secagem de folhas de hortelã

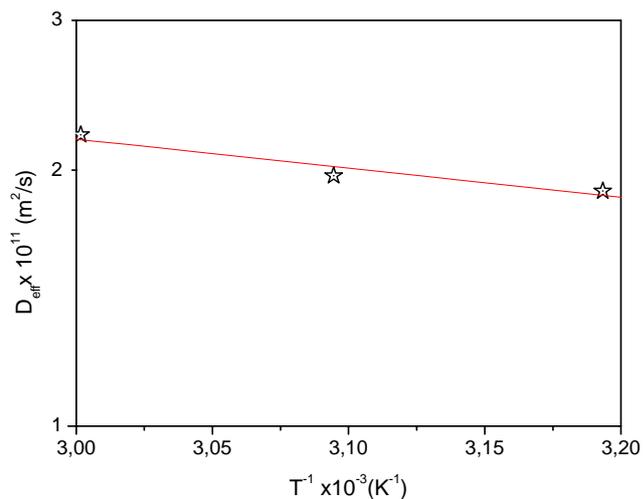


Figura 4.15- Dependência do Coeficiente de Difusão com a Temperatura na secagem das folhas de milona.

Ainda nas Figuras 4.14 e 4.15, pode-se observar que, apesar de apenas três pontos experimentais terem sido utilizados para verificar o efeito da temperatura, a tendência esperada foi confirmada e a energia de ativação calculada foi 117,95 e 6,55 k J/mol para hortelã e milona, respectivamente. Em relação a hortelã, este resultado está de acordo com DOYMAZ (2005), PACHÚ *et al.*, (2005) e PARK *et al.* (2002) que encontraram valores de 62,96 kJ/mol, 79,38 kJ/mol e 82,93 kJ/mol, respectivamente para a energia de ativação. Já as folhas de milona apresentam uma baixa energia de ativação, logo, a temperatura exerce pouca influência sobre a mesma.

Verifica-se que a variação do Coeficiente de difusão efetivo com a temperatura na secagem de folhas de hortelã se distancia da mesma variação quando comparada a apresentada pela milona, esse resultado demonstra a diferença na composição das plantas referidas.

4.2. Resultados de estudos preliminares de secagem

Para avaliar o efeito do tempo de secagem sobre a concentração e degradação de princípios ativos durante a secagem das folhas foram realizados estudos de secagem em estufa, acompanhando o teor de flavonóides e a umidade ao longo do tempo.

Na Figura 4.16 são apresentados os valores de concentração flavonóides totais para folhas de milona *in natura* após 2, 4 e 6 horas de secagem em estufa com circulação de ar a 40°C. Observa-se, que a medida que se aumenta o tempo de secagem, aumentou-se o teor de flavonóides totais, em especial no tempo de 4 horas. Com aumento de cerca de 40% em relação ao apresentado em 2 horas. Na realidade o que ocorre é uma concentração aparente de flavonóides totais devido à perda de água.

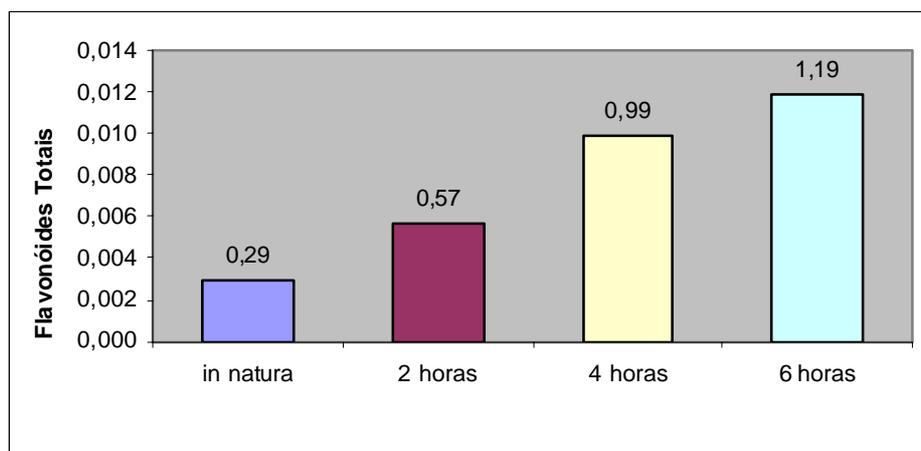


Figura 4.16 - Concentração de flavonóides em folhas de milona durante a secagem em estufa a 40 °C

Na Figura 4.17, onde são representados os mesmos dados da figura anterior na base seca, fica evidente que ocorrem perdas por degradação dos flavonóides devido ao efeito da temperatura.

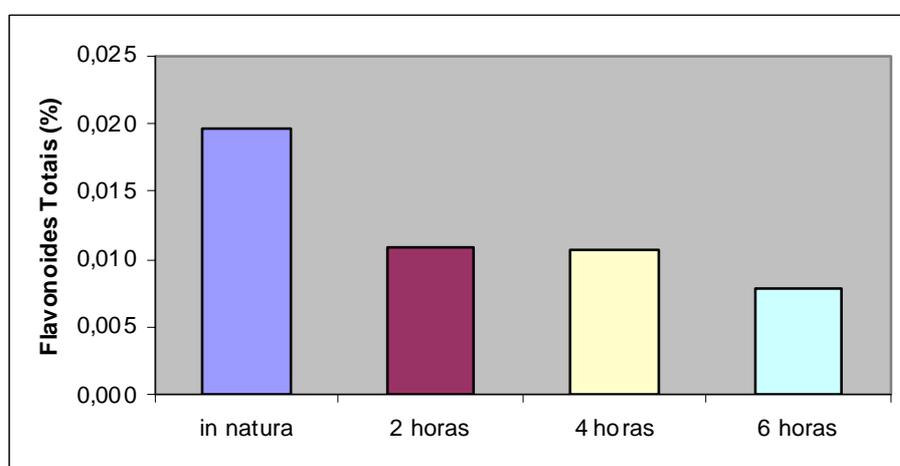


Figura 4.17 - Teor de flavonóides em base seca das folhas de milona durante a secagem em estufa a 40 °C em função do tempo.

A Figura 4.18 mostra a concentração de flavonóides no extrato seco obtido a partir da extração de folhas submetidas a diversos tempos de secagem em estufa. Observa-se na

figura que ocorre a perda de aproximadamente 50% dos flavonóides totais em base seca, quando da secagem das folhas nos tempos de 2 e 4 horas. Reflete-se a perda de flavonóides em virtude do tempo de secagem. Observa-se ainda, que o aumento do tempo de secagem reduz ainda mais o teor de flavonóides totais.

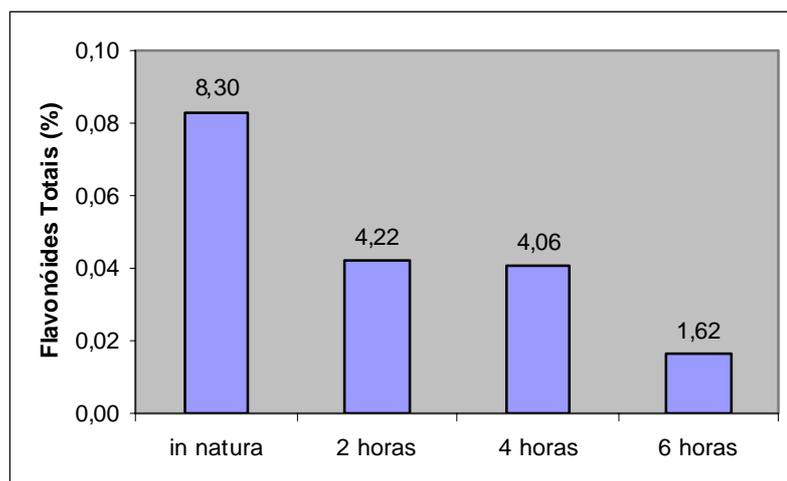


Figura 4.18 - Teor de Flavonóides Totais no Extrato seco das folhas de milona processadas em estufa a 40 °C.

No entanto, quando da formulação do extrato líquido ocorre um melhoramento no rendimento de flavonóides totais com a secagem das folhas. Isto é visualizado na Figura 4.19, onde são representados a massa de flavonóides por 100g de solvente. Nota-se ainda, que as amostras *in natura* e após 2 horas de secagem não se distanciam significativamente quanto ao teor de flavonóides totais no extrato líquido. Porém, com o aumento do tempo de secagem a concentração de flavonóides no extrato líquido tende a aumentar às 4 horas devido a uma maior eficiência da extração nas folhas com menor teor de umidade. Para tempos maiores, no entanto, a diminuição da umidade é compensada pela perda de flavonóides devido a degradação provocada pelo fato de que esse tipo de substâncias são termosensíveis.

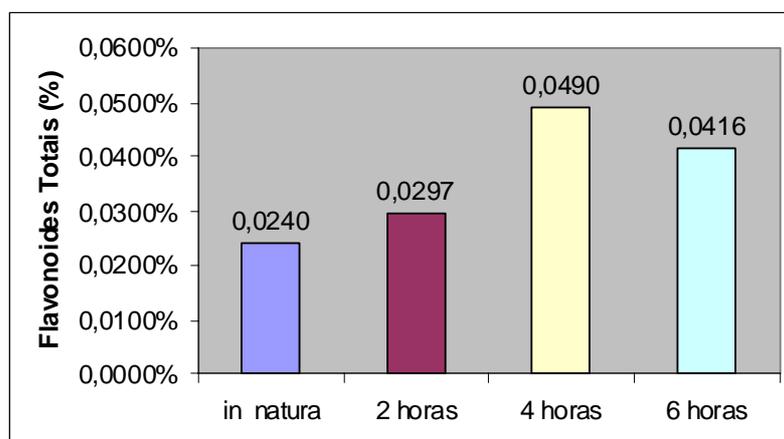


Figura 4.19 - Teor de Flavonóides Totais no Extrato líquido obtido a partir das folhas de milona processados em estufa a 40° C em função do tempo de processamento das folhas.

4.3. Efeitos da secagem convectiva das folhas sobre a extração e teor de flavonóides

Nesta etapa do trabalho estudou-se como o tempo e a temperatura de secagem e o tipo de folha poderão influir na umidade, no teor de flavonóides e o rendimento na extração de plantas medicinais tratadas de diferentes formas. Estas respostas são importantes parâmetros para uma futura produção de medicamentos fitoterápicos. Assim foram avaliadas três variáveis independentes, importantes no processamento de plantas medicinais nos seguintes níveis: o tempo (30 e 60 minutos), a temperatura (40 e 60 °C) e o tipo de folha (H- hortelã e M - milona). A totalidade dos resultados é apresentada na Tabela 4.5 tendo como respostas o teor de flavonóides extraídos das amostras vegetais, quando secas, expresso em % da massa seca das folhas; a umidade na base seca e o rendimento na extração observado em mg/ 100 g de folhas na base seca de ambas as espécies. Na tabela se mostram resultados obtidos com folhas in natura e após a secagem para dois lotes. Os experimentos 1 a 8 e 17, 18, 20 e 21 foram realizados com o primeiro lote que correspondem aos *in natura* 23 e 25 respectivamente para hortelã e milona. Os outros experimentos foram realizados com o segundo lote, correspondente aos *in natura* 24 e 26.

