

JOSIANE CORDEIRO DOS SANTOS

**PRODUÇÃO E QUALIDADE DO GUACO (*Mikania laevigata*
Schultz) CULTIVADO EM SISTEMA AGROECOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Agrárias concentração em Agroecologia do Instituto de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Ernane Ronie Martins

Montes Claros

2013

Santos, Josiane Cordeiro dos.
S237p Produção e qualidade do guaco (*Mikania laevigata* Schultz) cultivado
2013 em sistema agroecológico / Josiane Cordeiro dos Santos. Montes Claros,
MG: ICA/UFMG, 2013.

100 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia) Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.

Orientador: Prof. Ernane Ronie Martins.

Banca examinadora: Janini Tatiane Lima Souza Maia, Aretusa Daniela Resende Mendes, Anna Christina de Almeida, Lourdes Silva de Figueiredo, Ernane Ronie Martins.

Inclui bibliografia: f. 86-100.

1. Plantas medicinais - Qualidade. 2. Guaco - Cumarina. I. Martins, Ernane Ronie. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 633.88

JOSIANE CORDEIRO DOS SANTOS

PRODUÇÃO E QUALIDADE DO GUACO (*Mikania laevigata* Schultz)
CULTIVADO EM SISTEMA AGROECOLÓGICO

Janini Tatiane Lima Souza Maia
(Universidade Federal de Viçosa - UFV)

Aretusa Daniela Resende Mendes
(Universidade Federal de Lavras - UFLA)

Prof. ^a Anna Christina de Almeida
(ICA/UFMG)

Prof. ^a Lourdes Silva de Figueiredo
Coorientadora (ICA/UFMG)

Prof. Ernane Ronie Martins
Orientador (ICA/UFMG)

Aprovada em 18 de dezembro de 2012.

Montes Claros

2013

DEDICATÓRIA

À minha família!

AGRADECIMENTOS

A Deus, a presença, força e tudo o que tenho na vida.

À Virgem Maria, a intercessão constante.

A meus pais, José Luiz e Maria Ivanilde e a meus irmãos, Enio, Luciene e Wenderson, o amor e o apoio incondicional.

A meus sobrinhos, Enzo e Luara, os momentos de fofura e alegria.

A meus amigos, os momentos de descontração.

A meus colegas mestrandos, em especial aqueles com quem pude compartilhar momentos de amizade e solidariedade.

Ao professor Ernane Ronie Martins, a oportunidade, a orientação, a confiança e a significativa contribuição para a conclusão deste mestrado.

À professora Lourdes Silva de Figueiredo, o projeto, o apoio e a coorientação.

À professora Anna Christina de Almeida, a confiança, a liberdade e todos os esforços dedicados. Obrigada, principalmente, pela convivência com seus bolsistas e orientados, com os quais, graças a você, sempre tive o que aprender.

Ao professor Flaviano Oliveira e à professora Gevany Paulino, o apoio nas análises de qualidade química.

Ao professor Fernando Colen, as sugestões, os ensinamentos e o empenho.

A Julian, a Daniel e a Francine, a cooperação e o tempo que conseguiram dedicar a esta pesquisa.

Aos funcionários e bolsistas dos Laboratórios de Plantas Medicinais, Microbiologia Aplicada, Química e Biodigestão Anaeróbica do Instituto de Ciências Agrárias – ICA/UFMG, a disponibilidade.

Aos alunos do PET/SESU, principalmente àqueles que, de alguma forma, contribuíram com a realização desta pesquisa.

Aos funcionários, aos professores e aos alunos do Instituto de Ciências Agrárias/UFMG, o carinho e a convivência.

Ao Instituto de Ciências Agrárias - ICA/UFMG, os recursos disponibilizados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a bolsa (CAPES/REUNI) e a oportunidade de aprendizado.

À Fundação de Amparo a Pesquisa (FAPEMIG), o apoio financeiro.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para realização desta pesquisa.

Muito obrigada!!!

“A natureza é o único livro que oferece um conteúdo valioso em todas as suas folhas”. (Johann Goethe).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- w (bs) min.⁻¹ - Água evaporada, expressa em base seca, por minuto
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- Al - Alumínio
- APHA - American Public Health Association
- A_w - Atividade de água
- Ca - Cálcio
- (t) - Capacidade de troca de cátions efetiva
- (T) - Capacidade de troca de cátions potencial
- cmolc dm⁻³ - Centimol de carga por decímetro cúbico
- CV - Coeficiente de variação
- GC - Cromatógrafo a gás
- CG-DIC - Cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama
- dag kg⁻¹ - Decagrama por quilo
- P - Fósforo
- g - Grama
- °C - Grau Celsius
- H - Hidrogênio
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ICA/UFMG - Instituto de Ciências Agrárias/Universidade Federal de Minas Gerais
- Log - Logaritmo
- Mg - Magnésio
- m/v - Massa por volume
- Mat. org. - Matéria orgânica
- m - Metro
- m s⁻¹ - Metros por segundo
- μm - Micrometro
- mg g⁻¹ - Miligrama por grama
- mg L⁻¹ - Miligrama por litro
- mg kg⁻¹ - Miligrama por quilo

ml	-	Mililitro
ml min. ⁻¹	-	Mililitro por minuto
mm	-	Milímetro
mín.	-	Mínimo
MS	-	Ministério de Saúde
min.	-	Minuto
NMP g ⁻¹	-	Número mais provável por grama de amostra
W	-	Oeste
%	-	Porcentagem
K	-	Potássio
pH	-	Potencial hidrogeniônico
Kg m ⁻²	-	Quilograma por metro quadrado
RENAME	-	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
rpm	-	Rotações por minuto
(M%)	-	Saturação por Al
(V%)	-	Saturação por bases
SUS	-	Sistema Único de Saúde
(Sb)	-	Soma de bases
S	-	Sul
Temp. máx.	-	Temperatura máxima
Temp. méd.	-	Temperatura média
Temp. mín.	-	Temperatura mínima
Teste F	-	Teste de variância F (Fisher)
t ha ⁻¹	-	Toneladas por hectare
UV	-	Ultravioleta
UFC	-	Unidade formadora de colônia
UFC g ⁻¹	-	Unidade formadora de colônia por grama
p	-	Valor-p ou nível descritivo
Spp.	-	Várias espécies do gênero
v/v	-	Volume por volume

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

QUADRO 1 -	Alguns grupos de metabólitos secundários e potenciais bioativos.....	18
QUADRO 2 -	Exemplos de compostos bioativos isolados originalmente de plantas para síntese de medicamentos.....	20
QUADRO 3 -	Fitoterápicos financiados pelo Ministério da Saúde que constam na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME).....	22
QUADRO 4 -	Alguns microrganismos indicadores de qualidade em matéria-prima vegetal.....	28
QUADRO 5 -	Alguns métodos de processamento de plantas medicinais com capacidade de controle microbiano.....	31
FIGURA 1 -	<i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. ex Baker cultivada em sistema tutorado, em Montes Claros/MG.....	33
FIGURA 2 -	Estrutura química de cumarina simples (1,2 – benzopirona).....	34

CAPÍTULO 4 - SECAGEM DE FOLHAS E DETERMINAÇÃO DE CUMARINA EM *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker

FIGURA 1 -	Aspecto visual das folhas de guaco submetidas à secagem em Desidratador Pardal ® Modelo PGE60 profissional.....	81
GRÁFICO 1 -	Curva analítica obtida a partir das análises cromatográficas das soluções padrão de cumarina em álcool etílico absoluto: 20, 50, 100, 200, 300, 400 e 500 mg L ⁻¹	76
GRÁFICO 2 -	Curvas médias de secagem do guaco em função de quatro temperaturas em desidratador a gás PEG60, em Montes Claros/MG.....	77
GRÁFICO 3 -	Equações de regressão ajustadas e coeficientes de determinação para as curvas de secagem do guaco à temperatura de 50°C e de 70°C.....	78

GRÁFICO 4 - Equações de regressão ajustadas e coeficientes de determinação para as curvas de secagem do guaco à temperatura de 40°C e de 60°C.....	79
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

- 1 - Limites microbianos de tolerância para matéria-prima de origem vegetal (produtos não estéreis)..... 30

CAPITULO 2 - PRODUTIVIDADE DE *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker CULTIVADA EM SISTEMA DE PRODUÇÃO ORGÂNICO COM E SEM TUTORAMENTO

- 1 - Atributos do solo no cultivo experimental do guaco no Horto Medicinal do ICA/UFMG, Campus Regional de Montes Claros – MG..... 42
- 2 - Condições climáticas da área durante o período experimental..... 43
- 3 - Efeito do sistema de cultivo sobre a produtividade de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. Montes Claros, ICA / UFMG..... 45
- 4 - Produtividade e teor de cumarina de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker em função da parte planta e do sistema de cultivo. Montes Claros, ICA/UFMG..... 47

CAPITULO 3 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker CULTIVADA COM E SEM TUTORAMENTO E AÇÃO SANITIZANTE DE TRATAMENTOS TÉRMICOS E QUÍMICOS

- 1 - Qualidade microbiológica de folhas frescas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) cultivadas em sistema agroecológico com e sem tutoramento em Montes Claros/MG e limites microbianos de tolerância preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010)..... 59
- 2 - Carga microbiana de folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) submetidas à secagem natural..... 62
- 3 - Carga microbiana de folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) submetidas à secagem artificial a 50°C..... 63
- 4 - Carga microbiana de folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) submetidas a tratamentos químicos sanitizantes..... 64

CAPITULO 4 - SECAGEM DE FOLHAS E DETERMINAÇÃO DE CUMARINA EM *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker

- 1 - Variações do teor de água de folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) secas em desidratador a gás PEG60, em Montes Claros/MG..... 80

- 2 - Volume de gás consumido para o aquecimento do ar de secagem em desidratador a gás PEG60, nas diferentes temperaturas avaliadas para o guaco em Montes Claros/MG **82**
- 3 - Teor de cumarina determinada por CG-DIC no guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) processado por maceração alcoólica a quente em quatro temperaturas..... **83**

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO		
1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Potencial bioativo dos metabólitos secundários (especiais)	17
2.2	Qualidade em plantas medicinais.....	23
2.2.1	Qualidade microbiológica de plantas medicinais.....	26
2.3	<i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. ex Baker.....	32
2.4	Cumarinas.....	34
3	OBJETIVO GERAL.....	36
CAPITULO 2 - PRODUTIVIDADE de <i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. ex Baker CULTIVADA EM SISTEMA DE PRODUÇÃO ORGÂNICO COM E SEM TUTORAMENTO		
	RESUMO.....	37
	ABSTRACT.....	38
1	INTRODUÇÃO.....	39
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
2.1	Material vegetal.....	41
2.2	Produtividade de matéria fresca e seca.....	43
2.3	Determinação do teor de cumarina.....	44
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4	CONCLUSÃO.....	50
CAPITULO 3 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE <i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. ex Baker CULTIVADA COM E SEM TUTORAMENTO E AÇÃO SANITIZANTE DE TRATAMENTOS TÉRMICOS E QUÍMICOS		
	RESUMO.....	51
	ABSTRACT.....	52
1	INTRODUÇÃO.....	53
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	55

2.1	Material vegetal.....	55
2.2	Qualidade microbiológica do guaco.....	55
2.3	Qualidade microbiológica da água e do solo da área de cultivo.....	56
2.4	Ensaio de redução de carga microbiana.....	56
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4	CONCLUSÃO.....	67
<p>CAPITULO 4 - SECAGEM DE FOLHAS E DETERMINAÇÃO DE CUMARINA EM <i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. ex Baker</p>		
	RESUMO.....	68
	ABSTRACT.....	69
	INTRODUÇÃO.....	70
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	73
2.1	Material vegetal.....	73
2.2	Secagem.....	73
2.3	Determinação das condições ótimas de extração de cumarina.....	75
2.4	Condições cromatográficas para determinação de cumarina nos extratos.....	75
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
4	CONCLUSÃO.....	85
	REFERÊNCIAS	86

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker, é uma espécie medicinal brasileira reconhecida pela Farmacopeia Brasileira (2005), por sua ação broncodilatadora e expectorante, associada à presença de cumarina, marcador químico da espécie.

O marcador químico é um componente ou classe de compostos químicos (metabólitos especiais ou bioativos), presente na matéria-prima vegetal, com, preferencialmente, correlação com o efeito terapêutico, utilizado como referência no controle de qualidade (BRASIL, 2010). A qualidade é resultado da adoção de critérios que garantam pureza, estabilidade, eficácia, eficiência e segurança ao produto.

O controle de qualidade em todas as etapas do sistema produtivo é indispensável à sustentabilidade da cadeia produtiva. A concentração de metabólitos especiais (metabólitos secundários), responsáveis pelo potencial bioativo da matéria-prima vegetal, é dependente não só de determinação genética, mas também de fatores ambientais relacionados às condições de cultivo, de desenvolvimento, de coleta e de processamento (BERTOLUCCI; PINHEIRO, 2007; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MARTINS *et al.*, 1995).

Condições ótimas de produção com a seleção de técnicas apropriadas limitam a ocorrência de fatores de riscos associados ao uso de plantas e formulações fitoterápicas. Reações adversas podem estar relacionadas tanto a identificações errôneas, a adulterações, à toxicidade e à superdosagem quanto à má conservação e a contaminantes químicos e biológicos (SILVEIRA; BANDEIRA; ARRAIS, 2008). A validação científica deve estar subordinada à inocuidade do material botânico.

Matéria-prima com elevados níveis de qualidade estimula o crescimento do mercado, aumentando a renda de produtores. O mercado brasileiro de fitoterápicos movimentou cerca de R\$ 1,1 bilhão em 2011, registrando um aumento de 13% em relação ao ano anterior (SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2012). Esse desempenho demonstra a

viabilidade econômica do aproveitamento comercial da matéria-prima vegetal incentivando a produção sustentada de plantas medicinais.

No Brasil, a maior parte da população que se mantém com base na extração dos produtos florestais não madeireiros é constituída de colonos, de índios e de seringueiros (BALZON; SILVA; SANTOS, 2009). A produção agroeconômica de plantas medicinais e aromáticas tem privilegiado o sistema de produção orgânico, em pequenas propriedades com mão de obra familiar (VICENTE; MAIA; OLIVEIRA, 2008). A estruturação de sistemas agroecológicos de produção permite o desenvolvimento socioeconômico de comunidades rurais, favorecendo a valorização da agricultura familiar.

Montes Claros é um município localizado ao norte do estado de Minas Gerais na Bacia do Alto Médio São Francisco, a 16°44'06" de latitude sul e 43°51'43" de longitude oeste, com uma área de 3.576,76 km². O clima é do tipo tropical com invernos secos e amenos e verões chuvosos com altas temperaturas. A vegetação caracteriza-se por áreas de cerrado caducifólio, cerrado sub-caducifólio, com ligeiras ocorrências de cerrado superemifólio apresentando também trechos de caatinga hipogérifila. O solo predominante é de formação pré-cambriana antiga, com ocorrência de silito, ardósia, calcários, filitos, calcita, galena, minério de ferro, azotato de potássio, cristal de rocha e ouro de aluvião (SECRETARIA DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO – PREFEITURA MUNICIPAL DE MONTES CLAROS – MG, [20--?a]).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2010), a população montes-clarense em 2010 era de 338.381 habitantes, na zona urbana e 17.488, na zona rural. O município é subdividido em dez distritos, sendo eles: Aparecida do Mundo Novo, Ermidinha, Miralta, Canto do Engenho, Nova Esperança, Panorâmica, Santa Rosa de Lima, São João da Vereda, São Pedro de Garça e Vila Nova de Minas (SECRETARIA DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO – PREFEITURA MUNICIPAL DE MONTES CLAROS – MG, [20--?b]). Nessas áreas, a agricultura familiar possui importância cultural e econômica. A diversificação de atividades agrícolas com a inclusão do aproveitamento comercial de plantas medicinais pode gerar amplos benefícios a agricultores da região.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Potencial bioativo dos metabólitos secundários (especiais)

O potencial medicinal de espécies vegetais é determinado pela presença e pela concentração de metabólitos secundários (metabólitos especiais ou bioativos). Esses compostos são produtos de metabólitos primários, caracterizados por estrutura complexa e atividade biológica marcante, formados em rotas biossintéticas diversas, à custa de energia (SIMÕES *et al.*, 2004). Possuem variedade estrutural e diferentes propriedades físico-químicas, sendo os alcaloides, flavonoides, taninos e óleos essenciais algumas das principais classes (CARDOSO; SHAN; SOUZA, 2005).

Metabólitos secundários apresentam funções peculiares no organismo vegetal, principalmente no que se refere ao processo de adaptação ambiental. Muitos deles estão envolvidos na defesa contra herbívoros e competidores, na proteção contra radiação solar e na atração de polinizadores (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001; SIMÕES *et al.*, 2004). Essa diversidade funcional (QUADRO 1) tem permitido o aproveitamento da matéria-prima vegetal para a produção de fármacos, alelopáticos, inseticidas, herbicidas e outros.

