



REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG



Dissertação de Mestrado

"Obtenção de Rutina de *Dimorphandra* sp.: do Processamento dos Frutos à Obtenção de Extrato Enriquecido"



Autora: Elisângela Aparecida Macedo Santos
Orientador: Prof. Dr Paulo Pereira Martins Junior
Co-Orientador: Prof. Dr Ernane Ronie Martins



Fevereiro de 2006



REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG

Elisângela Aparecida Macedo Santos

"Obtenção de Rutina de *Dimorphandra* sp: do Processamento dos Frutos à Obtenção do Extrato Enriquecido"

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais da REDEMAT, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Processos de Fabricação
Orientador: Prof. Dr Paulo Pereira Martins Junior
Co-Orientador: Prof. Dr Ernane Ronie Martins

Belo Horizonte, fevereiro de 2006

S237o Santos, Elisângela Aparecida Macedo.

Obtenção de rutina de *dimophandra* sp: [manuscrito] do processamento dos frutos à obtenção de extrato enriquecido. / Elisângela Aparecida Macedo Santos. – 2006.

ii, 78f.: il., grafs., tabs., mapas.

Orientador: Prof. Paulo Pereira Martins Junior.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Rede Temática em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Processos de Fabricação.

1. Rutina - Teses. 2. *Dimophandra Mollis* - Teses. 3. *Flavonóides* - Teses.
4. Frutas - Indústria - Teses. I. Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. II.Título.

CDL 648

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS
UFOP - CETEC - UEMG
Pós-Graduação em Engenharia de Materiais



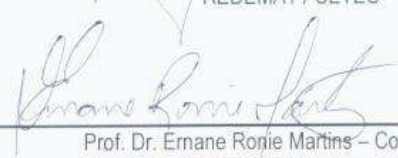
**“Rutina da Espécie de *Dimorphandra* Sp. Do
Processamento dos Frutos à Obtenção de Extrato
Enriquecido”**

Autor(a): Elisângela Aparecida Macedo Santos


Dissertação defendida e aprovada, em 07 de fevereiro de 2006, pela banca
examinadora constituída pelos professores:




Prof. Dr. Paulo Pereira Martins Junior - Orientador
REDEMAT / CETEC



Prof. Dr. Ernane Ronie Martins - Co-Orientador
Univ. Federal de Minas Gerais



Prof. Dr. Lourdes Silva de Figueiredo
UNIMONTES-Univ. de Montes Claros



Prof. Dr. Rogério Amaro Gonçalves
UFLA-Univ. Federal de Lavras

Àquele que é minha Luz dedico.

“É difícil chegar lá, mas é impossível chegar sozinho.”

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho meu agradecimento.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Problemas em Questão	3
1.2. Justificativa	4
1.3. Guia de Leitura do Trabalho	5
2. OBJETIVOS	6
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
3.1. Medicamentos de Origem Vegetal	7
3.2. Abordagem Interdisciplinar na Pesquisa de Plantas Medicinais	8
3.3. Aspectos Econômicos, Sociais e Ambientais a Serem Considerados na Pesquisa de Plantas Medicinais.....	9
3.4. O Cerrado como Fonte de Medicamento de Origem Vegetal	11
3.5. Análise Fitoquímica	12
3.5.1. <i>Coleta para Classificação Taxonômica</i>	12
3.5.2. <i>Coleta para Estudo Fitoquímico e Farmacológico</i>	13
3.6. Preparação do material vegetal.....	14
3.6.1. <i>Secagem</i>	14
3.6.2. <i>Armazenamento do material</i>	20
3.6.3. <i>Moagem do material</i>	20
3.6.4. <i>Tamisação</i>	21
3.7. Extração de princípios ativos	23
3.7.1. Métodos de extração sólido-líquido.....	25
3.8. Fracionamento, Isolamento e Purificação de Substâncias.....	26
3.9. Os flavonóides.....	27
3.9.1. <i>Os Flavonóis</i>	28
3.9.2. <i>Propriedades Físico-Químicas dos Flavonóides</i>	29
3.9.3. <i>Extração de Flavonóides</i>	30
3.9.4. <i>Caracterização de Flavonóides</i>	30
3.9.5. <i>Isolamento e Purificação de Flavonóides</i>	31

3.9.6. Doseamento de Flavonóides.....	31
3.10. A Rutina.....	34
2.10.1. Dados gerais.....	34
2.10.2. Aspectos Farmacológicos.....	35
2.10.3. Formas de Obtenção.....	36
3.11. Dimorphandra.....	36
3.11.1. <i>Dimorphandra gardneriana</i>	37
3.11.2. <i>Dimorphandra mollis</i> Benth.....	40
3.12. Flavonóides encontrados nos frutos de <i>Dimorphandra</i> sp.....	42
3.13. Coleta dos Frutos	43
3.14. Secagem e Beneficiamentos Pós-Coleta.....	44
3.15. Extração de Rutina	45
3.16. Caracterização da Rutina de <i>Dimorphandra</i> sp	46
3.17. Esquema Geral sobre a Obtenção de Rutina de Espécies de <i>Dimorphandra</i> sp com Foco nos Problemas Tratados na Dissertação	47
3.18. Aspectos Econômicos, Sociais e Ambientais na Cadeia de Comercialização da Fava D'anta.....	48
4. METODOLOGIA.....	49
4.1. Coleta.....	50
4.2. Secagem	51
4.3. Determinação da Curva de Secagem	53
4.4. Análise da Influência da Estrutura de Secagem no Teor de Rutina.....	54
4.5. Análise do Rendimento do Pó em Cada Tamis Usado na Tamisação	54
4.6. Determinação do Teor de Rutina em Cada Fração Obtida na Tamisação.....	55
4.7. Determinação do Teor de Rutina de Diferentes Populações	55
4.8. Extração de Rutina.....	55
4.9. Análises na CLAE.....	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.1. Coleta.....	57
5.2. Secagem	57
5.3. Determinação da Curva de Secagem	59
5.4. Análise da Influência da Estrutura de Secagem no Teor de Rutina.....	61
5.5. Análise do Rendimento do Pó em Cada Tamis Usado na Tamisação	62
5.6. Determinação do Teor de Rutina em Cada Fração Obtida na Tamisação.....	62
5.7. Determinação do Teor de Rutina de Diferentes Populações	63
5.8. Extração de Rutina.....	64

5.9. Quadro Comparativo de Referências e Procedimentos Utilizados na Dissertação....	66
6. CONCLUSÕES.....	67
7. RECOMENDAÇÕES	68
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
9. ANEXOS	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1.....14
Figura 3.2..... 15
Figura 3.3.....27
Figura 3.4.....34
Figura 3.5.....39
Figura 3.6.....41
Figura 3.7.....42
Figura 3.8.....44
Figura 3.9.....47
Figura 4.1.....49
Figura 4.2.....52
Figura 4.3.....52
Figura 4.4.....53
Figura 5.1.....57
Figura 5.2.....58
Figura 5.3.....60
Figura 5.4.....63
Figura 5.5.....64
Figura 9.1.....75
Figura 9.2.....76
Figura 9.3.....77
Figura 9.4.....78

LISTA DE TABELAS

Tabela III.1.....	18
Tabela III.2.....	36
Tabela V.1.....	59
Tabela V.2.....	61
Tabela V.3.....	62
Tabela V.4.....	62

RESUMO

A rutina é um flavonóide empregado na indústria farmacêutica para fabricação de medicamentos que atuam na circulação sanguínea. É extraída em grande parte de frutos de espécies nativas do Cerrado Brasileiro. As espécies mais empregadas são conhecidas como fava d'anta (*Dimorphandra mollis* e *Dimorphandra gardneriana*). Os frutos são coletados verdes, e após secos, são vendidos para as indústrias que os processam, extraíndo e comercializando principalmente a rutina, além de seus derivados. O Brasil atualmente exporta a maior parte da produção interna de extrato de fava d'anta e importa formulações farmacêuticas contendo rutina e seus derivados na forma pura. Os objetivos do trabalho foram estudar a influência do sistema de secagem dos frutos e da granulometria do pó dos frutos no teor de rutina; desenvolver e avaliar técnica de extração de rutina com solventes pouco tóxicos; e avaliar a variação de rutina entre plantas de diversas procedências em Minas Gerais. Os frutos verdes foram coletados e submetidos a quatro sistemas de secagem, determinado-se o teor de umidade durante o processo. Após a secagem, uma parte dos frutos moídos e não tamisados foram submetidos à análise do teor de rutina por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) para verificar a influência do sistema de secagem no teor de rutina. E parte dos frutos moídos foi tamisada para análise da influência da granulometria no teor de rutina. Os frutos coletados secos foram moídos e analisados na CLAE quanto ao teor de rutina para verificação da variação do princípio ativo em diferentes locais de coleta, e também foram utilizados para testar uma nova técnica de extração de rutina. Os resultados mostraram que o método de secagem no chão é o mais promissor, e não houve diferença estatística quanto ao teor de rutina dos frutos secos no chão e os secos nos outros sistemas. O pó com granulometria maior que 80 mesh (pó retido no fundo do tamis) apresenta o maior teor de rutina. A extração de rutina com água mostrou-se promissora, porém são necessários mais estudos para aperfeiçoamento da técnica. O trabalho gerou resultados que serão submetidos a processo de patenteamento.

ABSTRACT

The rutin is a flavonoid used in pharmaceutical industry for medicine manufacturing that actuate on blood flow. It's draw out in most part of fruits from native species from brasilian gloomy (called "cerrado" in Brazil). The most used species are know how "fava d'anta" (*Dimorphandra mollis* and *Dimorphandra gardneriana*). The fruits ara collected green, and after dry, are sell for industries who processe them, taking off and trading generally the rutine, beyond of them derivative. Actually Brazil export the most part of internal production of extract of "fava d'anta" and import pharmaceutical formulations contains rutine and derivates in pure form. The work objectives were study drying system influence of fruits and grainulometry of fruits dust in rutine purport, develop and avaliate the extract tecniche of rutine with solvent few toxic, avaliate variation of rutine between plants of diferents source in Minas Gerais. The green fruits were collected and submitted to four drying system, determining the dampness purport during the process. After drying a part of tainted fruits and not sifted were submit to analysis of rutine purport by HPLC (High Performance Liquid Chromatography) to verify the drying system influence on rutine purport. Part of tainted fruits were sift for influence analysis of grainulometry on rutine purport. The dry fruits colletec were tainted and analised in HPLC as rutine purport to verify begning ative variation, in different collect places, and also were used to test a new rutine extract tecniche. The results showed drying method on the floor is the most promising, and there weren't estatistic diference in relation of drying on the floor fruits of rutine purport and dry ones in other systems. Dust with grainulometry higher than 80 mesh (retained dust in tamis deep) show the most rutine purport. The extraction of rutine with water has showed promising, whatever are necessary more studies to tecniche improvement. The work gave results who will be submit to manifestment process.

1.INTRODUÇÃO

A fava d'anta (*Dimorphandra* sp) é uma planta cujos frutos são utilizados na extração de rutina para abastecimento da indústria farmacêutica. A rutina é um flavonóide que atua no fortalecimento e permeabilidade das paredes dos vasos capilares, em combinação com a vitamina C (CEMIG, 1992; Santos *et al.*, 1977; Rizzini e Mors, 1995). Ela também atua ativando a enzima antioxidante superóxido dismutase, promovendo um aumento do colesterol HDL sérico e diminuindo os fatores de risco para a aterosclerose e DCV (Rodrigues *et al.*, 2003).

Estudos realizados por Gomes (1998), abordando o extrativismo e comercialização da fava d'anta (*Dimorphandra* sp.) na região do Cerrado de Minas Gerais, serviram como importante fonte de referência para futuros trabalhos envolvendo essa espécie.

Através do projeto de pesquisa intitulado “Conservação da Fava d'anta (*Dimorphandra* sp) do Norte de Minas Gerais: localização, coleta, ecogeografia, germinação e crescimento”, sob a coordenação do Prof. Ernane Ronie Martins, originou-se vários trabalhos, tais como: Caracterização Ambiental da Fava d'anta (Souza *et al.*, 2001); Determinação do Modo de Reprodução de *Dimorphandra mollis* Benth. (Mendes & Martins, 2001); Germinação da Fava d'anta (Gonçalves *et al.*, 2001); Conservação da Fava D'anta do Norte de Minas (*Dimorphandra mollis* Benth.): II-Ecogeografia (Souza *et al.*, 2002); Conservação da Fava D'anta do Norte de Minas (*Dimorphandra mollis* Benth.):IV-Influência do Sistema de Secagem e da Época de Coleta sobre o Teor de Flavonóides Totais em Frutos (Mendes *et al.*, 2002); Conservação da Fava D'anta do Norte de Minas (*Dimorphandra mollis* Benth.):V-Variação no Teor de Flavonóides Totais em Duas Porções do Fruto (Santos *et al.*, 2002) e Influência da Época de Coleta, Procedimento de Secagem e Parte do Fruto no Teor de Flavonóides em Fava D'anta (Macedo *et al.*, 2004). Todos esses trabalhos serviram como base para estudos realizados por Santos (2006) no projeto “Desenvolvimento de Processo para Obtenção e Caracterização de Rutina Extraída de Espécies de *Dimorphandra*”, executado na Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC), vinculado à Rede Temática de Engenharia de Materiais.

A disciplina de Ciência dos Materiais investiga a relação que existe entre a estrutura e propriedade dos materiais. E a Engenharia de Materiais se encarrega das correlações existentes entre as estruturas e propriedades, o esboço ou manejo da estrutura de um material para produzir uma série de propriedades pré-determinadas (Calister, 2001).O objetivo deste

trabalho foi realizar com a fava d'anta estudos do manejo pós-coleta de seus frutos e a interferência desse manejo na extração de rutina. Também foram feitos estudos das características da rutina no intuito de desenvolver uma técnica de extração. Esses estudos tinham como objetivos avaliar a influência do sistema de secagem dos frutos e da granulometria do pó dos frutos no teor de rutina; desenvolver e avaliar técnica de extração de rutina com solventes pouco tóxicos; e verificar a variação de rutina entre plantas de diversas procedências em Minas Gerais. Desta forma, com o estudo das características da matéria prima e da substância que se pretendeu extrair, pretendeu-se chegar ao desenvolvimento de técnicas de processamento da matéria prima, e extração e obtenção do produto final com alto valor agregado.

1.1. Problemas Em Questão

- **Secagem:** a secagem dos frutos, pelos coletores, é feita no chão, correndo-se o risco do material perder a qualidade e assim o valor comercial. Assim foram feitos estudos utilizando-se a secagem no sistema convencional, e analisando-se outros métodos para avaliar possíveis interferências no teor de rutina nos frutos, bem como comparação com outros sistemas adotados por outros trabalhos de pesquisa. Esses resultados podem orientar os coletores para que eles obtenham um fruto seco com melhor qualidade e assim melhor preço de venda.
- **Granulometria:** escassas são as referências sobre o tamanho das partículas do pó de fruto moído utilizado na obtenção de rutina. O estudo da tamisação dos frutos forneceu mais informações sobre a influência do tamanho de partícula do fruto seco moído no teor e extração de rutina.
- **Obtenção de Rutina:** Griffith *et al.* (1955) em estudos sobre a rutina cita uma técnica de extração utilizando-se de folhas de trigo sarraceno desenvolvida por Krewson e Couch. Nela utilizam-se álcool isopropílico e água como solventes. Com o passar do tempo outros autores começaram a utilizar metanol e etanol como principais solventes. O trabalho de Oliveira (2004) foi também utilizado como referência. Analisando-se esses trabalhos pôde-se perceber que o metanol e o etanol são os principais solventes analisados. Assim, a partir dessas referências, o presente trabalho desenvolveu uma técnica que não utiliza tais solventes, ao invés disso utilizou-se a água como principal solvente. Essa técnica será submetida a patenteamento.

Em todas as etapas do estudo, o teor de rutina foi analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

1.2. Justificativa

Apesar da rutina possuir um alto valor agregado, esse valor é mal distribuído na cadeia de comercialização da fava, ficando a maior parte dos lucros com os atravessadores e as indústrias. Os frutos verdes são coletados manualmente pela população rural e vendidos a R\$ 0,10 o kg, em média, para os atravessadores. Os atravessadores locais vendem a R\$ 0,30 o kg para os atravessadores regionais, que repassam para a indústria por um valor que vai de R\$ 0,35 a R\$ 0,60 por kg. As indústrias processam e comercializam principalmente a rutina, e também seus derivados, que são a troxerutina e a quercetina, para a indústria farmacêutica, ramnose, para a indústria de cosméticos, e os galactomananos, para a indústria alimentícia, através de exportação. A rutina nacional é comercializada por valores entre 12 e 16 dólares/kg (Gomes, 1998).

A planta ainda sofre risco de extinção devido tanto ao processo de desmatamento para uso da madeira na fabricação de mourões e carvão, bem como para ceder lugar a plantações e queimadas. E neste ritmo predatório em que são feitas as coletas de seus frutos, acaba afetando as próximas safras. E outro fator importante é o fato de possuir efeito abortivo em bovinos, o que contribui para que os fazendeiros estimulem sua eliminação (Gomes, 1998; Lorenzi, 2000). Apesar da existência de leis de proteção ambiental, a maioria dos agricultores as desconhece ou as ignora, e pratica uma agricultura imediatista e intensiva, destruindo os recursos naturais da região sem ao menos conhecê-los (Silva *et al.*, 1992).

Um conhecimento prévio do potencial das áreas de extração de fava d'anta auxiliaria no desenvolvimento de técnicas de manejo sustentável, trazendo amplos benefícios tanto na preservação da biodiversidade, quanto também nos aspectos econômicos e sociais das famílias dos catadores. Por falta do conhecimento real da importância econômica da cadeia de comercialização da fava d'anta essas famílias são marginalizadas na participação dos lucros e acabam contribuindo de forma direta com a extinção da espécie devido ao seu manejo não sustentável.

Para as indústrias que extraem a rutina, será de grande utilidade a obtenção de técnicas geradas no próprio País que lhes permitam obter produtos de qualidade incontestável no mercado mundial.

1.3. Guia De Leitura Do Trabalho

Na Revisão Bibliográfica foram abordados tópicos relacionados aos medicamentos de origem vegetal de um modo geral, uma de suas fontes, sua análise fitoquímica e os requisitos necessários para tal, desde a coleta e preparação do material vegetal, passando pelo processo de extração, fracionamento, isolamento e purificação do princípio ativo. Também foram abordados aspectos sobre a caracterização química dos extratos. E sobre os flavonóides, suas propriedades físico-químicas e aspectos sobre sua extração, caracterização, isolamento, doseamento e identificação. E por fim o objeto de estudo, a rutina, é descrito em detalhes, desde sua obtenção até os processos de caracterização comumente abordados na literatura.

Na Metodologia foram demonstradas as técnicas de coleta, secagem, moagem e peneiramento dos frutos; e a de análise do teor de rutina dos pós de frutos secos obtidos. E no capítulo de Resultados e Discussões estão os resultados de cada análise e discussão e comparação com outros trabalhos de referência. Por fim estão as conclusões da Dissertação e algumas recomendações para trabalhos posteriores. Nos anexos estão os mapas de localização de algumas plantas estudadas.

2.OBJETIVOS

- Analisar a influência de alguns sistemas de secagem de frutos de *Dimorphandra* sp. no teor de rutina;
- Analisar o rendimento de pós de frutos secos submetidos a tamisação com tamises (peneiras) de malhas de diferentes tramas, medidas em mesh (#);
- Analisar o teor de rutina de pós de frutos de *Dimorphandra* sp. de diferentes tamanhos de partículas;
- Avaliar a variação de rutina entre plantas de diversas procedências em Minas Gerais;
- Desenvolver um método de extração de rutina com solventes menos tóxicos que os geralmente utilizados no meio acadêmico.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Medicamentos de Origem Vegetal

Desde o aparecimento do homem, a natureza é sua principal fornecedora de medicamentos, através de sua flora medicinal que, atualmente, continua sendo a base de novas pesquisas químicas e farmacêuticas (Cardozo Júnior, 1996; Maciel *et al.*, 2002).

Nas últimas décadas do século XX ocorreram fatos importantes que fizeram com que o público e cientistas se interessassem por plantas medicinais. Os leigos redescobriram a utilidade dos medicamentos de origem vegetal. A insatisfação com a eficácia e o custo da medicina moderna aliados à admiração pelas coisas “naturais” e “orgânicas” levaram milhões de pessoas em todo o mundo a apreciar melhor o uso dos medicamentos naturais clássicos para o tratamento de muitas doenças, geralmente de natureza benigna. E também entre esses fatos está o desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante na produção de fármacos, também conhecida como farmacobiotechnology (Robbers *et al.*, 1997).

As principais indústrias farmacêuticas reconheceram que certas plantas, que o povo sempre considerou como “remédios”, continham compostos que hoje desempenham funções importantes na medicina moderna. Funções estas que são, primeiramente, o fornecimento de alguns medicamentos extremamente úteis, cuja produção e comercialização na forma sintética é difícil. Entre eles estão grupos tão diversificados de substâncias como os alcalóides da papoula, produtora de ópio, do esporão do centeio e das plantas solanáceas; os glicosídeos cardiotônicos da *digitalis*; a maioria dos antibióticos; e todos os soros, vacinas e produtos afins (Robbers *et al.*, 1997).

De fontes naturais também são retirados compostos básicos que pode ser ligeiramente modificados para tornarem-se mais eficazes ou menos tóxicos; exemplos disso são as numerosas variações da molécula da morfina (Robbers *et al.*, 1997). Alguns deles apresentam atividade pequena ou nula em si mesmos, mas que podem ser modificados por métodos químicos ou biológicos para produzir drogas potentes, não obtidas facilmente por outros métodos. Por exemplo, o taxol pode ser sintetizado a partir da bacatina III, que é mais ou menos abundante nas folhas de várias espécies de teixo. O teixo é uma árvore da família das taxáceas (*Taxus baccata*), espontâneas na Europa, América do Norte, região mediterrânea, Japão, Coreia e Mandchúria, muito cultivada como ornamental (Ferreira, 1975). O próprio taxol é encontrado apenas na casca de um teixo raro do Pacífico. O tratamento químico e

biológico do estigmasterol, substância que ocorre em abundância no óleo de soja, permite a produção em larga escala da hidrocortisona ou de corticosteróides afins, compostos estes que ocorrem em pequenas quantidades na natureza (Robbers *et al.*, 1997).