Tabela 4.5 - Resultado dos experimentos

Ensaio	tempo (min)	T (°C)	Folha	Flav (bs)	X	Rendimento
1	30 (-)	40 (-)	H (-)	0,0391	6,1	20,62
2	60 (+)	40(-)	H (-)	0,0472	3,83	21,95
3	30 (-)	60 (+)	H(-)	0,1982	0,709	40,42
4	60 (+)	60(+)	H(-)	0,2321	0,793	31,06
5	30 (-)	40 (-)	M(+)	2,8250	7,689	7,35
6	60 (+)	40 (-)	M(+)	3,2782	7,196	7,52
7	30 (-)	60 (+)	M(+)	2,4951	4,95	5,51
8	60 (+)	60(+)	M(+)	1,6045	2,639	2,12
9	30 (-)	40 (-)	H (-)	0,0389	3,085	30,1
10	60 (+)	40(-)	H (-)	0,0498	1,878	30,1
11	30(-)	60 (-)	H (-)	2,4951	4,95	5,51
12	60 (+)	60 (+)	H (-)	0,1786	0,303	23,91
13	30 (-)	40 (-)	M(+)	2,7997	8,897	7,31
14	60 (+)	40 (-)	M(+)	3,0774	8,8923	7,81
15	30 (-)	60 (+)	M(+)	3,4181	4,213	5,79
16	60 (+)	60 (+)	M(+)	1,7303	2,0506	2,27
17	45 (0)	50 (0)	H (0)	0,0946	2,847	29,9
18	45 (0)	50 (0)	H (0)	0,0977	3,563	32,4
19	45 (0)	50 (0)	H(0)	0,1689	0,58	29,5
20	45 (0)	50 (0)	M (0)	3,0880	4,054	6,15
21	45 (0)	50 (0)	M (0)	2,7697	3,27	4,7
22	45 (0)	50 (0)	M (0)	2,848	8,838	8,2
23	<i>In natura</i> Lote 1	ambiente	H	0,0929	9,8	25,31
24	<i>In natura</i> Lote 2	ambiente	H	0,1226	7,6	33,25
25	<i>In natura</i> Lote 1	ambiente	M	2,6484	10,2	10,11
26	<i>In natura</i> Lote 2	ambiente	M	2,3211	10,0	7,22

Analisando a Tabela 4.5 pode ser observada uma diferença considerável entre o comportamento das espécies, tendo a milona, a umidade um pouco mais elevada. Quanto ao teor de flavonoides, a milona apresentou um conteúdo em torno de 20 vezes maior. Entretanto o rendimento na extração é inferior ao da hortelã. Analisando os resultados dos experimentos referentes às folhas *in natura*, 23 e 24 para hortelã e 25 e 26 para a milona, observa-se que, mesmo quando processadas em condições análogas, os dois lotes apresentam rendimentos diferentes, sendo mais notório no caso da hortelã, provavelmente devido ao efeito do teor de umidade. Analogamente aos experimentos *in natura* os resultados de % de flavonóides obtidos com as folhas secas do segundo lote de hortelã são em geral bastante semelhantes aos apresentados pelo primeiro lote. Entretanto, os fatores umidade e rendimento, apresentaram diferenças notórias entre os lotes desde o início do

estudo. Quanto aos experimentos realizados com milona observa-se que, em geral, as diferenças entre os lotes utilizados no presente trabalho são menores; isto está de acordo com o comportamento próximo encontrado para os dois lotes respectivos *in natura*.

Em geral comparando experimentos com folhas *in natura* de hortelã com as processadas na temperatura de 40°C em diferentes tempos, observou-se uma redução no percentual de flavonóides, na umidade e no rendimento. Quando a temperatura utilizada nos experimentos foi de 60°C, aumenta o % de flavonóides e reduz umidade em relação aos resultados *in natura*. Embora tenha sido observado um aumento do rendimento no 1º lote, este comportamento não foi confirmado no segundo lote, que apresentou valores próximos a os obtidos com as folhas frescas.

Quando se trata de milona em geral, o % de flavonóides aumenta quando processados em ambos os lotes em relação aos *in natura*, excetuando-se a condição de 60 minutos a 60 °C. Em relação à umidade ocorre uma redução desta em todas as condições experimentais. Quanto ao rendimento, diminui no 1º lote, enquanto no 2º mantêm-se aproximadamente igual em diferentes tempos, na temperatura de 40° C, enquanto que diminui na temperatura de 60°C, em especial quando o tempo de processamento é maior.

Analisando a influência da variável de entrada tempo, para amostra de hortelã, vista nos experimentos 1 e 2 com mesma temperatura (40°C) com diferentes tempos(30 e 60 minutos) foi observado um leve aumento na concentração de flavonóides, uma considerável redução da umidade e uma modesta melhora no rendimento quando o tempo de exposição as condições experimentais é maior. Quando trabalhamos com a temperatura de 60°C , para hortelã, visualizada nos experimentos 3 e 4,observamos que o tempo maior, 60 minutos, aumenta discretamente a extração de flavonóides e tem pouca influência sobre a variável umidade. Já em relação ao rendimento, ocorre uma redução nos níveis de sólidos extraíveis com o aumento do tempo. Este fato é justificável em virtude da composição da hortelã, pela riqueza em óleos essenciais que são facilmente perdidos em virtude da sua volatilidade.

Os experimentos 5 e 6, realizados com milona a 40°C, demonstram que a essa temperatura, com o maior tempo de exposição das amostras às condições experimentais aumenta tanto o percentual de flavonóides, como discretamente o rendimento enquanto a umidade reduziu discretamente. Já, quando foi utilizada a temperatura de 60°C, ocorreu

uma redução de todas as respostas, percentual de flavonóides, umidade e rendimento. Este fato chama a atenção, quanto a variável flavonóides, por ter acontecido o inverso com a hortelã, onde na temperatura de 60°C e tempo de 60 minutos foi observado um aumento na concentração de flavonóides.

Dada a complexidade das tendências observadas optou-se por desdobrar a matriz total dos experimentos da maneira descrita nos pontos a seguir. Como explicado na metodologia, do conjunto de experimentos realizados mostrados na Tabela 4.5, foram extraídas três matrizes experimentais para melhor discussão dos resultados: A primeira, mostrada na Tabela 4.6 que revela os resultados da matriz $2^3 \times 2$ com o objetivo de comparar ambas as plantas medicinais em estudo. A segunda, visualizada na Tabela 4.13, mostra dados apenas de hortelã numa matriz $2^2 + 2$ pontos centrais para uma melhor análise dos efeitos do tempo e temperatura, e por último a matriz mostrada na Tabela 4.15 para os dados da milona.

4.3.1 Análise dos efeitos conjuntos para ambas as folhas

Na matriz visualizada na Tabela 4.5, diante de uma variável qualitativa, tipo de folha, onde não pode existir o ponto central tendo em vista não termos um intermediário entre as duas espécies em estudo, optou-se por utilizar os valores da duplicata, onde se obteve o planejamento mostrado na Tabela 4.6. Os resultados experimentais através do planejamento fatorial $2^2 \times 2$ são mostrados na Tabela 4.6.

A referida tabela foi analisada estatisticamente para avaliação dos diversos efeitos das variáveis independentes, tempo, temperatura e tipo de folha, e das interações entre elas com um limite de confiança de 95%.

Tabela 4.6 - Valores codificados e valores reais das variáveis independentes e resposta encontrados para o planejamento $2^3 + 2$.

Tempo (minutos)	Temperatura (°C)	Folha	Flavonóides (%) bs	Umidade (bs)	Rendimento na extração
30 (-)	40 (-)	H (-)	0,0391	6,1	20,62
60 (+)	40(-)	H (-)	0,0472	3,83	21,95
30 (-)	60 (+)	H(-)	0,1982	0,709	40,42
60 (+)	60(+)	H(-)	0,2321	0,793	31,06
30 (-)	40 (-)	H (-)	0,0389	3,085	30,1
60 (+)	40(-)	H (-)	0,0498	1,878	30,1
30 (-)	60 (+)	H (-)	0,1662	0,568	31,3
60 (+)	60 (+)	H (-)	0,1786	0,303	23,91
30 (-)	40 (-)	M(+)	2,8250	7,689	7,35
60 (+)	40 (-)	M(+)	3,2782	7,196	7,52
30 (-)	60 (+)	M(+)	2,4951	4,95	5,51
60 (+)	60(+)	M(+)	1,6045	2,639	2,12
30 (-)	40 (-)	M(+)	2,7997	8,897	7,31
60 (+)	40 (-)	M(+)	3,0774	8,8923	7,81
30 (-)	60 (+)	M(+)	3,4181	4,213	5,79
60 (+)	60 (+)	M(+)	1,7303	2,0506	2,27

Através dos resultados obtidos foi possível determinar os efeitos sobre a variável resposta % de flavonóides apresentados na Tabela 4.7.. Observa-se que, com exceção da variável independente tipo de folha, os demais parâmetros do modelo não foram significativos. Como não foi observado efeito de interação todas as análises foram suprimidas do texto.

Tabela 4.7 - Análise dos efeitos sobre o percentual de flavonóides

	Efeitos	Erro Padrão	t(10)	P - valor	coeficiente	Erro padrão
Média/Interc.	1,512	0,204	7,429	0,000022	1,512	0,204
(1)Replicat	0,642	0,407	1,577	0,145884	0,321	0,204
(2)Tempo	-0,098	0,466	-0,209	0,837977	-0,049	0,233
3)Temperatura	-0,14	0,466	-0,304	0,767515	-0,071	0,233
4) Tipo folha	2,659	0,466	5,709	0,000196	1,329	0,233

De acordo com a Tabela 4.7 observa-se que a temperatura e o tempo não influenciam significativamente no percentual de flavonóides nas amostras analisadas. No

entanto, como o tipo de folha tem um efeito elevado sobre a variável resposta flavonóides, pode ter mascarado os efeitos das outras variáveis de entrada que, de acordo com os coeficientes encontrados, possivelmente tenham efeito negativo discreto sobre o teor de flavonóides.

A Tabela 4.8 apresenta a análise de variância para o teor de flavonóides nas folhas das plantas medicinais em estudo considerando um valor de probabilidade de 95% de confiança ($p < 0,05$).

Tabela 4. 8 - Análise de variância para teor de flavonóides

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	29,134	6	4,860	6,14
Resíduo	11,091	14	0,792	
Total	40,224	20		

% variação explicada (R^2) = 72,43%; $R = 0,851$ onde $F_{tab}(0,95) = 2,85$

O resultado do coeficiente de correlação entre as respostas observadas e os valores significativos pelo modelo estatístico ajustado é da ordem de 72,43%. A regressão explica 72,43 % da variação total em torno da média. Com relação ao teste F, observa-se que o valor de $F_{calculado}$ é 6,14 e 2,15 vezes maior que o $F_{tabelado}$ mostrando que o modelo ajustado não é preditivo, mas estatisticamente significativo.