QUADRO 1
Alguns grupos de metabólitos secundários e potenciais bioativos

Grupo metabólito	Características e potenciais bioativos
Alcaloides	Bases orgânicas nitrogenadas complexas com grande potencialidade tóxica. Apresentam possível relação com processos de regulação hormonal de crescimento vegetal ou proteção contra insetos e animais herbívoros. São estimuladores do sistema nervoso central, apresentando dependendo do tipo, ação analgésica, narcótica, cancerígena ou antitumoral.
Flavonoides	Polifenóis, heterosídeos, com função biológica em espécies vegetais, relacionada à atração de polinizadores e à proteção contra agentes nocivos como vírus e fungos. Apresentam propriedade anti-inflamatória, antiespasmódica, antialérgica e antimicrobiana.
Taninos	Substâncias químicas complexas, polifenólicas, ligadas a outros compostos aromáticos que atuam protegendo as plantas contra herbívoros e inibindo a germinação de sementes, bem como a ação de bactérias fixadoras de nitrogênio. São adstringentes e possuem atividade farmacológica variável, agindo, geralmente, como antisséptico, antimicrobiano, anti-hemorrágico, antidiarreico e cicatrizante.
Óleos essenciais	Mistura complexa de substâncias voláteis, constituída basicamente de fenilpropanoides, de monoterpenos (85%) e de sesquiterpenos (10-15%). Conferem proteção contra fitopatógenos e funcionam como agentes polinizadores. São empregados como aromatizantes e flavorizantes, possuindo propriedades antimicrobianas, carminativas, antissépticas e estimulantes do sistema nervoso central, relacionadas à concentração de compostos majoritários.
Saponinas	Heterosídeos com propriedade físico-química de saponificar substâncias lipossolúveis. Nos vegetais, induzem a germinação e a floração. Medicinalmente, apresentam atividade mucolítica, expectorante, diurética, antisséptica e laxativa. Podem provocar hemólise.

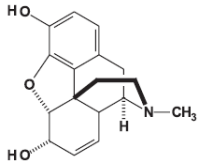
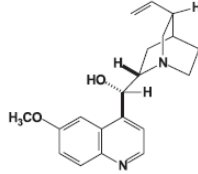
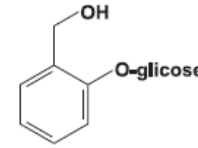
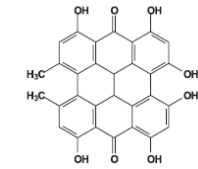
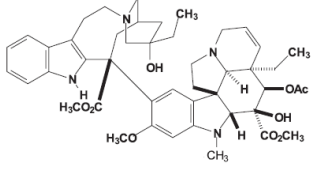
Fonte: CARDOSO; SHAN; SOUZA, 2005; LAMEIRA; PINTO, 2008.

O aproveitamento das propriedades farmacológicas e tóxicas de espécies vegetais é realizado pelo homem desde a antiguidade. O uso de misturas à base de plantas para o tratamento de enfermidades é citado em relatos históricos de diversas civilizações (PINTO *et al.*, 2002). Observações populares da eficácia medicinal das plantas têm contribuído e direcionado muitas pesquisas. Geralmente, essas espécies apresentam similaridade

fitoquímica e farmacológica com pelo menos alguma indicação medicinal popular relatada (FARNSWORTH, 1988 citado por VOEKS; LEONY, 2004).

Atualmente, muitos dos compostos responsáveis pela bioatividade de estão identificados, caracterizados e são manipulados industrialmente (QUADRO 2).

QUADRO 2
Exemplos de compostos bioativos isolados originalmente de plantas para síntese de medicamentos

Composto bioativo	Planta	Potencial
 <p>Morfina (Alcaloide opioide)</p>	<i>Papaver somniferum</i> L.	Analgésico Narcótico
 <p>Quinina (Alcaloide)</p>	<i>Cinchona</i> L.	Antimalárico
 <p>Salicina (Glicosídeo fenólico)</p>	<i>Salix alba</i> L.	Analgésico Antipirético Anti-inflamatório
 <p>Hipericina (Derivado da antraquinona)</p>	<i>Hypericum perforatum</i> L.	Antidepressivo
 <p>Vimblastina (Alcaloide)</p>	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don	Anticancerígeno

Fonte: VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006.

O reconhecimento do potencial das plantas medicinais tem favorecido a implementação de políticas públicas que garantam a inserção de fitoterápicos, medicamentos obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais (BRASIL, 2010), na assistência básica à saúde. No Brasil, o Ministério de Saúde (MS) tem promovido o acesso de medicamentos fitoterápicos, financiando 12 diferentes tipos, manipulados ou industrializados, para disponibilização no Sistema Único de Saúde (SUS). Esses medicamentos constam na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) (QUADRO 3).

QUADRO 3
 Fitoterápicos financiados pelo Ministério da Saúde que constam na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME)

Nome	Indicação/ação
Alcachofra <i>Cynara scolymus</i> L.	Tratamento dos sintomas de dispepsia funcional (síndrome do desconforto pós-prandial) e de hipercolesterolemia leve a moderada. Apresenta ação colagoga e colerética.
Aroeira <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Apresenta ação cicatrizante, anti-inflamatória e antisséptica tópica, para uso ginecológico.
Babosa <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.	Tratamento tópico de queimaduras de 1º e 2º graus e como coadjuvante nos casos de <i>Psoríase vulgaris</i> .
Cáscara-sagrada <i>Rhamnus purshiana</i> DC.	Coadjuvante nos casos de obstipação intestinal eventual.
Espinheira-santa <i>Maytenus officinalis</i> Mabb.	Coadjuvante no tratamento de gastrite, de úlcera gastroduodenal e de dispepsia.
Guaco <i>Mikania glomerata</i> Sprengel	Apresenta ação expectorante e broncodilatadora.
Garra-do-diabo <i>Harpagophytum procumbens</i>	Tratamento da dor lombar baixa aguda e como coadjuvante nos casos de osteoartrite. Apresenta ação anti-inflamatória.
Hortelã <i>Mentha × piperita</i> L.	Tratamento da síndrome do cólon irritável. Apresenta ação antiflatulenta e antiespasmódica.
Isoflavona-de-soja <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Coadjuvante no alívio dos sintomas do climatério.
Plantago <i>Plantago ovata</i> Forssk.	Coadjuvante nos casos de obstipação intestinal habitual. Tratamento da síndrome do cólon irritável.
Salgueiro <i>Salix alba</i> L.	Tratamento de dor lombar baixa aguda. Apresenta ação anti-inflamatória.
Unha-de-gato <i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.) DC.	Coadjuvante nos casos de artrites e osteoartrite. Apresenta ação anti-inflamatória e imunomoduladora.

Fonte: BRASIL, 2012.

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos prioriza o uso racional de espécies que tenham segurança, eficácia e qualidade garantida (BRASIL, 2006). Órgãos, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), controlam a produção e o registro de medicamentos fitoterápicos, acompanhando a sua comercialização e preconizando a adoção de boas práticas de manipulação para o controle de qualidade.

2.2 Qualidade em plantas medicinais

A validação científica do potencial farmacológico dos compostos bioativos tem incentivado o crescimento da demanda comercial e industrial por plantas medicinais. Esse mercado promissor tem exigido a adoção de medidas de controle que garantam qualidade, quantidade e regularidade de oferta (LOURENZANI; LOURENZANI; BATALHA, 2004).

No Brasil, embora sistemas agroflorestais ou de produção agrícola possam ser fontes apropriadas de matéria-prima, o comércio e a industrialização de muitas espécies medicinais são dependentes da atividade extrativista em remanescentes florestais (NEGRELLE; DONI, 2001). O extrativismo sustentado é muitas vezes necessário em casos de espécies arbóreas de ciclo de desenvolvimento longo ou mesmo adequado a espécies espontâneas com altas densidades populacionais, no entanto o sistema produtivo baseado na coleta de plantas selvagens nem sempre obtém matéria-prima com bom padrão de qualidade (MONTANARI JÚNIOR, 2002).

Na prática extrativista, não há controle das condições de crescimento e das fases de desenvolvimento do vegetal, o que favorece a variabilidade química no material e a falta de matéria-prima no mercado (MING *et al.*, 2003; MONTANARI JÚNIOR, 2002). A exploração de plantas medicinais a partir da flora nativa, seja pelo processo predatório de extração, seja pelo desconhecimento dos mecanismos de perpetuação de espécies, tem levado a reduções drásticas de populações naturais (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010; REIS; MARIOT, 2002). *Myracrodruon urundeuva*

Allemão, *Lychnophora ericoides* Mart. e *Pilocarpus trachylophus* Holmes são só algumas das espécies medicinais vulneráveis à extinção (BRASIL, 2008).

A aquisição de material botânico em áreas de vegetação nativa expõe o mercado de plantas medicinais ao risco de escassez de matéria-prima. O desenvolvimento de estratégias de conservação ambiental que permitam o fornecimento contínuo de recursos vegetais com elevado padrão de qualidade é imprescindível à sustentabilidade da cadeia produtiva. A domesticação e o cultivo são medidas alternativas de produção que limitam a perda de diversidade em remanescentes florestais, geram fontes mais produtivas e regulares de matéria-prima vegetal, minimizam a ocorrência de erros de identificação e adulterações e permitem maior reprodutibilidade e constância de qualidade no material (ARAGÃO, 2012).

A produção de matéria-prima homogênea de alta qualidade é dependente da seleção de indivíduos com potencial genético para a produção de compostos bioativos nas condições de cultivo (MONTANARI JÚNIOR, 2002). Compostos bioativos apresentam produção restrita a alguns gêneros, famílias, ou espécies distribuindo-se diferentemente entre grupos taxonômicos (GARCIA; CARRIL, 2009). As betacianidinas, por exemplo, em plantas, só ocorrem em 10 famílias pertencentes à ordem Caryophyllales (PERES, 2012). Já as cumarinas possuem ampla distribuição nas *Angiospermae*, sendo verificadas em 87 famílias (RIBEIRO; KAPLAN, 2002). *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker, espécies com similaridade morfofisiológica, denominadas popularmente de guaco, apresentam teores de cumarina (marcador químico) próximos, embora geralmente maiores em *Mikania laevigata* (BOLINA, GARCIA; DUARTE, 2009).

A formação de um ou de mais grupos químicos (bioativos) nas plantas, ainda que influenciada por condições ambientais, é determinada por fatores genéticos. O plano de manejo de produção deve considerar a espécie, a parte da planta utilizada, a época e o método de coleta apropriado. Compostos bioativos não estão uniformemente distribuídos pela planta; a sua produção ocorre tipicamente num órgão, tecido ou célula específica, ou mesmo em determinado estágio de desenvolvimento do vegetal (RAVEN;

EVERT; EICHHORN, 2001). Desde modo, *M. glomerata*, assim como outros vegetais, demonstra sensibilidade a variações relacionadas a períodos e a horários de coleta, parte e idade da planta (PEREIRA *et al.*, 2000). Folhas jovens de *Psidium guajava* L. são mais ricas em taninos que folhas maduras (adstringência por proteção), da mesma forma que folhas de *Datura stramonium* L. apresentam maior teor de alcaloides em tempo nublado e chuvoso (BERTOLUCCI; PINHEIRO, 2007).

A observação de características fisiológicas da espécie e de condições edafoclimáticas de desenvolvimento é extremamente importante para que haja produtividade e qualidade. As condições ambientais afetam a síntese de fitocompostos, tendo papel relevante na produtividade de espécies vegetais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Paulilo, Lapa e Falkenberg (2010) verificaram variações em resposta à intensidade de luz e ao tipo de solo em *Cordia curassavica* (Jacq.) Roem. & Schult. A produtividade de matéria vegetal e o rendimento de extratos foram maiores em solo adubado (solo distroférico com húmus de minhoca). A intensidade de luz, embora não tenha influenciado a produtividade da espécie, aumentou o rendimento de extratos. O aumento de níveis de esterco bovino (0,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 kg m⁻²) em *Plectranthus neochilus* Schlechter promove aumento linear na produção de biomassa e no rendimento (sem modificação de teor) de óleo essencial (ROSAL; PINTO; BRANT, 2009). *Aloysia triphylla* Royle, quando submetida a doses crescentes de esterco bovino curtido (0; 3; 6; 9 kg m⁻²), apresenta maior produtividade de massa e de óleo (BRANT *et al.*, 2010). A utilização de 12 kg m⁻² nessa espécie favorece somente o rendimento de massa seca, reduzindo a produção de óleo. Folhas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel apresentam maior teor de cumarina com a incorporação de 12 t ha⁻¹ de adubo orgânico (humus) no substrato de cultivo, havendo redução desse composto bioativo com doses maiores de adubação (FAVERO *et al.*, 2012).

Alterações na produtividade e na composição química estão relacionadas ao aporte nutricional fornecido às espécies. Técnicas de cultivo selecionadas para sistemas de produção de espécies medicinais devem promover o aumento de biomassa sem comprometer o valor terapêutico da

planta (CASTRO *et al.*, 2004). Apesar do rendimento de fármacos muitas vezes não acompanhar o de matéria vegetal, os nutrientes representam um papel determinante na síntese de compostos bioativos (FURTINI NETO; TOKURA, 2005). Mesmo porque, as plantas sintetizam compostos químicos a partir dos nutrientes da água, do solo e da luz que recebem (CARNEIRO, 1985; FERRO *et al.*, 2006; MING, 1998). No entanto a resposta ao estímulo é dependente de fatores genéticos, fisiológicos e fitotécnicos.

A seleção de cultivares produtivas, resistentes e com melhor qualidade, aliada a técnicas apropriadas de cultivo são fundamentais para a adoção de padrões de manejo específicos para sistemas de produção que visem à maior produtividade. Para que se possa cultivar plantas medicinais selvagens e fazer delas produtos agrícolas, é preciso entender o processo de produção e seguir recomendações específicas, que, geralmente, compreendem todo sistema produtivo e diversos fatores inerentes ao mesmo (MONTANARI JÚNIOR, 2002).

2.2.1 Qualidade microbiológica de plantas medicinais

Fatores ambientais podem influenciar a qualidade da matéria-prima vegetal, não apenas por interferirem na produção ou degradação de compostos bioativos, mas também por permitirem a contaminação por microrganismos (BUGNO, 2006). Espécies vegetais apresentam, assim como outros organismos, uma microbiota normal ou natural, que pode contribuir com o controle de fitopatógenos, de insetos-pragas e de herbívoros ou mesmo produzir substâncias ativas de interesse econômico (PEIXOTO NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002). No entanto condições ambientais adversas podem alterar esse equilíbrio, criando situações propícias ao desenvolvimento de organismos patógenos ou deterioradores, capazes de afetar a sanidade e a qualidade das plantas medicinais.

A utilização de adubos orgânicos mal processados e de água contaminada no cultivo ou mesmo a coleta, a manipulação e o armazenamento do material botânico em condições sanitárias inadequadas eleva a carga microbiana em plantas medicinais, expondo o consumidor a

inúmeros riscos (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010; COSTA *et al.*, 2009; FARIAS, 2001; GUERRA *et al.*, 2002; ZARONI *et al.*, 2004). A proliferação de microrganismos acelera a deterioração da matéria-prima vegetal, inativando compostos bioativos, promovendo intoxicações e disseminando doenças (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Análises de qualidade microbiológica em matéria-prima de origem vegetal geralmente envolvem a pesquisa de microrganismos, associados à má qualidade em plantas, como enterobactérias (bactérias gram-negativas bile tolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*), *Staphylococcus aureus*, fungos (filamentosos ou leveduras) e bactérias aeróbias mesófilas (QUADRO 4) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

QUADRO 4

Alguns microrganismos indicadores de qualidade em matéria-prima vegetal

Microrganismo	Caracterização
Bactérias gram-negativas bile tolerantes	(Coliformes 35 - 37°C). Bactérias gram-negativas tolerantes à bile, capazes de fermentar a lactose com produção de gás e, ou, ácido quando incubados a 35 – 37°C. Podem ser isolados na água, no solo, no material orgânico e no material fecal.
Coliformes termotolerantes	Coliformes capazes de fermentar a lactose a 44,5 – 45,5°C com produção de gás e, ou, ácido. A <i>Escherichia coli</i> é o principal representante dos coliformes termotolerantes, sendo utilizada como indicador de contaminação fecal em água e alimentos. Geralmente são inofensivas, mas há cepas patogênicas que produzem enterotoxinas.
<i>Salmonella spp.</i>	Bastonetes gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbicos facultativos e patogênicos (gastroenterite por Salmonella). Dentre os de maior importância para a saúde humana, destacam-se a <i>Salmonella entérica</i> sorotipo <i>Typhi</i> (<i>S. typhi</i>), que causa infecções sistêmicas e febre tifoide e a <i>Salmonella entérica</i> sorotipo <i>Typhimurium</i> (<i>S. typhimurium</i>), um dos agentes causadores das gastroenterites.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos e catalase positivos, isolados principalmente das vias nasais, da garganta e da pele de seres humanos e de animais. Podem estar presentes em vários produtos alimentícios sem promover alterações nos mesmos. O <i>S. aureus</i> é sensível ao calor, sendo destruído na pasteurização ou na cocção de alimentos. No entanto, a maioria das cepas produz uma enterotoxina termorresistente que pode levar a toxinfecção alimentar.
Aeróbios mesófilos	Presentes tanto sob a forma vegetativa ou esporulada são utilizados como indicador geral de populações bacterianas em alimentos, processos de limpeza e eficiência de tratamentos térmicos. Cargas microbianas elevadas indicam ausência de boas condições higiênico-sanitárias.
Fungos	Filamentosos: Fungos multicelulares que podem estar presentes no solo, no ar, na água e na matéria orgânica em decomposição. Gêneros como o <i>Aspergillus</i> e o <i>Penicillium</i> apresentam espécies micotoxigênicas. Leveduras: Fungos não filamentosos, normalmente disseminados por insetos vetores ou correntes aéreas. As cândidas, por exemplo, são leveduras que se multiplicam sexuadamente e assexuadamente por gemulação. <i>Candida albicans</i> é um microrganismo normal do trato gastrointestinal e regiões da pele e mucosas. Imunossupressão, debilidade orgânica, entre outros fatores podem tornar o fungo patogênico, resultando em graves infecções sistêmicas.