Outra função é sua utilidade como protótipos ou modelos para medicamentos sintéticos que tenham atividades fisiológicas semelhantes às dos originais; exemplos deles são a procaína e os anestésicos locais similares (Robbers *et al.*, 1997).

Através de conferências, seminários, grupos de pesquisa, leis e publicações, os diversos segmentos da sociedade se movimentam com interesse por plantas medicinais. Tanto o setor público como o privado buscam propostas para produção, legislação e fiscalização de produtos visando abastecer o mercado, exigente por produtos de qualidade, enfrentando o desafio de gerar tecnologia que possibilite ao País competir com esse mercado (Cardozo Júnior, 1996).

3.2. Abordagem interdisciplinar na pesquisa de plantas medicinais

A abordagem interdisciplinar na pesquisa de novos medicamentos é uma alternativa eficaz e promissora para o alcance desse objetivo (Di Stasi, 1996).

Porém muitos profissionais não acreditam que essa abordagem tenha sucesso. Quando ocorre falta de integração entre o trabalho de químicos e farmacologistas, por exemplo, pode ocasionar as seguintes conseqüências (Di Stasi, 1996):

1. a maioria dos solventes utilizados nos procedimentos de estudo químico de espécies vegetais é incompatível para sua utilização em ensaios biológicos;
2. a maioria dos compostos químicos isolados e purificados pelos químicos não possui ou possui pequena solubilidade em água, o que dificulta muito a sua administração em animais de experimentação;
3. a falta de relação constante entre estes profissionais esbarra na necessidade de armazenamento destas substâncias ou frações semi-purificadas por longos períodos, o que em muitos casos representa a perda de atividade biológica;
4. a maioria dos químicos executa suas pesquisas voltadas para a obtenção de compostos de determinadas classes químicas, e a possibilidade de uma espécie

vegetal possuir justamente o grupo de compostos de interesse do químico é bem pequena, diminuindo, assim, a possibilidade de um tratamento mais eficiente no isolamento do composto ativo;

5. grande parte dos ensaios biológicos é executada em animais (*in vivo*), o que requer grandes quantidades de substâncias e/ou frações semi-purificadas, que representam uma dificuldade imensa de isolamento e purificação por parte dos químicos, que por sua vez conseguem desenvolver seus estudos com pequenas quantidades de material;
6. há uma enorme dificuldade de associação entre estes profissionais, em decorrência dos diferentes objetivos que cada um busca em seus estudos;
7. o fato de a linguagem entre estes diferentes profissionais não ser a mesma, é um componente que complica, de forma inegável, esta inter-relação.

Essa interdisciplinariedade entre as áreas de pesquisa permite que outras disciplinas das áreas exatas, como a Ciência e Engenharia de Materiais, sejam uma ferramenta muito útil na pesquisa em plantas medicinais. Técnicas de análises químicas e físicas podem ser usadas em produtos usados e gerados durante processos de obtenção de determinado fármaco para avaliação da eficiência do processo.

3.3. Aspectos Econômicos, Sociais e Ambientais a Serem Considerados na Pesquisa de Plantas Medicinais

A questão de medicamentos não se resume apenas à obtenção de novos produtos potencialmente ativos como farmacoterápicos, mas está relacionada ao alcance de soluções para os problemas mais urgentes da população. A solução desses problemas envolve outros componentes de ordem social, econômica e ambiental (Di Stasi, 1996).

Do ponto de vista social, as camadas mais baixas da população mundial, incluindo os diversos grupos étnicos conhecidos e estudados e aqueles não devidamente reconhecidos, possuem os conhecimentos básicos da medicina tradicional, os quais foram e estão sendo extensivamente utilizados como principal e mais importante fonte de informações, que permitiram a descoberta da maioria dos medicamentos de origem natural disponíveis na medicina moderna. E é justamente esta grande parcela da população que não encontra benefícios e não possui condições de acesso às vantagens de descobertas decorrentes da pesquisa de novos medicamentos e que carece de soluções para seus problemas básicos de saúde. Porém o

modelo econômico global não retorna a esta população os benefícios decorrentes desse processo (Di Stasi, 1996).

A maioria das espécies vegetais de interesse terapêutico está sendo exaustivamente explorada de modo irracional e inconseqüente, causando, a princípio, problemas de desequilíbrio ambiental, especialmente nas formações florestais tropicais, incluindo a extinção de muitas espécies que ainda não foram devidamente estudadas. Esse declínio das florestas e a conseqüente extinção de espécies vegetais representam uma gigantesca perda de arsenal químico e biológico potencialmente úteis como medicamento. O desequilíbrio das formações florestais promove, para as comunidades que utilizam os seus recursos naturais, uma conseqüente diminuição de suas fontes de renda, o que agrava ainda mais as condições desta população em relação ao acesso à assistência médica e à aquisição de medicamentos (Di Stasi, 1996).

Uma das propostas que permitem o desenvolvimento e a execução de um programa voltado para contribuir com a melhoria da qualidade de vida das populações consiste no desenvolvimento de um projeto voltado para a obtenção de fitoterápicos padronizados para uso específico em problemas básicos de saúde e de fácil tratamento terapêutico, priorizando-se as espécies nativas e com antecedentes históricos, médicos e etnológicos. Estas espécies, obtidas pela exploração dos recursos naturais e por um programa de cultivo convencional, seriam úteis tanto para a produção de fitoterápicos para uso local quanto para a comercialização dos excedentes, visando o aumento na receita da população. Por outro lado, esses estudos detalhados das espécies medicinais nativas mais exploradas, que é fonte de recursos financeiros para a população local, devem ser realizados visando o manejo sustentado, o que permitiria não apenas a manutenção do equilíbrio da formação florestal, mas também a constante obtenção de recursos terapêuticos e econômicos para a população (Di Stasi, 1996).

3.4. O Cerrado como Fonte de Medicamento de Origem Vegetal.

O Brasil tem seis complexos ecossistemas: 1) a Floresta Amazônica; 2) o Cerrado; 3) a Caatinga; 4) a Floresta Atlântica; 5) o Pantanal Matogrossense e 6) as Pradarias de Campo Limpo. Estima-se que o cerrado contribui com 10.000 espécies das 60.000 fanerógamas distribuídas pelo país (Rodrigues & Carvalho, 2001). O Cerrado tem uma área de 204 milhões de hectares, abrangendo os Estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Bahia, Piauí, Maranhão e Distrito Federal (Silva *et al.*, 2001; Almeida, 1998), correspondendo a aproximadamente 22% do território brasileiro (Silva *et al.*, 2001). Devido à sua localização, representa um papel importante no país, pelo fato de constituir uma vasta área com capacidade de receber população e por possuir potencial econômico a ser desenvolvido (IBGE, 1979).

Atualmente o Cerrado atua como uma extensa fronteira agrícola, sendo uma das mais importantes do mundo (IBGE, 1979; Silva *et al.*, 2001). Recebe grande contingente populacional, de inovações e de capital devido a estímulos de planos e programas de desenvolvimento regional (IBGE, 1979). Possui grande biodiversidade, com grande quantidade de produtos de alto valor agregado e que, se processados, trariam grandes benefícios à região, comparável à Floresta Amazônica, porém pouco conhecida (Silva *et al.*, 2001). Distinguem-se vários tipos fitofisionômicos, predominando as formações chamadas de Cerrado, Cerradão, Campo Sujo, Campo Limpo, Veredas, e Mata de Galeria (Silva *et al.*, 1992).

A literatura apresenta inúmeros exemplos de plantas cujas propriedades farmacológicas vêm sendo investigadas ou comprovadas, principalmente a partir de informações populares. No entanto, apesar de bastante promissor, este campo ainda prescinde de estudos farmacológicos. Nas cidades satélites de Brasília, DF, no centro de Anápolis, GO, ou em feiras de muitos locais do Cerrado, por exemplo, podem ser encontradas em bancas, barracas ou carrinhos com ampla diversidade de espécies medicinais. Pode-se perceber que famílias inteiras são mantidas com recursos gerados do extrativismo de plantas ditas com propriedades medicinais oriundas do Cerrado. Algumas espécies medicinais utilizadas: copaíba (*Copaifera langsdorffii*); angico (*Anadenanthera falcata*); poaia (*Borreria verbenoides*); mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*); murici (*Byrsonima verbascifolia*); gabioba (*Campomanesia pubescens*); pequi (*Caryocar brasiliense*); mangaba (*Hancornia speciosa*); fava d'anta (*Dimorphandra mollis*) (Almeida *et al.*, 1998).

3.5. Análise Fitoquímica

As substâncias conhecidas como produtos naturais são aquelas produzidas pelos seres vivos, e que lhes permitem a adaptação ao meio ambiente, representando uma importância fundamental na preservação de espécies e na organização de comunidades. Devido a algumas propriedades específicas como peso molecular baixo, certa solubilidade e volatilidade, elas agem na defesa da planta contra diversos predadores, e na atração e repulsão diante de outros organismos. E é essa bioatividade que se aplica na preparação de outros medicamentos (Ferri, 1996).

Para a aplicação desse produto natural, ou princípio ativo, torna-se necessária a análise fitoquímica que envolve diferentes etapas que são: coleta; preparação do material vegetal; extração, fracionamento, isolamento e purificação de substâncias (Falkenberg *et al.*, 2000), e ainda sua caracterização química (Falkenberg *et al.*, 2000; Lapa *et al.*, 2000).

3.5.1. Coleta para Classificação Taxonômica

A primeira etapa da investigação fitoquímica é a coleta do material vegetal (Falkenberg *et al.*, 2000).

O estudo botânico adquire característica fundamental, seja no apoio ao levantamento antropológico em comunidades, seja no fornecimento de informações morfológicas e ambientais, auxiliando com importantes dados sobre fenologia, tipos de estruturas secretoras, hábitos e outras características, e identificação das espécies levantadas (Ming, 1996).

A coleta de amostras vegetais, o seu preparo e a cuidadosa anotação de informações do local e da planta são fundamentais para a sua identificação em trabalho etnobotânico ou mesmo para apoio em outras áreas (Ming, 1996).

Amostras vegetais, devidamente preparadas ou **exsicatas**, são partes vegetais retiradas da planta, prensadas e secas, contendo estruturas vegetativas e reprodutivas (podendo ser flores e/ou frutos), acompanhadas de uma etiqueta ou rótulo contendo informações sobre algumas características da planta e do local de coleta (Ming, 1996).

Elas são importantes instrumentos (talvez os mais importantes) para a identificação de plantas. Se elas são armazenadas em locais apropriados, permitem a utilização por pesquisadores sem haver necessidade de se deslocar até o local de coleta, por um bom período de tempo, para estudo mais aprofundado de suas características morfológicas, acompanhadas

pelas informações ambientais contidas na etiqueta. Podem ainda conter desenhos, mapas, fotografias e/ou outras informações feitas por taxonomistas (Ming, 1996).

3.5.2. *Coleta Para Estudo Fitoquímico e Farmacológico*

Todo material vegetal que será utilizado em estudos de fitoquímica deve ser identificado por especialistas em taxonomia. No entanto, quando essa coleta se refere à obtenção de material vegetal para estudos químicos e farmacológicos, outros cuidados e procedimentos devem ser considerados (Ferri, 1996).

As espécies medicinais, no que se refere à produção de substâncias com atividade terapêutica, apresentam alta variabilidade com relação ao ponto de coleta. O ponto de coleta varia de acordo com o órgão da planta, estágio de desenvolvimento, a época do ano e hora do dia. A distribuição das substâncias ativas numa planta pode ser bem irregular (Martins *et al.*, 2000).

Os frutos carnosos com finalidade medicinal são colhidos completamente maduros, mas, em alguns casos em que houver recomendação do uso de frutos verdes, estes devem ser colhidos pouco antes do início da maturação (Martins *et al.*, 2000).

O material colhido deve ser livre de contaminação por outras plantas; não conter doenças causadas pela infecção de fungos, bactérias ou vírus; não conter parasitas e materiais estranhos (Ferri, 1996; Falkenberg *et al.*, 2000).

Cada material deve ser rotulado com etiqueta protegida, constando os dados necessários a sua identificação no laboratório, como o nome trivial da planta, data de coleta, coletor, localidade e município (Ferri, 1996). Ele deve ser embalado em sacos plásticos devidamente identificados. O seu transporte também deve ser cuidadosamente monitorado (Maciel *et al.*, 2002).

Antes de se processar a secagem deve-se proceder também a pesagem do material úmido (Maciel *et al.*, 2002).

A seguir um diagrama esquemático sobre a coleta.

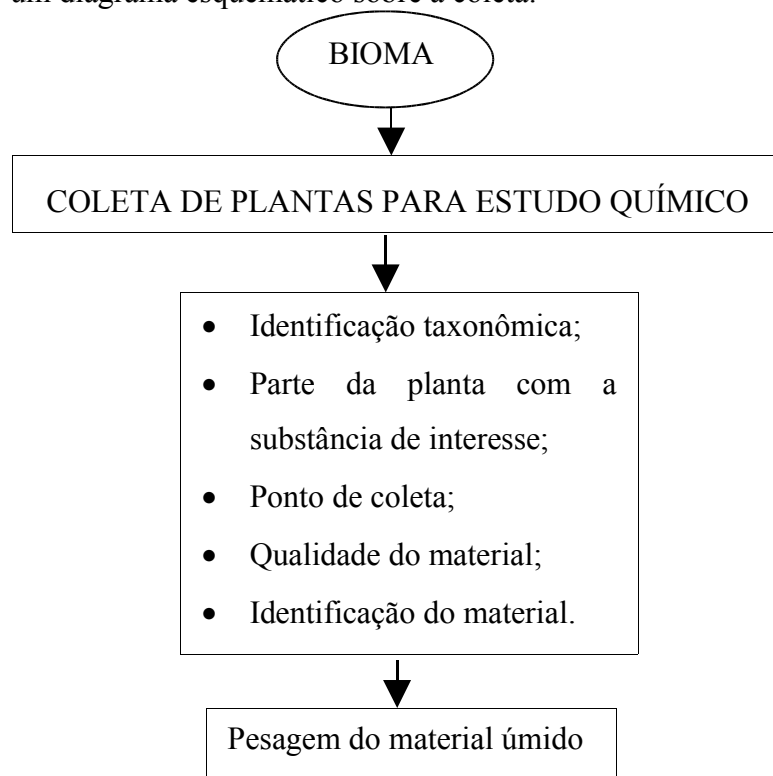


Figura 3.1: Diagrama esquemático sobre a coleta de plantas para estudo fitoquímico.

3.6. Preparação do Material Vegetal

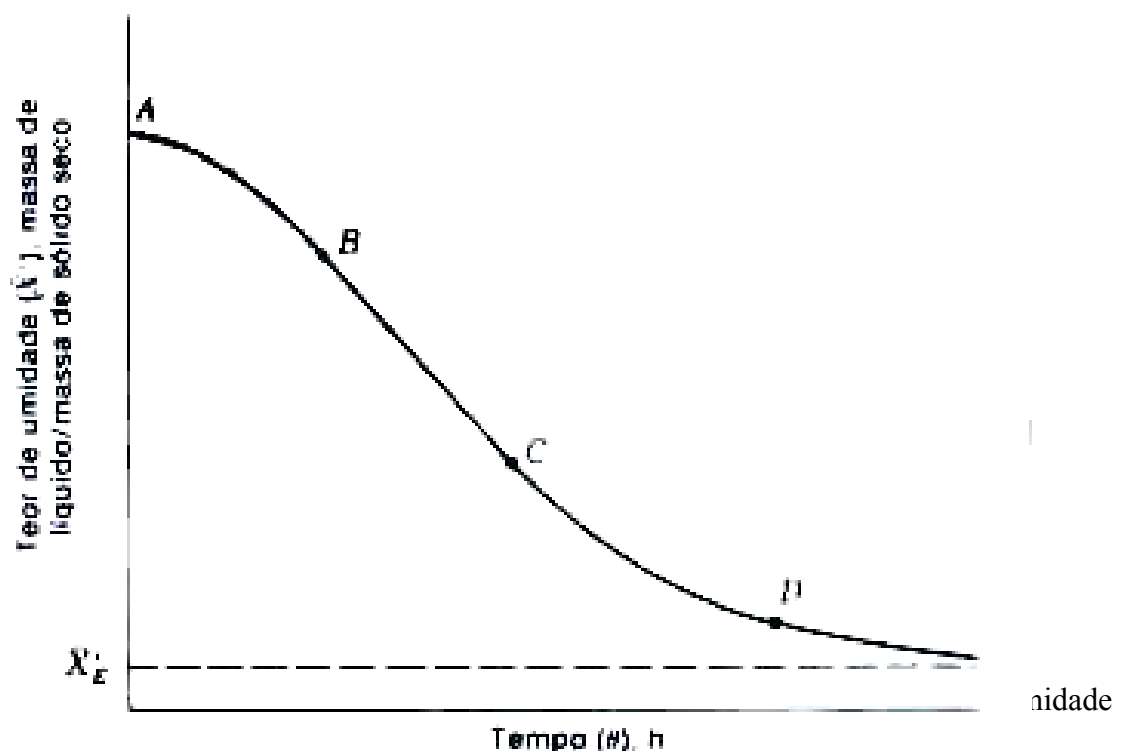
3.6.1. *Secagem*

A secagem é o processo no qual há transferência de um líquido que está num sólido molhado para uma fase gasosa não saturada. Na secagem de um sólido úmido, mediante um gás a uma temperatura e a uma umidade fixas, manifesta-se um certo tipo de comportamento. Imediatamente depois do contato entre a amostra e o meio secante, a temperatura do sólido ajusta-se até atingir um regime permanente. E para se chegar às condições desse regime, a temperatura do sólido e a temperatura de secagem podem aumentar ou diminuir. Nele também a temperatura da superfície do sólido molhado é a temperatura de bulbo-úmido do meio secante. As temperaturas no interior do sólido tendem a ser iguais à temperatura de bulbo úmido do gás, mas a concordância entre elas é imperfeita em virtude das defasagens entre o movimento de massa e o de calor (Foust *et al.*, 1982).

Segundo Foust *et al.* quando as temperaturas do sólido atingem a temperatura de bulbo úmido do gás, elas permanecem bastante estáveis e a taxa de secagem também permanece constante.

Esse período de secagem é o *período de secagem a taxa constante*. O período termina quando o sólido atinge o *teor de umidade crítico*. Além desse ponto, a temperatura da superfície eleva-se e a taxa de secagem cai rapidamente. O *período de taxa decrescente* pode ser mais dilatado do que o período de taxa constante, embora a remoção de umidade seja muito menor. A taxa de secagem aproxima-se de zero, num certo *teor de umidade de equilíbrio*, que é o menor teor de umidade atingível, no processo de secagem, com o sólido nas condições a que está submetido (Foust *et al.*, 1982).

A figura 3.2 mostra a curva de secagem típica, em condições constantes de secagem, para teor de umidade em função do tempo (Foust *et al.*, 1982).



Essa curva típica de secagem está relacionada aos mecanismos de realização da secagem. O período de secagem representado pelo segmento AB é o período em regime não permanente, durante o qual a temperatura do sólido atinge o seu valor de regime permanente. Embora a forma que está no gráfico seja típica, é possível obter qualquer outra forma, e AB pode ocorrer com uma velocidade crescente, conforme se mostra, ou com velocidade decrescente. Durante o período a taxa constante, representado pelo segmento BC, toda a superfície exposta do sólido está saturada de água. A secagem ocorre como se fosse a evaporação de uma massa de líquido, sem haver influência direta do sólido na taxa de secagem. A aspereza da superfície sólida sobre a qual se estende a película líquida pode provocar aumento dos coeficientes de transferência de massa e calor, mas esse efeito não está firmemente estabelecido. A

temperatura da superfície atinge a temperatura de bulbo úmido. O regime de secagem a taxa constante continua, com a massa subtraída da superfície sendo substituída pelo líquido que vem do interior do sólido. O mecanismo do deslocamento do líquido, e por isso a velocidade deste movimento, varia acentuadamente com a própria estrutura do sólido. Nos sólidos que têm espaços vazios e abertos relativamente grandes, o movimento será, possivelmente, controlado pela tensão superficial e pelas forças da gravidade no interior do sólido. Nos sólidos com estruturas fibrosas, ou amorfas, o movimento do líquido ocorre por difusão através do sólido. Desde que as taxas de difusão sejam menores que o escoamento por gravidade ou por capilaridade, os sólidos nos quais a difusão controla o movimento do líquido tendem a ter períodos a taxa constante mais curtos, ou mesmo a secarem sem que haja um período de taxa constante perceptível. No ponto C, o teor de umidade do sólido é o mínimo para suprir a totalidade da superfície (Foust *et al.*, 1982).

Com base no comportamento durante a secagem, os materiais são divididos em duas classes principais. A primeira delas é constituída por sólidos granulados ou cristalinos que retêm a umidade nos interstícios entre as partículas, ou em poros superficiais, rasos e abertos. Nesses materiais, o movimento da umidade é relativamente livre e ocorre em consequência da interação das forças gravitacionais e das forças de tensão superficial (ou capilares). O sólido em si, que é usualmente inorgânico, é pouco afetado pela presença do líquido e não sofre grande ação do processo de secagem. Por isso, as condições de secagem podem ser escolhidas na base da comodidade e da vantagem econômica, com pequena preocupação a respeito dos efeitos das condições da secagem sobre as propriedades dos produtos secos (Foust *et al.*, 1982).

A segunda classe de materiais é constituída por sólidos orgânicos amorfos, fibrosos ou gelatinosos. Eles retêm a umidade como parte integral da estrutura do sólido, ou então retêm-na no interior de fibras ou de poros delgados internos. Neles o movimento da umidade é lento e provavelmente ocorre pela difusão do líquido através da estrutura do sólido (Foust *et al.*, 1982).

Como o beneficiamento de plantas medicinais engloba vários processos, que, dependendo da espécie considerada e da sua forma de comercialização, são utilizados diferenciadamente. Sabe-se também que as plantas medicinais, em sua maioria, são comercializadas na forma dessecada, o que torna o processo de secagem fundamental para a qualidade final do produto vendido, pois quanto maior o teor de água na planta, mais vulnerável ela está à ação enzimática de agentes deletérios como bactérias e fungos presentes no meio. Enquanto as

bactérias precisam de 40-45% de umidade para seu desenvolvimento, os fungos requerem 15-20% de umidade (Pinto e Bertolucci, 2002). Como a secagem tem por finalidade a retirada de água, e com isso, impedir a deterioração do material este fato proporcionará sua conservação (Martins *et al.*, 2000; Falkenberg *et al.*, 2000; Pinto e Bertolucci, 2002).