Analisando-se as Tabela 4.9 e 4.10, tendo como resposta a umidade das folhas de milona e hortelã, com um limite de confiança de 95%, verifica-se que a temperatura, como esperado, tem maior influencia sobre a umidade, apresentando maior nível de interferência.

Tabela 4. 9 - Estimativa dos efeitos para a umidade

	Efeito	Erro	t(14)	p	Coeff.	Erro
Média/Interc.	4,112	0,358	11,485	0,000	4,112	0,358
(1)Tempo	-1,078	0,820	-1,314	0,209	-0,539	0,410
(2)Temperatura	-3,917	0,820	-4,775	0,0002	-1,958	0,410
(3)Tipo de folha	3,657	0,820	4,457	0,0005	1,828	0,410

Analisando-se a Tabela 4.9, para a resposta umidade verificamos que, com exceção das interações e do tempo, os outros parâmetros do modelo foram significativos.

Como esperado, a umidade final diminui com o aumento da temperatura. Embora não significativo se observa uma discreta tendência de diminuição da umidade com o tempo de secagem. Quanto ao tipo de folha, como observado nos estudos cinéticos, a secagem da hortelã se processa bem mais rapidamente que da milona.

Na Tabela 4.10, ANOVA para a umidade, verificamos, através do F_{calc} , que o modelo foi significativo e a porcentagem de variação explicada (R^2), de 76,42 %. Esses resultados indicam uma concordância com o efeito esperado, no tocante ao aumento da temperatura, que provocaram diminuição da umidade final das folhas.

Tabela 4.10- Análise de variância para umidade

	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	122,1789	6	20,36	7,57
Resíduo	37,6969	14	2,69	
Total	159,8758	20		

$$R^2 = 76,42\%; R = 0,874 \text{ onde } F_{tab} 0,95 = 2,85$$

Na Tabela 4.11, são apresentados os resultados para o rendimento de sólidos extraíveis. Os termos grifados correspondem às variáveis independentes cujos efeitos apresentaram significância estatística. Conforme mostra a Tabela, apenas a variável tipo de folha apresenta efeito estatisticamente significativo sobre a variável resposta rendimento.

Tabela 4.11. - Estimativa dos efeitos para o rendimento

	Efeitos	Erro	t(14)	p
Média/Interc.	16,499	1,775	9,293	0,000
(1)Tempo	-1,353	2,033	-0,665	0,516
(2)Temperatura	1,226	2,033	0,602	0,556
(3)Tipo de folha	-12,111	2,0331	-5,954	0,000035

Apesar de não significativos, observa-se a tendência de um aumento do rendimento como aumento da temperatura, possivelmente devido ao menor nível de umidade das folhas. Entretanto, ainda em termos de tendência, o tempo influencia negativamente, o que poderia ser atribuído a uma possível degradação dos componentes

ativos. Estes resultados concordam com o observado durante os ensaios preliminares realizados em estufa para a milona.

Tabela 4.12 - Análise de variância para o rendimento

	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	2496,491	6	416,08	6,29
Resíduo	926,633	14	66,19	
Total	3421,124	20		

$R^2 = 72,93\%$; $R = 0,854$ onde $F_{tab 0,95,} = 2,85$

O valor de F é 2,21 vezes superior ao F tabelado, o que demonstra que o modelo embora significativo não é útil para fins preditivos, de acordo com BOX e WETZ (1963).

Como a variável independente, tipo de folha, se mostrou altamente significativa em todos os resultados até então descritos, pode-se imaginar que possivelmente esta mascare a significância das outras variáveis, tempo e temperatura. Por isso passamos a estudar o planejamento $2^2 + 2$ pontos centrais para hortelã e em seguida, da mesma maneira, para milona, de maneira independente.

4.3.2. Resultados do planejamento Fatorial - $2^2 + 2$ pontos centrais

Foi possível observar que as variáveis independentes, tempo e temperatura, exerciam reduzidos efeitos sobre as respostas, flavonóides, umidade e rendimento, provavelmente a variável qualitativa, tipo de folha, exerça um efeito expressivo que mascare a influência das variáveis de saída. Por esse motivo foi realizada a análise estatística das plantas em separado. Devido às diferenças observadas nos dois lotes optou-se por realizar a análise estatística sobre os resultados dos experimentos realizados com o primeiro lote.

Utilizou-se para tanto de um planejamento 2^2+2 , por ser este mais adequado para fornecer informações muito úteis sobre o comportamento das respostas entre os níveis inicialmente atribuídos aos fatores, além de evidenciar a qualidade da repetibilidade do processo.

4.3.2.1 Resultados do planejamento para hortelã

Na Tabela 4.13 são apresentados os resultados experimentais para hortelã de acordo com a matriz experimental determinada no capítulo III. Quando da realização da análise estatística foi retirado o 3º ponto central por ter sido experimentalmente obtido com o 2º lote.

Tabela 4.13 - Planejamento Fatorial 2^2 + 2 pontos centrais para hortelã

Tempo (minutos)	Temperatura (°C)	Flavonóides (%) bs	Umidade bs	Rendimento na extração
30 (-)	40 (-)	0,0391	6,1	20,62
60 (+)	40(-)	0,0472	3,83	21,95
30 (-)	60 (+)	0,1982	0,709	40,42
60 (+)	60(+)	0,2321	0,793	31,06
45 (0)	50 (0)	0,0946	2,847	29,9
45 (0)	50 (0)	0,0977	3,563	32,4

A Tabela 4.14 apresenta a análise estatística dos efeitos das variáveis independentes tempo e temperatura e das interações entre as mesmas, sobre a variável resposta percentual de flavonóides, para um modelo de primeira ordem com duas interações e limite de confiança de 95%. Este resultado demonstra que a média e a variável Temperatura influencia na resposta flavonóides.

Tabela 4.14- Estimativa de valores para Flavonóides em hortelã

	Efeito	Erro Padrão	t(2)	p	Coef.	Erro Padrão
Média/Interc.	0,118	0,011	10,723	0,008	0,118	0,011
(1)tempo	0,021	0,026	0,77	0,517	0,010	0,013
(2)Temp	0,172	0,026	6,37	0,023748	0,0860	0,013

Prevendo uma melhor visualização, a Figura 4.22 apresenta o gráfico de Pareto, para teor de Flavonóides para o cálculo dos efeitos múltiplos principais e os efeitos de 2ª ordem para valores absolutos. A magnitude de cada efeito é representada através das barras e uma linha tracejada corresponde ao valor de $p = 0,05$ indica o quanto deve ser grande o

efeito para ter significado estatístico. De acordo com o gráfico de Pareto a temperatura apresentou efeito significativo, enquanto o tempo não obteve significância.

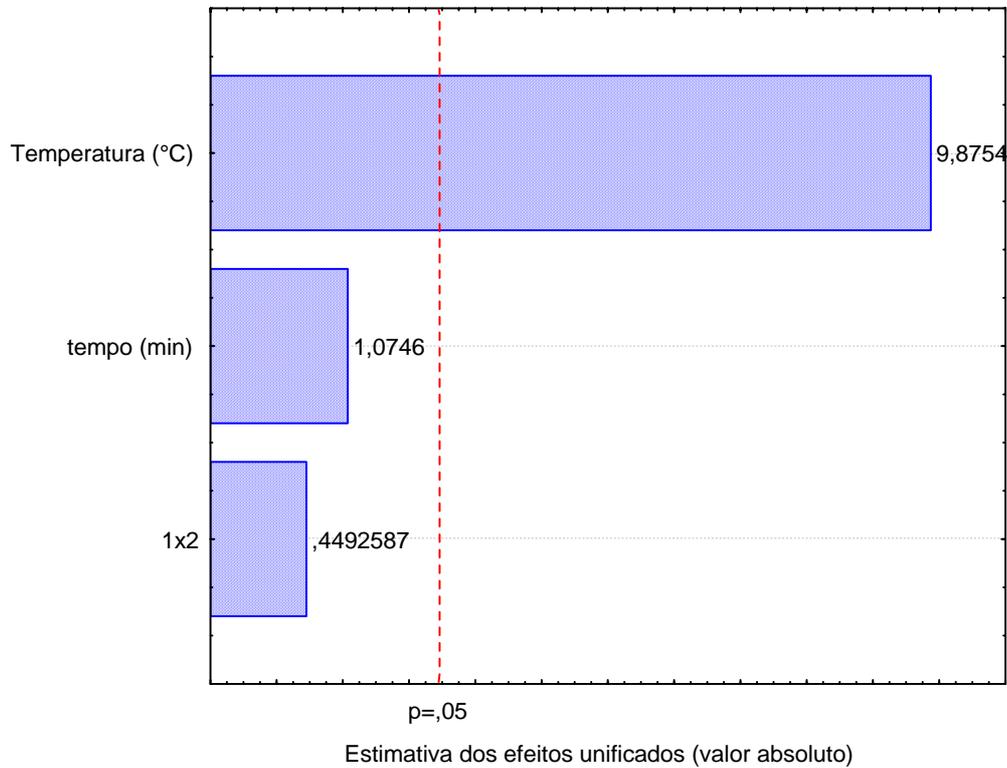


Figura 4. 20 - Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis de secagem para % de flavonóides, em relação a hortelã.

De acordo com os dados da Tabela 4.15, ANOVA, o coeficiente de correlação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo estatístico ajustado ao teor de flavonóides é de 95,4%. Com relação ao teste F, que verifica se o modelo explica uma quantidade significativa da variação nos dados obtidos pela simulação, observa-se que o valor de F é 0,71 vezes menor ao valor tabelado, a um nível de confiança de 95% mostrando que a equação ajustada não é estatisticamente significativa. Isso significa que esses modelos de regressão não prevêm uma explicação da relação entre as variáveis independentes, tempo e temperatura, e a resposta Flavonóides no nível de confiança acima relatado.

Tabela 4.15 - ANOVA para flavonóides em hortelã

	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	0,0302	3	0,0100636	13,79
Resíduo	0,001457	2	0,00073	
Total	0,031648	5		

$$R^2 = 95,4\%; R = 0,977 \text{ onde } F_{\text{tab } 0,95} = 19,16$$

Pela Figura 4.21 pode-se observar que os erros de ajustamento estão independentes e normalmente distribuídos em torno da reta. Esses resultados indicam uma boa concordância entre os valores experimentais vistos no modelo, expresso na Figura 4.21.