Fonte: BCQ, 2012; SILVA et al., 2007; SIQUEIRA, 1995; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005.

A presença de microrganismos patógenos ou deterioradores é fator determinante de qualidade, de eficácia e de segurança na utilização de plantas medicinais. A carga microbiana pode ser usada para avaliar a qualidade, uma vez que a eficácia é dependente do potencial bioativo e a segurança determinada pela toxicidade, ausência ou presença de patógenos ou suas toxinas, quantidade do inóculo e tempo de controle ou destruição desses agentes (CUNHA; SILVA, 2006). Esse monitoramento é indispensável ao controle de qualidade, mesmo porque cargas microbianas elevadas alteram a estabilidade da matéria-prima e a presença de alguns microrganismos, como enterobactérias, indica contaminação fecal.

Análises de qualidade microbiológica são preconizadas pela Farmacopeia Brasileira (2010), que determina valores tolerados de microrganismos presentes para a aceitação das drogas vegetais (TAB. 1), variando os mesmos, segundo o tratamento que possa reduzir a microbiota no material vegetal (SCHÜTZ; VELAZQUEZ; ABEGG, 2008).

TABELA 1
Limites microbianos de tolerância para matéria-prima de origem vegetal
(produtos não estéreis)

Matéria-prima	Mesófilos (UFC g ⁻¹)	Fungos (UFC g ⁻¹)	Pesquisa de patógenos
Preparação para uso oral contendo matéria-prima de origem natural	10 ⁴	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1 g, ou ml. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g, ou 10 ml. Limite máximo de 10 ² bactérias gram-negativas bile tolerantes ^b em 1 g, ou ml.
Drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a quente	10 ⁷	10 ⁴	Limite máximo de 10 ² <i>Escherichia coli</i> em 1 g. Limite máximo de 10 ⁴ bactérias gram-negativas bile tolerantes ^b em 1 g, ou ml. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g.
Drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a frio	10 ⁵	10 ³	Limite máximo de 10 ¹ <i>Escherichia coli</i> em 1 g. Limite máximo de 10 ³ bactérias gram-negativas bile tolerantes ^b em 1 g, ou ml. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g.
Extrato seco	10 ⁴	10 ³	Ausência de <i>Salmonella spp.</i> e <i>Escherichia coli</i> em 10 g.
Tintura e Extrato fluido	10 ⁴	10 ³	-----

Notas: 1- UFC g⁻¹ – Unidade formadora de colônia por grama de amostra; NMP g⁻¹ – Número mais provável por grama de amostra; (b) – Coliformes (35 – 37°C) e outras enterobactérias. 2- Os limites descritos são interpretados da seguinte forma: 10¹ UFC: valor máximo aceitável = 20, 10² UFC: valor máximo aceitável = 200 e 10³ UFC: valor máximo aceitável = 2000 e, assim, sucessivamente.

Fonte: FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010.

Limites microbianos devem ser adequados às várias categorias de produtos que reflitam o tipo de contaminação mais provável introduzida durante a fabricação, bem como a via de administração, o consumidor final (neonatos, crianças, idosos, debilitados) e outros fatores (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Há determinadas condições de manipulação ou processamento que interferem na carga de microrganismos, justificando as

variações nos limites microbianos considerados seguros para que haja qualidade (QUADRO 5).

QUADRO 5
Alguns métodos de processamento de plantas medicinais com capacidade de controle microbiano

Método	Caracterização do processo
Secagem	Procedimento de conservação de baixo custo que promove estabilização do crescimento microbiano por redução da atividade de água (A_w). Nesse processo, o ar quente remove a água e outros líquidos da matéria-prima vegetal, diminuindo a atividade de água, (A_w), variável que interfere no metabolismo de bactérias (A_w ótima 0,91), leveduras (A_w ótima 0,88) e fungos (A_w ótima 0,80).
Preparo de tinturas e extratos secos	Preparados com o auxílio de reagentes orgânicos com potencial sanitizante, tal como o álcool, largamente utilizado no processamento de plantas medicinais. O mecanismo de ação do álcool é a desnaturação de proteínas e a destruição de membranas, agindo contra bactérias e fungos, sendo, no entanto, pouco eficaz contra endósporos.
Preparo de xaropes, decóctos ou infusos	Ocorrem em temperaturas elevadas, reduzindo significativamente a carga microbiana por desnaturação de proteínas, destruição de ácidos nucleicos e estruturas celulares. Tratamentos físicos com calor úmido (infusão, decocção ou digestão) são bem efetivos, contudo a resistência ao calor varia entre diferentes microrganismos, sendo a carga microbiana inicial determinante no controle microbiano. A eficácia do método geralmente depende da temperatura, do tempo de exposição e da resistência do microrganismo e do material submetido ao tratamento.

Fonte: Adaptado de Celestino (2010) e Tortora; Funke; Case (2005).

A observação das propriedades físico-químicas dos compostos bioativos e do método usual de consumo do insumo vegetal é fundamental à seleção de técnicas de controle microbiano. A metodologia adotada deve alterar, ao mínimo possível, as características da matéria-prima vegetal. Espécies vegetais com compostos bioativos sensíveis a temperaturas elevadas ou cujo consumo é realizado *in natura*, sob a forma de sucos e sumos, por exemplo, podem ser tratadas com sanitizantes químicos (naturais ou industrializados). Nesses casos, processos, como a secagem, promovem alterações químicas e físicas nas características do produto que minimizam ou mesmo anulam alguns atributos da matéria-prima vegetal.

A estabilidade de produtos com potencial farmacológico é vulnerável a variações de temperatura, de pH, de umidade, de luz, de compostos químicos e a características inerentes a substâncias ativas (BRASIL, 2011). Sendo assim, a aplicação de tratamentos sanitizantes também deve sofrer ação de medidas de controle. Sanitizantes devem ser eficazes, de fácil enxague e seguros do ponto de vista toxicológico (ADAMI; DUTRA, 2011). O risco de contaminação química também deve ser considerado no sistema produtivo.

Enfim, o controle de variáveis que interferem na produção e na estabilidade da matéria-prima permite a otimização do enorme potencial dos compostos bioativos. A determinação de condições ótimas de cultivo, de processamento e de conservação do material botânico é essencial ao aproveitamento comercial e à utilização segura das plantas. As condições ideais de produção dependerão da espécie medicinal e do composto bioativo de referência.

2.3 *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker

O guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker, é uma liana medicinal pertencente à família *Asteraceae* (Compositae), caracterizada por caule cilíndrico, estriado longitudinalmente, com nós evidentes e folhas opostas, ovais ou semioblongas, glabras de consistência coriácea (OLIVEIRA *et al.*, 1986). Apresenta flores hermafroditas, carnosas esbranquiçadas, dispostas em inflorescência, com capítulos reunidos em glomérulos e aquênio pentangular (CZELUSNIAK *et al.*, 2012).

Subarbusto nativo da região sul do Brasil, ocorre naturalmente em áreas de mata com sombreamento parcial, adaptado a climas úmidos, solos ácidos e ricos em matéria orgânica (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2011). *M. laevigata* pode ser propagada por sementes ou por estaquia, cultivada com sistema de condução/sustentação, tutorado por espaldeiras (FIG.1).



FIGURA 1 - *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivada em sistema tutorado, em Montes Claros/MG
Fonte: Da autora.

A espécie apresenta como constituintes químicos principais: cumarinas, ácido cinamoilgrandiflórico, ácidos entkaur-16-eno-19-óico e namoilgrandiflórico, estigmast-22-em-3-ol, compostos sesquiterpênicos e diterpênicos, estigmasterol, flavonoides, resinas, taninos, saponinas, guacosídeos, cineol, borneol, eugenol e esteróis (LAMEIRA; PINTO, 2008).

Na literatura científica, *M. laevigata* é referenciada pela atividade anti-inflamatória (OLIVEIRA *et al.*, 1985; SUYENAGA *et al.*, 2002), antimicrobiana (DUARTE *et al.*, 2004), alelopática (BARATTO *et al.*, 2008), antimutagênica (FERNANDES; VARGAS, 2003) e antiulcerogênica (BIGHETTI *et al.*, 2005). Em algumas regiões do país, é utilizada como antiofídico ou antiescorpiônico, sendo também associada a acidentes hemorrágicos (antagonista da vitamina K), em caso de uso prolongado (LAMEIRA; PINTO, 2008). A Farmacopeia Brasileira (2005) reconhece *M. laevigata*, por sua ação broncodilatadora e expectorante, associada à presença de cumarina.

2.4 Cumarinas

Cumarinas são lactonas do ácido o- hidroxicinâmico, heterosídeos de diversas formas estruturais e funcionais (FERRO *et al.*, 2006). Esses compostos estão presentes em diferentes partes das plantas tanto nas raízes como nas flores e frutos, estando distribuídos em diferentes famílias de *Angiospermae*, em que, dentre os mesmos, a cumarina simples (FIG. 2) é de produção preferencial (RIBEIRO; KAPLAN, 2002).

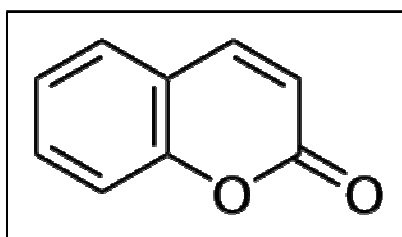


FIGURA 2 - Estrutura química de cumarina simples (1,2 – benzopirona)
Fonte: SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, [20--?].

A maioria das cumarinas é derivada da via do ácido chiquímico, mas algumas delas são originadas de uma via mista, ácido chiquímico e acetato (LUCETTI, 2010). Na via do ácido chiquímico, esse se une ao fosfoenolpiruvato, dando origem ao corismato, precursor da fenilalanina, aminoácido, que, por ação da fenilalanina-amônio-liase (PAL), forma o ácido

cinâmico, o qual, após hidroxilação orto da cadeia lateral, via ação enzimática da trans-cinamato-4-hidroxilase, origina o ácido o-cumárico, que, por o-glicosilação, isomerização cis/trans e lactonização, forma a cumarina (CZELUSNIAK *et al.*, 2012).

O teor de cumarina nas plantas é dependente das condições ambientais de cultivo, do processo de secagem e do armazenamento, bem como do processo extrativo (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2011). A biogênese de cumarinas pode ser induzida por estresse biótico e abiótico, por deficiência nutricional, por mensageiros químicos, como os hormônios vegetais e por outros metabólitos externos, respondendo, geralmente, à radiação ultravioleta (essencial a lactonização), ao calor e à abrasão mecânica (danos ao tecido), durante o processamento (CABELLO-HURTADO *et al.*, 1998; DEWICK, 2002; SANTOS, 2005; SIMÕES *et al.*, 2004).

Dentre as propriedades farmacológicas das cumarinas, destaca-se a ação antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória, antiespasmódica, antitumoral e antioxidante (MIRANDA, 2009). As cumarinas têm sido valorizadas pela indústria farmacêutica, com a produção de medicamentos com ação anticoagulante e anti-inflamatória (Venalot ®, Angiolot ®, Hemolivre ®, Varicoss ®, Flebotrat ® e Flenus - *Melilotus officinalis* L. ®), bem como expectorante e broncodilatadora (Aglix ®, Apiguaco ®, Guacolin ® e outros - *Mikania glomerata* Sprengel). Na indústria cosmética e de produtos de limpeza, têm sido utilizadas em lavandas, em perfumes, em aditivos de tintas e de borrachas para mascarar o odor e como estabilizador de sabor e, ou, odor de tabacos (GARRET, 2012; MIRANDA, 2009).

3 OBJETIVO GERAL

Avaliar a produção e a qualidade do guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) cultivado em sistema agroecológico, em Montes Claros/MG.

CAPITULO 2 - PRODUTIVIDADE de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker CULTIVADA EM SISTEMA DE PRODUÇÃO ORGÂNICO COM E SEM TUTORAMENTO

RESUMO

O guaco é uma liana medicinal com ação expectorante, associada à presença de cumarina. O teor de cumarina é influenciado por diversos fatores de produção. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a influência do sistema de cultivo sobre a produtividade e o teor de cumarina da espécie *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. O experimento foi conduzido na área experimental do Horto Medicinal no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Regional de Montes Claros (ICA/UFMG). As técnicas de cultivo avaliadas foram o plantio com e sem tutoramento. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, no esquema de parcelas subdivididas com 12 repetições. As parcelas foram constituídas pelos dois sistemas de cultivo (com e sem tutoramento) e as subparcelas, pelas partes da planta (caule e folha). A colheita das plantas foi realizada 15 meses após o plantio. A produtividade foi avaliada a partir da produção de matéria fresca e seca e teor de cumarina. O sistema de cultivo tutorado e o sem tutoramento produziram, respectivamente, 4,85 e 0,89 toneladas de matéria seca total por hectare de área cultivada. Os teores de cumarina, determinada por cromatografia em fase gasosa, para os dois tratamentos testados, foram superiores ao mínimo preconizado pela Farmacopeia Brasileira. Folhas de guaco coletadas no cultivo com tutoramento apresentaram maior teor de cumarina.

Palavras-chave: Planta medicinal. Guaco. Cumarina. Matéria seca.

CHAPTER 2 - PRODUCTIVITY OF *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker CULTIVATED IN ORGANIC PRODUCTION SYSTEM WITH AND WITHOUT STAKING

ABSTRACT

Guaco is a medicinal liana with expectorant action associated with the presence of coumarin. The content of coumarin is influenced by several factors of production. The aim of this study was to evaluate the influence of cultivation system on productivity and coumarin content of the species *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. The experiment was conducted in the experimental area of Medicinal Garden at the Institute of Agricultural Sciences of the Universidade Federal de Minas Gerais, Regional Campus of Montes Claros (ICA / UFMG). The cultivation techniques evaluated were the planting with and without staking. The experimental design was a randomized blocks in the scheme split-plot with 12 replications. The plots were constituted by the two cultivation systems (with and without staking) and the subplots by parts of the plant (stem and leaf). The plant harvesting was performed 15 months after planting. Productivity was assessed from the production of fresh and dry matter and coumarin content. The staked cultivation system and the without staking produced, respectively, 4.85 and 0.89 tons of total dry matter per hectare of cultivated area. The contents of coumarin, determined by phase gas chromatography for the two tested treatments were upper than the minimum recommended by the Brazilian Pharmacopoeia. Leaves of guaco collected in cultivation with staking presented higher contents of coumarin.

Keywords: Medicinal plant. Guaco. Coumarin. Dry matter.

1 INTRODUÇÃO

Propriedades farmacológicas de espécies vegetais são dependentes de características físico-químicas da matéria-prima, determinadas por condições genéticas e ambientais (BERTOLUCCI; PINHEIRO, 2007; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MARTINS *et al.*, 1995). O manejo do sistema de cultivo requer a análise de fatores físicos, químicos e biológicos, para a determinação de condições ótimas de produção que permitam maior formação de biomassa e compostos bioativos.

Mikania laevigata Schultz Bip. ex Baker é designada, popularmente, de guaco, guaco-de-casa e guaco-do-mato. Subarbusto escandente de ramos abundantes (BUDEL *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 1986), possui ação expectorante e broncodilatadora, associada à presença de cumarina, marcador químico da espécie (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2005). Típica de regiões de clima subtropical quente úmido, é adaptada a condições ambientais caracterizadas por ausência de deficiência hídrica e solos ácidos (pH 5 a 5,5) argilo-arenosos ou argilosos, com elevado teor de matéria orgânica (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2011).

A cadeia produtiva do guaco, assim como de outras plantas medicinais, ainda é dependente do extrativismo em remanescentes florestais (NEGRELLE; DONI, 2001; COLODI *et al.*, 2008). Apesar do custo superior de implantação, o sistema de produção do guaco cultivado apresenta lucro 44,2 vezes maior que o sistema extrativista (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2011). Além disso, o cultivo permite a seleção de indivíduos produtivos e resistentes a condições ambientais adversas, garantindo o fornecimento contínuo de matéria-prima vegetal de qualidade, sem afetar o equilíbrio de áreas de vegetação nativa (MONTANARI JÚNIOR, 2002).

A produção agrícola do guaco é realizada convencionalmente em sistema tutorado por espaldeiras, necessitando de estudos que envolvam o aperfeiçoamento de técnicas alternativas de cultivo. O sistema de sustentação/condução influencia a produtividade de espécies vegetais (MARTINS *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 1997; WANSER *et al.*, 2007). A arquitetura do dossel afeta a incidência luminosa, interferindo na biossíntese

de compostos (COSTA, 2010). A cumarina, assim como outras substâncias ativas (metabólitos secundários), apresenta teor dependente das condições ambientais de desenvolvimento.

Mikania laevigata é uma opção agrícola promissora (MONTANARI JÚNIOR, 2002), de cultivo acessível ao pequeno produtor, demandada pelo mercado brasileiro de fitoterápicos. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a produtividade do guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker, cultivado em sistema de produção orgânico com e sem tutoramento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

O experimento foi conduzido na área experimental do Horto Medicinal no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), Campus Regional de Montes Claros - MG (16°44'02"S, 43°51'23"W, na altitude de 630 m) entre dezembro de 2010 e março de 2012. As técnicas de cultivo avaliadas foram o plantio com e sem tutoramento. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial de parcelas subdivididas, com doze repetições. As parcelas foram constituídas pelos dois sistemas de cultivo (com e sem tutoramento) e as subparcelas, pelas partes da planta (caule e folha).

O guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) foi propagado por estaquia em leito de enraizamento com umidade controlada e o plantio, realizado com espaçamento 1,50 m x 1,00 m em covas, contendo mistura de 250 g de fosfato reativo e 500 g de esterco bovino curtido. O cultivo foi realizado a pleno sol, com irrigação por microaspersão e controle de plantas espontâneas por capina manual ou com o auxílio de roçadeira.

Para o tutoramento das plantas, foram utilizados postes de eucalipto tratado com dois fios de arame ovalado, sendo realizadas amarrações periódicas dos ramos nos arames.

Os atributos do solo (TAB. 1) e as condições climáticas durante o período da pesquisa (TAB. 2) foram considerados para o manejo dos sistemas de cultivo e para a análise dos dados.

TABELA 1
Atributos do solo no cultivo experimental do guaco no Horto Medicinal do
ICA/UFMG, Campus Regional de Montes Claros – MG

Atributos do solo	Área do cultivo com tutoramento	Área do cultivo sem tutoramento
pH em água	7,1	8,4
P Mehlich (mg kg ⁻¹)	3,51	2,93
P remanescente (mg L ⁻¹)	40,59	28,22
K (mg kg ⁻¹)	93	69
Ca (cmolc dm ⁻³)	7,60	9,60
Mg (cmolc dm ⁻³)	2,80	3,90
Al (cmolc dm ⁻³)	0,00	0,00
H + Al (cmolc dm ⁻³)	0,85	0,68
Sb (cmolc dm ⁻³)	10,64	13,68
t (cmolc dm ⁻³)	0,00	0,00
M (%)	0,85	0,68
T (cmolc dm ⁻³)	11,49	14,36
V (%)	93	95
Mat. org. (dag kg ⁻¹)	2,93	3,08
Carbono orgânico	1,70	1,79
Areia grossa (dag kg ⁻¹)	11,20	12,40
Areia fina (dag kg ⁻¹)	16,80	27,60
Silte (dag kg ⁻¹)	40	36
Argila (dag kg ⁻¹)	32	24

Notas: 1- Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos do ICA/UFMG, em amostras coletadas da camada superficial do solo até a profundidade de 20 cm. 2- (Sb): soma de bases; (t): capacidade de troca de cátions efetiva; (M%): saturação por Al; (T): capacidade de troca de cátions potencial; (V%): saturação por bases; (Mat. org.): matéria orgânica.

Fonte: Da autora.

TABELA 2
Condições climáticas da área durante o período experimental

Ano	Mês	Temp. med. (°C)	Temp. máx. (°C)	Temp. mín. (°C)	Precipitação (mm)	
2010	Dezembro	23,46	34	16,20	281,81	
	Janeiro	23,12	32,06	15,8	148,70	
	Fevereiro	24,08	32,80	17,20	8,90	
	Março	23,61	33,70	16,70	1,77	
	Abril	22,95	33,20	15,20	0,00	
2011	Maio	20,73	32	10,40	15,97	
	Junho	20,37	32,30	10,40	1,50	
	Julho	19,81	31,50	8,40	0,50	
	Agosto	21,92	34,90	9,40	0,25	
	Setembro	22,63	36,70	9,20	0,00	
	Outubro	23,53	35,80	14,60	124,02	
	Novembro	22,69	34,10	11,90	267,99	
	Dezembro	23,33	32,30	17,20	585,72	
	2012	Janeiro	22,75	33,90	16,60	204,80
		Fevereiro	24,63	35,10	16,60	1,27
Março		23,91	35,50	15,40	55,61	

Nota: (Temp. média): temperatura média; (Tem. Máx.): temperatura máxima; (Temp. mín.): temperatura mínima.

Fonte: Estação meteorológica localizada no ICA/UFMG - Grupo GEMISA. http://www.ica.ufmg.br/gemisa/index.php?option=com_content&view=article&id=22&Itemid=29

2.2 Produtividade de matéria fresca e seca

O primeiro corte do guaco foi realizado 15 meses após o plantio. O material coletado foi pesado para a determinação das variáveis: matéria fresca total (MFT), matéria fresca das folhas (MFF), matéria fresca do caule (MFC), produtividade em t ha⁻¹ de matéria fresca total (PFH) e produtividade em t ha⁻¹ de matéria fresca das folhas (PFF).

Na determinação de matéria seca total (MST), de matéria seca das folhas (MSF), de matéria seca do caule (MSC), de produtividade em t ha⁻¹ de matéria seca total (PSH) e de produtividade em t ha⁻¹ de matéria seca das folhas (PFS), a matéria-prima vegetal foi submetida à secagem, em estufa de circulação forçada a 50 °C, até a obtenção de massa constante.

As variáveis avaliadas foram submetidas à análise de variância (teste F p<0,05), com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.1 (FERREIRA, 2008).

2.3 Determinação do teor de cumarina

O teor de cumarina foi determinado em amostras de folhas e em caules de guaco coletados nos dois sistemas de cultivo. A matéria-prima vegetal seca foi pulverizada em moinho de facas e o produto obtido, submetido à digestão alcoólica a 40°C por duas horas. Nesse processo, adaptado de Bueno e Bastos (2009), 0,5 g do pó seco da planta foi adicionado a 20 ml de álcool etílico absoluto (99,95%), sendo submetido a aquecimento em banho-maria a 40°C por duas horas. Em seguida, a mistura foi mantida sob agitação em *shaker* a 120 rpm por duas horas e a solução obtida foi filtrada e centrifugada a 4.000 rpm por 20 minutos. O extrato vegetal foi transferido para *vial* de dois ml para análise.

As análises cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Química do ICA/UFMG, em cromatógrafo a gás da *Agilent Technologies* (GC 7820A), equipado com detector de ionização em chama (CG-DIC) e coluna capilar HP-5 (*Agilent Technologies*) com fase estacionária 5% fenil e 95% metilpolisiloxano (30 m comprimento x 0,32 mm diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme). O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio (99,996% de pureza) à taxa de 1,8 ml min⁻¹ e *make up* de 5 ml min⁻¹.

A quantificação de cumarina nas amostras foi realizada nas condições cromatográficas descritas por Bueno e Bastos (2009), utilizando-se dados de curva analítica obtida por análise de soluções padrão de cumarina (99,5% de pureza).

Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância (Teste F p<0,05), com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.1 (FERREIRA, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições experimentais, houve variação significativa entre os sistemas de cultivo avaliados (TAB. 3). A produtividade total de matéria seca de *M. laevigata* foi influenciada pelas técnicas adotadas, havendo redução média de 82% no cultivo sem tutoramento.

TABELA 3
Efeito do sistema de cultivo sobre a produtividade de *Mikania laevigata*
Schultz Bip. ex Baker. Montes Claros, ICA / UFMG

Produtividade do guaco			
Variáveis	Cultivo com tutoramento	Cultivo sem tutoramento	Coefficiente de variação (%)
MFF (kg)	6,68 A	1,05 B	43,81
MFC (kg)	4,82 A	1,03 B	45,48
MFT (kg)	11,51 A	2,09 B	40,15
MST (kg)	2,72 A	0,49 B	43,00
PFH (t ha ⁻¹)	20,56 A	3,73 B	40,15
PFF (t ha ⁻¹)	11,99 A	1,89 B	43,81
PFC (t h ⁻¹)	8,62 A	1,84 B	45,48
MSF (kg)	1,45 A	0,23 B	45,07
MSC (kg)	1,23 A	0,26 B	51,36
PSH (t ha ⁻¹)	4,85 A	0,89 B	43,00
PFS (t ha ⁻¹)	2,59 A	0,44 B	45,07
PCS (t ha ⁻¹)	2,21 A	0,46 B	51,36

Notas: 1- Médias seguidas pela mesma letra na linha não se diferem entre si pelo Teste F p<0,05. 2- (MFF): matéria fresca das folhas; (MFC): matéria fresca do caule; (MFT): matéria fresca total; (MST): matéria seca total; (PFH): produtividade de matéria fresca total; (PFF): produtividade de matéria fresca das folhas; (PFC): produtividade de matéria fresca do caule; (MSF): matéria seca das folhas; (MSC): matéria seca do caule; (PSH): produtividade de matéria seca total; (PFS): produtividade de matéria seca das folhas; (PCS): produtividade de matéria seca do caule.

Fonte: Da autora.

Os sistemas de cultivo com e sem tutoramento produziram, respectivamente, 20,568 e 3,732 t ha⁻¹ de matéria fresca total. A porcentagem de redução de massa total não diferiu significativamente (Teste F p<0,05) entre os dois sistemas de cultivo, apresentando média de 76,38%, que corrobora os valores apresentados por Lima *et al.* (2003). Foram

produzidas 4,858 t ha⁻¹ de matéria seca total no cultivo com tutoramento e 0,890 t ha⁻¹ de matéria seca total na área cultivada sem tutoramento.

Resultados observados por Corrêa Júnior, Ming e Scheffer (1994) e Castro e Chemale (1995), citados por Lima *et al.* (2003), descrevem rendimento de 1,6-2,5 t ha⁻¹ de planta seca. A produtividade de matéria seca de *M. laevigata* no cultivo tutorado foi superior ao referenciado na literatura. O cultivo a pleno sol e as correções no solo, aliados à irrigação em períodos de baixa disponibilidade hídrica, contribuiram para o aumento da produtividade de matéria seca. No entanto, no cultivo do guaco sem tutoramento, a ausência de condução/sustentação limitou a produtividade.

Lima *et al.* (2003), em colheita de *M. laevigata*, 17 meses após o plantio, utilizando espaçamento 2 x1 m, sem a adição de adubação e irrigação, estimaram a obtenção de 2,5 t ha⁻¹ de massa seca total. Corrêa Júnior *et al.* (2011), mesmo com a adição de insumos, sem referência ao uso de irrigação, observaram valores de produtividade de matéria seca total inferiores em cultivos realizados em área com tutoramento a pleno sol (1,650 t ha⁻¹) ou em fragmento florestal (0,1 t ha⁻¹). A produtividade de matéria seca total do guaco (t ha⁻¹), sem tutoramento (TAB.3), nesta pesquisa, apresentou valor estimado próximo ao observado no quinto ano de cultivo conduzido no fragmento florestal (0,8 t ha⁻¹). O cultivo sem tutoramento foi realizado a pleno sol, sendo relevante considerar a interferência do sombreamento na produtividade de matéria seca do guaco no fragmento florestal. Segundo Castro *et al.* (2006) e Bertolucci (2009), o sombreamento interfere na produtividade de *M. laevigata*, diferentemente quando considerada a estação do ano. Nesse caso, ambos os cultivos, com e sem tutoramento, foram conduzidos a pleno sol, ressaltando-se a influência do sistema de condução na produtividade da espécie.

A produção de cumarina também respondeu ao sistema de condução/sustentação das plantas. Embora as médias observadas para os dois tratamentos avaliados estejam acima do teor de cumarina preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2005) para a espécie (mín. 0,1%), o guaco mostrou-se mais produtivo nas condições de cultivo com tutoramento (TAB. 4).

TABELA 4

Produtividade e teor de cumarina de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker em função da parte planta e do sistema de cultivo. Montes Claros, ICA/UFMG

Variáveis	Parte da planta	Cultivo com tutoramento	Cultivo sem tutoramento
Produtividade de matéria fresca (t ha ⁻¹)	Caule	8,62 A a	1,84 B a
	Folha	11,99 A b	1,89 B a
Produtividade de matéria seca (t ha ⁻¹)	Caule	2,21 A a	0,46 B a
	Folha	2,59 A a	0,44 B a
Teor de cumarina (%)	Caule	0,22 A a	0,12 B a
	Folha	0,41 A b	0,13 B a

Notas: 1- Média das determinações em g de cumarina por 100 g de amostra. 2- Para cada sistema de cultivo, médias de produtividade de matéria fresca (t ha⁻¹), de produtividade de matéria seca (t ha⁻¹) e de teor de cumarina (%) seguidas de mesma letra, maiúscula nas linhas, não se diferem entre si pelo Teste F p<0,05. 3- Para cada parte da planta, médias de produtividade de matéria fresca (t ha⁻¹), de produtividade de matéria seca (t ha⁻¹) e de teor de cumarina (%) seguidas de mesma letra, minúscula nas colunas, não se diferem entre si pelo Teste F p<0,05.

Fonte: Da autora.

Geralmente, o cultivo de lianas exige um sistema de condução, para a obtenção de bons resultados de produção (TOFANELLI; REZENDE, 2011). O tutoramento limita o contato das plantas com o solo, aumentando a ventilação e proporcionando melhor distribuição de radiação ao longo do cultivo, propiciando melhorias nas condições fisiológicas das mesmas (WANSER *et al.*, 2009). O teor de cumarina, especialmente, apresenta alterações significativas com relação às variações na intensidade de luz (CZELUSNIAK *et al.*, 2012).

A biossíntese de cumarina é estimulada pela radiação ultravioleta (UV), o que justifica maior produção pela espécie em meses de dias longos, de maior fotoperíodo (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2011). Bertolucci (2009), ao avaliar teores de cumarina em folhas de *M. laevigata* cultivadas com tutoramento em pleno sol, verificou maiores valores no verão (0,37%). Radünz (2004) observou teores de cumarina de 0,275% e 0,473% nos meses de abril e maio, respectivamente. A colheita de *M. laevigata*, nesta pesquisa, foi realizada no mês de março de 2012 e a produção média de cumarina nas folhas de guaco foi de 0,412% no cultivo com tutoramento e de 0,138% no cultivo sem tutoramento (TAB.4).

Não houve efeito de blocos nas variáveis avaliadas, nem interação significativa entre parcelas e subparcelas consideradas para a variável produtividade de matéria seca ($p < 0,05$). A partir dos valores obtidos na análise de variância (Teste F $p < 0,05$), para os dados de produtividade de matéria fresca e de teor de cumarina (TAB.4), verificou-se diferença significativa para a interação sistema de cultivo (parcelas) *versus* parte da planta (subparcelas). Verifica-se também que, com o desdobramento dessa interação, há diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para o sistema de cultivo, em relação à parte da planta. A análise para as médias de parte da planta dentro do sistema de cultivo constatou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) apenas no sistema de cultivo com tutoramento. No sistema de cultivo sem tutoramento, não há diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre a produtividade de matéria fresca, a produtividade de matéria seca e o teor de cumarina do caule e das folhas de guaco.

No guaco cultivado com tutoramento, a produtividade de matéria fresca das folhas e do caule apresentou diferença estatística significativa, sendo a produtividade das folhas superior, bem como o aporte de luz sobre as mesmas. A luz é um fator determinante de produtividade, dependente da porcentagem de absorção e da eficiência de utilização da energia absorvida (ARGENTA; SILVA; SANGOI, 2001). Provavelmente, a menor densidade foliar no cultivo sem tutoramento interferiu na eficiência produtiva do guaco.

Mesmo apresentando menor produtividade, o teor de cumarina observado nas amostras de caule colhidas no sistema sem tutoramento corrobora valores de *M. glomerata*, cultivada com tutoramento, apresentados por Pereira *et al.* (2000), $1,05 \text{ mg g}^{-1}$ de matéria seca. No sistema com tutoramento, nesta pesquisa (TAB.4), esse rendimento foi superior. *M. laevigata* preserva maior teor de cumarina no material seco, quando comparado à espécie *M. glomerata*, mantendo o odor característico de cumarina depois da secagem (BERTOLUCCI, 2009). Logo, a seleção da espécie e o manejo do sistema de cultivo são essenciais ao rendimento produtivo de plantas medicinais.

Nesta pesquisa, não foi observada diferença estatística entre a produtividade de matéria seca de folhas e caule para ambos os sistemas de

cultivo (TAB. 4). A diferença referente à produtividade de matéria fresca entre caule e folhas foi anulada com a secagem. A porcentagem de massa perdida para as folhas e caule foi de 77,98% e 74,76%, respectivamente.

Apesar da separação e da seleção das folhas reduzirem até 67% do peso final da matéria-prima vegetal para a comercialização, o produtor que comercializa apenas as folhas obtém preço 233,3% superior ao preço obtido pelo guaco misto com ramos e folhas (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2011). O caule do guaco apresentou teor de cumarina superior ao mínimo estabelecido pela farmacopeia, o que justifica a sua utilização comercial e industrial. Produtores familiares que geralmente dispõem de mão de obra podem comercializar caules e folhas separadamente, sem ignorar as preferências de mercado.

4 CONCLUSÃO

O cultivo do guaco tutorado permite maior produtividade e teor de cumarina.