Também é importante ressaltar que qualquer órgão vegetal recém-colhido apresenta alto teor de umidade e substratos, favorecendo para o aumento na ação enzimática, que compreende diversas reações que são reduzidas à medida que se retira água do órgão. Isso torna a redução da umidade como o melhor inibidor da ação enzimática (tabela III.1; Pinto e Bertolucci, 2002).

Tabela III.1 _ Porcentagem de umidade em diversas estruturas da planta e na droga vegetal

Estruturas da planta	Variação de umidade nos órgãos (%)	% permitida na droga vegetal
Raiz	50-85	8-14
Rizoma	50-85	12-16
Casca	50-55	8-14
Folha	60-98	8-14
Flor	60-95	8-15
Fruto	15-95	8-15
Semente	10-15	12-13

Fonte: Pinto e Bertolucci (2002).

Os teores de umidade no equilíbrio são em geral elevados, o que indica ser significativa a quantidade de água que é retida intimamente na estrutura do sólido, ou em poros tão delgados que a sua pressão de vapor é significativamente reduzida. Em virtude da água presente fazer parte da estrutura do sólido, esses são afetados pela remoção da umidade. As camadas superficiais tendem a secar mais rapidamente que o interior. Quando a taxa de secagem for muito elevada, é possível que se estabeleçam diferenças tão grandes no teor de umidade no interior da amostra que a amostra racha ou empena. Em outros casos, é possível que se forme um revestimento relativamente impermeável de material parcialmente seco, que inibe o prosseguimento da secagem no interior e pode acentuar a desigualdade de teores de umidade na amostra, com o conseqüente realce da tendência do sólido deteriorar-se. Por isso, as condições de secagem devem ser escolhidas tendo em vista, primordialmente, os efeitos que podem ter sobre a qualidade do produto; a economia do processo ou a comodidade da operação (Foust *et al.*, 1982).

No caso das plantas medicinais, se a secagem for demasiadamente rápida, ela pode provocar um endurecimento da camada superficial das células do tecido, impedindo a evaporação da água dentro das células do órgão vegetal. Uma quantidade acima de 20% de umidade fará que as enzimas possam atuar e destruir os princípios ativos e comprometer a qualidade da droga

vegetal, além de ocasionar uma má aparência. No caso de certas plantas aromáticas, a temperatura excessiva da secagem rápida pode provocar a volatilização de óleos essenciais. Por outro lado, a secagem lenta também prejudica as plantas medicinais pois pode produzir alterações prejudiciais no interior do órgão vegetal antes que a secagem seja concluída. Essas alterações podem ser provocadas por enzimas, fermentação externa e bolores (Pinto e Bertolucci, 2002).

A secagem ideal é aquela não rápida, nem lenta demais. Sua duração depende das características da planta colocada para secar e das condições climáticas durante os dias de secagem e das boas condições das instalações da secagem. Secagem bem conduzida é aquela que consegue manter os maiores teores possíveis de princípios ativos ou aromáticos, e simultaneamente preservar o aspecto e coloração natural das plantas (Pinto e Bertolucci, 2002).

A secagem também promove a redução do peso do material, promovendo assim um aumento percentual de princípios ativos em relação ao peso do material (Martins *et al.*, 2000).

A secagem das plantas pode ser efetuada de diversas maneiras, de acordo com a planta ou parte da planta em questão, através de processos naturais e artificiais (Pinto e Bertolucci, 2002).

Entre esses tipos de secagem, a secagem ao ar livre é mais econômica, embora exija maior vigilância para garantir a uniformidade das condições durante a operação (Falkenberg *et al.*, 2000).

No caso de secagem natural de frutos, o espaço requerido para secagem depende da espécie do fruto, o rendimento por unidade de área e as condições meteorológicas locais. O pátio de secagem deve ser protegido da poeira das estradas. O pátio também não deve ficar próximo de estábulos ou de outros locais de criação de moscas. As abelhas e os marimbondos tornam-se pragas sérias nos meses de fim de verão e começo de outono, se as colméias estão próximas da área de secagem. Nas regiões muito batidas pelo vento o pátio deve ser protegido por quebra-ventos (Cruess, 1973).

3.6.2. *Armazenamento do Material*

A armazenagem deve ser feita em sacos plásticos, sacos de algodão ou de fibras vegetais por permitirem a aeração e secagem terminal do material após ensacamento (Madeira, 2004). Esses sacos devem ser acondicionados em caixas de papelão guardadas em local seguro, com baixa umidade e temperatura. Desta maneira previnem-se reações de oxidação, hidrólise, ataque de microorganismos, entre outros (Maciel *et al.*, 2002).

O material a ser armazenado deve ser antes inspecionado quanto à presença de insetos e fungos e, durante o armazenamento, repetir com frequência tais inspeções. No caso de ataque, recomenda-se eliminar o material, pois não se aconselha o expurgo das instalações em presença das ervas, uma vez que não há registro, para plantas medicinais, dos produtos normalmente utilizados nesta operação (Martins *et al.*, 2000).

O acondicionamento do material vai depender do volume produzido e do tempo que se pretende armazená-lo. O uso de sacos de juta ou similares é recomendado para produções maiores quando a comercialização vai ser feita em curto prazo (Martins *et al.*, 2000).

Recomenda-se que a armazenagem seja feita em prateleiras de madeira, afastadas do chão e em local arejado, evitando a umidade e ataques por fungos, insetos e roedores (Ferri, 1996). O material pode ser colocado sobre estrados próprios ou dependurado (Martins *et al.*, 2000).

3.6.3. *Moagem do Material*

A moagem tem por finalidade reduzir, mecanicamente, o material vegetal a fragmentos de pequenas dimensões, preparando-o, assim, para a etapa de extração (Falkenberg *et al.*, 2000; Maciel *et al.*, 2002).

A moagem em moinhos tem grande importância, na indústria, para a redução a pó de grandes quantidades de substâncias. No mercado existe uma variedade muito grande de moinhos, desde os modelos operados manualmente aos acionados por motores. Estes últimos são os mais utilizados, disponibilizados com diferentes características, permitindo a pulverização de materiais em pequena ou grande escala e variando bastante a tenuidade dos produtos por ele fornecidos, desde um pó grosso até um pó micronizado (Prista *et al.*, 1995).

Existem numerosos tipos de moinhos para a pulverização de substâncias medicinais, em escala industrial, os quais são construídos para corresponderem às mais variadas exigências deste setor (Prista *et al.*, 1995).

Em geral, o funcionamento desses aparelhos baseia-se em três princípios fundamentais (Prista *et al.*, 1995):

- atrito: as máquinas que trabalham segundo este princípio pulverizam uma substância por fricção entre duas superfícies, sendo especialmente utilizadas no caso de materiais fibrosos;
- laminagem: os aparelhos deste tipo possuem uma peça rolante muito pesada para esmagar e pulverizar o material;
- impacto: nos moinhos que exercem a sua ação por impacto existem martelos ou barras, girando a alta velocidade que golpeiam os fragmentos do material a pulverizar, fazendo-os colidir uns com os outros e com as paredes do aparelho. O impacto provoca a desagregação das partículas maiores até reduzi-las às dimensões pretendidas. Em certos moinhos especiais, o impacto é provocado por um jato de fluido elástico.

3.6.4. *Tamisação*

A tamisação (ou peneiramento) é uma operação que tem por fim obter pós cujas partículas tenham um determinado tamanho médio. Ela permite individualizar um pó, pois este deve ser um conjunto bastante homogêneo de partículas tendo um certo e determinado diâmetro (Prista *et al.*, 1995).

O processo de pulverização limita-se a fragmentar a substância, servindo a tamisação para separar aquelas partículas que apresentam as dimensões próprias da classe de pó que se pretende obter (Prista *et al.*, 1995).

De maneira geral, a redução de uma droga a pequenos fragmentos não é instantânea, ou, por outras palavras, a pulverização não consegue transformar a totalidade da substância, num mesmo momento, em partículas apresentando todas o mesmo grau de tenuidade. Isto se observa no caso das drogas de origem vegetal, cuja estrutura é bastante heterogênea, pois na sua constituição figuram variadas formações histológicas com textura muito diferente. Em qualquer processo de pulverização a que se submetam, inicialmente os tecidos mais moles são fragmentados, sendo mais difícil a desagregação das formações mais duras e resistentes como as partes lenhificadas (Prista *et al.*, 1995).

Além da diferença de textura, a constituição química não é a mesma em todos os tecidos da planta, portanto as frações obtidas nas diversas tamisações terão necessariamente uma constituição diferente. Por isso, em alguns casos especiais é feita a pulverização desprezando-se uma parte da planta durante o processo, a chamada *pulverização com resíduo*. Um exemplo disso é a pulverização da ipecacuanha, cujos princípios ativos localizam-se exclusivamente no parênquima cortical e no floema. Como esses tecidos estão situados externamente e são bastante moles do que as formações do lenho serão eles os primeiros a fragmentar-se quando a ipecacuanha é pulverizada. Assim ao proceder à pulverização, as partes reduzidas a pó vão sendo separadas por tamisação, considerando-se terminada a operação quando se tiverem recolhido três quartos do peso de raiz de que se partiu inicialmente. Esse procedimento tem a dupla vantagem de evitar o penoso trabalho que seria necessário despender para conseguir a pulverização de uma parte tão dura como é o cilindro central da ipecacuanha, além de que, obsta a parte realmente ativa da droga seja diluída por aquela que não contém princípios de interesse farmacológico (Prista *et al.*, 1995).

Os instrumentos utilizados para fazer uma tamisação denominam-se tamises (ou peneiras) e são constituídos por um aro de diâmetro variável, tendo, geralmente, 15 cm de altura e apresentando uma das extremidades fechada por um tecido aplicado de modo a ficar bem tenso. Esse tecido representa a parte fundamental do tamis, pois é ele que, em função da abertura das respectivas malhas, permite a separação das partículas submetidas à tamisação consoante aos seus diâmetros (Prista *et al.*, 1995).

Os tecidos utilizados na fabricação dos tamises são constituídos por fios de mais variada natureza, como ferro galvanizado, latão, aço inoxidável, seda, crina ou fibras sintéticas, sendo que tanto a abertura das malhas dos tecidos como a homogeneidade dos pós que originam dependem do material utilizado (Prista *et al.*, 1995).

Geralmente são utilizadas duas espécies de tamises, denominadas, respectivamente, *tamises simples* e *tamises cobertos*. Estes últimos são empregados sempre que as drogas a tamisar sejam irritantes ou tóxicas e são constituídos de modo a formar um conjunto fechado que evita a disseminação das partículas na atmosfera, impedindo, assim, que elas entrem em contato com os olhos, nariz e a boca do operador, partes do organismo onde a sua ação se faz sentir imediatamente (Prista *et al.*, 1995).

A classificação dos tamises adotada pela Farmacopéia Americana segue a metodologia utilizada tradicionalmente nos países anglo-saxônicos. Os tamises são designados por

números que correspondem ao valor em *mesh*, definindo-se *mesh* como o número de malhas por polegada linear (Prista *et al.*, 1995).

3.7. Extração de Princípios Ativos

Para se executar uma extração, leva-se em consideração uma série de fatores que interferem nesta operação, como o tipo de substância que se deseja isolar (Ferri, 1996), as características do material vegetal, o seu grau de divisão, o meio extrator (solvente) e a metodologia (Falkenberg *et al.*, 2000).

A estrutura histológica das diversas partes componentes de uma planta é bastante heterogênea; existem órgãos, como as raízes e os caules, cujos tecidos estão extraordinariamente compactos (xilema), enquanto que em folhas e flores os tecidos se apresentam com textura mais delicada. E essa consistência influencia o poder de penetração do solvente, sendo necessário considerar que quanto mais rígido for o material, menor deve ser sua granulometria. Além disso o solvente escolhido deve ser o mais seletivo possível (Falkenberg *et al.*, 2000).

Para uma única extração (a frio ou a quente) usa-se geralmente um solvente polar (MeOH ou EtOH); para mais de uma extração utilizam-se três tipos de solventes: apolar (hexano ou éter de petróleo), e de polaridade moderada (CHCl₃ ou CH₂Cl₂) e polar (MeOH ou EtOH) (Maciel *et al.*, 2002).

No entanto, devido aos protocolos internacionais que condenaram o uso de solventes clorados, proibindo sua produção, estes solventes já não devem ser mais utilizados para a preparação de extratos (Maciel *et al.*, 2002).

Soluções etanólicas ou metanólicas a 80% são empregadas com freqüência na extração de praticamente todos os constituintes de interesse para a análise fitoquímica (Falkenberg *et al.*, 2000).

Na escolha de um solvente, além dos fatores relacionados à eficiência do processo extrativo devem ainda ser considerados a toxicidade e/ou riscos que seu manuseio representa, a estabilidade das substâncias extrativas, a disponibilidade e o custo do solvente (Falkenberg *et al.*, 2000).

Os fatores relacionados aos métodos de extração dizem respeito à agitação, temperatura e ao tempo necessário para execução (Falkenberg *et al.*, 2000).

A agitação pode abreviar consideravelmente a duração de um processo extrativo, pois os processos de extração dependem em grande parte, de fenômenos de difusão. Assim, a renovação do solvente em contato com as substâncias a dissolver desempenha um papel de grande influência na velocidade da dissolução (Falkenberg *et al.*, 2000).

O aumento da temperatura provoca um aumento da solubilidade de qualquer substância, motivo pelo qual os métodos de extração a quente são sempre mais rápidos do que aqueles realizados à temperatura ambiente. Entretanto, o calor nem sempre pode ser empregado, já que muitas substâncias são instáveis em altas temperaturas (Falkenberg *et al.*, 2000).

O tempo de extração varia em função da rigidez dos tecidos do material vegetal, do seu estado de divisão, da natureza das substâncias a extrair, do solvente e do emprego, ou não, de temperatura e/ou agitação (Falkenberg *et al.*, 2000).

3.7.1. *Métodos de Extração Sólido/Líquido*

Os métodos de extração sólido/líquido incluem as extrações a frio; extrações a quente em sistemas abertos; e extrações a quente em sistemas fechados (Falkenberg *et al.*, 2000).

As extrações a frio se dividem em: turbolização, maceração e percolação (Falkenberg *et al.*, 2000), conforme descrição a seguir:

- **turbolização ou turbo-extração:** é a extração da substância de interesse em um aparelho chamado Turbolizador. A extração ocorre simultaneamente à redução do tamanho da partícula, resultado da aplicação de elevadas forças de cisalhamento, geradas no pequeno espaço entre duas partes do Turbolizador, chamadas estator e rotor de alta velocidade, de 5000 a 20000 rpm (Sonaglio *et al.*, 2000);
- **maceração:** é a operação na qual a extração da matéria-prima vegetal é realizada em recipiente fechado, em temperatura ambiente, durante um período prolongado (horas ou dias), sob agitação ocasional e sem renovação do líquido extrator (Sonaglio *et al.*, 2000);
- **percolação:** o material vegetal moído é colocado em um recipiente cônico ou cilíndrico (percolador) de vidro ou de metal, através do qual é feito passar o líquido extrator (Sonaglio *et al.*, 2000).

A extração via percolação é o processo preferencialmente utilizado de extração por solvente. Apresenta menor risco de reações químicas, na formação de artefatos, decorrentes da ação combinada entre solventes e temperaturas elevadas (utilizadas pelo sistema Soxhlet) (Maciel *et al.*, 2002).

As extrações a quente em sistemas abertos se dividem em infusão, turbolização e decocção (Falkenberg *et al.*, 2000):

- **infusão:** a extração se dá pela permanência, durante certo tempo, do material vegetal em água fervente, num recipiente tampado;
- **turbolização:** a extração ocorre concomitantemente com a redução do tamanho de partícula, resultado da aplicação de elevadas forças de cisalhamento. A redução drástica do tamanho da partícula e o conseqüente rompimento das células favorecem a rápida dissolução das substâncias de interesse, resultando em tempos de extração da ordem de minutos e o quase esgotamento da droga. Ela pode ser realizada em equipamentos próprios ou em liquidificadores;
- **decocção:** consiste em manter o material vegetal em contato, durante certo tempo, com um solvente (normalmente água) em ebulição.

As extrações a quente em sistemas fechados são a extração sob refluxo e a extração em aparelho de Soxhlet (Falkenberg *et al.*, 2000):

- **extração sob refluxo:** consiste em submeter o material vegetal à extração com um solvente em ebulição, em um aparelho dotado de um recipiente, onde serão colocados o material e o solvente, acoplado a um condensador, de forma que o solvente evaporado durante o processo seja recuperado e retorne ao conjunto;
- **extração em aparelho de Soxhlet:** é utilizada, sobretudo, para extrair sólidos com solventes voláteis, exigindo o emprego do aparelho de Soxhlet. Em cada ciclo da operação, o material vegetal entra em contato com o solvente renovado; assim o processamento possibilita uma extração altamente eficiente, empregando-se uma quantidade reduzida de solvente, em comparação com as quantidades necessárias nos outros processos extrativos para se obter os mesmos resultados qualitativos e quantitativos.

3.8. Fracionamento, Isolamento e Purificação de Substâncias.

Os processos de fracionamento, isolamento e purificação de substâncias podem ser feitos através da partição por solventes orgânicos com polaridade crescente ou através da partição ácido-base. Essa partição implica na dissolução seletiva e distribuição entre as fases dos dois solventes imiscíveis (Falkenberg *et al.*, 2000).

Também são adotados nessa etapa métodos cromatográficos, como a cromatografia de camada fina (Maciel *et al.*, 2002).

Mas, para cada classe de substâncias são necessárias técnicas específicas descritas previamente na literatura (Maciel *et al.*, 2000).

3.9. Os Flavonóides

Os flavonóides, biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides, constituem uma importante classe de polifenóis, presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais (Simões *et al.*, 2000). São encontrados em maior quantidade nas famílias Leguminosae e Compositae (Martins *et al.*, 2000).

Eles podem ser encontrados em diversas formas estruturais. Entretanto, a maioria dos representantes dessa classe possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas. Nos compostos tricíclicos, as unidades são chamadas núcleos A, B e C e os átomos de carbono recebem a numeração com números ordinários para os núcleos A e C e os mesmos números seguidos de uma linha (') para o núcleo B (Figura 3.3). Alguns autores substituem a numeração 9 e 10 nos flavonóides por 8a e 4a, respectivamente (Simões *et al.*, 2000).

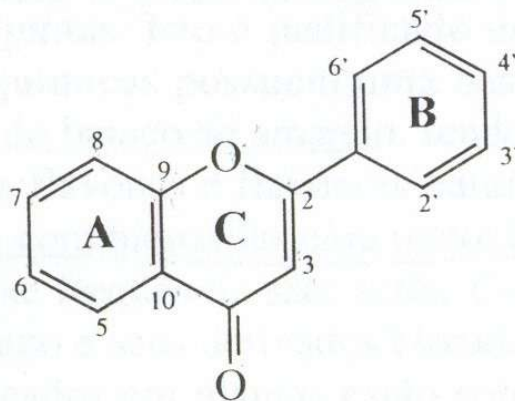


Figura 3. 3 – Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração
(Fonte: Simões *et al.*, 2000).

Os flavonóides de origem natural apresentam-se freqüentemente oxigenados e um grande número ocorre conjugado com açúcares. Esta forma, chamada conjugada, também é conhecida como heterosídeo. Quando o metabólito (flavonóides, antraquinonas, terpenos, etc.) encontra-se sem o açúcar, é chamado de aglicona ou genina, sendo denominado freqüentemente de forma livre (Simões *et al.*, 2000).

De acordo com suas características químicas e biossintéticas, os flavonóides são classificados em Flavonas, Flavonóis, Flavonóides *O*-Heterosídeos, Flavonóides *C*-Heterosídeos, Antocianos, Chalconas, Auronas, Di-Hidroflavonóides, Flavanonas, Di-hidro-chalconas, Flavananas, Leucoantocianidinas, Proantocianidinas, Isoflavonóides, Neoflavonóides e Biflavonóides (Simões *et al.*, 2000).

Os flavonóides encontrados nas folhas podem ser diferentes daqueles presentes nas flores, nos galhos, raízes ou frutos. O mesmo composto ainda pode apresentar diferentes concentrações dependendo do órgão vegetal em que se encontra (Simões *et al.*, 2000).

Diversas funções lhe são atribuídas como a proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; atração de insetos polinizadores e proteção contra os nocivos; antioxidantes; controle da ação de hormônios vegetais; inibição de ações enzimáticas e participação dos sistemas redox das células; e agentes alelopáticos (Simões *et al.*, 2000; Martins *et al.*, 2000).

3.9.1.

Os Flavonóis

Os flavonóis são os flavonóides flavonas cuja posição C-3 foi substituída por uma hidroxila. São derivados da 3-hidróxi-2-fenilcromona (Simões *et al.*, 2000).

Suas cores variam do branco ao amarelo, sendo identificados em quase todo o reino vegetal. Eles são freqüentemente oxigenados, substituídos com hidroxilas e/ou metoxilas. Outros substituintes encontrados com bastante freqüência são: acila, C-metila, metileno, dioxila, isopreno, pirano, furano e seus derivados clorados. A maioria dos flavonóis identificada em plantas está sob forma conjugada, isto é, com um ou mais açúcares ligados aos grupos hidroxilas por uma ligação hemiacetal facilmente destruída por hidrólise ácida. Além disso, existem formas desses flavonóis possuindo um ou mais sulfatos ligados à hidroxila e, ou, à parte osídica da molécula. Alguns flavonóis têm sido identificados com ácidos ligados aos açúcares da molécula (Simões *et al.*, 2000).

Os flavonóis mais encontrados em vegetais são galangina, canfero, quercetina e miricetina (Simões *et al.*, 2000).