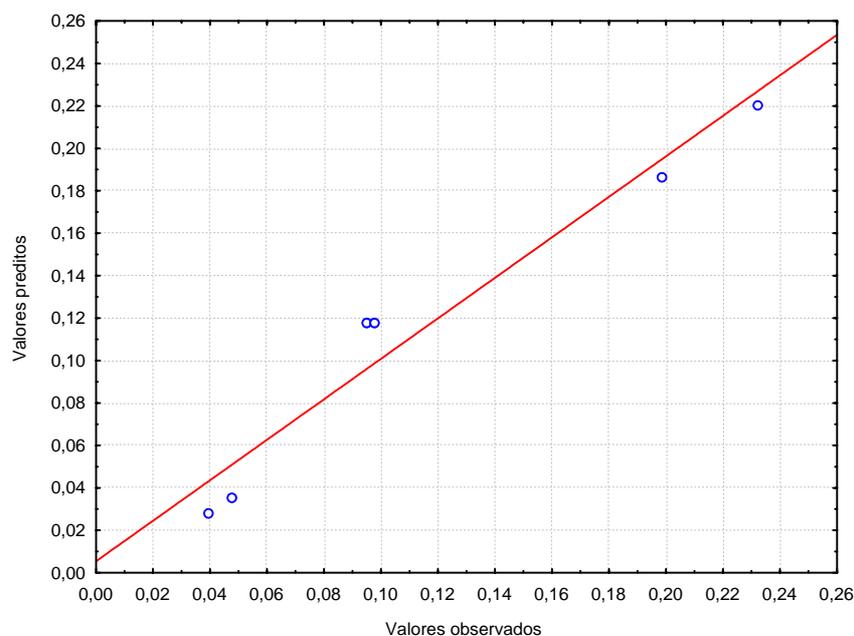


Figura 4.21 - Valores observados em função dos valores preditos - Flavonóides

Com as análises estatísticas apresentadas anteriormente para teor de flavonóides na planta hortelã o modelo não teve significância estatística.

Visualizando a Figura 4.22 que apresenta a superfície de resposta que relaciona as variáveis independentes (temperatura e tempo) em relação a resposta teor de flavonóides após o processo, observa-se que há influência positiva da temperatura, ou seja, a medida que aumenta a temperatura de secagem aumenta o teor de flavonóides extraíveis.

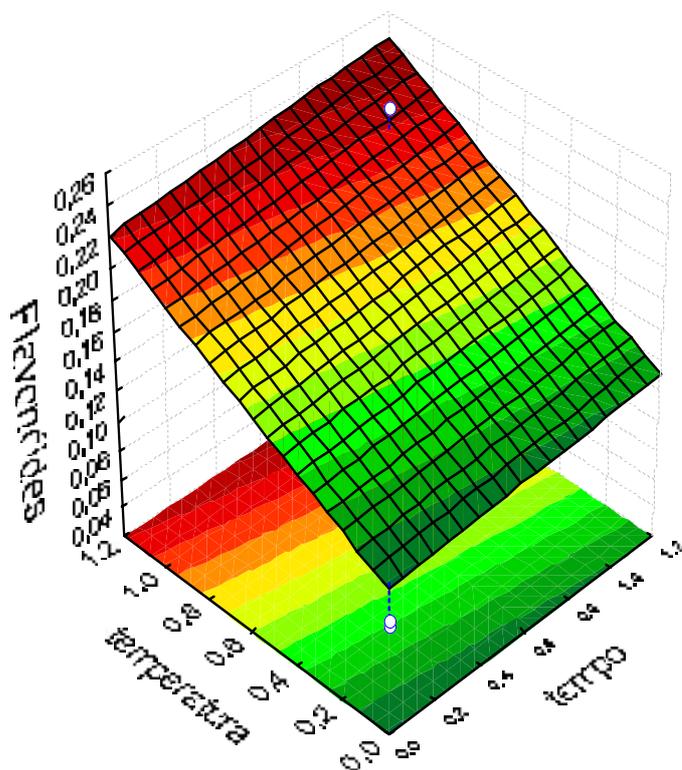


Figura 4.22 - Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de flavonóides na base seca para hortelã.

O aumento no teor de flavonóides atende ao objetivo do trabalho, ou seja, garante uma melhora na extração de princípios ativos de plantas medicinais no tocante a flavonóides, princípio ativo ora analisado. Resultados semelhantes foram obtidos por CREMASCO *et al.* (2006) com relação à melhora da extração mediante a secagem.

No tocante a umidade, pode ser verificado na Tabela 4.16 que os efeitos significativos das variáveis de composição e de sua interação sobre a resposta, umidade, analisada, mostra que a média e apenas a variável temperatura apresenta efeito significativo, como esperado.

Tabela 4.16 - Estimativa de valores para umidade em hortelã

	Efeito	Erro Padrão	t(2)	p	Coeff.	Erro Padrão
Média/Interc.	2,973	0,186	15,954	0,003	2,973	0,186
(1)tempo	-1,093	0,456	-2,394	0,139	-0,546	0,228
(2)temperatura	-4,214	0,456	-9,230	0,011	-2,107	0,228

Para melhor visualização do efeito da temperatura sobre a umidade nas folhas da hortelã foi construído o gráfico de Pareto (Figura 4.23), onde fica clara a significância da temperatura frente à umidade.

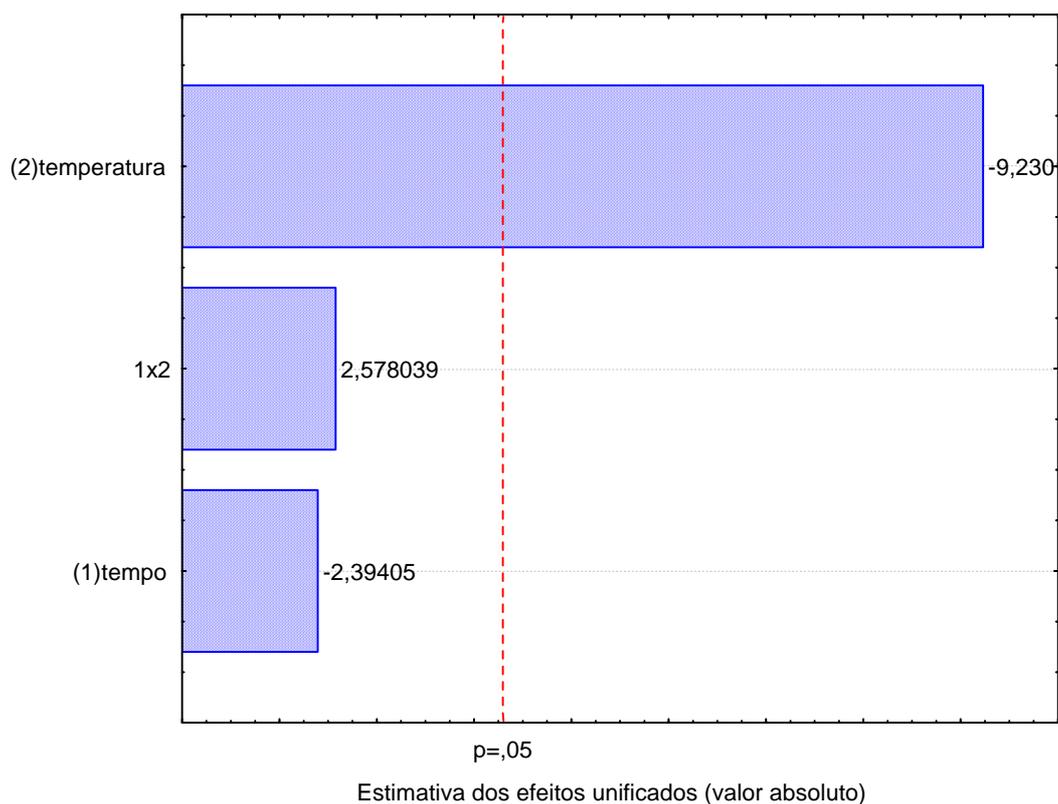


Figura 4.23 - Gráfico de Pareto dos efeitos do planejamento para umidade, em relação a hortelã

Na análise de variância para umidade o coeficiente de correlação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo estatístico ajustado ao teor de flavonóides é de 97,99%. Com relação ao teste F, que verifica se o modelo explica uma quantidade significativa da variação nos dados obtidos pela simulação, observa-se que o valor de F é 1,68 vezes superior ao valor tabelado, a um nível de confiança de 95% mostrando que a equação ajustada é estatisticamente significativa. Isso significa que esses modelos de regressão prevêm uma explicação da relação entre as variáveis independentes, tempo e temperatura, e a resposta Umidade.

Tabela 4.17 - Análise de variância para umidade em hortelã

	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	20,34	3	6,77926	32,28
Resíduo	0,41687	2	0,21	
Total	20,75465	5		

$$R^2 = 97,99\%; R = 0,989 \text{ onde } F_{\text{tab } 0,95} = 19,16$$

A figura 4.24 apresenta os valores observados experimentalmente versus os valores previstos pelo modelo para a resposta umidade, observando uma boa concordância entre ele como era de se esperar pelo resultado da ANOVA.

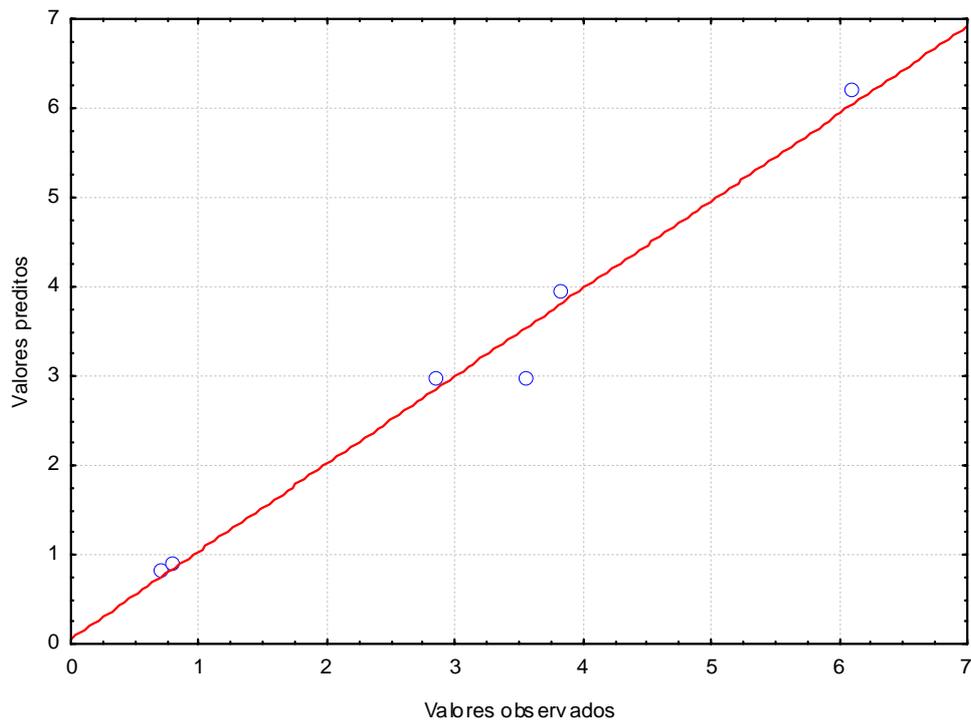


Figura 4.24 - Valores observados em função dos valores preditos - umidade

Foi construída a superfície de resposta (Figura 4.25) para melhor visualização dos efeitos estatisticamente significativos quando da análise da resposta umidade para dados experimentais obtidos com as folhas de hortelã.