**CAPITULO 3 - QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *Mikania laevigata*
Schultz Bip. ex Baker CULTIVADA COM E SEM TUTORAMENTO E AÇÃO
SANITIZANTE DE TRATAMENTOS TÉRMICOS E QUÍMICOS**

RESUMO

O guaco é uma espécie medicinal brasileira amplamente utilizada no tratamento de problemas respiratórios. O controle de qualidade microbiológica é essencial à segurança e à eficácia de plantas medicinais. Assim, os objetivos desta pesquisa foram avaliar a qualidade microbiológica do guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker, cultivado em sistema agroecológico com e sem tutoramento, bem como verificar a ação de tratamentos térmicos e químicos sanitizantes no controle de qualidade. O diagnóstico microbiológico foi realizado a partir da pesquisa de microrganismos mesófilos aeróbios totais, fungos (filamentosos e leveduras), coliformes (35 – 37°C), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* nas folhas frescas do guaco cultivado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 12 repetições. Os tratamentos de redução de carga microbiana avaliados foram: higienização com imersão em água estéril, imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio 200 mg. L⁻¹, imersão em tintura e extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, imersão em extrato aquoso de *Lippia origanoides* Kunth, secagem natural à temperatura ambiente, secagem artificial a 50 °C, infusão, digestão e, ou, cocção. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições no tempo por tratamento. A eficácia dos tratamentos foi verificada pela análise de redução de microrganismos mesófilos, de coliformes (35 – 37°C) e de fungos (filamentosos e leveduras). Não foi constatada a presença de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* no material vegetal avaliado. Não houve diferença estatística significativa entre as cargas microbianas das folhas coletadas nos sistemas de cultivo com e sem tutoramento. Os tratamentos sanitizantes com calor úmido (infusão, digestão e, ou, cocção), hipoclorito de sódio e tintura de *Stryphnodendron adstringens* são os mais eficazes no controle microbiano.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Guaco. Contaminação microbiológica. Qualidade.

**CHAPTER 3 - MICROBIOLOGICAL QUALITY OF *Mikania laevigata*
Schultz Bip. ex Baker CULTIVATED WITH AND WITHOUT STAKING, AND
SANITIZER ACTION OF THERMICAL AND CHEMICALS TREATMENTS**

ABSTRACT

Guaco is a Brazilian medicinal species widely used in the treatment of respiratory problems. The microbiological quality control is essential to the safety and efficacy of medicinal plants. Thus, the objectives of this study were to evaluate the microbiological quality of the guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker, cultivated in agroecologic system with and without staking as well as checking the action of thermal treatments and chemical sanitizers in quality control. The microbiological diagnosis was performed from the research of total mesophilic aerobic microorganisms, fungi (filamentous and yeasts), coliforms (35 – 37°C), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* in fresh leaves of the cultivated guaco. The experimental design was completely randomized with two treatments and 12 replications. The reducing treatments of microbial load evaluated were: washing with immersion in sterile water, immersion in aqueous solution of sodium hypochlorite 200 mg. L⁻¹, immersion in tincture and aqueous extract of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, immersion in aqueous extract of *Lippia origanoides* Kunth, natural drying at room temperature, artificial drying at 50°C, infusion, digestion and, or, cooking. The experimental design was completely randomized with four replications in time per treatment. The effectiveness of the treatments was verified by analysis of reduction of mesophilic microorganisms, coliforms (35 – 37°C) and fungi (filamentous and yeast). It was not found presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* in the vegetal material evaluated. There was no statistic significant difference between the microbial loads of the leaves collected in the cultivation systems with and without staking. The sanitizer treatments with moist heat (infusion, digestion and, or, cooking), sodium hypochlorite and *Stryphnodendron adstringens* tincture are the most effective in microbial control.

Keywords: Medicinal plants. Guaco. Microbiological contamination. Quality.

1 INTRODUÇÃO

O mercado brasileiro de fitoterápicos movimentou cerca de R\$ 1,1 bilhão em 2011, registrando um aumento de 13% em relação ao ano anterior (SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2012). O fortalecimento da cadeia produtiva requer a realização de pesquisas que propiciem a produção de matéria-prima com elevados níveis de qualidade, agregando valor ao produto e gerando renda a produtores.

Parâmetros microbiológicos de qualidade são indispensáveis à segurança e à eficácia funcional de plantas medicinais e, ou, seus derivados. Nessas espécies, a presença de microrganismos está relacionada à microbiota natural, às condições de cultivo ou ao processamento (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010; COSTA *et al.*, 2009; FARIAS, 2001; GUERRA *et al.*, 2002; ZARONI *et al.*, 2004). Medidas de controle devem envolver cuidados e ações que desfavoreçam o crescimento microbiano. A proliferação de microrganismos acelera a deterioração da matéria-prima vegetal, inativando princípios ativos, promovendo intoxicações e disseminando doenças (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige a elaboração de relatórios de controle de qualidade para o registro de medicamentos fitoterápicos, preconizando a pesquisa de contaminantes microbiológicos, bem como a análise da eficácia de métodos utilizados, quando necessários, na descontaminação (BRASIL, 2010). O controle de qualidade analisa todos os insumos que participam do processo produtivo e o produto acabado (MEDEIROS *et al.*, 2007). A adoção de técnicas de cultivo e o processamento que permitam a manutenção da carga microbiana em níveis aceitáveis e seguros para comercialização e consumo são essenciais à adequação e à padronização da matéria-prima vegetal.

A Farmacopeia Brasileira (2010) admite a presença limitada de carga microbiana que não comprometa a qualidade final ou a segurança do consumidor (produto não estéril), determinando valores tolerados de microrganismos e variando os mesmos, segundo o tratamento que possa

reduzir a microbiota na matéria-prima vegetal (MEDEIROS *et al.*, 2007; SCHÜTZ; VELAZQUEZ; ABEGG, 2008). O número e os tipos de microrganismos presentes devem ser considerados no contexto do uso do produto proposto (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Matéria-prima de origem vegetal que será submetida a processos extrativos a quente, por exemplo, pode conter até 20000 UFC g⁻¹ de fungos. Desde que não haja condições favoráveis de reprodução e desenvolvimento, microrganismos, dormentes ou em estado latente de sobrevivência, não se multiplicarão durante a vida útil de prateleira (PENNA; MACHOSHVILI, 2007).

A aplicação de tratamentos com potencial sanitizante pode ser uma alternativa eficaz ao controle da qualidade microbiológica de matérias-primas vegetais, uma vez que limita o crescimento microbiano e minimiza as chances de contaminação, prolongando a vida útil do produto. A efetividade do método de controle microbiano, químico ou físico dependerá da carga inicial de microrganismos, de características microbianas, do tempo de exposição e de influências ambientais, como a presença de matéria orgânica que, geralmente, inibe o potencial de antimicrobianos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

O guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker, é uma espécie brasileira com atividades expectorante, broncodilatadora, antimicrobiana (DUARTE *et al.* 2004), anti-inflamatória (OLIVEIRA *et al.* 1985; SUYENAGA *et al.*, 2002) e antiulcerogênica (BIGHETTI *et al.*, 2005). Com potencial medicinal reconhecido oficialmente pela Farmacopeia Brasileira (2005) e consideráveis perspectivas de produção no norte de Minas Gerais, requer a realização de estudos que priorizem o controle de qualidade no manejo do sistema produtivo.

Assim, os objetivos desta pesquisa foram avaliar a qualidade microbiológica do guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) cultivado em sistema agroecológico com e sem tutoramento, bem como verificar a ação de tratamentos térmicos e químicos sanitizantes no controle de qualidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

O guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) foi propagado por estaquia em leito de enraizamento com umidade controlada e o plantio, foi realizado com espaçamento 1,50 m x 1,00 m em covas contendo mistura de 250 g de fosfato reativo e 500 g de esterco bovino curtido, a partir de dezembro de 2010.

O cultivo foi realizado a pleno sol, em sistema agroecológico com e sem tutoramento, na área experimental do Horto Medicinal no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), Campus Regional de Montes Claros - MG (16°44'02"S, 43°51'23"W, na altitude de 630 m).

Para o tutoramento das plantas, foram utilizados postes de eucalipto tratado com dois fios de arame ovalado, sendo realizadas amarrações periódicas dos ramos nos arames.

A irrigação foi realizada por microaspersão e o controle da vegetação espontânea, por capina manual ou com o auxílio de roçadeira.

2.2 Qualidade microbiológica do guaco

Para o diagnóstico microbiológico, foram realizadas quatro coletas entre os meses de janeiro e abril de 2012. Nesse período, foram coletadas, aleatoriamente e em condições assépticas, doze amostras de 50 g de folhas de guaco, em cada sistema de cultivo (com e sem tutoramento), para a análise no Laboratório de Microbiologia Aplicada do ICA/UFMG.

As análises microbiológicas foram realizadas no material fresco e consistiram na pesquisa de microrganismos mesófilos aeróbios totais, fungos (filamentosos e leveduras), coliformes (35 – 37°C), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*. Os procedimentos de análise foram conduzidos conforme metodologia preconizada pela American Public Health Association (APHA, 2001).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 12 repetições. Os dados obtidos foram expressos em log e submetidos à análise de variância (Teste F $p < 0,05$), com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.1 (FERREIRA, 2008). As médias de microrganismos detectadas também foram avaliadas a partir de comparação com limites de tolerância preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010) para matéria-prima de origem vegetal.

2.3 Qualidade microbiológica da água e do solo na área de cultivo

Foram coletadas amostras de água de três microaspersores por sistema de cultivo, distribuídos aleatoriamente, na área. Os microaspersores foram avaliados para verificação de contaminação pela técnica do esfregão de superfície, com o auxílio de swabs estéreis (APHA, 2001).

As amostras de água e o líquido (diluyente) de coleta dos swabs foram submetidos a ensaios de quantificação de coliformes (35 – 37°C) e *Staphylococcus aureus*, assim como ensaios de presença/ausência de *Escherichia coli*, e *Salmonella* spp. , conforme metodologia preconizada pela APHA (2001). A quantificação de coliformes (35 – 37°C) e a presença/ausência de *Escherichia coli* nas amostras de água foram realizadas, utilizando-se série de cinco tubos para cada diluição com caldo de cultura em concentração dupla (APHA, 2001). Os resultados obtidos foram expressos em NMP 100 ml⁻¹ de água.

Amostras de solo de quatro pontos da área foram coletadas de cada sistema de cultivo e submetidas à análise de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. A homogeneização das amostras, o preparo das diluições e a análise foram realizados conforme metodologia proposta para avaliação de qualidade microbiológica do guaco.

2.4 Ensaio de redução de carga microbiana

Os tratamentos foram realizados com folhas de guaco cultivado com tutoramento coletadas em maio de 2012. Os ensaios foram realizados em

delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, no tempo por tratamento. Folhas frescas foram utilizadas como controle (testemunha) para a verificação de redução de carga microbiana nas soluções extrativas e no material submetido à secagem ou banho de imersão. A eficácia dos tratamentos foi avaliada por contagem de microrganismos mesófilos, coliformes (35 – 37°C) e fungos (filamentosos e leveduras), segundo metodologia já citada.

Os dados obtidos foram expressos em log, avaliados por análise de redução de ciclos logaritmos e, ou, submetidos ao teste de Dunnet ($p < 0,01$), com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.1 (FERREIRA, 2008).

Os ensaios da redução de carga microbiana foram divididos em dois grupos: tratamentos térmicos, químicos e de higienização. Os tratamentos térmicos foram: 1) secagem natural: secagem de folhas frescas de guaco em recipiente vedado com plástico filme perfurado à sombra em temperatura ambiente até a obtenção de massa constante; 2) secagem artificial: secagem de folhas frescas de guaco em estufa de circulação de ar forçada na temperatura de 50°C até a obtenção de massa constante; 3) infuso de guaco 60°C: solução extrativa (infuso 10% m/v) obtida pela imersão das folhas em água estéril aquecida a 60°C e 4) digestão e, ou, cocção: soluções extrativas (10% m/v) obtidas por maceração das folhas em água estéril nas temperaturas de 50°C, 60°C e 70°C em banho-maria por 60 minutos. Os tratamentos químicos e de higienização foram: 1) banho de imersão com hipoclorito de sódio 2%: imersão de folhas frescas de guaco em solução aquosa de hipoclorito de sódio 200 mg L⁻¹ por 20 minutos; 2) banho de imersão com extrato aquoso de *Lippia origanoides* Kunth (10% m/v): imersão de folhas frescas de guaco em extrato aquoso de folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth, alecrim-pimenta, produzido por digestão a 60°C por 60 minutos; 3) banho de imersão com extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (10% m/v): imersão de folhas frescas de guaco em extrato aquoso de cascas secas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, barbatimão, produzido por digestão a 60°C por 60 minutos; 4) banho de imersão com tintura de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (20% m/v): imersão de folhas frescas de guaco em tintura, diluída em água (25%

v/v), de cascas secas de barbatimão produzida por maceração estática, a temperatura ambiente, em solução hidroalcoólica (80% v/v) por 10 dias e 5) higienização com imersão em água estéril: imersão de folhas frescas de guaco em água estéril por 20 minutos.

Os extratos vegetais utilizados nos banhos de imersão foram submetidos à análise microbiológica, com contagem de microrganismos mesófilos, coliformes (35 – 37°C) e fungos (filamentosos e leveduras) para a verificação de esterilidade, conforme metodologia de pesquisa de microrganismos citada anteriormente.

A eficácia dos tratamentos químicos e de higienização também foi verificada por determinação do teor de cumarina. Para a quantificação de cumarina, as amostras desse grupo de tratamentos foram submetidas à secagem a 50°C, em estufa de circulação forçada. A matéria-prima vegetal seca foi pulverizada em moinho de facas e o produto obtido, submetido à digestão alcoólica a 40°C por duas horas. Nesse processo, adaptado de Bueno e Bastos (2009), 0,5 g do pó seco da planta foi adicionado a 20 ml de álcool etílico absoluto (99,95%), sendo submetido a aquecimento em banho-maria a 40°C por duas horas. Em seguida, a mistura foi mantida sob agitação em *shaker* a 120 rpm por duas horas e a solução obtida foi filtrada e centrifugada a 4.000 rpm por 20 minutos. O teor de cumarina foi determinado em extrato etanólico de guaco 2,5% utilizando cromatografia gasosa de alta resolução com detector por ionização em chama (CG - DIC), nas condições cromatográficas descritas por Bueno e Bastos (2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições experimentais avaliadas, não houve diferença estatística entre os sistemas de cultivo (com e sem tutoramento), em relação à qualidade microbiológica (TAB. 1).

TABELA 1
Qualidade microbiológica de folhas frescas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) cultivadas em sistema agroecológico com e sem tutoramento em Montes Claros/MG e limites microbianos de tolerância preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010)

Microrganismos	Carga microbiana do guaco (Log)		Limites microbianos de tolerância convertidos em Log		
	CT ^{NS}	ST ^{NS}	M1	M2	M3
Mesófilos UFC g ⁻¹	3,52	3,62	4,0	7,0	5,00
Fungos UFC g ⁻¹	1,37	1,56	2,0	4,0	3,00
Coliformes (35 - 37°C) NMP g ⁻¹	0,80	0,94	2,0	4,0	3,00
<i>Salmonella</i> spp.	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	2,0 g ⁻¹	2,0 g ⁻¹
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0

Notas: 1 – Matéria-prima coletada entre os meses de janeiro e abril de 2012. 2- ^{NS} Médias de microrganismos, nas linhas, sem diferença estatística significativa pelo Teste F p<0.05. 3- (Log): logaritmo; (UFC g⁻¹): unidade formadora de colônia por grama de amostra; (NMP g⁻¹): número mais provável por grama de amostra; (CT): guaco cultivado com tutoramento; (ST): guaco cultivado sem tutoramento; (M1): preparação para uso oral contendo matéria-prima de origem natural; (M2): drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a quente; (M3): drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a frio.

Fonte: Da autora e Farmacopeia Brasileira (2010).

Os resultados observados nesta pesquisa corroboram os valores verificados por Marcondes e Esmerino (2010) que, avaliando a qualidade de plantas medicinais em cultivos domésticos, observaram variações entre 2,79 a 5,36 log UFC g⁻¹ de microrganismos aeróbios mesófilos. Zaroni *et al.* (2004), trabalhando com plantas medicinais obtidas de regiões produtoras no estado do Paraná, observaram variações de cinco a seis log UFC g⁻¹ desses microrganismos em 45,83% das amostras. No mesmo estudo, foram

relatadas cargas de seis log UFC g⁻¹ de fungos em 36,11% do material analisado. Barbosa *et al.* (2010) observaram carga de fungos superiores a cinco log. UFC g⁻¹ em 72,3% das plantas comercializadas em mercados populares na cidade de Montes Claros/MG, sendo a média de fungos detectados nos cultivos de guaco com e sem tutoramento bem inferior.

No período considerado para a análise de qualidade, as amostras de folhas frescas de guaco analisadas apresentaram média de microrganismos mesófilos aeróbios totais, fungos (filamentosos e leveduras), coliformes (35 - 37°C), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* dentro do limite tolerado pela Farmacopeia Brasileira para matéria-prima de origem vegetal, em ambos os sistemas de cultivo do guaco (TAB. 1).

Nenhum dos patógenos foi detectado na água, nos microaspersores ou no material vegetal dos sistemas de cultivo. No entanto, nas amostras de solo analisadas, foi detectada a presença de *Escherichia coli* (3,6 NMP g⁻¹) e *Salmonella* spp.

A utilização de adubos orgânicos tem sido amplamente associada a contaminações microbianas ocorridas em sistemas de cultivo (BARBOSA *et al.*, 2010; SANTANA *et al.*, 2006; ZARONI *et al.*, 2004). A produção de adubos orgânicos, a partir de esterco animais, pode favorecer a presença de coliformes e salmonelas no solo adubado. Esses microrganismos possuem como habitat natural o trato intestinal de aves e mamíferos, sendo, portanto considerados microrganismos indicadores de contaminação fecal (HOFFMANN, 2001; RODRIGUES *et al.*, 2011a; SOUZA; SILVA; SOUSA, 2005). A incorporação de esterco mal curtidos pode ser uma fonte importante de contaminação microbiológica, tanto para os produtos provenientes do sistema orgânico como daqueles oriundos do sistema convencional (DAROLT, 2003).