Os açúcares conjugados com flavonóides identificados até o presente são nove. As pentoses: D-apiose, L-arabinose, L-ramnose e D-xilose; as hexoses: D-alose, D-galactose e D-glicose; e os ácidos D-galacturônico e D-glicurônico. Os flavonóides podem, também, estar associados a dissacarídeos e a trissacarídeos. Os heterosídeos flavonoídicos mais comuns são 3-rutinosídeo quercetina (rutina) e 7-glicosídeo luteolina (Simões *et al.*, 2000).

3.9.2.

Propriedades Físico-Químicas dos Flavonóides

Os compostos flavonóicos, livres, aparecem sob a forma de cristais corados de amarelo (o poder cromóforo relaciona-se e acentua-se com o número e posição das hidroxilas), e excepcionalmente incolores como a flavona (Costa, 1978).

As solubilidades desses compostos variam: muitas vezes mostram-se insolúveis ou muito pouco solúveis na água fria, mas têm maior solubilidade em água quente; geralmente solubilizam-se no etanol e metanol, nos quais se usa cristalizá-los, e ainda nos álcalis, ácido acético, piridina etc. (Costa, 1978). Os heterosídeos são geralmente solúveis em água e em álcoois diluídos, mas insolúveis nos solventes orgânicos habituais, enquanto que as respectivas agliconas são normalmente solúveis em solventes orgânicos apolares e, por

possuírem caráter fenólico, em soluções aquosas alcalinas. A posição ocupada pela porção açúcar, o grau de insaturação e o grau e natureza dos substituintes influem grandemente na solubilidade da molécula e na sua capacidade de precipitação em presença de metais. No caso dos flavonóis eles são pouco solúveis em água (Simões *et al.*, 2000).

Através das hidrólises alcalina e ácida são identificados os núcleos flavônicos, enquanto a hidrólise enzimática rompe pontos específicos das moléculas, facilitando a identificação dos constituintes da parte açúcar (Simões *et al.*, 2000).

Os flavonóides possuem espectros de absorção característicos no ultravioleta, determinados pelo núcleo comum da benzopirona, com duas bandas características, uma nos comprimentos de onda menores entre 220 e 250 nm e a outra próxima dos 300 nm (Costa, 1978).

Os ensaios cromáticos, muito usados, prestam excelente serviço na caracterização e permitem até determinar, com relativo vigor, o sub-grupo de derivados flavônicos a que pertencem (flavonas, flavonóis, flavanonas, chalconas e isoflavonas). As cores obtidas dependem destes grupos de compostos e do número e disposição dos hidroxilos que possuam, embora se note a influência das diluições usadas nas técnicas respectivas (Costa, 1978).

3.9.3. *Extração de Flavonóides*

Os solventes usados na extração de flavonóides relacionam-se com a sua polaridade: os solventes mais polares (acetona, álcoois diluídos e a água) para heterosídeos; e os menos polares (benzeno, clorofórmio, acetato de etilo) para extrair as geninas (Costa, 1978). Recomenda-se utilizar um solvente apolar (como o éter de petróleo) na primeira extração com a finalidade de retirar óleos, gorduras, ceras, esteróis e pigmentos para facilitar a extração posterior dos flavonóides (Simões *et al.*, 2000; Costa, 1978).

No caso de extração de flavonóis utilizam-se solventes mais polares como água, metanol, etanol e acetona (Simões *et al.*, 2000).

No caso da extração de flavonóides em geral, a CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) possibilita ao pesquisador um método quantitativo de análise de componentes flavonólicos de uma mistura em um nível elevado de definição e sensibilidade (Simões *et al.*, 2000; Markham, 1982 e Vilegas, 1997). Embora possa separar uma ou mais classes de flavonóides, tal técnica é mais utilizada na separação de substâncias de uma mesma classe

estrutural e, através do tempo de retenção relativo, pode ser utilizada também na caracterização desses compostos (Simões *et al.*, 2000).

3.9.4. *Caracterização de Flavonóides*

A caracterização pode ser realizada diretamente no farmacógeno (histoquímica) ou em extratos vegetais, por ensaios cromáticos, cromatográficos, espectroscópicos ou fotométricos. Os ensaios com extratos vegetais são os mais utilizados, pois permitem uma avaliação simultânea de vários constituintes (Simões *et al.*, 2000).

Flavonóides incolores são um pouco mais difíceis de caracterizar, mas, como ocorrem principalmente em células epidérmicas da superfície superior podem ser rapidamente caracterizados através de suas absorbâncias em UV (Simões *et al.*, 2000).

3.9.5. *Isolamento e Purificação de Flavonóides*

O isolamento dos diversos flavonóides existentes sempre nas misturas naturais, nas plantas, efetua-se em geral por técnicas cromatográficas (Costa, 1978).

Técnicas clássicas de separação como Cromatografia em Coluna, utilizando poliamida, Sephadex LH-20, amberlite ou resina de troca iônica além de Cromatografia em papel, Cromatografia Circular, Cromatografia em Camada Delgada Preparativa, Cromatografia Líquida de Média Pressão e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLMP e CLAE), Cromatografia Gasosa (CG) e recristalização com etanol, metanol e clorofórmio, quando aplicadas adequadamente, oferecem excelentes resultados (Simões *et al.*, 2000).

3.9.6. *Doseamento de flavonóides*

A dosagem conjunta dos flavonóides é dificultada devido ao comportamento diverso dos heterosídeos e dos constituintes aglicônicos; pela dificuldade de isolamento dessas substâncias de outras classes de fenóis; e pelo uso de métodos que não conseguem eliminar com sucesso outras substâncias de natureza química diferente, que geralmente acompanham os flavonóides, interferindo assim nos métodos de dosagem (Simões *et al.*, 2000, e Costa, 1978).

Os métodos físico-químicos utilizados são colorimétricos, fluorométricos, espectrofotométricos, cromatográficos e polarográficos. Recomendam-se numerosas técnicas de dosagem, particularmente por colorimetria à custa de ensaios cromáticos antecipadamente estudados. Usam-se padrões corados constituídos por soluções dos próprios compostos flavônicos puros ou de substâncias coradas diversas, por vezes de sais minerais. Nos métodos fotométricos determinam-se previamente as constantes das substâncias puras ou traçam-se primeiro as curvas de dosagem com estes padrões. Também na análise de substâncias puras pode usar-se o método espectrofotométrico, medindo-se a absorção em comprimentos de onda estabelecidos, nas suas próprias soluções aquosas (Costa, 1978). A CLAE é considerada um método rápido e preciso, permitindo a separação e doseamento de quantidades relativamente pequenas de material (Simões *et al.*, 2000).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*) utiliza instrumentos muito sofisticados que podem ser totalmente automatizados. É um tipo de cromatografia líquida que emprega pequenas colunas, recheadas de materiais especialmente preparados e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (Collins *et al.*, 1997)

Entre os suportes mais comumente usados encontram-se substâncias orgânicas como gel de sílica e alumina (óxido de alumínio), que são geralmente utilizadas para separar compostos lipofílicos. Materiais orgânicos como celulose, poliamida e géis de dextrano são aplicados na separação de substâncias hidrofílicas, como aminoácidos e açúcares. Outras alternativas utilizadas são os materiais modificados quimicamente, como a celulose acetilada ou gel de sílica substituído por cadeias orgânicas alifáticas de C8 a C18 (Falkenberg *et al.*, 2000).

Quando as separações cromatográficas utilizam uma fase móvel apolar e a fase estacionária polar, elas são chamadas de **separações em fase normal**. Mas quando o sistema utiliza fase móvel polar e fase estacionária apolar, são chamadas de **separações com fase reversa** ou **RP** (=reversed phase) (Falkenberg *et al.*, 2000).

Independente da limitação da volatilidade ou estabilidade térmica, a CLAE requer somente que a amostra seja solúvel na fase móvel. Assim, a CLAE é um método ideal para as separações de espécies iônicas ou macromoléculas de interesse biológico e produtos naturais

lábeis, bem como uma imensa variedade de outros compostos de alta massa molecular e/ou baixa estabilidade térmica (Collins *et al.*, 1997).

As amostras típicas analisadas pela CLAE são: aminoácidos; explosivos; lipídeos polares; metabólitos de animais e plantas; pigmentos de plantas; polímeros sintéticos polissacarídeos; produtos farmacêuticos; proteínas e tintas (Collins *et al.*, 1997).

A CLAE possibilita o menor tempo de análise, conseguindo-se realizar separações em poucos minutos até horas, devido a alta eficiência da coluna e a vazão rápida da fase móvel através da coluna. Uma mesma análise feita em Cromatografia Líquida Clássica (CLC) pode levar até dias ou ser impossível (Collins *et al.*, 1997).

É uma técnica de alta resolução, sendo possível analisar misturas complexas, como a urina humana, onde se podem detectar mais de duzentos compostos diferentes (Collins *et al.*, 1997).

As análises quantitativas são de fácil execução e grande precisão na CLAE, sendo comum à maioria dos seus métodos desvios relativos inferiores a 0,5% (Collins *et al.*, 1997).

A CLAE tem boa sensibilidade, pois pode utilizar detectores que permitem medidas de 10^9 g (nanogramas) de amostra. Análises ao nível de 10^{-12} g (picogramas) já foram obtidas, com o emprego de detectores específicos (Collins *et al.*, 1997).

A mais importante das vantagens da CLAE é sua versatilidade. Ela pode ser aplicada tanto para compostos orgânicos como para inorgânicos. As amostras podem ser líquidas ou sólidas, iônicas ou covalentes; os gases são as únicas amostras não determinadas pela CLAE (Collins *et al.*, 1997).

Existem sistemas comercializados que, automaticamente, injetam uma amostra, realizam a separação, imprimem os tempos de retenção, integram as áreas dos picos e reciclam qualquer uma das frações que está sendo eluída. Esses sistemas podem regenerar suas condições iniciais de operação para, em seguida, injetar uma nova amostra. Essa automatização é conseguida com o emprego de microcomputadores conjugados ao sistema cromatográfico, o que possibilita: a) a identificação das espécies pela comparação dos tempos de retenção determinados com os tempos de retenção padrão armazenados em memória; b) o cálculo das concentrações das espécies por meio das áreas dos picos, o que se consegue com a aplicação de técnicas de calibração; c) o aumento da resolução na separação de duas substâncias, quando não separadas completamente, pela reciclagem automática das frações correspondendo a eluição das substâncias juntas (Collins *et al.*, 1997).

3.10. A Rutina

3.10.1. Dados Gerais

A rutina (figura 3.4), 3-ramnoglicosido da 3, 5, 7, 3', 4'-pentaidroxiflavona (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1977) foi descoberta por Weiss em 1842 nas folhas de arruda (*Ruta graveolens*) (Griffith *et al.*, 1955). Persiste o hábito de designarem os compostos flavonóicos pelos nomes vulgares, que geralmente lembram a origem botânica, com a terminação *ina*, apesar das deliberações tomadas pelos químicos no sentido de se usarem respectivamente os sufixos **ósido** e **ol** consoante se mencionam os heterosídeos ou as geninas (Costa, 1978).

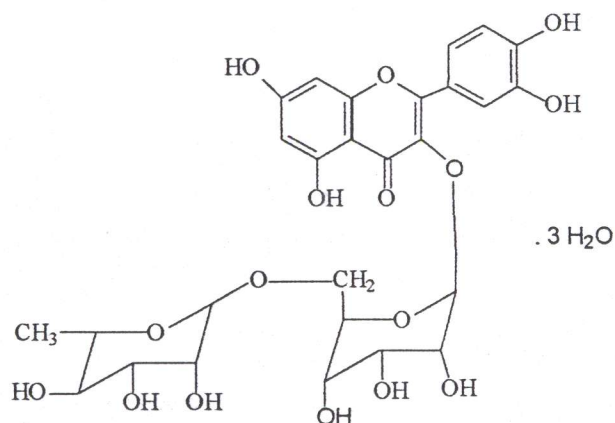


Figura 3.4: Fórmula estrutural da rutina (Fonte: Ferreira, 2004).

Segundo Griffith *et al.* (1955) a rutina é amplamente distribuída no reino vegetal e é conhecida em pelo menos 34 famílias e 77 espécies vegetais.

A rutina é um pó formado de cristais aciculares, amarelo-esverdeado, insípido e inodoro (Farmacopéia Brasileira, 1977). Possui peso molecular de 664,57 g/mol. Quando a rutina cristaliza de extratos aquosos ela tende a se arranjar em forma de leque. A rutina pura cristaliza de soluções em água destilada como agulhas isoladas. E cristaliza de metanol anidro e etanol com três moléculas de solvente na forma de grandes pratos fusiformes (Griffith *et al.*, 1955).

A substância é solúvel na água em ebulição na proporção de 5 a 6 g por litro, mas é muito menos solúvel em água fria (aproximadamente 0,1 g por litro) (Griffith *et al.*, 1955).

A rutina é extremamente solúvel em solventes quentes como metanol, etanol, *n*-butanol, glicerol, os glicóis, 1-4 dioxano, piridina, morfolina, e soluções aquosas de bases inorgânicas; ela é moderadamente solúvel em solventes quentes como acetona, os propanóis e ácido acético glacial; e é insolúvel em hidrocarbonetos, hidrocarbonetos clorados, nitroparafinas e éteres (Griffith *et al.*, 1955).

Cloreto cúprico solubiliza rutina, mas sulfato cúprico, cloreto de cobalto, cloreto de manganês e sulfato de manganês não solubilizam (Griffith *et al.*, 1955).

Na hidrólise com ácido diluído, a rutina produz uma molécula do flavonol quercetina e os açúcares glucose e ramnose, que são representados pela seguinte equação (Griffith *et al.*, 1955):



3.10.2. *Aspectos Farmacológicos*

A rutina desponta como uma das alternativas mais promissoras no combate ao envelhecimento e doenças degenerativas (Sales, 1999).

No corpo humano, a rutina atua no fortalecimento e permeabilidade das paredes dos vasos capilares, em combinação com a vitamina C (CEMIG, 1992; Santos *et al.*, 1977; Rizzini e Mors, 1995; Madeira *et al.*, 2002).

A rutina aumenta o tônus venoso, e acredita-se que tenha associada uma ação “impermeabilizante capilar”, semelhante a vitamina P, devido a inibição da hialuronidase. Tal ação impediria a passagem de proteínas que contribuiriam para a formação do edema (Araújo, 2003).

Ela também atua ativando a enzima antioxidante superóxido dismutase, promovendo um aumento do colesterol HDL sérico e diminuindo os fatores de risco para a aterosclerose e DCV (Rodrigues *et al.*, 2003).

Algumas características desejáveis da rutina para desenvolvimento de formulações farmacêuticas são apresentadas na tabela III.2 (Ferreira, 2004).

Tabela III.2: Características da rotina para desenvolvimento de formulações farmacêuticas

Característica	Valor (%)
Perda por dessecação	5,0 a 8,5
Cinzas sulfatadas	0,1 (Max)
Clorofila	0,004 (Max)
Pigmentos vermelhos	0,004 (Max)
Quercetina (CLAE)	2,0 (Max)
Isoquercetina (CLAE)	2,0 (Max)
Canferol-3-rutinosídeo (CLAE)	2,0 (Max)
Teor (TBAH)	98,5 a 102,0
Metais pesados	0,001

Fonte: Ferreira, 2004

3.10.3. *Formas de Obtenção*

A rutina é extraída de plantas como *Ruta graveolens* (arruda comum), *Uncaria eliptica*, *Fagopyrum esculentum* (trigo sarraceno, teor de 5%), *Sophora japonicae* (teor de 20%) e folhas de *Eucalyptus macrorrincha* (teores de 7-23%) (Araújo, 2003; Ferreira, 2004).

3.11. *Dimorphandra*

O gênero *Dimorphandra* Schott pertence à família Caesalpiniaceae (Leguminosae), subfamília Caesalpiniae (Cowan, 1981, citado por Silva, 1986). Subdivide-se em três subgêneros: (1) *Dimorphandra* com onze espécies; (2) *Phaneropsia* com cinco espécies e (3) *Pocillum* com dez espécies e quatro subespécies. As espécies do subgênero *Dimorphandra* estão distribuídas desde a região Norte da América do Sul, atingem a região Sudeste e o Brasil Central. A ocorrência de algumas espécies em determinadas regiões se deve a razões ecológicas. Ao norte ocorrem a *D. caudata*, *D. mediocris*, *D. multiflora* e *D. pullei*. Desde o Nordeste do Brasil até a região sudeste e centro-oeste ocorrem as espécies típicas do cerrado e suas variações, como *D. exaltata*, *D. gardneriana*, *D. mollis* e *D. Wilsonii* (Silva, 1986).

A seguir serão descritas as espécies *D.gardneriana* e *D.mollis*, típicas do Cerrado, de acordo com Silva (1986).

12.1.

Dimorphandra gardneriana

Árvore pequena a mediana, 3-5 (-8) m de altura por 12 cm de diâmetro, muito raramente atingindo maior porte, 10-20 m, e geralmente de crescimento tortuoso; copa ampla, folhosa e elegante; casca castanho-acinzentado, rugosa; ramos jovens, pecíolos e raque das folhas acinzentado-pubescentes, depois a subglabros, glabrescentes ou perfeitamente glabros, lenticelosos. Folhas 2-pinadas, pecioladas, até 30-40 cm de comprimento, com 5-8(-9) pares de pinas primárias alternas, subopostas ou opostas; pecíolo comum até 13 cm de comprimento, subcilíndrico, profunda e estreitamente canaliculado; pecíolo primário 5-10 (-15) mm de comprimento; pecíolo secundário 1-2 mm de comprimento; pinas primárias com 10-20 pares de panículas secundárias alternas; panículas ovais ou oblongas, 22,5 cm de comprimento por 1-1,6 mm de largura, finamente seríceas na face inferior, na superior glabrescentes; base cordada, retusa ou obtusa; ápice emarginado ou ligeiramente subagudo; margem inteira, plana ou apenas ligeiramente revoluta; nervuras primárias e secundárias imersas na face superior, na inferior apenas a nervura central proeminente, as demais mínimas ou inconspícuas. Inflorescência paniculado-corimbosa, 1,5-20 cm de comprimento, constituída de espigas curtas, densifloras, reunidas em pequenos corimbos longo-pedunculados, de 5-6 cm de comprimento; as espigas internas menores. Flores pequenas, amarelas ou cremes, fétidas, sésses, 3,5 mm de comprimento, cálice glabro, 1 mm de comprimento, tubuloso, 5-laciniado no ápice; lacínias obtusas ou arredondadas, internamente com alguns pêlos; corola com cinco pétalas oblongas, espatuladas, 2 mm de comprimento, glabras em ambas as faces, reflexas na antese; estames cinco, epipétalos, 5 mm de comprimento, glabros; filetes delgados; anteras oblongas, de base sagitada, introrsas; estaminódios cinco, filiformes, longos, ápice dilatado, carnosos; ovário oblongo, fusiforme, glabro com estilete muito curto e estigma cartilaginoso, estreito. Fruto indeiscente, estipitado, 8-15 cm de comprimento, ereto na árvore, reto ou ligeiramente recurvado, fortemente pedunculado, comprimido lateralmente, superfície glabra, marrom e pouco rugosa quando maduro.

Distribuição: no Brasil ocorre nos Estados do Pará, Maranhão, Ceará, Piauí, Pernambuco, Bahia, Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais. Fora do Brasil foi colhida apenas uma vez na Bolívia. Habita preferentemente o cerrado, o campo aberto, as galerias nas regiões xerofíticas, na flora silvestre e campestre, em altitudes que variam desde 190 m até 950 m. Colhida com flores durante quase todo o ano, com exceção dos meses de abril, junho e julho; mais

freqüentemente em dezembro; com frutos, tem-se registro desde fevereiro a abril, junho, julho e novembro.

Nomes vulgares: Brasil: Favadanta, Fava-d'anta (Maranhão); Fava-d'anta (Piauí); Faveira (Ceará, Pernambuco, Minas Gerais); Favella, Barbatimã, Barbatimão (Bahia); Barbatimão, Barba-timão, Sucupira (Mato Grosso).

Morfologicamente, *Dimorphandra gardneriana* é muito parecida com *D.mollis*, da qual se separa logo, à primeira vista, pela forma dos folíolos, maiores e menos pilosos, com as margens menos revolutas ou, na maioria das vezes, plana e com menor número de pinas nas folhas.

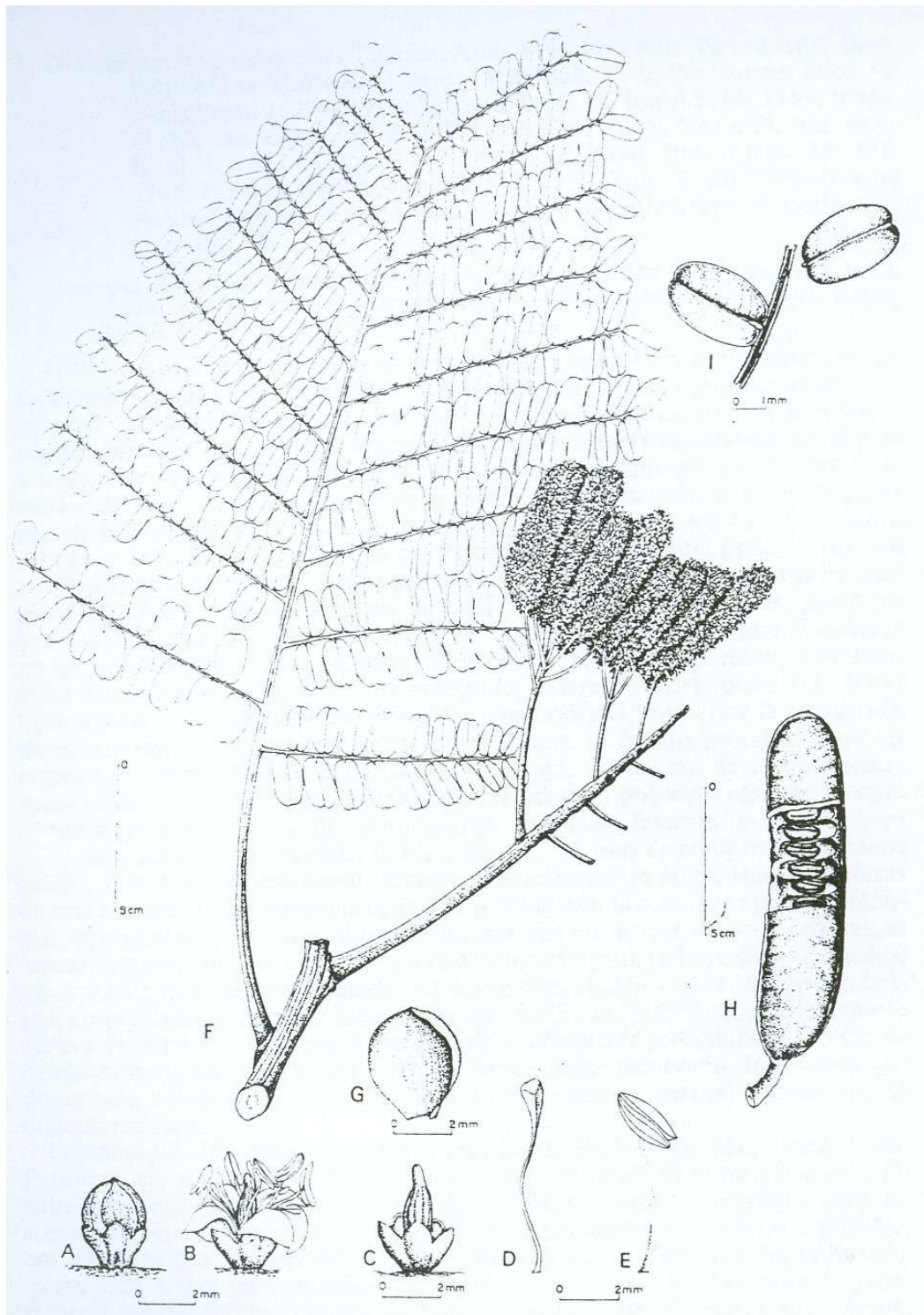


Figura 3.5 (na fonte figura 33). *Dimorphandra gardneriana* Tulasne (Anderson et al.36864; Fróes 29681). A,Botão floral. B, Flor em plena antese. C, Cálice com o gineceu. D, Estaminódio. E, Estame. F, Ramo com inflorescência. G, Pétala. H, Fruto maduro. I,Foliólos em detalhe.Desenho de: A. Silva, 1978 (Fonte: Silva 1986).