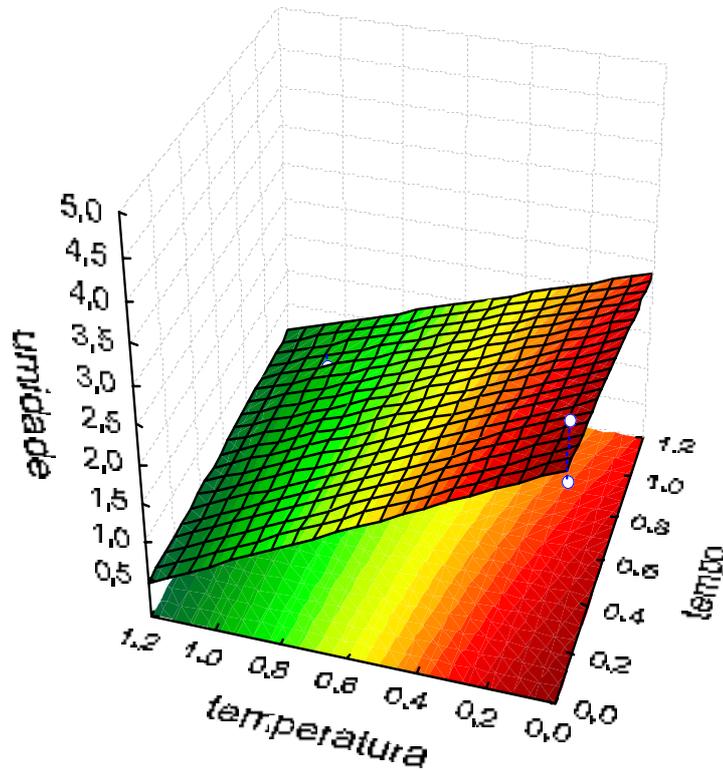


Figura 4.25 - Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de umidade na base seca.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4.18, excetuando-se a variável tempo, as demais variáveis apresenta efeitos significativos sobre a variável resposta, rendimento. A temperatura provoca aumento na eficiência de extração de sólidos solúveis, e o seu efeito é o mais importante.

Tabela 4.18 - Estimativa de valores para rendimento em hortelã

	Efeito	Erro Padrão	t(2)	p	Coeff.	Erro Padrão
Mean/Interc.	29,39	1,02	28,91	0,001	29,392	1,0165
(1)tempo	-4,01	2,49	-1,61	0,248	-2,007	1,2450
(2)temperatura	14,45	2,49	5,81	0,028	7,227	1,2450

Para melhor visualização dos efeitos das variáveis de entrada sobre o rendimento das folhas de hortelã, foi construído o gráfico de Pareto, mostrado na Figura 4.26.

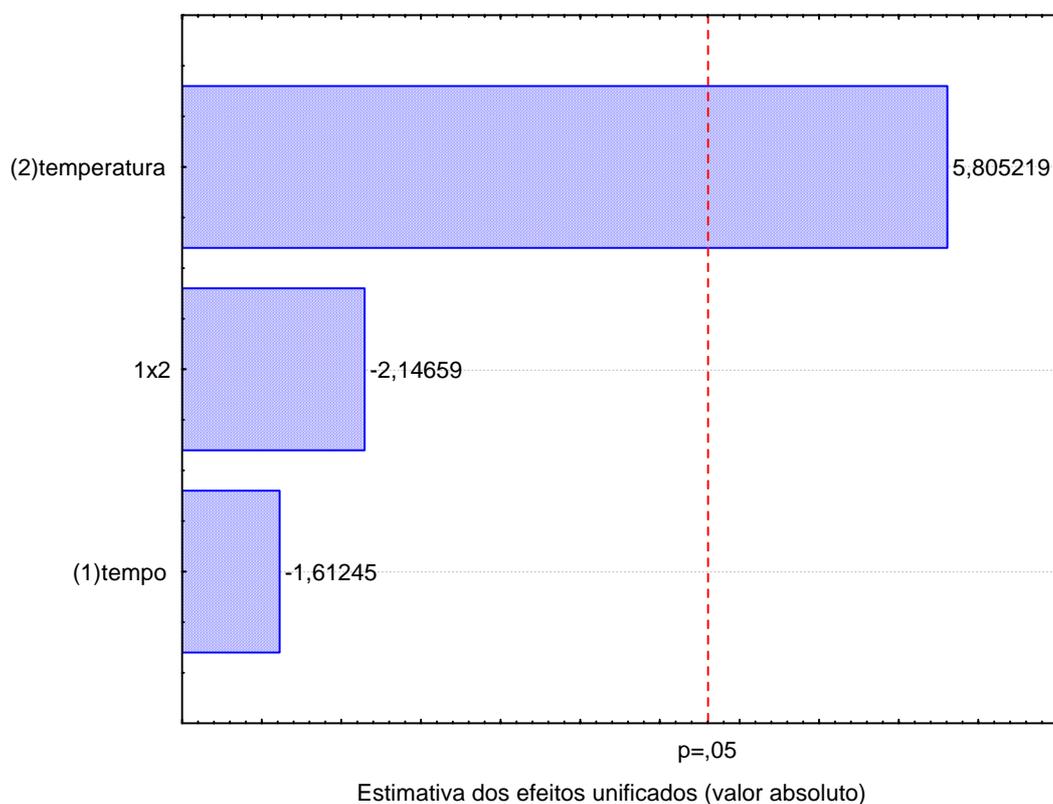


Figura 4.26 - Gráfico de Pareto dos efeitos do planejamento para rendimento, em relação a hortelã

De acordo com os dados da Tabela 4.29, que mostra a análise de variância para rendimento em hortelã, o coeficiente de correlação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo estatístico de primeira ordem, ajustado aos dados de rendimento para folhas de hortelã é de 95,34%. Com relação ao teste F, observa-se que é 0,71 vezes maior ao valor tabelado, a um nível de confiança de 95%, mostrando que a equação ajustada não é estatisticamente significativa.

Tabela 4.19 - Análise de variância para rendimento em hortelã

	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	253,6363	3	84,55	13,64
Resíduo	12,4002	2	6,2	
Total	266,0365	5		

$R^2 = 95,34\%$; $R = 0,976$ onde $F_{tab 0,95} = 19,16$

Na figura 4.27 são vistos os valores observados versus preditos para a variável de saída rendimento.

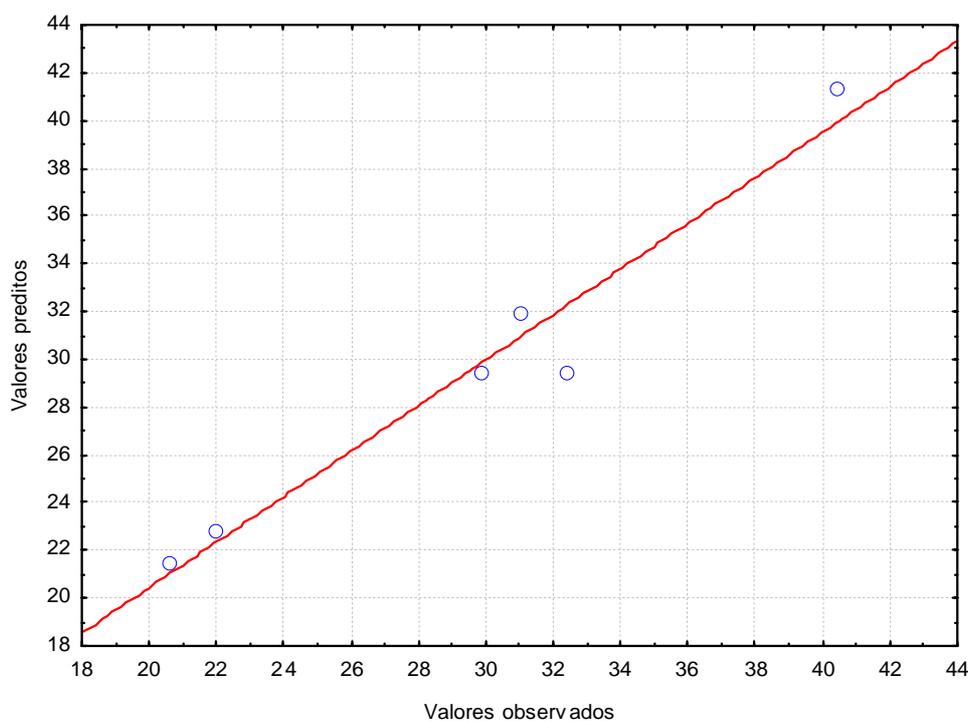


Figura 4.27 - Valores observados em função dos valores preditos - rendimento

Mesmo não sendo observado o efeito significativo, mas no intuito de analisar tendências, da temperatura e tempo sobre a variável rendimento, na Figura 4.28 pode ser vista a superfície de resposta obtida plotando o modelo ajustado. Nessa figura pode-se observar que o rendimento se mostrou maior quanto maior a temperatura e que o tempo não tem influência sobre a citada variável.

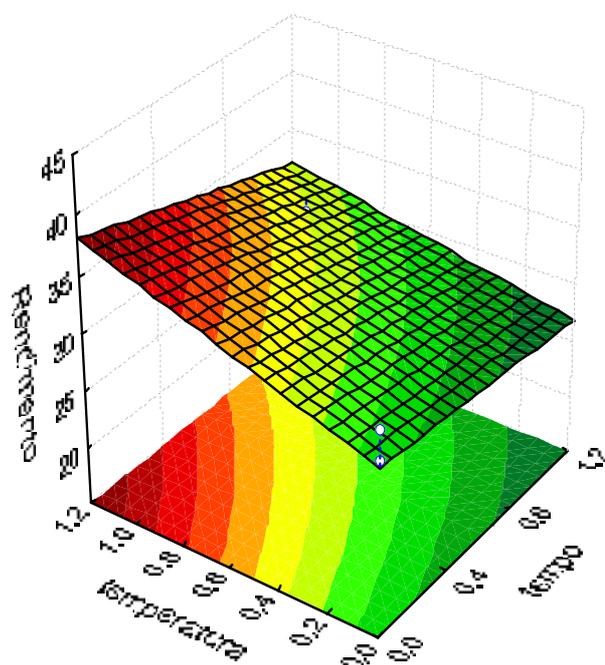


Figura 4.28 - Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de rendimento na base seca.

4.3.2.2 Resultados do planejamento Fatorial - $2^2 + 2$ pontos centrais para milona.

Quanto ao planejamento fatorial para milona, foi realizado um fatorial completo 2^2 , incluindo 2 pontos centrais. A Tabela 4.20 apresenta a matriz decodificada das respostas para teor de flavonóides, umidade e rendimento.

Tabela 4.20 - Matriz decodificada para milona

Tempo (min)	Temp (°C)	Folha	Flav (bs)	Umidade bs	Rendimento na extração
30 (-)	40 (-)	M (+)	2,8250	7,689	7,35
60 (+)	40 (-)	M(+)	3,2782	7,196	7,52
30 (-)	60 (+)	M(+)	2,4951	4,95	5,51
60 (+)	60(+)	M(+)	1,6045	2,639	2,12
45 (0)	50 (0)	M (0)	3,0880	4,054	6,15
45 (0)	50 (0)	M (0)	2,7697	3,27	4,7

Através dos resultados obtidos foi possível determinar os efeitos para variáveis dependentes que estão apresentados na Tabelas 4.21 para teor de flavonóides.