O processamento adequado garante a estabilização e a redução da carga microbiana de esterco utilizados na prática de adubação (SEDIYAMA *et al.* 2008). Abreu *et al.* (2010) não detectaram a presença de microrganismos patógenos no solo e nos diferentes adubos orgânicos utilizados no cultivo de alface (*Lactuca sativa* L.), constatando inadequações apenas na água utilizada na irrigação. Arbos *et al.* (2010) observaram

padrões variáveis de contaminação microbiológica em hortaliças orgânicas cultivadas por produtores com certificação em Curitiba-PR.

A contaminação depende direta e indiretamente das práticas de manejo adotadas, o que pode justificar a ausência nas folhas de patógenos presentes no solo da área de cultivo. A colheita do guaco geralmente é realizada 16 meses após o plantio (LIMA *et al.*, 2003). Esse período favorece a estabilização do adubo orgânico adicionado ao solo, reduzindo a carga de microrganismos a níveis insuficientes para a contaminação do guaco por patógenos. O sistema de cultivo tutorado limita o contato das plantas com o solo e melhora a distribuição de radiação, propiciando melhorias nas condições fisiológicas das mesmas (WANSER *et al.*, 2009). As folhas de guaco são glabras, dificultando a aderência de esporos de bactérias e fungos, contribuindo para a ausência de patógenos, oriundos do solo, no cultivo sem e com tutoramento. Além disso, plantas medicinais produzem antimicrobianos naturais que limitam a proliferação de certos tipos de microrganismos *in vivo* (KNEIFEL; CZECH; KOPP, 2002).

As variáveis respostas: mesófilos (UFC g⁻¹), fungos (UFC g⁻¹) e coliformes 35 - 37°C (NMP g⁻¹) apresentaram coeficiente de variação (CV) de 8,41%, de 79,43% e de 60,97%, respectivamente. Essa variação esteve relacionada à natureza dos dados, sem interferência dos sistemas de cultivo. De acordo com Rodrigues *et al.* (2011b), a população de bactérias e de fungos respondem diferentemente à variação sazonal. Provavelmente, esse fato justifica a variação do CV (%) entre os microrganismos.

A enumeração de fungos, considerada para a análise de redução de carga microbiana, torna a matéria-prima vegetal, sem tratamento, apropriada somente para a utilização em processos extrativos a quente e a frio, segundo valores preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010) (TAB.1). Nesse material, a contagem de microrganismos mesófilos apresentou média de 3,35 UFC g⁻¹. Não houve confirmação da presença de coliformes (35 - 37 °C) na matéria fresca (testemunha) e no material tratado em nenhum dos ensaios de redução de carga microbiana (coliformes <0,602 NMP g⁻¹). As amostras de folhas de guaco analisadas apresentaram média de microrganismos

mesófilos e de coliformes (35-37°C) dentro do limite tolerado pela Farmacopeia Brasileira (2010) (TAB.1).

A presença e multiplicação de microrganismos são dependentes tanto de características intrínsecas à matéria-prima vegetal, como por exemplo, o pH e a atividade de água, quanto de condições ambientais, como a temperatura, a umidade relativa, a presença de gases e de contaminantes químicos e biológicos (HOFFMANN, 2001). O elevado coeficiente de variação de alguns microrganismos, tais como os fungos, relacionados, por exemplo, a alterações climáticas, ressalta a importância da realização do controle microbiológico e da adoção de métodos de sanitização que não interfiram na qualidade da matéria-prima vegetal.

A secagem natural das folhas proporcionou aumento de 0,99 ciclos logarítmicos na contagem de microrganismos mesófilos e de 1,87 ciclos logarítmicos na contagem de fungos (TAB. 2).

TABELA 2

Carga microbiana de folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) submetidas à secagem natural

Tratamentos	Microrganismos	
	Mesófilos Log UFC g ⁻¹	Fungos Log UFC g ⁻¹
Matéria fresca	2,77	2,17
Secagem natural	3,76	4,04

Notas: 1- Matéria-prima vegetal coletada em maio de 2012. 2- (Log): logaritmo; (UFC g⁻¹): unidade formadora de colônia por grama de amostra. Fonte: Da autora.

A secagem natural é processo lento, propiciando a proliferação de microrganismos nas folhas de guaco. A manipulação ou processamento da matéria-prima vegetal envolve, direta ou indiretamente, métodos ótimos ou limitantes ao crescimento microbiano. O conteúdo de água é determinante para a atividade de enzimas e microrganismos. O guaco possui folhas carnosas e coriáceas, as quais dificultam o processo de secagem. Folhas carnosas apresentam parênquima e esclerênquima abundantes, que dificultam a desidratação. Etapas inerentes ao processamento e a

características morfofisiológicas do material botânico devem ser, frequentemente, consideradas no monitoramento microbiológico.

A matéria-prima vegetal submetida à secagem artificial a 50 °C apresentou aumento de 0,02 ciclos logarítmicos na contagem de microrganismos mesófilos e redução de 0,14 ciclos logarítmicos na contagem de fungos (TAB.3).

TABELA 3

Carga microbiana de folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) submetidas à secagem artificial a 50 °C

Tratamentos	Microrganismos	
	Mesófilos Log UFC g ⁻¹	Fungos Log UFC g ⁻¹
Matéria fresca	3,32	2,53
Secagem artificial 50 °C	3,34	2,39

Notas: 1- Matéria-prima vegetal coletada em maio de 2012. 2- (Log): logaritmo; (UFC g⁻¹): unidade formadora de colônia por grama de amostra. Fonte: Da autora.

Nessa temperatura, o processo de secagem diminui ou inibe o crescimento e a multiplicação microbiana. A secagem artificial desidrata o vegetal de forma mais rápida, influenciando, negativamente, a proliferação microbiana. A secagem, em condições controladas de temperatura, de umidade e de ventilação promove desidratação, garantindo estabilidade microbiológica à matéria-prima vegetal (MARTINAZZO *et al.* 2010; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; PARK; YADO; BROD, 2001).

Não foi constatada a presença de microrganismos nas soluções extrativas aquosas de guaco preparadas por infusão, digestão e, ou, cocção. As temperaturas utilizadas foram suficientes para a redução completa da carga de microrganismos nas amostras avaliadas. O calor na forma úmida de vapor penetra mais facilmente no microrganismo, promovendo coagulação e desnaturação irreversível de proteínas (KALIL; COSTA, 1994). A fervura (ebulição da água a 100 °C) mata as formas vegetativas dos patógenos bacterianos, quase todos os vírus, os fungos e seus esporos em aproximadamente 10 minutos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Segundo Souza; Lionzo e Petrovick (2006), a decocção (cocção a 100 °C por 15 min.) de folhas de *Phyllanthus niruri* L. possui capacidade de redução de 98,3% da

contaminação inicial de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis, fungos e leveduras. Infusos (imersão em água a 100 °C até resfriamento à temperatura ambiente), geralmente, promovem redução parcial de microrganismos mesófilos e fungos e eliminação de enterobactérias (FURNALETO; ENDO; MARINS, 2003).

De acordo com Hoffmann (2001), apesar do crescimento microbiano ser possível em uma faixa de temperatura de - 8 até + 90 °C, a temperatura ótima da maioria dos patógenos é de 35 °C. Organismos resistentes, como *Staphylococcus aureus*, suportam 60 °C por 15 minutos. A observação de fatores, como a estabilidade físico-química da matéria-prima vegetal e a resistência térmica de determinados microrganismos, é essencial à seleção de condições ideais para o processamento.

As médias de mesófilos e de fungos estimadas para os tratamentos de imersão à base de cloro, tintura e extrato aquoso de barbatimão se diferem significativamente da testemunha (matéria fresca sem tratamento) pelo teste de Dunnett ($p < 0,01$) (TAB. 4). Os tratamentos de higienização com água estéril e sanitização com extrato de alecrim-pimenta não se diferiram da testemunha nas condições avaliadas.

TABELA 4
Carga microbiana de folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) submetidas a tratamentos químicos sanitizantes

Tratamentos	Microrganismos	
	Mesófilos Log UFC g ⁻¹	Fungos Log UFC g ⁻¹
Matéria fresca sem tratamento	3,80	2,73
Água estéril	3,79	2,68
Hipoclorito de sódio 200 mg L ⁻¹	0 **	0 **
Extrato aquoso de barbatimão	0 **	2,29 **
Tintura de barbatimão	0 **	0 **
Extrato aquoso de alecrim-pimenta	3,86	2,93
Coefficiente de variação (%)	15, 10	7,52

Notas: 1- Matéria-prima vegetal coletada em maio de 2012. 2- **Médias que se diferem significativamente da média do grupo controle/testemunha (matéria fresca sem tratamento) pelo teste de Dunnett ($p < 0,01$). 3- (Log): logaritmo; (UFC g⁻¹): unidade formadora de colônia por grama de amostra. Fonte: Da autora.

Chalala *et al.* (2002), Guerra *et al.* (2002) e Costa *et al.* (2009) relataram reduções significativas de carga microbiana com a aplicação de soluções cloradas em plantas. Soluções de cloro 50-200 mg L⁻¹ são amplamente utilizadas na sanitização de produtos vegetais, promovendo morte microbiana por interferência no transporte de nutrientes e perda de componentes celulares (ANTONIOLLI *et al.*, 2005). Entretanto o potencial cancerígeno desses compostos, associado à formação de cloraminas orgânicas, tem estimulado a busca por metodologias alternativas (SREBERNICH, 2007).

Extratos de barbatimão apresentaram excelente potencial antimicrobiano. Os dados obtidos corroboram os resultados observados por Orlando (2005), Gonçalves, Alves Filho e Menezes (2005) e Soares (2008). Os taninos, principal grupo dos constituintes químicos das cascas de barbatimão, conseguem inibir o desenvolvimento de bactérias pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Nitrobacter*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, como também inibem o crescimento dos fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium* e *Trichoderma* (SCALBERT, 1991 citado por CARVALHO *et al.*, 2002). O potencial antimicrobiano é dependente do processo extrativo, bem como da concentração do composto bioativo.

A concentração do extrato aquoso de barbatimão utilizado nos ensaios pode ter limitado a ação fungicida do mesmo, uma vez que, apesar do potencial microbicida da espécie, a sanitização não tenha sido satisfatória (apenas 0,4379 ciclos logarítmicos reduzidos). Considerando o limite de tolerância preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010) para esse tipo de microrganismo, a matéria-prima vegetal não pode ser utilizada em preparações para uso oral (consumo *in natura*). Santos *et al.* (2009) relataram baixa eficiência de extratos aquosos de barbatimão (100 mg ml⁻¹) em testes antifúngicos realizados *in vitro*. Em conformidade com esses autores, o extrato etanólico do barbatimão (10%) apresenta atividade bactericida e fungicida, sendo mais eficaz no controle microbiano. Fato corroborado pelo potencial sanitizante demonstrado nesta pesquisa pela tintura de barbatimão.

O extrato de barbatimão, utilizado no banho de imersão, mostrou-se isento de contaminação microbiana.

A utilização do extrato de barbatimão como sanitizante de espécies medicinais necessita de informações quanto ao potencial acúmulo de tanino ou de resíduos do mesmo nesse tipo de aplicação. O tanino é adstringente (precipita proteínas), podendo causar problemas nutricionais ao ser ingerido, uma vez que pode influenciar a digestão e a absorção de nutrientes (CHANG *et al.*, 1994).

Os extratos de alecrim-pimenta não promoveram redução de ciclos logarítmicos na carga microbiana das amostras avaliadas. O teor de compostos farmacologicamente ativos em plantas medicinais é dependente de condições genéticas, ambientais e de processamento (BERTOLUCCI; PINHEIRO, 2007; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MARTINS *et al.*, 1995). A análise do extrato de alecrim-pimenta utilizado nos banhos de imersão constatou contaminação microbiana. Os processamentos para a produção do extrato e o manuseio do mesmo em condições assépticas não garantiram esterilidade, fator essencial para a ação sanitizante.

A higienização com imersão em água estéril não alterou a concentração de microrganismos nas amostras avaliadas. A localização de microrganismos em regiões protegidas como estômatos ou mesmo a proteção mecânica exercida por compostos de natureza hidrofóbica da folha e sujidades pode restringir a ação de alguns métodos (MATTOS, 2000).

Os tratamentos químicos e de higienização não interferiram no teor de cumarina das amostras. A matéria-prima analisada apresentou teor de cumarina de 0,648%. A Farmacopeia Brasileira (2005) preconiza o mínimo de 0,1% de cumarina para o guaco. Não houve variação estatística significativa (teste de Dunnett $p < 0.01$) entre o teor de cumarina do material tratado e da testemunha (material sem tratamento). A inclusão de técnicas de higienização e sanitização eficazes reduzem a carga microbiana a níveis toleráveis, contribuindo para a estabilidade e a conservação da matéria-prima em todas as etapas da cadeia produtiva.

4 CONCLUSÃO

Significativamente, a carga microbiana das folhas de guaco não é afetada pelos sistemas de cultivos.

Os tratamentos sanitizantes com calor úmido (infusão, digestão e, ou, cocção), hipoclorito de sódio e tintura de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) são os mais eficazes no controle microbiano.

CAPITULO 4 - SECAGEM DE FOLHAS E DETERMINAÇÃO DE CUMARINA EM *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi analisar a influência de diferentes temperaturas na secagem e extração alcoólica de cumarina em folhas de guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. A secagem foi realizada em desidratador de bandejas a gás com sistema de circulação de ar forçado e controle automático de temperatura. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com quatro tratamentos e oito repetições. As temperaturas de ar de secagem avaliadas foram: 40, 50, 60 e 70 °C. As curvas de secagem foram construídas em função da redução do teor de água em base seca e do tempo de secagem. A temperatura ótima de secagem para o guaco foi selecionada a partir do maior rendimento de cumarina nas folhas pulverizadas. A determinação de cumarina foi realizada em extratos alcóolicos por cromatografia em cromatógrafo a gás com detector de ionização chama (CG – DIC). Foram utilizadas quatro temperaturas de aquecimento para preparo dos extratos alcóolicos: 40, 50, 60 e 70 °C e três tempos de extração: 60, 90 e 120 minutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x3), com duas repetições no tempo. O teor de cumarina das folhas de guaco não apresentou variações relacionadas às temperaturas de ar de secagem. A maceração alcoólica a 70 °C por 60 minutos é eficaz para a extração de cumarina no pó seco de folhas de guaco.

Palavras-chave: Guaco. Curvas de secagem. Teor de água. Temperatura de extração.

**CHAPTER 4 - DRYING OF LEAVES AND DETERMINATION OF
COUMARIN IN *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker**

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the influence of different temperatures in the drying and alcoholic extraction of coumarin in leaves of guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. Drying was performed in a gas tray dehydrator with circulation system of forced air and automatic temperature control. The experimental design was of randomized block with four treatments and eight replications. The drying air temperatures evaluated were 40, 50, 60 and 70 °C. The drying curves were constructed due to the reduction of the water content on dry basis and drying time. The optimum temperature of drying for the guaco was selected from the highest yield of coumarin in the powdered leaves. The determination of coumarin was performed on alcoholic extracts by chromatography in gas chromatograph with flame ionization detector (GC - FID). There were used four heating temperatures for preparation of the alcoholic extracts: 40, 50, 60 and 70 °C and three extraction times: 60, 90 and 120 minutes. The experimental design was completely randomized in a factorial scheme (4x3) with two replications in time. The content of coumarin of the guaco leaves did not present differences related to the air temperature of the drying. The alcoholic maceration at 70 °C for 60 minutes is efficient for the extraction of coumarin in the dry powder in leaves of guaco.

Keywords: Guaco. Drying curves. Water content. Extraction temperature.

1 INTRODUÇÃO

Cumarinas são lactonas do ácido o- hidroxicinâmico presentes em diferentes partes das plantas (raízes, caules, folhas, flores e frutos), com ampla distribuição nas *Angiospermae* (RIBEIRO; KAPLAN, 2002). O guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker, é uma espécie medicinal brasileira demandada pelo mercado brasileiro de fitoterápicos, que se destaca por sua atividade expectorante e broncodilatadora, associada à presença de cumarina.

A ausência ou baixa concentração de compostos bioativos tem se tornado um fator de risco importante, associado ao uso e ao comércio de plantas medicinais. Apesar do controle genético, a produção desses compostos é dependente da interação de fatores físicos, químicos e biológicos, inerentes às condições ambientais de crescimento, de coleta e de processamento (BERTOLUCCI; PINHEIRO, 2007; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MARTINS *et al.*, 1995). Com o desenvolvimento da cadeia produtiva, a conservação das propriedades químicas da matéria-prima vegetal tornou-se um critério de qualidade indispensável ao crescimento do mercado. O aprimoramento de todas as etapas do sistema produtivo requer a seleção de metodologias eficazes e de baixo custo que garantam a adequação e a padronização do material botânico.

A secagem é uma técnica de conservação que promove a remoção da água e de outros líquidos da matéria-prima por vaporização térmica (CELESTINO, 2010). Essa redução do teor de água aumenta o teor de compostos bioativos em relação à massa seca, diminui a atividade enzimática e microbiológica e retarda a deterioração do produto (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010; CHRISTENSEN; KAUFMAN, 1974; CORRÊA JÚNIOR; MING; SCHEFFER, 1994; COSTA, *et al.*, 2005; MARTINAZZO *et al.*, 2006; PARK; YADO; BROD, 2001; SILVA; CASALI, 2000).