Árvore pequena ou mediana, 3,5 (-10) m de altura com copa horizontal densa; ramos, folhas e inflorescência densamente amarelados a ferrugíneo-pubescentes; casca grossa, cinza-avermelhada, áspera, seca, fragmentando-se em pequenos pedaços ao longo do fuste; nos ramos, fina e lenticelosa, ferrugíneo-tomentosa. Folhas 2-pinadas, pecioladas, 20-30(-35) cm de comprimento com 6-12(-14) pares de pinas primárias, opostas ou subopostas, curto-pecioladas; pecíolo comum, cilíndrico, tomentoso, estriado longitudinalmente, 3-3,5 cm de comprimento; pecíolo primário espesso, 2 mm de diâmetro por 3 mm de comprimento; pinas primárias de 8-11 cm de comprimento com 13-22 pares de pínulas alternas ou subopostas, curtamente pecioladas; pecíolo secundário piloso, 1 mm de comprimento; pínulas ovais ou oblongas, 1-1,5(-2) cm de comprimento por 5-7(-8) mm de largura, alternas ou subopostas, densamente pubescentes ou veludas em ambas as faces, membranáceas, na face superior pálidas e finamente seríceas, na inferior densamente ferrugíneo-pubescentes ou seríceas; base oblíqua, ápice obtuso e margem inteira, acentuadamente revoluta. Nervura primária na face superior imersa, na inferior proeminente; nervuras secundárias e superiores inconspícuas em ambas as faces. Inflorescência paniculado-corimbosa, 5-10 cm de comprimento, longo-pedunculada, obscura, com brácteas na base; pedúnculo espesso, densamente ferrugíneo-tomentoso. Flores amarelas em espigas densas, unibracteoladas na base; bractéolas ferrugíneas, lineares, caducas; espigas curto ou longo-pedunculadas; cálice urceolado-campanulado, externamente com poucos pêlos, de 1,5 mm de comprimento, 5-lobulado; lóbulos arredondados, tubo pequeno; corola com cinco pétalas iguais, livres, o dobro do comprimento do cálice; pétalas com unha muito curta. Estames cinco, epipétalos, 3-3,5 mm de comprimento; estaminódios cinco, filiformes, o ápice ovóide, clavado-espátulado ou oblanceolado. Ovário fusiforme, espesso, glabro, com 6-10(-15) óvulos. Fruto legume espesso, carnoso, comprimido, indeiscente, 10-15(-18) cm de comprimento por 2,5-3,8(-4,5) cm de largura, curto-estipitado, base atenuada, ápice arredondado, obtuso; sementes 10-13 (-20), transversais. As sementes são elipsoide-achatadas, 8-13 mm de comprimento por 4-6 mm de largura, avermelhadas, testa dura, superfície lisa, circundada lateralmente por faixa escura, com endosperma.

Distribuição: no Brasil ocorre nos Estados de Mato Grosso, Goiás, no Distrito Federal, em Minas Gerais, Sul da Bahia e São Paulo. Fora do Brasil ocorre na Bolívia, Paraguai, Na região do rio Apa e na Serra do Amamby. Tipicamente de hábito xerofítico, ocorre no cerrado e suas variações (campo cerrado, cerradão), nas matas das encostas, próximo de elevações, em solos

argilosos ou arenosos, em altitudes que variam entre 500 a 1700 m. Colhida em flor mais frequentemente nos meses de novembro e dezembro, porém com registro também em fevereiro, abril, setembro e outubro; a frutificação foi observada mais abundantemente durante março e abril, mas alguns exemplares foram colhidos durante os meses de janeiro, fevereiro, maio até novembro.

Nomes vulgares_ Brasil: Barbatimão, Faveira, Jacarandá (Mato Grosso); Faveiro, Barbatimão-da-folha-miúda, Sucupira-branca (Goiás); Acácia, Faveira, Favela (Minas Gerais); Canafistura (nome estranho à família, São Paulo).

D. mollis é uma das espécies de ampla distribuição, muito semelhante à *D. gardneriana*, da qual difere principalmente por seus folíolos densamente pilosos de margem revoluta.

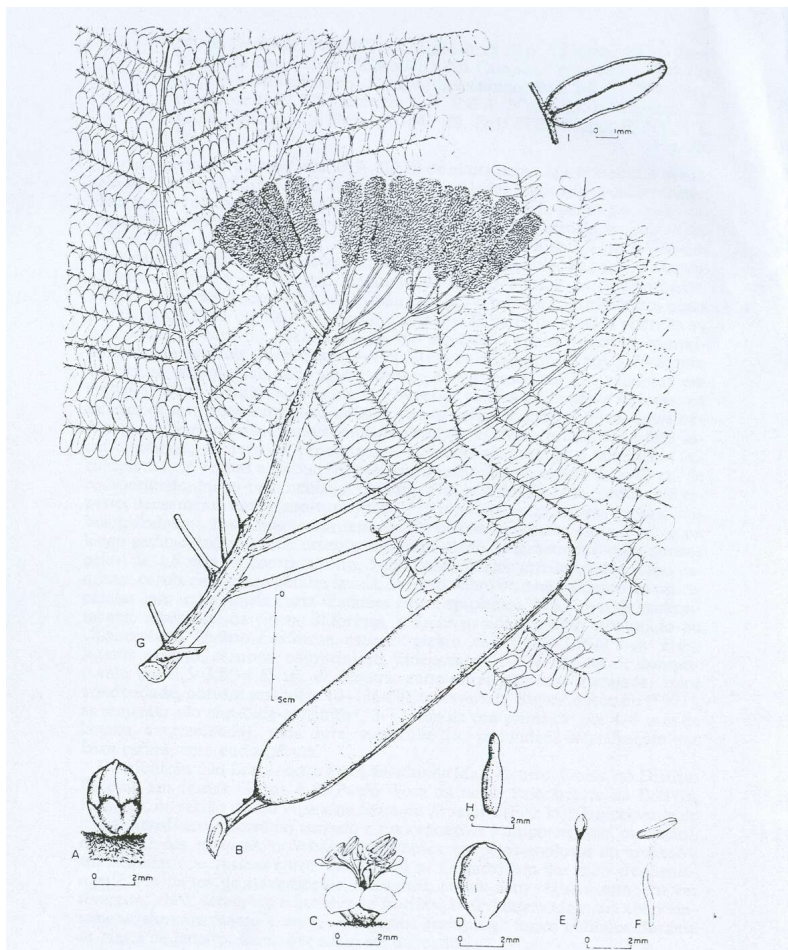


Figura 3.6 (na fonte fig. 38) – *Dimorphandra mollis* Benth. (Anderson 9453; Coutinho s.n. RB 163796). A, Botão floral. B, Fruto maduro. C, Flor na antese. D, Pétala em detalhe. E, Estaminódio. F, Estame. G, Ramo com inflorescência. H, Gineceu. I, Folíolo em detalhe. Desenho de: A. Silva, 1978 (Fonte: Silva 1986).

3.18. Flavonóides Encontrados nos Frutos de *Dimorphandra* sp

O mesocarpo é externamente constituído de células do tipo parenquimático, alongadas no sentido radial e, freqüentemente, incluindo cristais de rutina, em forma de ouriço (Oliveira *et al.*, 1998). A concentração da rutina nos frutos varia de 6 a 10%.

A figura seguinte 3.7 mostra uma secção transversal do fruto de *Dimorphandra mollis* Benth, e os cristais de rutina, em forma de ouriço.

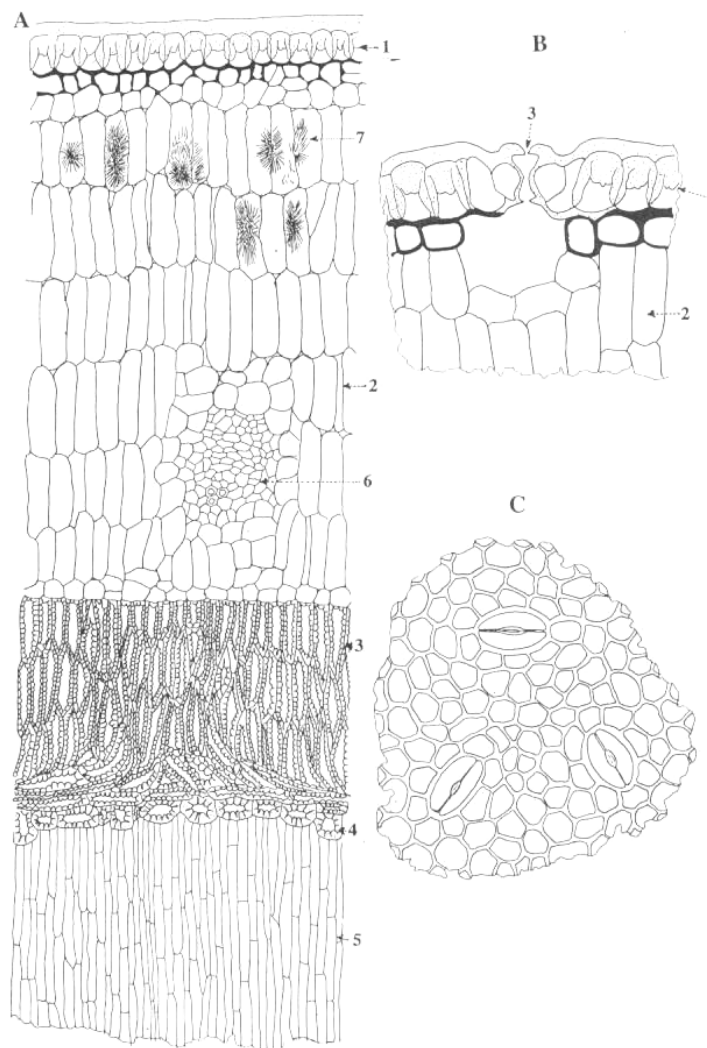


Figura 3.7 _ *Dimorphandra mollis* Benth

A _ Secção transversal do fruto: 1- epicarpo; 2-mesocarpo; 3-camada esclerótica; 4- endocarpo; 5-placenta (trofosperma); 6-feixe vascular; 7-esferocristais.

B _ Região externa do pericarpo: 1-epicarpo; 2-células do mesocarpo; 3-estômato.

C _ Epicarpo visto de face.

Fonte: Oliveira *et al.*, 1998.

Além da rutina os frutos contêm os glicosídeos flavônicos como hesperidina, eriodictina, catequina e quercetina (Horto Medicinal, 2004; Gomes, 1998).

3.18. Coleta dos Frutos

Os frutos de fava d'anta são coletados verdes, sendo que o teor de flavonóides totais é superior nesse estágio, indicado pela coloração verde-escura do fruto, como foi observado por Mendes *et al.* (2002). A coleta é feita tanto por adultos, como também por adolescentes e crianças (Gomes, 1998).

O Laboratório Merck do Brasil, uma das empresas processadoras de fava d'anta, criou um folheto explicativo que contém as seguintes informações sobre o processo de coleta (Gomes, 1998):

- Coletar somente a fava verde e fina deixando as maduras;
- Evitar a coleta de fava muito pequena;
- Não cortar os galhos com foice ou faca e utilizar sempre a mão ou ferramenta apropriada (gancho).

Em seus estudos, Gomes (1998) verificou que a coleta de fava d'anta não segue os conselhos do folheto, pois os entrevistados não tiveram acesso a ele. Nas árvores de pequeno porte a coleta é feita à mão. E nas de grande porte é utilizado um garfo de madeira bifurcado, sendo que adolescentes e crianças, que têm maior facilidade de subir nas árvores, cortam os galhos com facão ou com as próprias mãos. Muitas vezes cortam os galhos, interferindo na produção da safra seguinte.

A seguir um diagrama esquemático sobre a coleta de fava d'anta com mais informações.

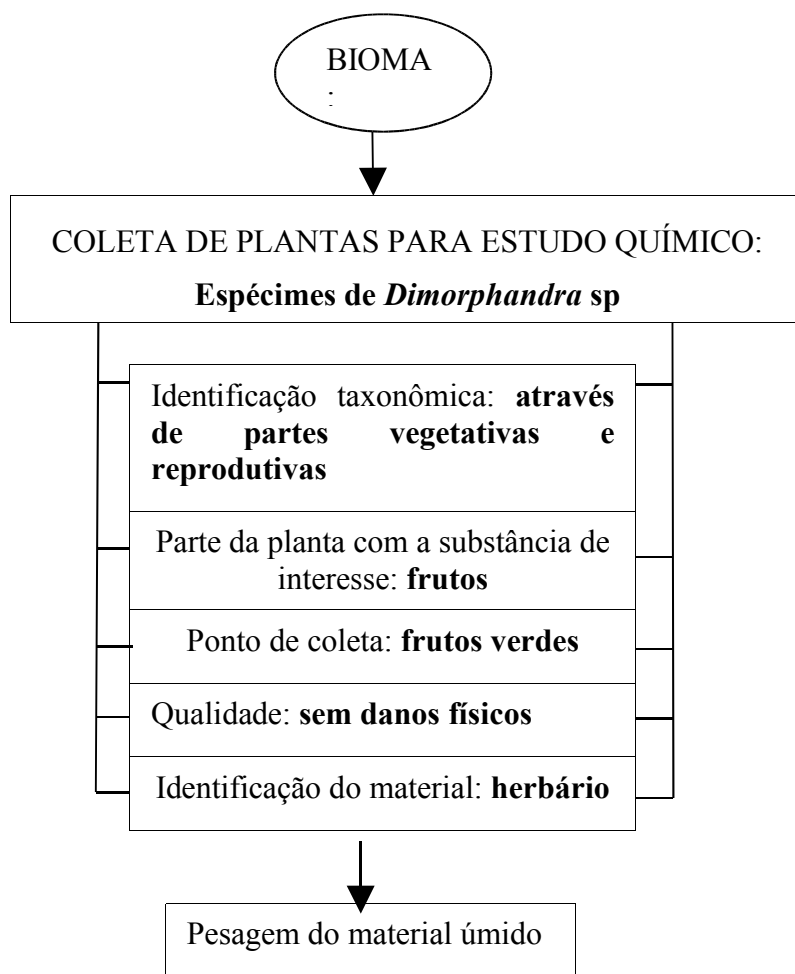


Figura 3.8: Diagrama esquemático sobre a coleta de plantas para estudo fitoquímico.

3.18. Secagem e Beneficiamento Pós-Coleta

De acordo com o folheto do Laboratório Merck do Brasil, citado por Gomes (1998), deve-se espalhar no chão limpo a fava coletada no mesmo dia sempre em camadas finas, revirando de hora em hora e não deixar a fava ensacada de um dia para o outro; evitar chuvas ou sereno no processo de secagem, cobrindo a fava com lona plástica e não espalhar a fava sobre a areia; evitar secar a fava à sombra, pois neste tipo de secagem ela fica contaminada por fungos; ensacar a fava quando estiver seca e não estocá-la em contato direto com o chão, mas em cima de estrados.

Gomes (1998) observou que o processo de beneficiamento ocorre da forma recomendada pelo folheto, sendo que o processo de secagem leva de 8 a 12 dias. Porém quanto ao armazenamento, o procedimento de se colocar estrados para evitar umidade do solo não foi observado em nenhum dos locais pesquisados.

Macedo *et al.* (2004) avaliaram três sistemas de secagem de fava d'anta: 1) convencional; 2) em estufa com circulação forçada de ar a 45 °C; e 3) em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C; e concluíram que a secagem tradicionalmente utilizada pelos coletores não altera significativamente a qualidade do produto.

3.18. Extração de Rutina

Griffith (1955) cita o método de Krewson e Couch para extração de rutina de folhas de trigo sarraceno. Nele podem ser usadas folhas verdes ou secas pulverizadas de trigo sarraceno onde são colocadas em um extrator com álcool isopropílico e água como solventes. Nas etapas seguintes o extrato com água passa para um evaporador, filtro, tanque em aquecimento, filtro, tanque para resfriamento e filtro, obtendo-se uma torta de rutina que será processada para obtenção de rutina pura.

Para extração de rutina dos frutos de *Dimorphandra mollis* ultimamente são empregados metanol e etanol como solventes, a partir do fruto verde e seco pulverizado.

Oliveira (2004) utilizou técnicas de obtenção do extrato enriquecido de rutina tanto líquido quanto em pó. Nelas foram utilizados o metanol e o etanol como solventes e aquecedor por refluxo e rotaevaporador como equipamentos principais. Na obtenção do extrato por refluxo, a quantidade de extrato não variou para qualquer dos dois solventes utilizados. Porém, a abertura de rutina mostrou-se maior quando utilizado metanol. Já na obtenção do extrato em evaporador rotativo, verificou-se que a quantidade de extrato enriquecido, abertura de bioflavonóides, foi maior quando utilizado metanol/água (8:2) como solvente (Oliveira 2004).

3.18. Caracterização da Rutina de *Dimorphandra* sp.

Em estudos de espécimes de *Dimorphandra mollis* do Cerrado Mineiro, Madeira *et al.* (2002) submeteu os frutos a distintos processos de secagem, pulverização e de extração, sendo que o teor de flavonóides foi obtido por técnica espectrofotométrica. Verificou-se uma variação intra-específica significativa no teor percentual de flavonóides nas amostras analisadas, variando de $11,65 \pm 0,29$ a $32,03 \pm 0,96$ nos frutos.

Macedo *et al.* (2004), estudando o teor de flavonóides totais em duas porções do fruto de *Dimorphandra mollis* Benth, utilizando espectrofotometria, observou que a porção EM (epicarpo + mesocarpo) apresentou média do teor de flavonóides totais de $42,43 \pm 8,26\%$, e a porção ES (endocarpo + sementes) apresentou média significativamente inferior ($1,41 \pm 1,27\%$).

3.18. Esquema Geral Sobre a Obtenção de Rutina de Espécies de *Dimorphandra* sp com Foco nos Problemas Tratados nesta Dissertação.

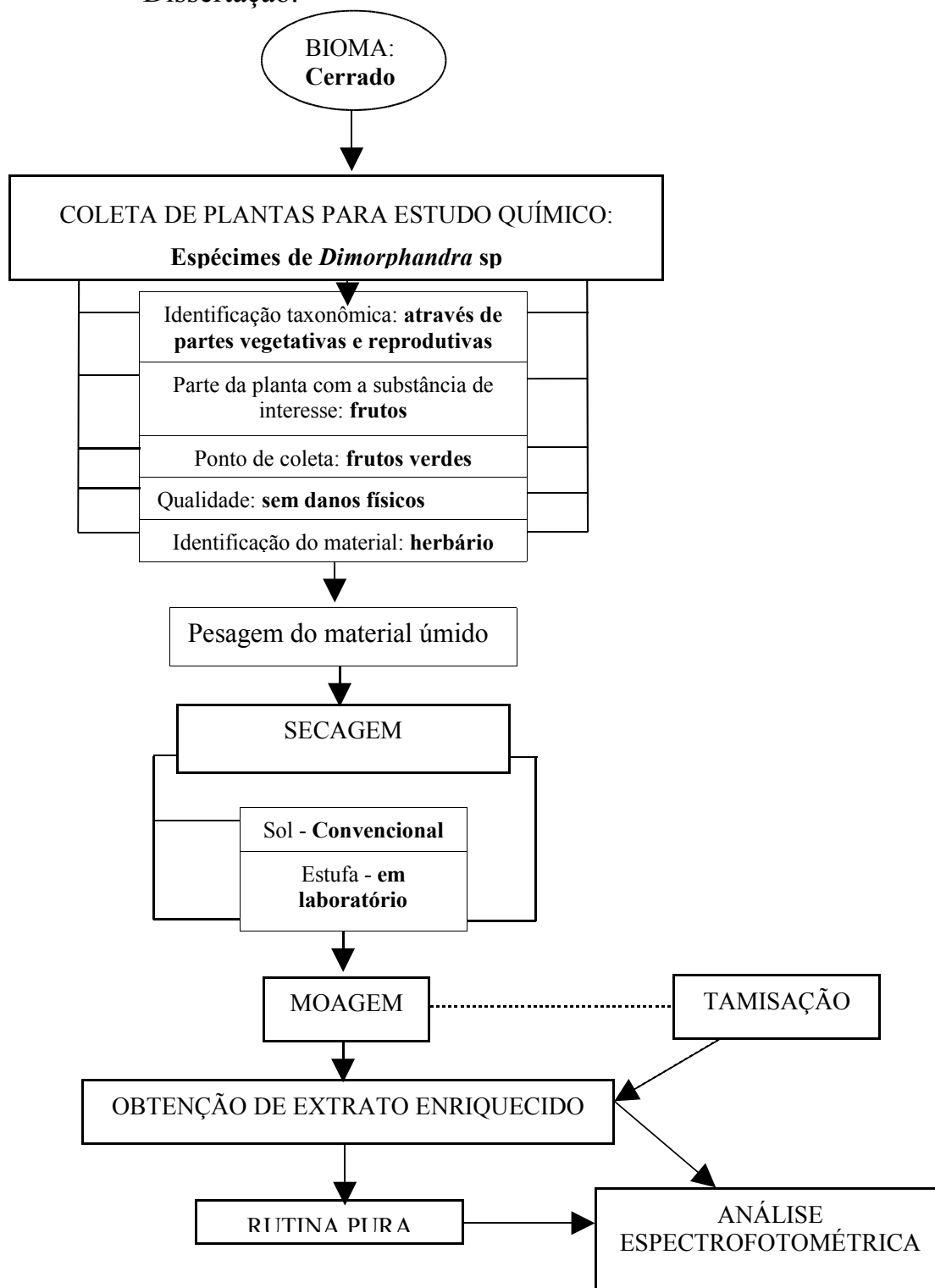


Figura 3.9: Diagrama esquemático sobre a obtenção de rutina de espécies de *Dimorphandra* sp.