Na Tabela 4.21 pode-se observar que apenas a média apresenta significância para concentração de flavonóides.

Tabela 4.21 - Estimativa de valores para Flavonóides em milona

	Efeitos	Erro Padrão	t(2)	p	Coeff.	ErroPadrão
Mean/Interc.	2,843	0,077	36,567	0,0007	2,843	0,077
1)tempo	0,281	0,190	1,476	0,2777	0,140	0,095
(2)temperatura	-0,501	0,190	-2,634	0,1189	-0,250	0,095

Na Tabela 4.22, a análise de variância para Flavonóides o coeficiente de correlação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo estatístico ajustado ao teor de flavonóides é de 83,24 %. Com relação ao teste F, foi verificado que o valor de Fcalculado 5,75 vezes menor ao valor tabelado, a um nível de confiança de 95% mostrando que a equação ajustada não é estatisticamente significativa.

Tabela 4.22 - Análise de variância para Flavonóides em milona

	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	0,360483	3	0,12	3,33
Resíduo	0,072554	2	0,0361	
Total	0,433037	5		

$$R^2 = 83,24\%; R = 0,912 \text{ onde } F \text{ tab } 0,95 = 19,16$$

O distanciamento da reta dos valores preditos versus observados é mostrado na Figura 4.29, onde os pontos em sua maioria estão distantes da reta.

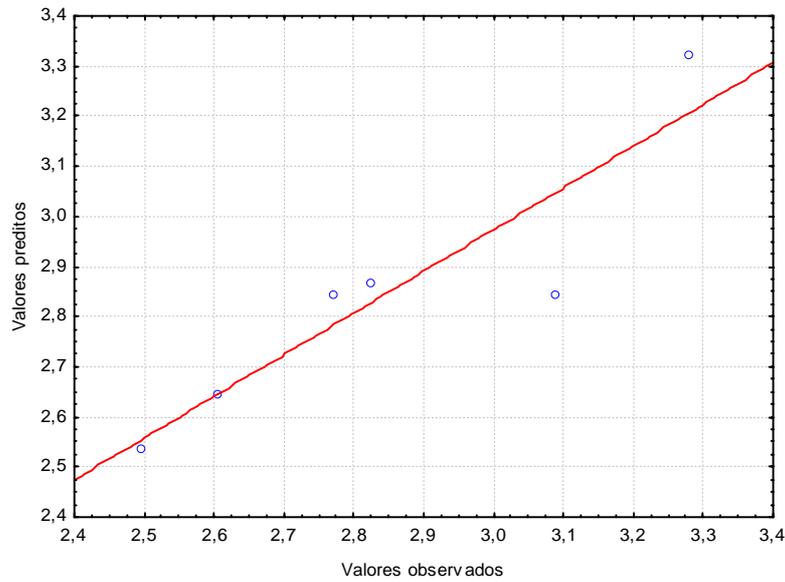


Figura 4.29 - Valores observados em função dos valores preditos – flavonóides

Na Figura 4.30 é mostrada a superfície de resposta para flavonóides presentes nas amostras de milona, mesmo com dados não estatisticamente significativo, é justificável sua construção para melhor compreensão dos resultados. Observa-se que, em termos de tendência, o aumento da temperatura pouco influencia no % de flavonóides.

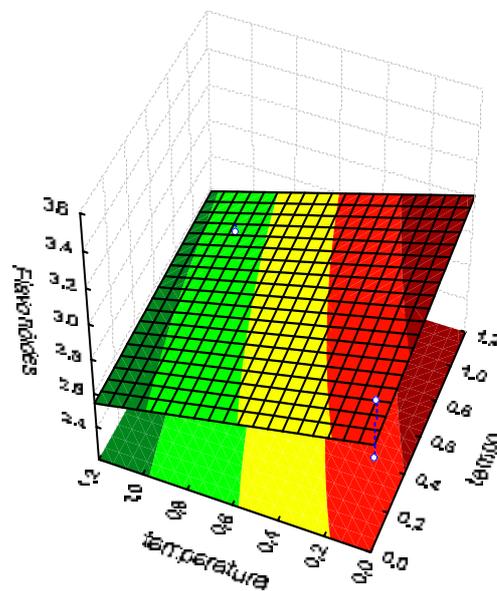


Figura 4.30 - Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de flavonóides na base seca.

Quanto a influência das variáveis independentes sobre a umidade, pode-se observar na Tabela 4.23 que a média produz influência significativa sobre a variável dependente em estudo.

Tabela 4.23 - Estimativa de valores para umidade em milona

	Efeito	Erro Padrão	t(2)	p	Coeff.	Erro Padrão
Média/Interc.	4,966	0,6715	7,395	0,0177	4,966	0,671
(1)tempo	-1,4020	1,6448	-0,852	0,4838	-0,701	0,822
(2)temperatura	-3,648	1,6448	-2,217	0,1568	-1,824	0,822

Foi verificado na análise de variância para umidade em milona, através do F_{calc} , que o modelo não foi significativo e a percentagem de variação explicada (R^2), de 74,85 % (Tabela 4.24). Esses resultados indicam uma concordância com o efeito esperado, no tocante ao aumento da temperatura, que provocaram diminuição da umidade final das folhas.

Tabela 4.24 - Análise de variância para umidade em milona

	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	16,09979	3	5,367	1,98
Resíduo	5,41118	2	2,706	
Total	21,51097	5		

$$R^2 = 74,85\%; R = 0,865 \text{ onde } F_{tab 0,95} = 19,16$$

Na Figura 4.31 pode-se verificar a má qualidade do ajuste do modelo aos dados experimentais, para a resposta umidade, não havendo concordância satisfatória entre os valores observados e os preditos pela equação.

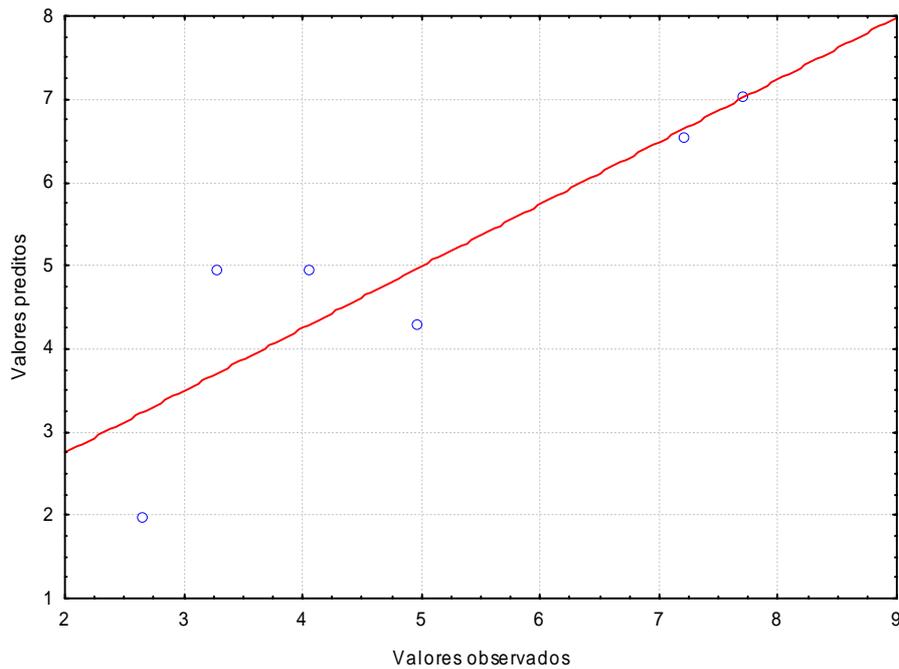


Figura 4.31 - Valores observados em função dos valores preditos - umidade

Observa-se na Figura 4.32 à medida que aumenta a temperatura, diminui a umidade, sendo este o comportamento visualizado também para hortelã.

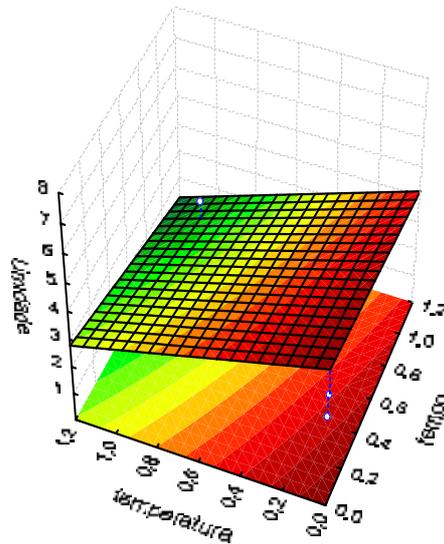


Figura 4.32 - Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de umidade na base seca.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4.25, excetuando-se a média, nenhuma das demais variáveis de composição apresentam efeitos significativos sobre as variáveis respostas.

Tabela 4.25 - Estimativa de valores para rendimento em milona

	Efeito	Erro Padrão	t(2)	p	Coeff.	Erro Padrão
Média/Interc.	4,725	0,458	10,30	0,009	4,725	0,458
(1)tempo	-4,11	1,122	-3,66	0,067	-2,055	0,561
(2)temperatura	-1,12	1,122	-0,99	0,423	-0,560	0,561

A análise de variância para rendimento em milona é mostrada na Tabela 4.26, onde o modelo não apresenta efeito significativo ao nível de 95%.

Tabela 4.26 - Análise de variância para rendimento em milona

	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	18,6649	3	6,222	0,79
Resíduo	2,52125	2	1,261	
Total	21,18615	5		

$$R^2 = 88,1\%; R = 0,939 \text{ onde } F_{\text{tab } 0,95} = 19,16$$

A Figura 4.33 mostra os valores preditos em função dos observados.

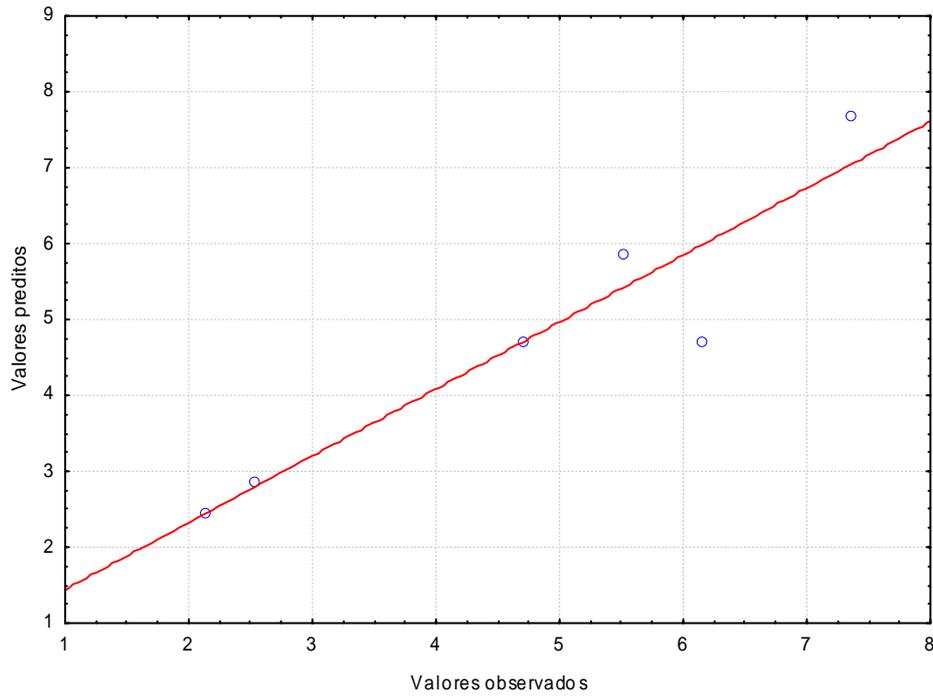


Figura 4.33 - Valores observados em função dos valores preditos - rendimento

A Figura 4.34 apresenta a superfície de resposta que relaciona as variáveis independentes (tempo e temperatura) em relação a resposta rendimento na extração.