O processo de secagem é um método viável e acessível, que facilita a manipulação e o transporte da matéria-prima, favorecendo o aproveitamento comercial e industrial de espécies vegetais (CELESTINO,

2010). A comercialização das plantas medicinais e a elaboração de formas farmacêuticas complexas, tais como cápsulas, tinturas, extratos, etc., geralmente são realizadas com a matéria-prima vegetal seca (BERTOLUCCI; PINHEIRO, 2007).

A secagem promove alterações físico-químicas que afetam o rendimento e a composição de compostos bioativos do material botânico (VON HERTWIG, 1991). A otimização do processo é dependente de características específicas do material a ser conservado. Dependendo da estrutura morfoanatômica da espécie e da sensibilidade térmica do composto bioativo, o processamento pode inviabilizar a utilização do mesmo. Em plantas aromáticas, por exemplo, a temperatura excessiva de secagem pode provocar a volatilização de alguns constituintes químicos de óleos essenciais (LAMEIRA; PINTO, 2008).

A secagem reduz cerca de 50% do teor de cumarina no guaco (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2011). Nesse tipo de processamento, o tempo de secagem, a temperatura e a velocidade do ar são variáveis importantes a serem consideradas, para que não haja prejuízos referentes às propriedades organolépticas e químicas da matéria-prima vegetal (LAMEIRA; PINTO, 2008).

O aproveitamento seguro das plantas está associado à caracterização química da matéria-prima vegetal para o estabelecimento de parâmetros de qualidade. Dentre as várias metodologias visando ao isolamento, à quantificação e à otimização da extração de constituintes químicos de espécies medicinais, a maceração do material vegetal em líquido extrator aquecido tem sido adequada à análise químico-farmacológica, uma vez que permite a aceleração e a potencialização do processo extrativo a partir da elevação da temperatura. O aumento da temperatura contribui para a solubilização de substâncias, diminuindo a viscosidade do solvente e aumentando a velocidade de difusão, o que conseqüentemente facilita a extração (FONSECA, 2005).

Segundo Rocha *et al.* (2008), apesar da volatilidade, a elevação da temperatura durante o processamento da matéria-prima proporciona maior rendimento de cumarina. Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi

analisar a influência de diferentes temperaturas na secagem e extração alcoólica de cumarina em folhas de guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

O guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) foi cultivado a pleno sol em sistema orgânico, com tutoramento na área experimental do Horto Medicinal no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), Campus Regional de Montes Claros - MG (16°44'02"S, 43°51'23"W, na altitude de 630 m).

A adubação foi realizada no momento do plantio com 500 g de esterco bovino curtido e 250 g de fosfato reativo por cova (espaçamento 1,50 m x 1,00 m). O cultivo foi irrigado por microaspersão em períodos de baixa disponibilidade hídrica e capinado manualmente ou com o auxílio de roçadeira, sempre que necessário.

A coleta das folhas foi realizada manualmente com 20 meses de plantio entre 8:00 e 9:00 h da manhã, em setembro de 2012.

2.2 Secagem

A secagem foi realizada no Laboratório de Biodigestão Anaeróbia do ICA/UFMG, em desidratador de bandejas a gás, com sistema de circulação de ar forçado e controle automático de temperatura (Desidratador Pardal ® Modelo PGE60 profissional). As folhas foram pesadas e distribuídas em oito bandejas com borda de aço inox e miolo em polietileno de alta densidade de 50 x 80 cm, formando uma camada de cerca de oito cm de espessura, por bandeja.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com quatro tratamentos e oito repetições (bandejas). A matéria-prima vegetal foi submetida a quatro temperaturas de secagem (40, 50, 60 e 70°C), até obtenção de massa constante, com variação de até ± 2 °C para cada tratamento. A velocidade do ar foi mantida a $0,5 \text{ m s}^{-1}$, sendo monitorada com anemômetro (Minipa ® mda 10).

O aquecimento do ar de secagem foi promovido por queima de biogás, produzido por digestão anaeróbica de dejetos suínos processados em biodigestor de fluxo contínuo (modelo indiano). O consumo de biogás pelo sistema foi determinado para cada temperatura de ar de secagem, com o auxílio de medidor de gás.

O controle da secagem foi realizado em intervalos de 30 minutos, com a pesagem de amostras de 25 g contidas em vasilhame, disposto na borda de cada bandeja. As curvas de secagem foram construídas, considerando-se o tempo gasto para secagem e as variações no teor de água nas folhas de guaco, sendo avaliadas por análise de regressão ($p < 0,05$), com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.1 (FERREIRA, SYSVAR, 2008).

O teor de água das amostras foi determinado antes e depois da secagem pelo método gravimétrico (ASAE STARDARTS, 2000), com três repetições, em estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 horas. A porcentagem de perda por dessecação foi dada pela equação 1:

$$\frac{P_U - P_S}{P_A} \times 100 \quad (1)$$

em que P_A representa o peso da amostra; P_U , o peso do cadinho contendo a amostra antes da dessecação; P_S , o peso do cadinho contendo a amostra após a dessecação em estufa.

A temperatura ótima de secagem para o guaco foi selecionada, considerando-se o rendimento de cumarina nas folhas pulverizadas. O teor de cumarina foi determinado, conforme metodologia adaptada de Bueno e Bastos (2009), em extrato etanólico de guaco 2,5%, produzido por digestão a 40°C por 2 horas, por cromatografia gasosa em cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama (CG – DIC). Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância (teste de Tukey $p < 0,05$), com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.1 (FERREIRA; SYSVAR, 2008).

2.3 Determinação das condições ótimas de extração de cumarina

Amostras de folhas de guaco secas a 50°C em Desidratador Parda® Modelo PGE60 profissional foram pulverizadas em moinho de facas, sendo que 0,5 g do pó obtido foi adicionado a 20 ml de álcool etílico absoluto (99,5%) e submetido a aquecimento em banho-maria. Foram utilizadas quatro temperaturas de aquecimento para os extratos alcoólicos (40, 50, 60 e 70°C) e três tempos de extração (60, 90 e 120 minutos), para o ajuste e a adaptação de procedimento proposto por Bueno e Bastos (2009), visando à otimização do processo extrativo. Em seguida, a mistura (extrato etanólico de guaco 2,5%) foi mantida sob agitação em *shaker* a 120 rpm, por 2 horas e a solução obtida, filtrada e centrifugada a 4.000 rpm, por 20 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x3), com duas repetições no tempo. A temperatura e o tempo ótimos de extração de cumarina foram determinados a partir do maior rendimento de cumarina nas folhas pulverizadas.

O teor de cumarina foi determinado em extrato etanólico de guaco 2,5% por CG - DIC. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância (teste de Tukey $p < 0,05$), com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.1 (FERREIRA; SYSVAR, 2008).

2.4 Condições cromatográficas para determinação de cumarina nos extratos

As análises cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Química do ICA/UFMG em cromatógrafo a gás da *Agilent Technologies* (GC 7820A), equipado com detector de ionização em chama (CG-DIC) e coluna capilar HP-5 (*Agilent Technologies*), com fase estacionária 5% fenil e 95% metilpolisiloxano (30 m comprimento x 0,32 mm diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme). O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio (99,996% de pureza) à taxa de 1,8 ml min⁻¹ e *make up* de 5 ml min⁻¹.

A quantificação de cumarina nas amostras foi realizada nas condições cromatográficas descritas por Bueno e Bastos (2009), utilizando dados de

curva analítica (GRAF. 1), obtida por análise de soluções padrão de cumarina (99,5% de pureza).

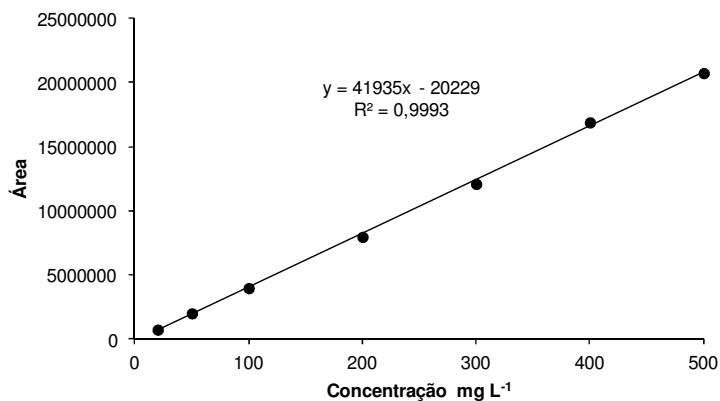


GRÁFICO 1 - Curva analítica obtida a partir das análises cromatográficas das soluções padrão de cumarina em álcool etílico absoluto: 20, 50, 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹

Nota: Resposta do detector: linear na faixa de concentração estabelecida com coeficiente de determinação superior a 0,99.

Fonte: Da autora.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições experimentais, o tempo de secagem do guaco foi inversamente proporcional ao aumento de temperatura. Como demonstrado na representação gráfica das curvas de secagem (GRAF. 2), a temperatura afeta a dinâmica das variáveis avaliadas. Os resultados obtidos evidenciaram um efeito significativo da temperatura sobre o tempo de secagem ($p=0,000$). O aumento de 10°C na temperatura do ar de secagem reduziu, em média, 47% do tempo de processamento.

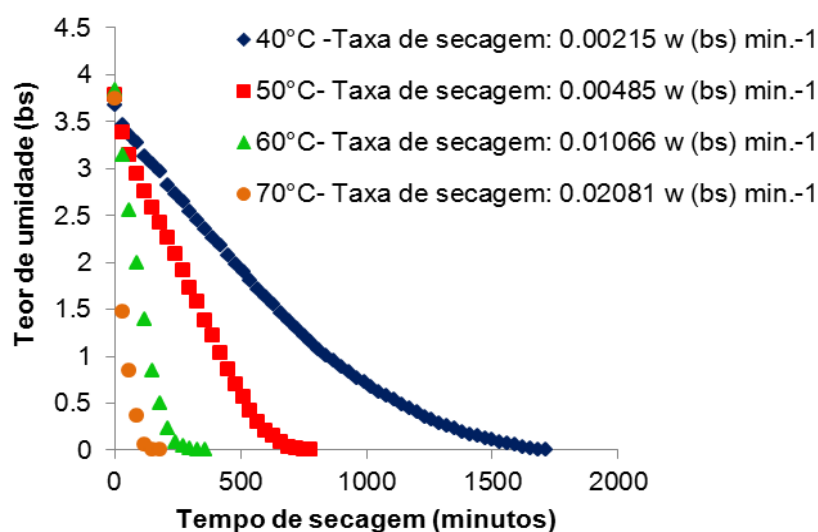


GRÁFICO 2. Curvas médias de secagem do guaco em função de quatro temperaturas em desidratador a gás PEG60, em Montes Claros/MG
 Notas: 1-O teor de água em base seca foi expresso em decimal. 2- A taxa de secagem foi determinada pela relação entre o teor de água evaporada e o tempo decorrido durante a secagem. 3- (w (bs) min.⁻¹): água evaporada, expressa em base seca, por minuto.
 Fonte: Da autora.

Nesta pesquisa, a regressão cúbica é a que melhor se ajusta às curvas de secagem do guaco para as temperaturas de 50°C e de 70°C (GRAF.3). As curvas de secagem para as temperaturas de 40°C e de 60°C foram mais bem representadas por modelos de regressão quadrática (GRAF.4).

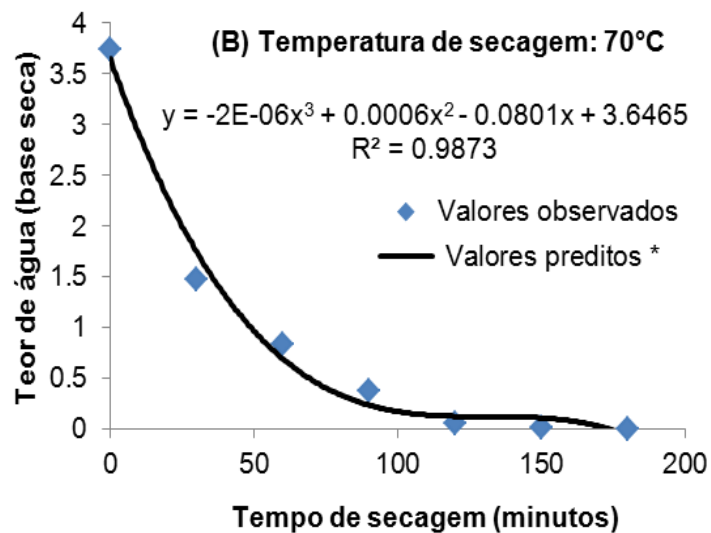
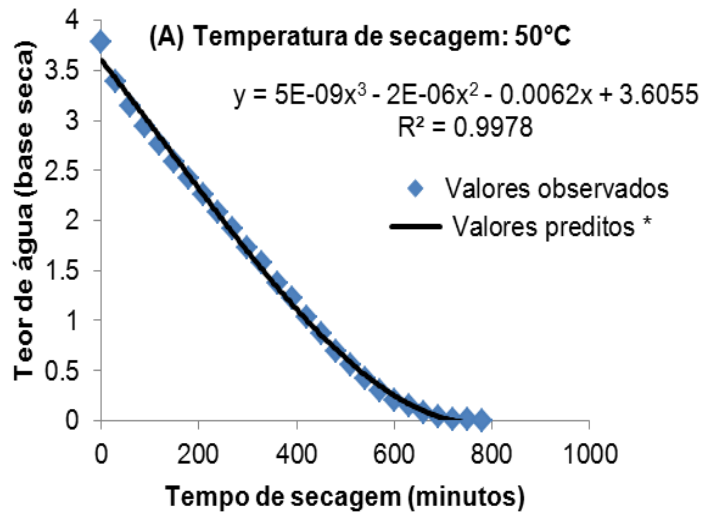


GRÁFICO 3 - Equações de regressão ajustadas e coeficientes de determinação para as curvas de secagem do guaco à temperatura de 50 °C e de 70 °C

Notas: 1 -(A) Secagem a 50 °C. * Significativo (p=0,002). 2-(B) Secagem a 70 °C. * Significativo (p=0,000). 3 - O teor de água em base seca foi expresso em decimal.

Fonte: Da autora.

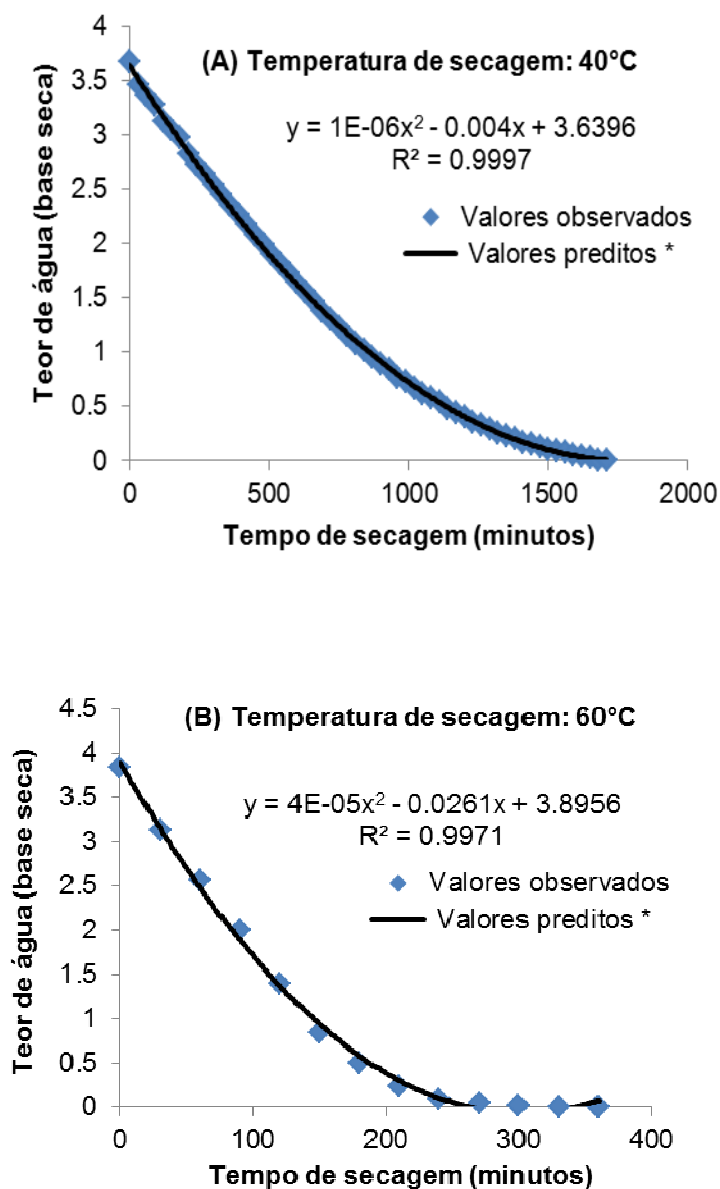


GRÁFICO 4 - Equações de regressão ajustadas e coeficientes de determinação para as curvas de secagem do guaco à temperatura de 40°C e de 60°C

Notas: 1 - (A) Secagem a 40°C. * Significativo ($p=0,000$). 2- (B) Secagem a 60°C. * Significativo ($p=0,000$). 3 - O teor de água em base seca foi expresso em decimal.

Fonte: Da autora.