3.18. Aspectos Econômicos, Sociais e Ambientais na Cadeia de Comercialização da Fava D'anta

A falta de conhecimentos sobre a importância da fava d'anta aliada à falta de incentivo político deixa os coletores numa situação totalmente fora de seu controle, onde lhes cabe apenas o papel de trabalhadores na coleta. Assim as indústrias retiram a matéria-prima a baixo custo, sem que retornos para a população local sejam obtidos, principalmente em se tratando de áreas onde as dificuldades sócio-econômicas são evidentes (Gomes, 1998).

A forma como o extrativismo dos frutos tem sido feito causa impactos na manutenção e regeneração das plantas, afetando as próximas safras e conseqüentemente a renda dos coletores (Gomes, 1998).

4. METODOLOGIA

Esquema geral da metodologia utilizada.

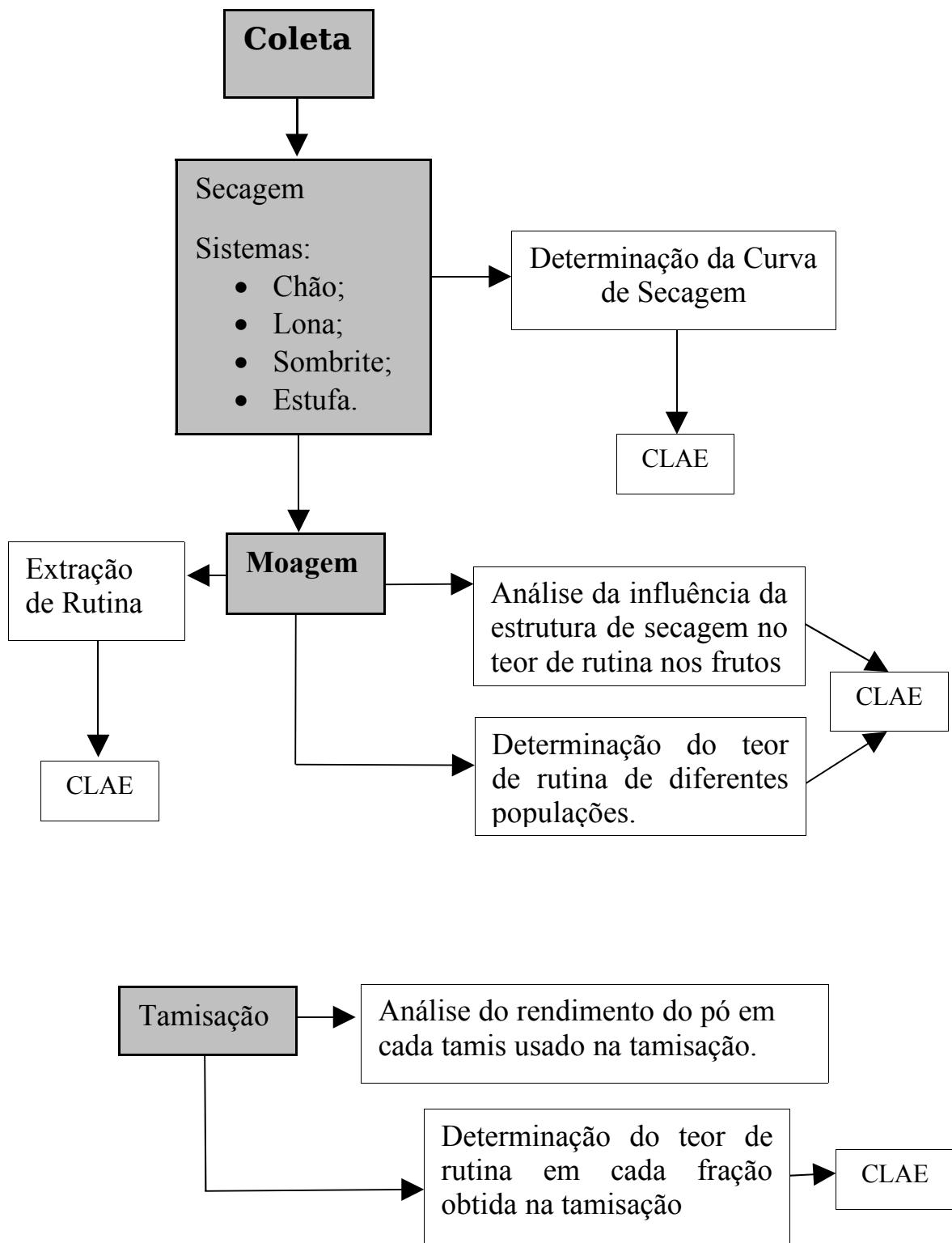


Figura 4.1_ Esquema geral da Metodologia

4.1. Coleta

Os frutos utilizados no experimento foram coletados antes e após a maturação. Os frutos não maturados apresentavam coloração verde-escura, e os frutos já maturados apresentavam coloração marrom-escura, e foram coletados debaixo das árvores.

Os frutos verdes utilizados no estudo são provenientes da Fazenda Sul Brasil, próxima ao município de Chapada Gaúcha (noroeste de MG), e de uma região próxima à cidade de Montes Claros (norte de MG). A Fazenda Sul Brasil foi escolhida por ser uma região de estudo do CETEC. E a região próxima a Montes Claros foi escolhida por ser uma área de estudo do NCA UFMG.

Na Fazenda Sul Brasil, a coleta realizou-se nos dias 25 e 26 de maio de 2004. Nela os frutos foram coletados em uma área, subdividida em quatro subáreas com as designações de Norte, Sul, Leste e Oeste da área da fazenda. Nas plantas, os frutos foram coletados nos quatro pontos cardeais, para que a posição da incidência solar não interferisse no resultado. E em cada subárea (Norte, Sul, Leste e Oeste) foram coletados frutos de seis plantas.

Na região próxima à cidade de Montes Claros, foram coletados frutos verdes de várias árvores de uma única área. Essa coleta foi realizada no dia 07 de junho de 2004.

Os frutos secos maduros foram coletados na zona rural das cidades de Brasilândia, Buritizeiro, Chapada Gaúcha, Coração de Jesus, Corinto (próximo a localidade de Contria), Curvelo, Lassance, Lontra, Mirabela e Pandeiros, todas localizadas em Minas Gerais. Essas localidades foram analisadas durante o acompanhamento de um trabalho de prospecção realizado pela empresa Merck.

De cada região foram coletados frutos maduros e secos de cinco árvores.

Na coleta de frutos verdes foi utilizado podão, que é o mesmo utilizado para poda de árvores. E os frutos maduros e secos foram coletados diretamente no chão. Os frutos foram acondicionados em sacos plásticos e devidamente identificados.

As coordenadas foram determinadas com GPS.

4.2. Secagem

A secagem dos frutos foi realizada no Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, na cidade de Montes Claros (norte de MG), devido às condições climáticas serem as mesmas das áreas produtoras de fava-d'anta.

As estruturas de secagem testadas foram Chão, Lona, Sombrite e Estufa a 40 °C, com circulação forçada de ar.

A secagem no chão foi a mesma que é realizada pelos coletores. Uma pequena área do terreno próximo a cantina do Instituto foi limpa, e nela os frutos foram espalhados, e cada conjunto de frutos foi delimitado com galhos secos para que não se misturassem durante o experimento devido a ação do vento (figura 4.2). Durante a secagem os frutos foram revirados. A lona utilizada foi uma lona plástica preta comum, espalhada no chão, presa com algumas pedras e galhos para não virar durante a passagem do vento (figura 4.3). O sombrite utilizado foi estendido e fixado em um suporte, a alguns centímetros do chão (figura 4.4). E as estufas utilizadas foram as estufas com circulação e renovação de ar marca Tecnal TE 394/3 e a da marca Nova Ética.

Para a secagem os frutos de cada subárea coletada na Fazenda Sul Brasil _ Norte, Sul, Leste e Oeste _ foram separados em dois grupos, com 20 frutos cada, transformando-se nos acessos Norte A, Norte B, Sul A, Sul B, Leste A, Leste B, Oeste A e Oeste B. Ela foi efetuada no período de 28 de março a 13 de junho de 2004.

Na secagem da amostra coletada na área próxima a Montes Claros, em cada tipo de estrutura de secagem foram utilizadas cinco amostras de 46 frutos. Ela efetuou-se no período de 7 a 22 de junho de 2004. As figuras seguintes (Figura 4.2, 4.3 e 4.4) mostram as estruturas de secagem Chão, Lona e Sombrite com os frutos provenientes da região próxima a cidade de Montes Claros.



Figura 4.2_ Secagem de frutos de *Dimorphandra* sp no chão (Foto: Elisângela A. M. Santos).



Figura 4.3_ Secagem de frutos de *Dimorphandra* sp na lona (Foto: Elisângela A. M. Santos).



Figura 4.4_ Secagem de frutos de *Dimorphandra* sp no sombrite (Foto: Elisângela A. M. Santos).

4.3. Determinação da Curva de Secagem

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, disposto em esquema fatorial 4x6, sendo quatro sistemas de secagem (sistema 1 – chão; sistema 2 –Lona; sistema 3-Sombrite e sistema 4-Estufa) e seis épocas de avaliação do teor de umidade dos frutos (época 1 → início da secagem; época 2 → 3 dias após início da secagem; época 3→ 6 dias; época 4→ 9 dias; época 5→ 12 dias e época 6→ 15 dias). Foram utilizadas seis repetições.

Durante a secagem dos frutos verdes coletados na Fazenda Sul Brasil e na região de Montes Claros, foi feita a determinação do teor de umidade em base úmida. De cada bloco retirou-se uma amostra de dois frutos, que foram pesados e em seguida postos em uma estufa com circulação forçada de ar, na temperatura de 65 °C. Após 2 dias, os frutos foram retirados da estufa e pesados. As medições foram feitas a cada três dias no período de secagem, durante 15 dias, quando os frutos dos quatro sistemas secaram. Para determinação do teor de umidade em base úmida foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Teor}_{(\text{base úmida})} = \left\{ \left(\text{Peso inicial (Pi)} - \text{Peso final (Pf)} \right) / \text{Peso inicial (Pi)} \right\} \times 100$$

Os dados obtidos foram submetidos às análises de variância e regressão.

A moagem dos frutos secos, seja nas estruturas em teste ou aqueles obtidos no campo, foi feita em moinho de facas e martelos, equipado com 1 faca e 4 martelos.

4.4. Análise da Influência da Estrutura de Secagem no Teor de Rutina

O estudo foi conduzido no delineamento de blocos casualizados, disposto em 9 repetições e 4 estruturas de secagem (Chão Lona, Sombrite e Estufa a 40° C) e 9 blocos analisados (Norte A, Norte B, Sul A, Sul B, Leste A, Leste B, Oeste A, Oeste B e MOC).

Os pós dos frutos secos em cada estrutura foram submetidos a análise de teor de rutina através do método da CLAE.

Os dados foram submetidos a análise de variância e comparações de médias pelo Teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

4.5. Análise do Rendimento do Pó em Cada Tamis usado na Tamisação

A moagem dos frutos secos, seja nas estruturas em teste ou aqueles obtidos no campo, foi feita em moinho de facas e martelos, equipado com 1 faca e 4 martelos.

A tamisação foi feita utilizando 7 tamises (peneiras) que são a de 16 #, 28 #, 32 #, 42 #, 48 # e 80 #. As amostras utilizadas foram aquelas coletadas na região próxima à cidade de Montes Claros, secas em cada estrutura testada. Foram utilizados 700 g de cada material seco no chão, na lona e no sombrite, e 500 g do material seco na estufa a 40 °C. Primeiro o material foi pesado e depois submetido a tamisação durante 30'. Depois, o material era retirado dos tamises com o auxílio de uma escova e pesado. Com os dados da pesagem calculou-se a porcentagem de cada fração obtida, considerando-se também o material obtido no fundo da seqüência dos tamises.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparações de médias pelo Teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

4.6. Determinação do Teor de Rutina em Cada Fração Obtida na Tamisação

Cada fração obtida foi submetida à análise pela CLAE para determinação do teor de rutina.

Os dados foram submetidos a análise de variância e comparações de médias pelo Teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

4.7. Determinação do Teor de Rutina de Diferentes Populações

Das populações próximas às localidades de Brasilândia, Buritizeiro, Chapada Gaúcha, Coração de Jesus, Corinto (próximo a Contria), Curvelo, Lassance, Lontra, Mirabela e Pandeiros, todas em Minas Gerais, foram coletados frutos secos, caídos no chão, de 5 árvores, totalizando o material de 10 populações. Os frutos de cada árvore foram moídos e submetidos a análise do teor de rutina através da CLAE, para monitoramento do teor de rutina nas localidades.

4.8. Extração de Rutina

A extração de rutina baseou-se na metodologia de Griffith *et al.* (1955) modificada, sem a utilização de sílica gel, tendo a água como solvente.

4.9. Análises na CLAE

As análises foram executadas em parceria com a Merck do Brasil, unidade localizada no Maranhão, aos cuidados do Sr. Fernando Campbell Rocha.

Foi utilizado a CLAE Lachrom, com a Coluna Lichrocart 254-4 HPLC-Cartridge, Tipo Superspher 100 RP-18 Endcapped, tamanho 250-4mm.

A fase móvel consistiu de acetonitrila, metanol e ácido ortofosfórico. O volume injetado foi de 20 µl. O fluxo da fase móvel foi de 1 ml por minuto. O tempo de retenção Rutina foi de 6,44 min. Foi utilizado o Sistema de detecção UV-VIS no comprimento de onda de 350 nm.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Coleta

Os locais de coleta realizada na Fazenda Sul Brasil estão representados nos anexos (figuras 9.1, 9.2, 9.3 e 9.4).

5.2. Secagem

O processo de secagem nos quatro tipos de estrutura do material colhido na Fazenda Sul Brasil efetuou-se em 17 dias, realizada entre os dias 28/05/04 e 13/06/04. E a do material colhido na região de Montes Claros ocorreu em 16 dias, realizada entre 07/06/04 e 22/06/04. As figuras seguintes mostram a variação de temperatura do ambiente ocorrida nesses dias.

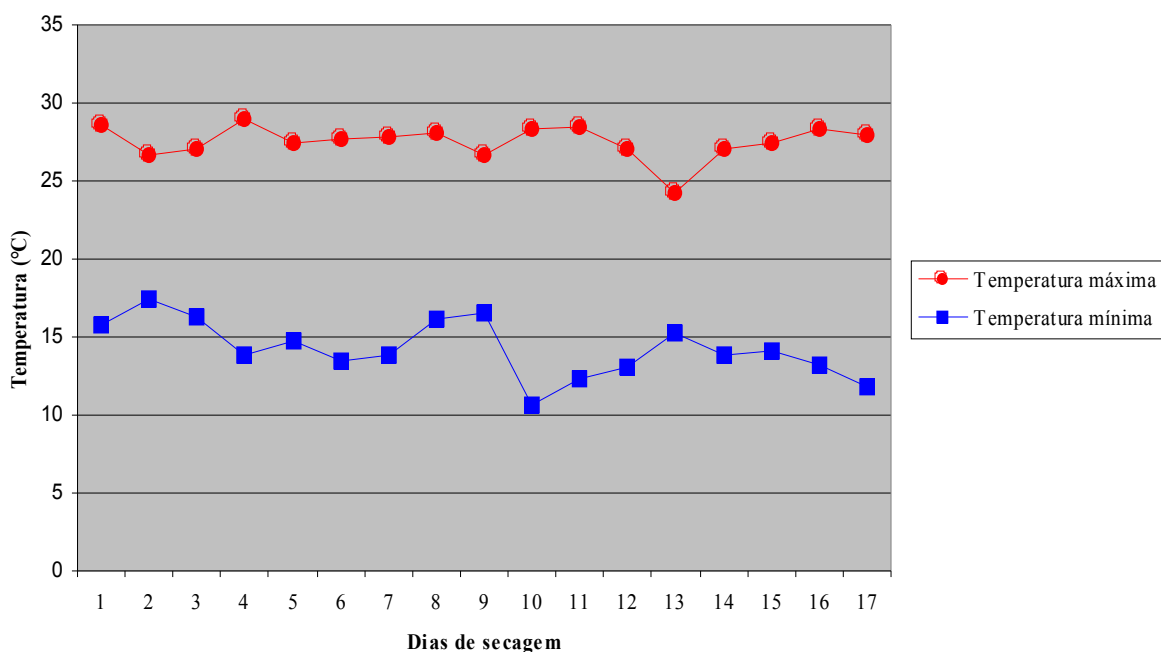


Figura 5.1. Temperaturas máxima e mínima ambiente durante a secagem do material coletado na Fazenda Sul Brasil (Fonte: INMET- Montes Claros).

Durante a secagem do material colhido na Fazenda Sul Brasil, a temperatura máxima do ambiente variou de 24,2 a 29 °C; a temperatura mínima variou de 10,6 a 17,4 °C; a temperatura do ar variou de 18,2 a 21,6 °C; e a umidade do ar variou entre 51 e 80.

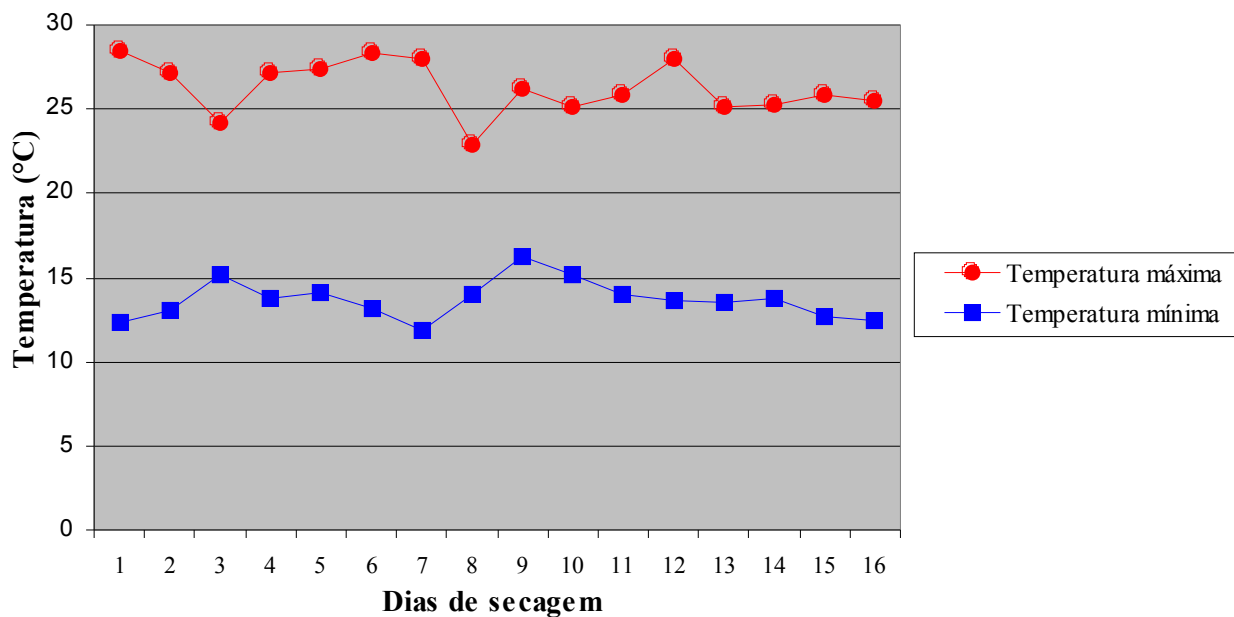


Figura 5.2. Temperaturas máxima e mínima ambiente durante a secagem do material coletado em Montes Claros (Fonte: INMET – Montes Claros).

Durante a secagem do material colhido na região de Montes Claros a temperatura máxima variou de 22,9 a 28,4 °C; a temperatura mínima variou de 11,8 a 16,3 °C; a temperatura do ar variou de 18,8 a 20,6 °C; e a umidade do ar variou entre 51 e 80.

A secagem feita no chão ocorreu em mais dias que o citado por Gomes (1998), que indicou 8 a 12 dias. Isso pode ter ocorrido em função dos fatores ambientais como temperatura e umidade serem diferentes durante as secagens citadas por Gomes (1998).

5.3. Determinação da Curva de Secagem

A tabela V.1 mostra a análise de regressão para o teor de umidade dos frutos de fava d'anta em seis épocas de avaliação.