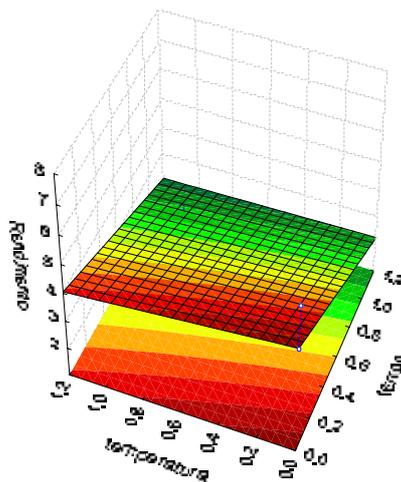


Figura 4.34 - Influência das variáveis de entrada temperatura (°C) e tempo (min) sobre o teor de rendimento na base seca.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos, podemos concluir que:

O modelo de GAB é viável para ajustar os dados experimentais das isotermas de dessecção. Sendo adequado para descrição de isotermas de folhas de hortelã em três temperaturas: 30, 40 e 50 °C e milona a 30 e 50 °C.

As constantes C e X_m na equação de GAB diminuíram com a temperatura, enquanto que K não varia significativamente;

No que diz respeito à cinética de secagem, das folhas de hortelã e milona, o efeito da temperatura é importante com uma considerável redução do tempo de secagem. Foi observado que, a hortelã pode praticamente alcançar a umidade de equilíbrio após 30 minutos na temperatura de 70°C enquanto que a milona seca mais lentamente, atingindo o equilíbrio aos 120 minutos. A secagem mais rápida da hortelã ocorre provavelmente devido ao alto teor de óleos essenciais presentes nas folhas dessa planta

Os resultados encontrados na secagem convectiva das folhas de hortelã e milona levam a afirmar que a secagem ocorre no período de taxa decrescente onde a migração de água por difusão se comportou conforme a segunda lei de Fick;

O modelo teórico da 2ª Lei de Fick, sem considerar encolhimento e coeficiente de difusão efetivo constante, assumindo a geometria de placa plana infinita, descreve de forma satisfatória os dados experimentais com coeficiente de correlação de 0,98;

O coeficiente de difusão efetivo obtido pelo método de estimação de parâmetros foi cerca de $1,2 \times 10^{-10}$ a $73 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para hortelã e $1,89 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ a $2,20 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ para milona.

A energia de ativação calculada foi 117,95 e 6,55 KJ/mol para hortelã e milona, respectivamente.

O maior teor de flavonóides no extrato obtido após secagem das folhas em estufa foi observado nos experimentos realizados com milona com temperatura de secagem de 60°C, tendo o tempo pouca influencia.

Dentro do intervalo utilizado no presente trabalho, as melhores condições, foram obtidas com a secagem a 60°C em ambas as plantas, com exceção do rendimento em

sólidos extraíveis da milona que apresentou os melhores resultados após secagem a 40°C durante 60 min.

Consideração final:

Os resultados obtidos apontam para as vantagens da secagem convectiva, não apenas para a obtenção de folhas com baixa atividade de água, adequada para o armazenamento, como também foram obtidos em geral, dependendo das condições de secagem, melhores rendimentos nas folhas secas quanto à extração de princípios ativos. Os resultados levam a crer que um secador solar para agricultores traria benefício para o rendimento de sólidos extraíveis, além da vantagem da rapidez na aquisição do produto final.

CAPÍTULO VI

6. Sugestões para trabalhos futuros

- Verificar o efeito da secagem sobre a extração de outros princípios ativos além de flavonóides nas plantas objetos desse estudo;
- Fazer estudo em escala piloto, tanto em termos de secagem, bem como, de extração;
- Realizar experimentos utilizando outras técnicas de extração;
- Avaliar outras plantas medicinais utilizadas na medicina popular;
- Verificar o efeito da secagem sobre a extração quanto ao teor de outros princípios ativos, como exemplo, taninos e fenóis totais, em outras plantas medicinais;
- Secar o extrato líquido em leito de jorro.

Recomendação final: aconselha-se, em virtude das diferenças de comportamento encontradas nas espécies estudadas, realizar estudos sobre diversos tipos de folhas de modo a tentar correlacionar a composição química e as propriedades físicas e estruturais com o desempenho na secagem e na extração de princípios ativos.

CAPÍTULO VII

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M.F. **Planta medicinal popular dos cariris velhos**. Editora União, João Pessoa, p.125,1996.

ALMEIDA, M. M. Desidratação de Polpa de Umbu. **Relatório do Estágio Integrado**. Universidade federal da Paraíba, Campina Grande, 1991.

ALMEIDA,M.M. Secagem de Fatias e Pedacos Cúbicos de Goiaba (*Pisidium guajava* L). **Tese**. UFCG-CCT.171p. 2004.

ALSINA, O. L. S., VASCONCELOS, L. G. S., CAVALCANTE, J. A., VILLAR, G. C., Brasileiro, I.M.N. Simulation of a tray convective dryer for banana slices In: IDS'2002, 13th International Drying Symposium, 2002, Beijing, China. **Drying'2002 Proceedings of the 13th International Drying Symposium**. v.A. p.371 - 379, 2002.

ALSINA, O. L. S.; VIEIRA, L.G. Determinação da condutividade térmica do urucum In: **6th Latim American Congress of Heat and Mass Transfer - ENCIT 96 e LATCYM 96**, VOL.III pp.1741-1746, Florianopolis , 1997.

ALSINA, O. L. S., SILVA, O.S. e BRASILEIRO, M.N., Drying Kinetics of Indian Cherry. **Proceedings of the Inter-American Drying Conference (IADC)**, Itu-SP, ppp. 434-40, 1997.

ARAGÃO, C. F.S. Desenvolvimento de metodologias analíticas para padronização de extratos de *Cissampelos Sympodialis* EICHL (Milona). **Tese** (Doutorado). João Pessoa: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, 2002. 210p., Universidade Federal da Paraíba.

ARAGÃO, F. A. ; ALSINA, O. L.S.; SILVA, L.C. Estudo da cinética e evolução térmica durante a secagem de fatias de caju. **Congresso Nacional de Frutas Tropicais**, 2005

ARAÚJO,M.E.R. Predição da Cinética de Secagem de fruto da goiabeira, **Dissertação**, UFPB, ,2001.

BANKOVA, V.S., POPOV, S.S., MAREKOV, N.L. Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis. **Phytochem**, v.28, n.3, p.871-873, 1989.

BARBOSA-FILHO, J.M.; AGRA, M.F.; THOMAS,G. Botanical, chemical and pharmacological investigation on *Cissampelos* species from Paraíba (Brazil). **Journal of the Association for the Advancement of Science**. V.49, nº 5/6. p. 386 – 394. 1997.

BARROS NETO, B., SCARMINIO, I. S. & BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Editora da Unicamp. Campinas –SP, 1996.

BARROSO,M.A . s., Henrique,h.m. 7 sartori,d.j.m., Secagem de Grãos em Camada Delgada, Um Estudo Sobre o Modelo Fickiniano. **Anais do XXI ENEMP**, Ouro Preto(MG),1993.

BORBA,M.O .P. ; BARBOSA_FILHO, J.M. & PADOVANI, I. O . Ultra structural of the active fractions of *Mentha crispata* against the *Schistosoma mansoni* “in vivo” In: **Internacional Symposium on Schistosomiasis – National Meeting on Schistosomiasis**. Rio de Janeiro, 1991.

BORBA,M.O .P. & MELO,J.F. A . Uso de *Mentha crispata* no tratamento de helmintos e protozoários intestinais. **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Manaus, 24, 1988.

BORBA,M.O .P. ; SANTANA, JV & BERINO, E . Effects of *Mentha crispata* crude extract administration on murine experimental schistosomiasis I – Clinical and parasitological aspects. **Mem. Inst.Oswaldo Cruz**, 84:236, 1990a.

BORBA,M.O .P. ; PADOVAN, P. A ; PADOVAN, I P. ; SANTANA, J. V.; PADILHA, R. J.; JUNGSMANN, P. & SILVA, J.F. Effects of *Mentha crispata* crude extract on *Schistosoma mansoni* cercaria. Na. Ultra-estrutural study, **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 84:235, 1990b.

BRAS-FILHO, R. **Química de Produtos Naturais**: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. A peregrinação de um pacatubano. *Química Nova*, v.17.n.5,p.405-445,1994.

BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução CIPLAN nº 8 de 8.3.1988. Implanta a prática da fitoterapia nos serviços públicos de saúde. **Diário Oficial da União**, 11.3.1988.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria DIMED nº 19 de 7.4.1986. Torna obrigatório o registro na DINAL das especiarias e ervas destinadas a infusões ou chás que não contenham indicações no rótulo. **Diário Oficial da**

União, 9.4. 1986.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria SVS nº 6 de 31.1.1995. Institui e normatiza o registro de produtos fototerápicos junto ao sistema de vigilância sanitária. **Diário Oficial da União**, 6.2.1995.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução – RDC Nº 17 de 24/02/2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF (25/02/2000) , 2000.

CARRARA JR. , E. e MEIRELLES, H. **A indústria e o desenvolvimento do Brasil**. São Paulo: Metalivro, 1996, 2v.

CASADEBAIG,J.L.; JACOB, M.; CASSANAS, G.; GAUDY, D.; BAYLAC, G.; PUECH, A. Physicochemical and Pharmacological Properties of Spray-dried Power from *Fraxinus excelsior* Leaf Extract. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 26, p.211-216, 1989.

CHADWISCK, D.J. MARSH, J. **Bioactive compounds from plants**, John Wiley, New York, 1990.

COPASSO, R.; IZZO,A. A; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytoterapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**. 71. s58-s65.2000.

CORDEIRO, D.S. e OLIVEIRA, W.P. Technical aspects of the production of dried extract of *Maytenus ilicifolia* leaves by jet spouted bed drying. **International Journal of Pharmaceutics**, vol.299, p.115-126, 2005.

CORDEIRO, D.S. Produção de Extrato Seco de *Maytenus ilicifolia* Martius Ex Reiss pelo Processo Leito de Jorro. **Dissertação**. PPG-FCFRP/USP, Ribeirão Preto, 2000.

CORREA,M. P. **Dicionário Das Plantas Úteis e Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da agricultura ,v.5, p.320,1929.

CÔRREA, N. A .; CÔRREA, R.G. e FREIRE, J.T. Adaptive control of paste drying in spouted bed using the GPC algorithm. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, 2001.

De PAULA, I. C. , Desenvolvimento Tecnológico de Forma Farmacêutica Plástica

Contendo Extrato Seco Nebulizado de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. Compositae, **Dissertação**.UFRGS, Porto Alegre, 1996.

ELIZABETSKY, E. New directions in ethnopharmacology. **J. Etnobiol.** **6**: 121,1986.

ELDIN, S.; DUNFORD,A A **Fitoterapia na atenção primaria a saúde**. Editora Malone Ltda.São Paulo: 162p,2001.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 3 ed. São Paulo:andrei,1988

FARNSWORTH,N.R. Relative safety of herbal medicines. **Herbalgram**, **29**: 36 A-36H, 1993.

FARNSWORTH,N.R.& MORRIS, R.W. Higher plants – the sleeping giant of drug development. **Amer. J. Pharmacy.**, **147** : 46-52, 1976.

FREIRE, F.B., BARROZO, M.A.S., SARTORI, D.J.M, FREIRE, J.T.. Study of drying kinetics in thin layer fixed and moving bed, **Drying'2004**, C:1684-1691, 2004.

FRENKEL, J.; REIS, J.A.; ARAÚJO JÚNIOR, J.T.; NAIDIN, L.C. ; LOBO,R.S. ; FONSECA, M.S. **Tecnologia e competição na indústria farmacêutica brasileira**. Rio de Janeiro: Finep.1978.

FURUYA, K. Biochemical studies on calcareous algae. II. Organic acids of some calcareous red algae. *The Botanical Magazine, Tokyo*, 78:274-279, 1965;

GABAS,A . L.Secagem de uva Itália em leito fixo.**Dissertação**.FEA/Unicamp,1998.

HEIDELBAUG,N.D.;KAREL,M. Stability of low and intermediate moisture foods. In:GOLDBLITH, S. A ; REY,L.; ROTHMAYR, W.W. **Freeze Drying and Advance Food Technology**. New York: Academic Press, p.643-674,1975.

HOEHNE,F.C. **Plantas e substâncias tóxicas e medicinais**. Departamento de Botânica do Estado de São Paulo, 30p.,1939.

IHRIG,M.;BLUME, H. Zur Beurteilung von Phytopharmaka aus pharmazeutischer. **Sicht. Pharm. Ztg**, 137, 36: 2715- 2725. 1992.

JACOB, M. SOERTANO, S. ; PUECH, A ; DURU, C; CAVAILLES, M.L. Contribution à

l'étude de la stabilité de divers extraits végétaux sécs. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 59, p. 335-338, 1984.

KECHAOU,N. e MAALEJ,M. Model for determination of moisture diffusivity of date from experimental drying curves. Helsinki,Finland,1999.

KOROLKOVAS,A ; BURCKALTER, J.H. **Química farmacêutica**, Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.^a, p. 4, 1998.

KUMAR,K.;HUA,J.;WU,M. A kinetic study on temperature effects in kinetic model.2005.

LEWIS, W. K. "The rate of drying of solids materials" In: **The Symposium on Drying. The journal of i.& e. Ch.** 13 (5), pp.427-432,1921.

LIMA, L. M. O. Estudo do Aproveitamento de bagaço de frutas tropicais, visando a extração de fibras. **Dissertação** (Mestrado). Natal: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade federal do Rio Grande do Norte, 108p. 2001.

LIST, P. H.; SCHIMIDT, P. C. **Phytopharmaceutical Technology**. Boca Raton: CRC,1989.

LOMAURO, C.J.; BAKSHI, A . S.; LABUZA, T.P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Par I: Fruit, vegetable and meat products. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 18, p.112-22, 1985.

LOW, T.; RODD, T.; ROSEMARY, B.; CARTWRIGHT, L.; ALLARDICE, P.; BONE, K.; HUTCHISON, F.; MACKAY, D.; ORAMN. **Segredos e virtudes das plantas medicinais**. 1 ed., Itália. 241pp, 1999.

MABRY, T.J.;MARKHAM, K.R., e THOMAS, M. B. The systematic identification of flavonoids, CapítuloIV, Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg – New York, 1970;

MANCINI,M.C.Transferência de Massa na Secagem de Grãos em Camada Delgada, **XXII –ENEMP**, Florianópolis(SC),1996.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M. CASTELLANI, D.C. ;DIAS,J.E. **Plantas medicinais**. Editora UFV. Universidade de Viçosa, MG, Brasil, p.220,2000.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais**. Guia de seleção para emprego de plantas medicinais do Nordeste do Brasil. Vol. 1, IOCE, Fortaleza, 1989.

- MATOS, F.J. A. **Farmácias Vivas**.Fortaleza: Edições UFC,48-49, 1991.
- MATOS, F.J. A. **Farmácias Vivas**. 2ª ed.Fortaleza: Edições UFC, 1994.
- MATOS, F. A **Introdução a Fitoquímica** Experimental. Fortaleza: Ed. UFC, p. 128,1994.
- MATOS, F.J.A.; ANJOS, M.I.L. **Farmácias Vivas**. Sistema de uso de plantas medicinais cientificamente comprovadas para pequenas comunidades, Fortaleza, 1989.
- MEDEIROS, M.F. D.Influência da Composição Química dos Materiais no Desempenho do Processo de Secagem de Polpas de Frutas em Leito de Jorro.**Tese**.Universidade Estadual de Campinas, Campinas,SP,2001.
- MENDONÇA, V.L.M. Estudo Farmacológico e Toxicológico de *Alpinia speciosa* Schum. **Dissertação** (Mestrado em Química Orgânica), Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará,1989.
- MOURA, T.F. ; GAUDY, O.; JACOB, M.; TEROL, A. PAUVERT, T.B.; CHAVET, H. Vitamin C spray drying: study of the thermal constituent, Dry Development and Industrial Pharmacy, v. 22, n. 5, p. 393-400, 1996.
- PAGE, P.;CURTIS, M.J.;SUTTER, M.C.;ALKER, M.J.A.;HOFFMAN, B.B.**Farmacologia Integrada**. Ed. Malone. LTDA. São Paulo, p.606,1999.
- PACHÚ, C. O. Novas Lignanais isoladas da *Ocotea duckei* Vattimo e atividade Psicodpressora da iangambina. João Pessoa: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, 137p. **Dissertação** (Mestrado).1994.
- PARK, K. J., VOHNIKOVA, Z., BROD, F.P.R.. Evaluation of drying parameters and desorption isotherms of garden mint leaves (*Mentha crispa* L.). **Journal of Food Engineering**, 51:193-199, 2002.
- PASSOS, M.L.; MUJUNDAR, A S., **Drying Technol.**, 7, 663, 1989.
- PEREIRA, N. A.; SIQUEIRA-JACCOUD, R.J.; RUPPEL, B.M.; MATTOS, S.M.P. As plantas medicinais estudadas por Rodolfo Albino Dias da Silva. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 70, 2: 29-33. 1989.
- PERRY,R.H. & CHILTON, C.H., **Manual de Engenharia Química**, Seções 12 e 20, 5ª ed. Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 1980.

PETROVICK, P.R. **Ofício dirigido à Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária** em 10.10.1989.

PIRAGIBE, A. **Notícia Histórica da Legislação sanitária no Império do Brasil desde 1822 até 1878**. Rio de Janeiro: E. & H. Laemmert . 1880.

RÉ, M.I.; FREIRE, J.T. Drying of pastelike materials in spouted beds. **Anais of sixth Drying Symposium**. Versailles, p.426-431. 1988.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. Impreandes Presença S. A Colombia, 1997.

RODRIGUES, M. I e IEMMA, A. F.. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos**. 1ª Ed.- Campinas,SP: Casa do Pão Editora,2005.

RUNHA, F.P.; CORDEIRO, D.S.; PEREIRA, C.A.M.; VILEGAS, J.; OLIVEIRA, W.P. Production of dry extracts of medicinal Brazilian plants by spouted bed process: Development of process and evaluation of thermal degradation during the drying operations. **Trans IchemE**. vol. 79 (C). pp. 160-168, 2001.

SANTOS,M.R.V. Atividade cardiovascular da fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Sida cordifolia* Linn(Malvaceae) em ratos. **Dissertação** (Mestrado em Produtos Naturais e sintéticos Bioativos) , Laboratório de Tecnologia Farmacêutica , Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa /PB,2002.

SCHIMIDT,P.C.;GONZÁLEZ ORTEGA,G. Passionsblumenkraut: Bestimmung des Gesamtflavoidgehaltes von Passiflorae herba. **Deutscher Apotheker Zeitung**., v. 47, p. 17-26, 1993.

SENNA, E. L.; PETROVICK P. R. ;ORTEGA, G. G. ; BASSANI, V. L. Preparation and characterization of spray dried powders from *Achyrocline satureioides* (LAM) DC extracts. **Phytotherapy Research**, V. 11, nº 2, p. 123-127, 1997.

SHERWOOD, T.D. The drying of solidsI. **Industrial and Engineering Chemistry**, v.21, n.1,p.12-16, jan. 1939.

SILVA, R. A. D. **Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil**. São Paulo. Nacional, 1929.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL,E.P.: GOSMANN, G. ; MELLO, J. C. P.; MENTZ L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia : da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Editora de UFSC, 3ª edição. 833p. 2001.

SOUZA,C.R.F. Estudo comparativo da produção de extrato seco de *Bauhinia forficata* Link pelos processos spray-dryer e leito de jorro.**Dissertação**.FCFRP/USP,pp.180,2003.

SOUZA, K.C.B. Desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas na obtenção de extrato secos nebulizados de *Passiflora edulis* forma flavicarpa. **Dissertação**. UFRGS,1997.

TEIXEIRA, F. E. Natureza, um modismo na cultura alternativa. **Pau Brasil**, São Paulo. 7: 77-79, 1985.

TEIXEIRA, H. F. Avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos sobre as características físicas, químicas, tecnológicas e farmacológicas de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae – macela. **Dissertação**. Porto Alegre: PPG – CF/ UFRS, 1996.

TEIXEIRA NETO, R. O. ; QUAST, D.G. Isotermas de adsorção de umidade em alimentos. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas,v.8, p. 141-197,1977.

THOMA, M., VINATORU, M., PANIWNYK, L. e MASON, T.J., Investigation of the Effects of Ultrasound on Vegetal Tissues During Solvent Extraction, **Ultrasonics Sonochemistry** , v. 8, p. 137-142, 2001.

VINATORU, M., An Overview of the Ultrasonically Assisted Extraction of Bioactive Principles from Herbs, **Ultrasonics Sonochemistry**, v.8, p.303-313, 2001.