Tabela V.1 – Resumo da análise de regressão para o teor de umidade de frutos de fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) em quatro sistemas de secagem e seis épocas de avaliação em Montes Claros – MG

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado médio
Sistema de secagem	3	959,759**
Época de amostragem	5	9733,135**
Sist. Secagem X Época	15	186,341**
Época/sistema 1	5	2374,213**
Ep. Linear	1	11509,900**
Ep. Quadrático	1	15,717
Ep. Cúbico	1	312,070*
Desvio	2	16,689
Época/sistema 2	5	2474,480**
Ep. Linear	1	11866,110**
Ep. Quadrático	1	5,560
Ep. Cúbico	1	497,075**
Desvio	2	1,828
Época/sistema 3	5	2411,260**
Ep. Linear	1	11603,750**
Ep. Quadrático	1	0,210
Ep. Cúbico	1	451,970**
Desvio	2	0,185
Época/sistema 4	5	3032,200**
Ep. Linear	1	11631,840**
Ep. Quadrático	1	2587,595**
Ep. Cúbico	1	36,186
Desvio	2	452,689
Resíduo	96	20,625
Total	119	

CV (%) = 16,21

* 5% de probabilidade no Teste de Tukey

* 1% de probabilidade no Teste de Tukey

A partir da análise de regressão, considerando os desdobramentos da interação significativa entre época de amostragem e sistema de secagem, foram obtidas as equações de regressão apresentadas na figura 5.3.

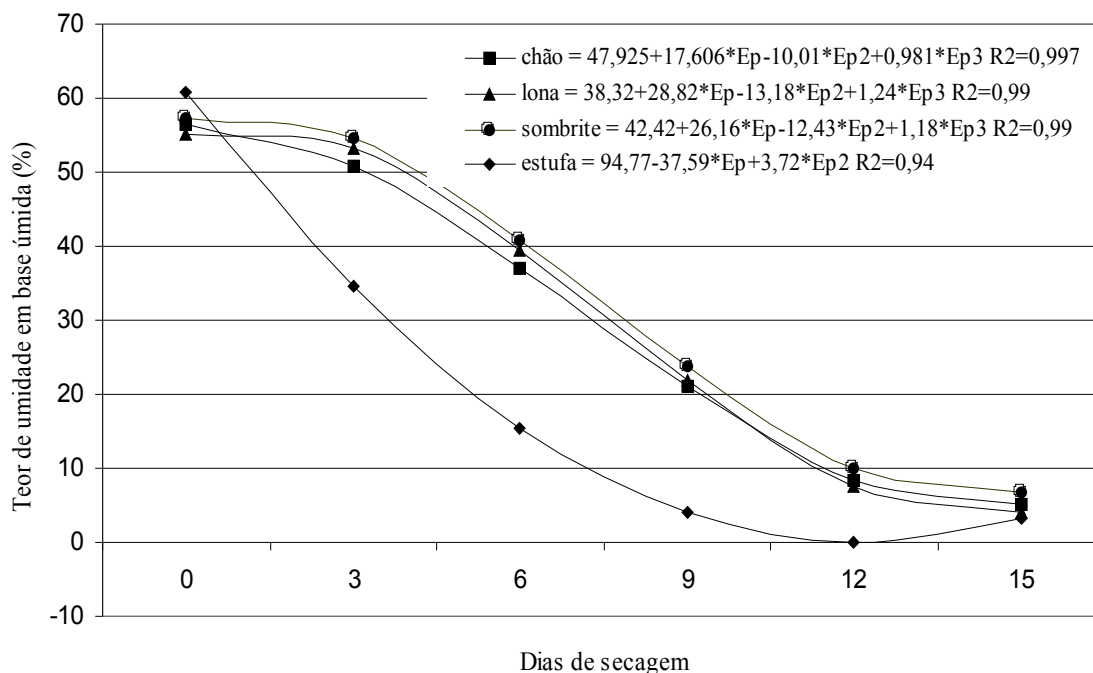


Figura 5.3 – Efeito dos sistemas de secagem sobre a curva de secagem das amostras de fava d’anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) em Montes Claros – MG.

Observa-se na figura 5.3 que o comportamento na secagem foi muito similar entre os sistemas chão, lona e sombrite, sendo que o sistema estufa apenas diferiu dos demais por proporcionar secagem mais rápida, uma vez que a umidade foi inferior a 10% antes de 9 dias. No caso da estufa isso ocorreu porque a temperatura e umidade relativa do ar são constantes, ou seja, não variam com o dia e a noite e, por isso, a secagem é mais acelerada, sendo que o contrário ocorre com o material exposto ao ambiente, onde à noite ocorre redução na temperatura e elevação na umidade relativa (UR), retardando o processo de secagem.

No entanto, de modo geral, nas condições em que o estudo foi realizado, a umidade final do material seco foi muito similar, validando a secagem tradicionalmente realizada pelos coletores, o que confirma também os resultados obtidos por Macedo *et al.* (2004), embora tenha sido observada tendência de menor umidade em frutos secos segundo o sistema estufa. Assim, são necessários cerca de 9 dias no sistema estufa e mais de 12 dias nos demais sistemas para atingir teor de umidade abaixo de 10%, que tem sido recomendado na armazenagem de diversas partes de plantas medicinais (Martins *et al.*, 1994).

5.4. Análise da Influência da Estrutura de Secagem no Teor de Rutina

Os sistemas de secagem não promoveram alteração significativa ($P > 0,05$) no teor de rutina de frutos de *Dimorphandra* sp (Tabela V.2).

Tabela V.2 _ Valores médios de teor de rutina (%) de frutos de *Dimorphandra* sp. secos em quatro sistemas.

Estrutura de Secagem	Valores médios *
Chão	17,59 A
Lona Plástica	16,03 A
Sombrite	15,86 A
Estufa 40 °C	15,67 A

* Valores seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Tuckey a 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Macedo *et al.* (2004) avaliando a influência do sistema de secagem de frutos de *Dimorphandra mollis* Benth no teor de flavonóides totais, usando os tratamentos de secagem ao sol, estufa com circulação forçada de ar a 45 °C e estufa com circulação forçada de ar a 65 °C, concluíram também que os sistemas de secagem não apresentaram diferenças significativas no teor de flavonóides totais.

Porém, Corrêa *et al.* (2004) estudando o rendimento de óleo essencial de folhas de assa-peixe (*Vernonia polyanthes*) submetidos a quatro tratamentos de secagem que são: secagem mista (sol e sombra), secagem em estufa, secagem à sombra e em secador solar, concluíram que as secagens à sombra, mista e em secador solar proporcionaram maiores teores, em comparação com a secagem em estufa. Nesse caso, a secagem em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 35 °C aumentou a liberação de compostos voláteis, diminuindo, conseqüentemente, o teor de óleo essencial.

Na obtenção de certo tipo de princípio ativo utiliza-se uma estrutura de secagem específica, na qual a variação de temperatura e umidade no processo não proporcionem perdas significativas da substância.

5.5. Análise do Rendimento do Pó em Cada Tamis Usado Na Tamisação

Houve diferença significativa na retenção de material tamisado em função da abertura de malha dos tamises (Tabela V.3).

Tabela V.3 Valores médios (%) de material retido em diferentes tamises e fundo.

Abertura da malha em mesh (#)	Valores médios *
16	36,68 A
Fundo	23,76 B
28	12,10 C
80	10,50 C
42	7,72 D
32	5,15 E
48	3,75 E

- Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente pelo Teste de Tuckey a 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

5.6. Determinação do Teor de Rutina em Cada Fração Obtida na Tamisação

Houve diferença significativa nos teores de rutina nos diferentes tipos de frações de pós, sendo que aquela retida no fundo da seqüência de tamises é que apresentou maior teor de rutina.

Tabela V.4 _ Valores médios de teores de rutina (%) de pós de frutos de *Dimorphandra* sp retidos em tamises com diferentes aberturas de malha e fundo ($P < 0,05$).

Abertura da malha em mesh (#)	Valores médios *
Fundo	36,34 A
48	19,34 B
80	19,13 B
42	17,98 B
32	16,27 B
28	12,79 B C
16	5,43 C

*Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente pelo Teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

5.7. Determinação do teor de rutina de diferentes populações

A figura a seguir mostra o resultado da análise do teor (%) em base úmida de rutina de frutos secos provenientes de diferentes populações.

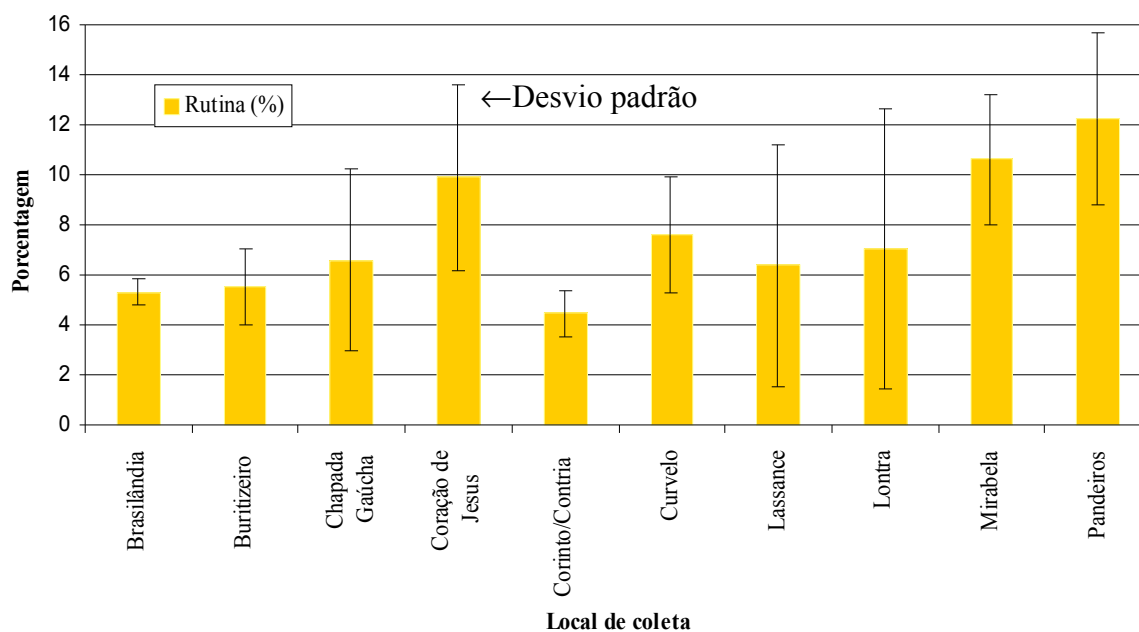


Figura 5.4 _ Teor médio (em %) de rutina de frutos secos coletados em diferentes populações (barras em preto representam o desvio padrão).

A figura mostra que o material proveniente da população da região de Pandeiros apresentou a maior concentração de rutina; e a população da região Corinto/Contria a menor concentração. Os dados mostram apenas tendências, mas não são conclusivos pois houve grande variação. Esses dados podem auxiliar as indústrias processadoras de fava d'anta a identificar as regiões com frutos com melhores teores de rutina.

De acordo com o desvio padrão, a população que apresentou a maior variabilidade foi a de Lontra; e a menor a população de Brasilândia. Porém, essa maior variabilidade não possibilitou que os frutos provenientes de Lontra apresentassem maiores teores de rutina quando secos. Esses dados podem contribuir para posterior pesquisa de material genético de populações de fava d'anta.

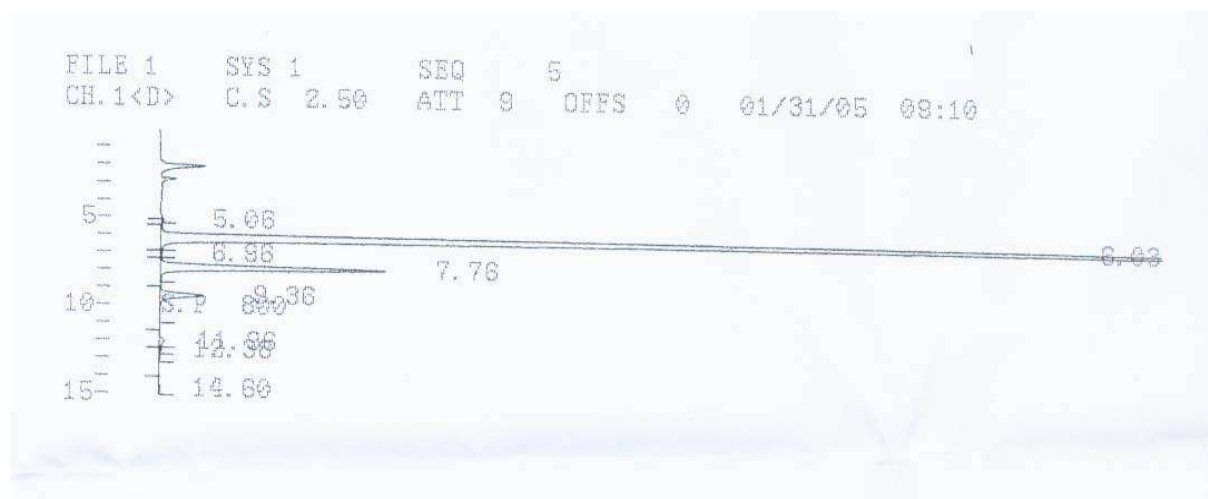
5.8. Extração de Rutina

Após vários testes, chegou-se a um método que possibilitasse a obtenção de extrato enriquecido de rutina utilizando água como solvente. Para obtenção desse extrato foram utilizados pós peneirados e não peneirados de frutos moídos de fava d'anta.

Porém, quando foi efetuado o cálculo do rendimento, os resultados da quantidade de extrato variavam muito quando o pó de fruto não era peneirado.

Em pós não peneirados a recristalização de rutina na solução acontecia em torno de 12 horas, à temperatura ambiente. E quando se utilizou o pó retido no fundo da peneira, e que apresentou maior teor de rutina, segundo análises na CLAE, a recristalização acontecia em torno de 3 dias, sendo que em alguns casos a solução propiciava o crescimento de fungos.

O extrato enriquecido da amostra obtida na região de Brasilândia foi analisado na CLAE para comprovação da extração de rutina e apresentou 68,536% de rutina. A figura seguinte mostra o cromatograma dessa amostra, onde o maior pico é a concentração de rutina.



Nº	Tempo de Retenção (min)	Concentração (teor)	Nome da Substância
1	5,06	0,003	
2	6,03	68,536	Rutina
3	6,96	0,002	
4	7,76	9,460	Isoquercetina
5	9,36	0,4330	
6	11,96	0,065	
7	12,38	0,003	
8	14,60	0,017	

Figura 5.5 _ Cromatograma do extrato enriquecido de Rutina.

Essa amostra não foi peneirada e por isso obteve as seguintes quantidades de extrato enriquecido: 0,6610 g, 0,7048g, 2,0778g, 0,1630 g e 0,9611g a partir de 100 g de pó com teor

médio de rutina de 6,595%. A recristalização da rutina na solução ocorreu em torno de 12 horas.

Durante este trabalho procurou-se desenvolver uma metodologia de extração de rutina com bom rendimento e utilização de solventes menos tóxicos. Porém, o tempo da pesquisa só permitiu o desenvolvimento da metodologia de obtenção de extrato enriquecido de rutina, metodologia esta que será submetida ao processo de patenteamento. Mais estudos são necessários para aperfeiçoamento dessa metodologia e para chegar a extração final de rutina pura.

5.9. Quadro Comparativo das Referências e Procedimentos Utilizados na Dissertação.

MÉTODO	REFERÊNCIAS	PROCEDIMENTO	MODIFICAÇÕES	ACRÉSCIMOS
Coleta	Gomes (1998)	Coletam-se frutos verdes. Em árvores de pequeno porte ela é feita à mão. E nas de grande porte utiliza-se um garfo de madeira bifurcado. Os coletores sobem nas árvores e cortam os galhos com facão ou com as mãos.	<ul style="list-style-type: none"> _ Uso de podão para árvores de grande porte. _ Coleta de frutos secos, além dos verdes. 	
Secagem	Gomes (1998), Macedo (2004) e observações durante o trabalho de campo.	<ul style="list-style-type: none"> _ Sistema Convencional: os coletores limpam uma área no chão, não coberta, espalham nela os frutos verdes que ficam até completarem o período de secagem. Reviram os frutos periodicamente. Percebem que a secagem está completa através do manuseio com as mãos e os frutos começam a soltar a parte epicarpo + endocarpo. Período de 8 a 12 dias. _ estufa com circulação forçada de ar a 45 °C; _ estufa com circulação forçada de ar a 65 °C. 	<ul style="list-style-type: none"> _ Houve monitoramento do teor de umidade dos frutos em base úmida, de 3 em 3 dias. _ Na secagem em áreas não cobertas os frutos eram recolhidos quando havia ameaça de chuva. _ O término da secagem também foi percebido quando os frutos apresentavam teor de umidade a taxa constante. _ a temperatura da secagem na estufa foi de 40 °C. 	<ul style="list-style-type: none"> _ Secagem na lona em área não coberta. _ Secagem no sombrite em área não coberta.
Moagem	Oliveira (2004)	Moagem em moinho de facas e martelos (2:16)	<ul style="list-style-type: none"> _ o número de facas e martelos utilizados: 1 faca e 4 martelos. 	
Tamisação	Oliveira (2004)	Tamises de 10, 20, 28, 32, 35, 42, 48 e 80 # mais o fundo.	Tamises de 20, 28, 32, 42, 48, 80# e fundo.	
Análise do teor de rutina	Macedo (2004), Oliveira (2004).	Espectrofotometria no UV-Visível.	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	
Obtenção de extrato enriquecido	Oliveira (2004)	Uso de metanol e etanol como solventes principais.	Não utiliza metanol e etanol.	Método com solventes atóxicos.

6. CONCLUSÕES

- A secagem dos frutos pode ser realizada no chão, pois esse sistema não interfere no tempo de secagem e no teor de rutina, e é um processo mais prático e barato. Ela deve ser feita em um terreno limpo e exposto ao sol, porém os frutos devem ser vigiados para evitar a presença de animais e evitar que eles molhem com a chuva;
- O pó com granulometria maior que 80 mesh (pó retido no fundo do tamis) apresenta o maior teor de rutina, porém se submetido ao processo de extração com água, ele demora mais tempo para disponibilizar a rutina no meio;
- A extração com água mostrou-se promissora. Geralmente durante a obtenção de extrato enriquecido são utilizados procedimentos como aquecimento e filtração utilizando-se metanol ou etanol como solventes em todas as etapas do processo. No método desenvolvido neste trabalho o metanol e o etanol não são utilizados como solventes e sim água, e o seu uso diferencia também o número e a ordem dos procedimentos utilizados. Por essas particularidades ele será submetido a processo de patenteamento.

7. RECOMENDAÇÕES

- Serão necessários mais estudos sobre a extração de rutina com água para se chegar à etapa de obtenção de rutina pura, com alto índice de pureza e reaproveitamento de produtos intermediários. E também estudos sobre a granulometria da matéria-prima na extração de rutina com água para se obter uma técnica com tempo de execução mais rápida e com melhor rendimento;
- Também serão necessários estudos microbiológicos dos frutos e do extrato obtido para analisar eventual contaminação que possa ocorrer durante a secagem e o beneficiamento dos frutos;
- As empresas beneficiadoras de frutos de fava d'anta deveriam criar programas de capacitação de coletores para evitar danos ambientais às áreas de coleta e para obtenção de frutos secos com qualidade;
- Serão necessários instalar no campo unidades de moagem e tamisação de frutos secos para facilitar o transporte de material para as indústrias.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S. P. de. **Cerrado: aproveitamento alimentar**. Planaltina: Embrapa, 1998. 188 p.
- ALMEIDA, S. P. de; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa_CPAC, 1998.
- ARAÚJO, M. Farmacoterapia nas doenças vasculares periféricas. In: PITTA, G. B.B., CASTRO, A. A., BURIHAN, E., editores. **Angiologia e cirurgia vascular: guia ilustrado**. Maceió: UNCISAL/ECMAL & LAVA; 2003. Disponível em: URL: <http://www.lava.med.br/livro>.
- BARBOSA, W. L. R, e PERES, A. Detecção e caracterização por CLAE de rutina em extrato metanólico de *Chrysobalanus icaco* L. In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, XVII, 2002, Cuiabá. **Resumos**. Cuiabá: 2002.
- CALLISTER, W. D. **Materials Science and Engineering**. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- CARDOZO JÚNIOR, E. L. Homem e Plantas Mediciniais: passado, presente e futuro. In: SEMINÁRIO MINEIRO DE PLANTAS, II, Lavras, 1996. **Anais...** Lavras: UFLA, 1996. 1-4 pg.
- CEMIG. Guia Ilustrado de Plantas do Cerrado de Minas Gerais, 1992. 78 p.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (coordenadores). **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 7ª ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997.
- CORRÊA, R. M.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, É. S.; ALVES, T. L. Rendimento de óleo essencial e caracterização organoléptica de folhas de assa-peixe submetidas a diferentes métodos de secagem. *Ciências Agrotécnicas*, Lavras, v. 28, n. 2, p. 341-346, mar/abr., 2004.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Vol. II. 2ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1978.
- CRUESS, W. V. **Produtos industriais de frutas e hortaliças**: livro texto para estudantes, pesquisadores e industriais. Tradução de Heitor Airlie Tavares. São Paulo: Edgard Bücher, 1973. V.2.854 p. Capítulo XVII: Frutas secas ao sol.
- DI STASI, L. C. Uma proposta de ação interdisciplinar na pesquisa de novos medicamentos. In: DI STASI, L. C. (organizador). **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1996. 230 p.

- FALKENBERG, M. de B.; SANTOS, R. I. dos; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. *et al* (organizadora). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2000. P. 163-179.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 3ª ed. São Paulo: Organização Andrei Editora S.A.,1977.
- FERREIRA, A. B. de H. **Novo Dicionário da Língua Portuguesa**. Rio de Janeiro, 1975.
- FERREIRA, G. D. de C. e. Desenvolvimento de processo para obtenção de extrato de rutina. Relatório Final de atividades de Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial. CETEC: Belo Horizonte, 2004.
- FERRI, P. H. Química de produtos naturais: métodos gerais. In: DI STASI, L. C. (organizador). **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1996. 230 p.
- FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W.; MAUS, L.; ANDERSON, L. B. **Princípio das Operações Unitárias**. Tradução de Horácio Macedo. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982. P.401-432.
- GOMES, L. J. **Extrativismo e comercialização da Fava d'anta(*Dimorphandra* sp): um estudo de caso na região de Cerrado de Minas Gerais**. 1998. 155 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)_ Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- GOMES, V.E.; CARVALHO, D. A. de. **Plantas Medicinais no domínio dos Cerrados**. Lavras: UFLA, 2001.
- GONÇALVES, W. S.; SOUZA, I. G. B.; MARTINS, E. R. Germinação da Fava D'anta (*Dimorphandra mollis*) In: Seminário Mineiro de Plantas Medicinais, VII, 2001, Montes Claros. **Anais**. Montes Claros:2001.
- GRIFFITH, J. Q; KREWSON C. F; NAGHSKI, J. **Rutin and Related Flavonoids**. Mack Publishing Company, Easton, 1955.
- HORTO MEDICINAL. Fava-d'anta. Disponível em: http://www.hortomedicinal.hpg.ig.com.br/_private/plantas/favela.htm. Acesso em: 29/02/2004.
- IBGE. **Região do Cerrado** _ uma caracterização do desenvolvimento do espaço rural. Rio de Janeiro, 1979. 335 p.

- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000.
- MACEDO, E. A. S.; MENDES, A. D. R.; QUEIROZ, J. M. R.; MARTINS, E. R. Influência da época de colheita, procedimento de secagem e parte do fruto no teor de flavonóides em fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 7, n.1, p. 1-5, 2004.
- MACIEL, M. A. M., PINTO, A. C., e VEIGA JR, V. F. Plantas Mediciniais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n.3, mai. 2002.
- MADEIRA, F. A., G. D. C. FERREIRA, J.P.V. LEITE, MACHADO, A., ABREU, W. M. Inventário de espécies de *Dimorphandra* do cerrado mineiro utilizadas para a obtenção de rutina e otimização do seu processo produtivo In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, XVII, 2002, Cuiabá. **Resumos**. Cuiabá: 2002.
- MADEIRA, Fernando Antônio. Desenvolvimento de processo para obtenção de extrato de rutina. Projeto, 30 p.
- MARKHAM, K. R. **Techniques of Flavonoid Identification**. London: Academic Press Inc., 1982.
- MARTINS, E. R. *et al.* **Plantas Mediciniais**. Viçosa:UFV, Imprensa Universitária, 1994.220 p.
- MENDES, A. D. R.; MARTINS, E. R. Determinação do Modo de Reprodução de *Dimorphandra mollis* Benth.In: Seminário Mineiro de Plantas Mediciniais, VII, 2001, Montes Claros. **Anais**. Montes Claros:2001.
- MENDES, A. D. R; SANTOS, E. A. M.; MARTINS, E. R. Conservação da Fava D'anta do Norte de Minas (*Dimorphandra mollis* Benth.). IV – Influência do Sistema de Secagem e da Época de Coleta sobre o Teor de Flavonóides Totais em Frutos. In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, XVII, 2002, Cuiabá. **Resumos**. Cuiabá: 2002.
- MING, L. C. Coleta de plantas medicinais. In: DI STASI, L. C. (organizador). **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1996. P.67-86.
- OLIVEIRA, G. de. Desenvolvimento de Processo para Obtenção de Extrato de Rutina. Relatório Final de atividades de bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial BDT III. CETEC: Belo Horizonte, 2004.
- PEREIRA, O. A. **Substâncias farmacêuticas comerciais**. Rio de Janeiro: ABIQUIF, 1999.

- PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. **Cultivo e Processamento de Plantas Mediciniais**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 162 p.
- PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. *Tecnologia Farmacêutica*. 5ª ed. V. 1. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995.
- RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. **Botânica Econômica Brasileira**. 2 ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1995. P.93.
- ROBBERS, J. E., SPEEDIE, M. K., e TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotecnologia**. São Paulo: Editorial Premier, 1997.
- RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rotina na concentração de colesterol HDL. **Revista de Nutrição**, Campinas, vol. 16, nº 3, jul/set. 2003.
- SALES, I. Rutina. **Diário do Nordeste_Suplementos**, Fortaleza, 19 de julho de 1999. Disponível em: <http://diariodonordeste.globo.com/1999/07/19/050028.htm>. Acesso em: 28/03/2004.
- SANTOS, E. A. M.; QUEIROZ, J. M. R.; MARTINS, E. A. Conservação da Fava D'anta do Norte de Minas (*Dimorphandra mollis* Benth.).V - Variação no Teor de Flavonóides Totais em Duas Porções do Fruto. In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, XVII, 2002, Cuiabá. **Resumos**. Cuiabá: 2002.
- SANTOS, H. L. dos; FERREIRA, M. B.; D'ASSUMPCÃO, W. R. C.; GAVILANES, M. L.; COUTO, E. de S.; SANTOS, F. C. Espécies arbóreas responsáveis por intoxicação em bovinos _ I: *Dimorphandra mollis* Benth e *Dimorphandra wilsonii* Rizz. *Trabalhos do XXV Congresso Nacional de Botânica*, Rio de Janeiro, 573-585 – 1977. (Separata).
- SILVA, D. B. da, *et al.*. **Frutas do Cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 179 p.
- SILVA, D. B. da; SILVA, J. A. da; JUNQUEIRA, N. T. V; ANDRADE, L. R. M. de. **Frutas do Cerrado**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2001. 179 p.
- SILVA, J. A. da, *et al.* **Coleta de sementes, produção de mudas e plantio de espécies frutíferas nativas do Cerrado: informações exploratórias**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1992. 24 p. (EMBRAPA-CPAC. Documentos, 44).

- SILVA, M. F. da. **Flora Neotrópica**: *Dimorphandra* (Caesalpinaceae). New York: The New York Botanical Garden, 1986. 129 p.
- SIMÕES, C. M. O. (organizadora). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2000.
- SOLOMONS, I. W. G. **Química Orgânica 1**. Tradução de Horácio Macedo. 6ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 1996.
- SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento Tecnológico e Produção de Fitoterápicos. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira *et al.* (organizadora). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2000. P. 223-259.
- SOUZA, G. A. de; FERNANDES, L. A. ; MARTINS, E. R. Caracterização Ambiental da Fava D'anta. In: Seminário Mineiro de Plantas Mediciniais, VII, 2001, Montes Claros. **Anais**. Montes Claros:2001.
- SOUZA, G. A. de; SANTOS, E. A. M.; QUEIROZ, J. M. R.; MARTINS, E. R. Conservação da Fava D'anta do Norte de Minas (*Dimorphandra mollis* Benth.). Ecogeografia. In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, XVII, 2002, Cuiabá. **Resumos**. Cuiabá: 2002.
- VILEGAS, J. H. Y. Técnicas modernas de extração e de análise cromatográfica aplicada ao controle de qualidade de plantas medicinais brasileiras. In: Jornada Paulista de Plantas Mediciniais, III, 1997, Campinas. **Resumos**. Campinas:1997. 272 p. p. 20-22.
- ZUANAZZI, J. A. da S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. *et al* (organizadora). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 2000. P. 489-516.

9. ANEXOS

A seguir estão mapas com os pontos de localização de cada planta analisada, representada por uma árvore e um código ao lado, das regiões Norte, Sul, Leste e Oeste da área em estudada. As letras F e V ao lado de cada árvore significa Fava D'anta; a terceira letra que pode ser o N, S, L ou O significa Norte para o N, Sul para o S, Leste para o L e Oeste para o O; e o número representa o número da planta analisada.

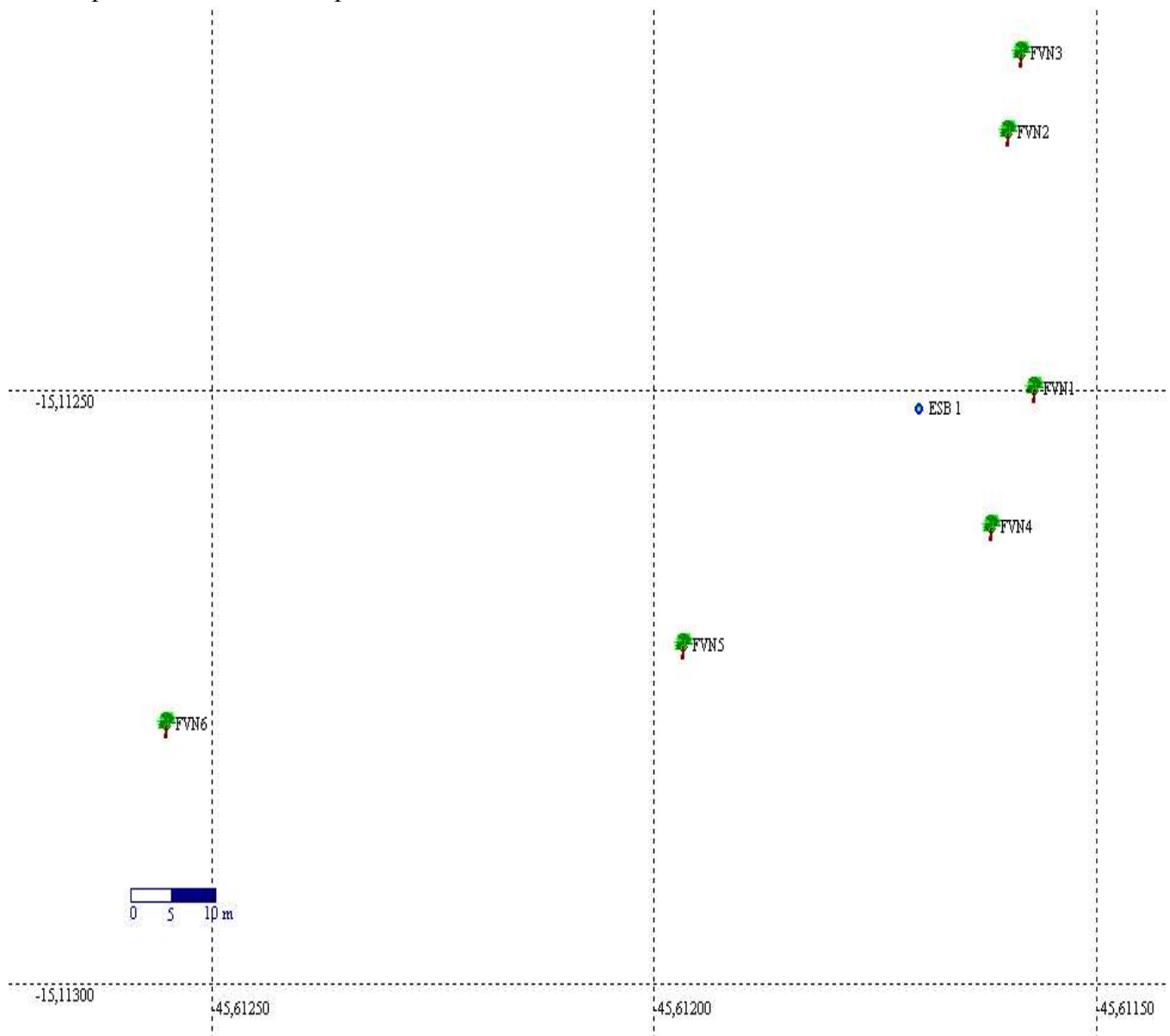


Figura 9.1. *Dimorphandra sp* na Subárea Norte.

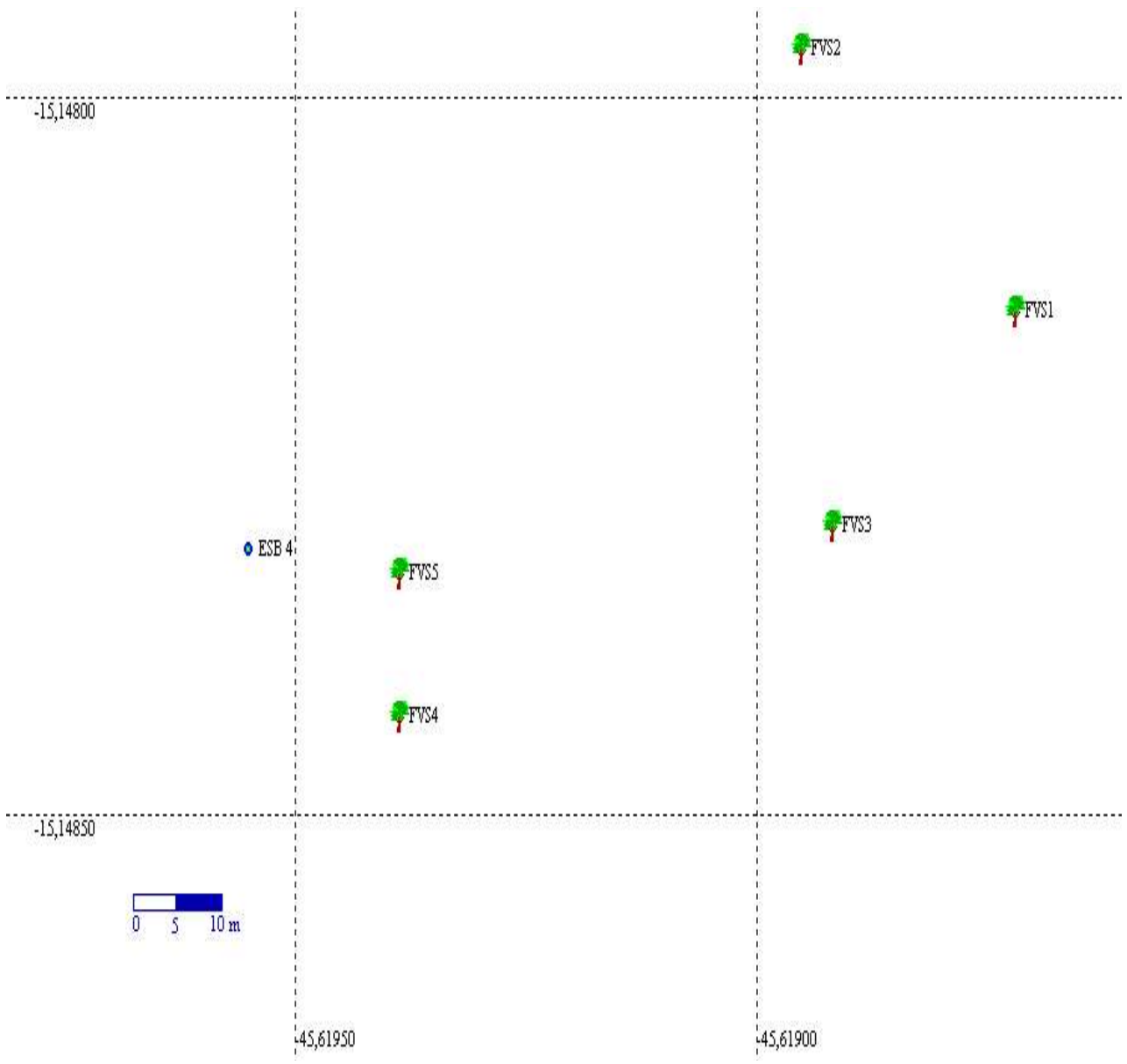


Figura 9.2. *Dimorphandra sp* na Subárea Sul.

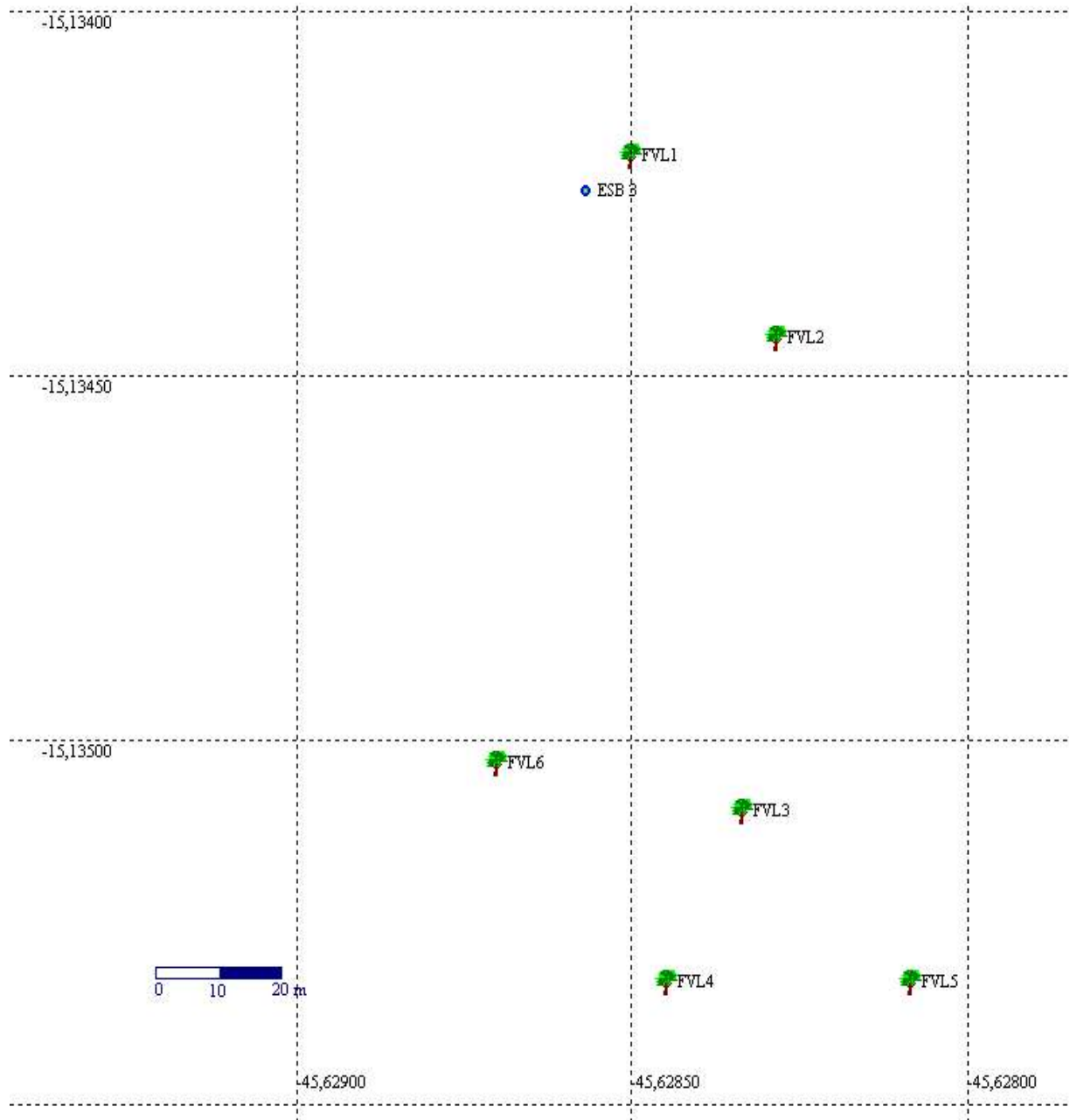


Figura 9.3. *Dimorphandra sp.* na Subárea Leste.

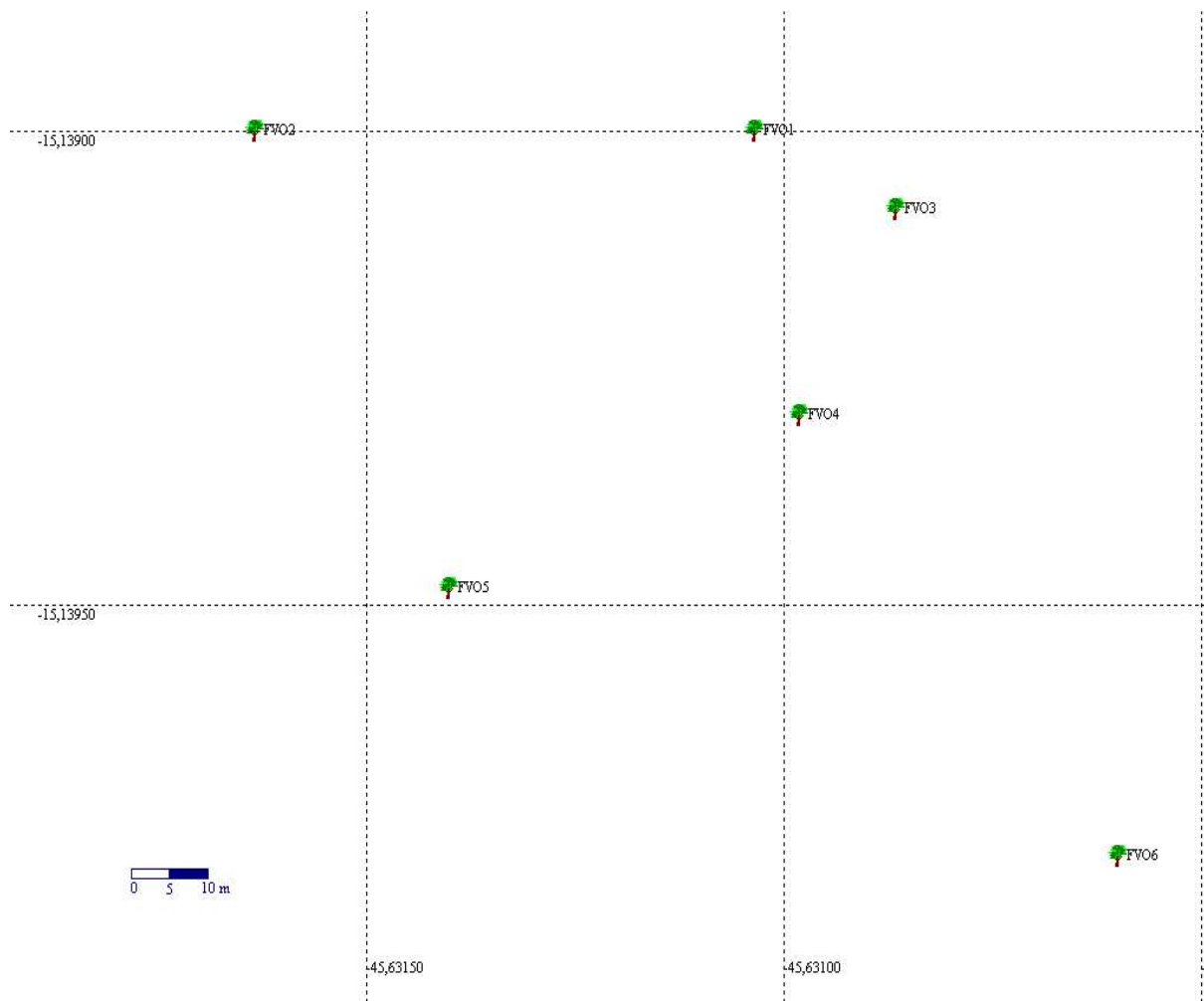


Figura 9.4. *Dimorphandra mollis* na Subárea Oeste.