Reduções de tempo de secagem em resposta à temperatura são esperadas e relatadas na literatura (MARTINAZZO *et al.*, 2007; RADUNZ *et al.*, 2010; REIS *et al.*, 2011). RADUNZ *et al.* (2003), por exemplo, utilizando ar de secagem aquecido a 40°C, com velocidade média de ar de 0,5 m s⁻¹, no guaco (*Mikania glomerata* Sprengel), gastou cerca de metade do tempo de secagem evidenciado nesta pesquisa. Segundo Rezende *et al.* (2008), curvas de secagem variam, conforme a espécie, a variedade, as condições ambientais e os métodos de preparo pós-colheita. Variações relacionadas aos equipamentos de secagem, bem como quantidade e espessura da camada de folhas também devem ser consideradas.

As folhas de guaco reduziram, em média, 78% de massa após a secagem, sendo o teor de água final das amostras influenciado pelas variações de temperatura. Nas temperaturas de 50, 60 e 70°C, as amostras apresentaram teor de água inferior a 10% (0,11 bs), limite preconizado para o guaco pela Farmacopeia Brasileira (2005) (TAB. 1).

TABELA 1
Variações do teor de água de folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) secas em desidratador a gás PEG60, em Montes Claros/MG

Temperatura do ar de secagem (°C)	Teor de água inicial (b. s.)	Teor de água final (b. s.)
40	3.46	0,24
50	3,62	0,10
60	3.26	0,06
70	3.66	0,05

Nota: Teor de água em base seca (bs) expresso em decimal determinado por método gravimétrico.

Fonte: Da autora.

A matéria-prima vegetal submetida à temperatura de 40°C, mesmo após atingir massa constante, apresentou teor de água bem superior ao limite tolerado. O ar aquecido a essa temperatura não promoveu a retirada da água em níveis seguros para a conservação e o armazenamento do material botânico. De acordo com Almeida *et al.* (2009), no final do processo de secagem, a água se encontra fortemente ligada à matéria seca, necessitando de maior quantidade de energia para a evaporação.

O conteúdo de água interfere na atividade de enzimas e de microrganismos, sendo extremamente importante na seleção de critérios de controle de qualidade. O teor de água presente nas folhas de guaco submetidas à temperatura de 40°C favorece a deterioração.

A matéria-prima vegetal processada a 40°C apresentou manchas escuras, características de oxidação, ausentes nos demais tratamentos (FIG. 1). Folhas de guaco secas são quebradiças, apresentando, geralmente, coloração verde uniforme, aspecto evidenciado no material submetido a temperaturas de secagem de 50 e 60°C. Folhas submetidas ao ar aquecido a 70°C apresentaram escurecimento parcial uniforme, sem marcas de oxidação. As reações de escurecimento enzimático e não enzimático, as reações de oxidação de lipídeos, as reações de oxidação de vitaminas e a degradação de pigmentos são os principais fatores de deterioração de vegetais submetidos à secagem (LABUZA, 1984 citado por CELESTINO, 2010).



FIGURA 1 - Aspecto visual das folhas de guaco submetidas à secagem em Desidratador Pardal ® Modelo PGE60 profissional
Nota: (A): secagem a 40°C; (B): secagem a 50°C; (C): secagem a 60°C; (D): secagem a 70°C.
Fonte: Da autora.

As médias de cumarina detectadas nas folhas analisadas apresentam valores superiores ao mínimo de 0,1%, exigido pela Farmacopeia Brasileira

(2005) em todas as temperaturas testadas. Não houve variação estatística significativa (Teste de Tukey $p < 0,05$) entre as temperaturas de ar de secagem avaliadas, sendo o teor médio de cumarina de 0,635 (%).

A temperatura do ar de secagem promove variações físico-químicas relacionadas a características morfofisiológicas da espécie e à resistência térmica do composto bioativo. Borsato, Doni-Filho e Ahrens (2005), por exemplo, verificaram redução gradativa do teor óleo essencial de *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert relacionada às condições de secagem. No entanto, Soares *et al.* (2007) observaram maior rendimento de linalol no *Ocimum basilicum* L. com temperaturas de ar de secagem na faixa de 50 a 60°C. Por sua vez, Barbosa *et al.* (2006) não observaram variação estatística significativa no teor de óleo essencial em folhas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson, submetidas às temperaturas de secagem de 40, 50, 60, 70 e 80°C. Radünz (2004) não relatou diferenças significativas (Teste de Duncan com $p < 0,05$) no teor de cumarina entre folhas de *Mikania glomerata* Sprengel submetidas à secagem com ar aquecido a 50, 60 e 70°C, embora tenha evidenciado maior teor de cumarina nas folhas secas a 40°C do que nas demais temperaturas. Características específicas de cada matéria-prima, associadas às propriedades do ar de secagem, determinam diversas condições da secagem (MARCHESE; FIGUEIRA, 2005).

O volume de biogás consumido no aquecimento do ar de secagem diminuiu em resposta ao aumento da temperatura (TAB. 2). Essa diminuição se relaciona com a redução do tempo de secagem.

TABELA 2
Volume de gás consumido para o aquecimento do ar de secagem em desidratador a gás PEG60, nas diferentes temperaturas avaliadas para o guaco em Montes Claros/MG

Temperatura do ar de secagem (°C)	Volume de gás consumido (m ³)	Tempo de secagem (minutos)
40	3960	1710
50	2543	810
60	1288	360
70	865	180

Fonte: Da autora.

Como a temperatura do ar de secagem não influenciou o teor de cumarina nas folhas de guaco, a seleção do método de secagem pode considerar o teor de água final (importante para conservação), o aspecto visual da matéria-prima, o gasto energético e o tempo de secagem. Folhas submetidas à temperatura de 60°C apresentaram coloração característica, teor de água, em níveis aceitáveis, menor gasto energético e tempo de secagem. As folhas processadas a 70°C apresentaram escurecimento indesejado comercialmente.

A análise dos dados mostrou efeito da temperatura na extração de cumarina, não sendo observada interferência do tempo de extração ou da interação entre ambos no processo extrativo. Nas condições avaliadas, a temperatura ótima para o processamento do guaco por maceração alcoólica foi a 70°C por 60 minutos (TAB. 3).

TABELA 3

Teor de cumarina determinada por CG-DIC no guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) processado por maceração alcoólica a quente em quatro temperaturas

Temperatura de extração	Teor de cumarina (%)
40 °C	0,911 A
50 °C	0,855 A
60 °C	0,870 A
70 °C	1,369 B
p=0,0027	

Nota: Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $p < 0,05$.

Fonte: Da autora.

A extração de cumarina (1,2 - benzopirona) é favorecida pelo aumento de temperatura (ROCHA *et al.*, 2008). Os elevados teores desse composto evidenciados nas análises comprovam resistência às temperaturas testadas, tanto na secagem, quanto no processo extrativo. O maior teor de cumarina na matéria-prima vegetal processada por maceração alcoólica em temperatura elevada evidencia a importância dessa variável no processo extrativo.

O teor de cumarina depende da espécie utilizada, da parte e da idade da planta, da fotoperiodicidade incidente no cultivo, da época e do horário de colheita, do tempo de estocagem e do processo extrativo (PEREIRA *et al.*, 2000; CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2011).

4 CONCLUSÃO

O teor de cumarina das folhas de guaco não é influenciado pelas temperaturas de ar de secagem de 40, 50, 60 e 70°C.

A maceração alcoólica a 70°C por 60 minutos é eficaz para a extração de cumarina no pó seco de folhas de guaco.

REFERÊNCIAS

- ABREU, I. M. O.; JUNQUEIRA, A. M. R.; PEIXOTO, J. R.; OLIVEIRA, S. A. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 108-118, 2010. (Suplemento1).
- ADAMI, A. A. V.; DUTRA, M. B. L. Análise da eficácia do vinagre como sanitizante na alface (*Lactuca sativa*, L.). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, V. 3, p. 134-144, 2011.
- ALMEIDA, D. P.; RESENDE, O.; COSTA, L. M.; MENDES, M. U. C; SALES, J. F. Cinética de secagem do feijão Adzuki (*Vigna angularis*). **Global Science Technology**, v. 2, n. 1, p. 72 - 83, 2009.
- ANTONIOLLI, L. R.; BENEDETTI, B. C.; SOUZA FILHO, M. S. M.; BORGES, M. F. Efeito do hipoclorito de sódio sobre a microbiota de abacaxi 'pérola' minimamente processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 157-160, 2005.
- APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington, DC: APHA, 2001. 676p.
- ARAGÃO, C. F. S. **Plantas medicinais**: a importância do cultivo no controle de qualidade de fitoterápicos. Disponível em:< http://ci-67.ciagri.usp.br/pm/importancia_cultivo.html >. Acesso em: 01 dez. 2012.
- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; CARVALHO, L. A. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p. 215-220, 2010. (Suplemento 1).
- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; SANGOI, L. Arranjo de plantas em milho: análise do estado-da-arte. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1075-1084, 2001.
- ASAE STANDARDS. **Standards engineering practices data**. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 2000. 78p.
- BALZON, D. R.; SILVA, J. C. G. L.; SANTOS, A. D. J. Aspectos mercadológicos de produtos florestais não madeireiros: análise retrospectiva. **Floresta**, v. 34, n.3, p. 363-371, 2004.

BARATTO, L.; LANG, K. L.; VANZ, D. C.; REGINATTO, F. H.; OLIVEIRA, J.; B.; FALKENBERG, M. Investigação das atividades alelopática e antimicrobiana de *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtida de cultivos hidropônico e tradicional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 577-582, 2008.

BARBOSA, C. K. R.; COSTA, J. P. R.; BONFIM, F. P. G.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG. **Biotemas**, v. 23, n.1, p.77-81, 2010.

BARBOSA, F. F.; BARBOSA, L. C. A.; MELO, E. C.; BOTELHO, F. M.; SANTOS, R. H. S. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (mill) n. e. Brown. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1221-1225, 2006.

BCQ Consultoria e Qualidade. Pesquisa de microrganismos patogênicos. **Revista Analytica**, n. 57, p.8, 2012. Disponível em:< http://www.revistaanalytica.com.br/ed_anteriores/57/analytica.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2012.

BERTOLUCCI, S. K. V. **Marcadores químicos em Mikania laevigata Schultz Bip. ex Baker e Mikania glomerata Sprengel cultivadas sob diferentes níveis de sombreamento**: isolamento, quantificação, variação sazonal e estabilidade. 2009. 199f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BERTOLUCCI, S. K. V.; PINHEIRO, R. C. **Manipulação de Fitoterápicos**. 2. ed. Lavras: Ufla/Faepe, 2007. 198p.

BIGHETTI, A. E.; ANTONIO, M. A.; KOHN, L. K.; REHDER, V. L.; FOGLIO, M. A.; POSSENTI, A.; VILELA, L.; CARVALHO, J. E. Antiulcerogenic activity of a crude hydroalcoholic extract and coumarin isolated from *Mikania laevigata* Schultz Bip. **Phytomedicine**, v.12, p.72-77, 2005.

BOLINA, R. C.; GARCIA, E. E.; DUARTE, M. G. R. Estudo comparativo da composição química das espécies vegetais *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1, p. 294-298, 2009.

BORSATO, A. V.; DONI-FILHO, L.; AHRENS, D. C. Secagem da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] com cinco temperaturas do ar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.2, p.77-85, 2005.

BRANT; R. S.; PINTO, J. E. P.; BERTOLUCCI; S. K. V.; ALBUQUERQUE, C. J. B. Produção de biomassa e teor do óleo essencial de cidrão em função da adubação orgânica. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 111-114, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa n. 6, de 23 de setembro de 2008. Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 185, p. 75-83. Seção 1, 24, set. 2008.

BRASIL. Portaria n. 533, 28 de março de 2012. Estabelece o elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 28 mar. 2012.

BRASIL. Presidência da República. Decreto n. 5813, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 jun. 2006.

BRASIL. RDC n. 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 mar. 2010.

BRASIL. RDC N. 50, de 20 de setembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos e condições de realização de estudos de estabilidade para o registro ou alterações pós-registro de produtos biológicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 01 nov. 2011.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R.; KOSCIUV, I.; MORAIS, T. B.; FERRARI, L. Contribuição ao estudo farmacognóstico de *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker (guaco), visando o controle de qualidade da matéria-prima. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n. 2, p. 545-552, 2009.

BUENO, P. C. P.; BASTOS, J; K. A validated capillary gas chromatography method for guaco (*Mikania glomerata* S.) quality control and rastreability: from plant biomass to phytomedicines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, p. 218-223, 2009.

BUGNO, A. **Drogas vegetais**: avaliação da contaminação microbiana e pesquisa de aflatoxinas, ocratoxina A e citrinina. 2006. 219f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Departamento de Farmácia, São Paulo, 2006.

CABELLO-HURTADO, F.; DURST, F.; JORRÍN, J. V.; WERCK-REICHHART, D. Coumarins in *Helianthus tuberosus*: characterization, induced accumulation and biosynthesis. **Phytochemistry**, v. 49, p. 1029-1036, 1998.

CARDOSO, M. G.; SHAN, A. Y. K. V.; SOUZA, J. A. **fitoquímica e química de produtos naturais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 67p.

CARNEIRO, J. G. A. **Efeito da densidade sobre o desenvolvimento de alguns parâmetros morfofisiológicos de mudas de *Pinus taeda* L. em viveiro e após o plantio**. Curitiba: UFPR, 1985. 125p.

CARVALHO, L. M.; COSTA, J. A. M.; CARNELOSSI, M. A. G. Qualidade em plantas medicinais. **Circular Técnica EMBRAPA Tabuleiros Costeiros**, Aracajú, n. 162, 2010.

CARVALHO, R. A.; LACERDA, J. T.; OLIVEIRA, E. F.; SANTOS, E. S. Extratos de plantas medicinais como estratégia para o controle de doenças fungicas do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste. In: II SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2., 2002, João Pessoa, Paraíba. **Anais...** João Pessoa, Paraíba: EMEPPA-PB, 2002. Disponível em: 4 <www.emepa.org.br/anais/volume1/av107.pdf>. Acesso em: 02 dez. 2012.

CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; MALTA, M. R.; CARDOSO, M. G.; SILVA, F. A. M. Coumarin Contents in Young *Mikania glomerata* Plants (Guaco) under Different Radiation Levels and Photoperiod. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 25, n.3, p.387-92, 2006.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Viçosa: UFV, 2004. 113p.

CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. M. **Plantas medicinais, condimentares e aromáticas: descrição e cultivo**. Guaíba: Agropecuária, 1995. 196 p.

CELESTINO, S. M. C. Princípios de secagem de alimentos. Brasília – DF. **Circular Técnica EMBRAPA Cerrados**, n. 276, 2010.

CHALALA, M.; ALFARO, T.; RODRIGUEZ, L.; CARBALLO, C.; FERRADÁ, C. A. R.; RAMOS, R.; CABEZAS, C.; ARIAS, M. R. Lavado y desinfectación de *Ocimum basilicum* L. var. *Lactucaefolium*. **Revista Cubana de Plantas medicinais**, v.7, n.2, p.84-89, 2002.

CHANG, M. J., COLLINS, J. L., BAILEY, J. W., COFFEY, D. L. Cowpeas tannins related to cultivar, maturity, dehulling and heating. **Journal of Food Science**, v.59, n.5, p.1034-1036, 1994.

CHRISTENSEN, C. M.; KAUFMANN, H. H. Microflora. In: CHRISTENSEN, C. M. **Storage of cereal grain and their products**. St. Paul: American Association of Cereals Chemists, 1974. p.158-192.

COLODI, F. G.; RAMOS, N. L. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RIBAS, L. L. F.; KOEHLER, H. S. Propagação vegetativa de guaco com adição de ácido naftalenoacético. **Scientia Agraria**, v.9, n.1, p.95-98, 2008.

CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2. ed. Botucatu: UNESP, 1994. 162 p.

CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M. C.; MAGALHÃES, P. M.; GRAÇA, C.; MATASUSHITA, M. S. **O guaco (Mikania laevigata Sch. Bip. ex Baker): aspectos agronômicos e fitoquímicos**. Curitiba: Instituto EMATER, 2011. 36p.

COSTA, J. A M.; MITTARAQUISI, A. S. P.; FURTADO, M. C.; CARVALHO, L. M.; CARNELOSSI, M. A. G. Efeito da sanitização na qualidade microbiológica do manjeriço. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HORTICULTURA, 27, 2., 2009. São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2009.

COSTA, L. C. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.956-959, out-dez 2005.

COSTA, N. L. **Estrutura da pastagem e produtividade de forragem**. Clicknews, nov. 2010. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/878856/1/ClicNews20105.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2012.

CUNHA, M. A.; SILVA, M. R. Métodos de detecção de microrganismos indicadores. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.1, n.1, p.09-13, 2006.

CZELUSNIAK, K. E.; BROCCO, A.; PEREIRA, D. F.; FREITAS, G. B. L. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando Mikania glomerata Sprengel e Mikania laevigata Schulyz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.2, p. 400-409, 2012.

DAROLT, M. R. **A qualidade dos alimentos orgânicos**. Londrina: IAPAR, 2003. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br>>. Acesso em: 25 nov. 2012.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2. ed. London: West Sussex John Wiley & Sons, 2002. 507p.

DUARTE M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; PEREIRA, B.; MAGALHÃES, P. M.; DELARMELENA, C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcolócos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, p. 6-8, 2004.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Santa Catarina: UFSC, 2001. p. 199-222.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância sanitária, 2005.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. 525p.

FARNSWORTH, N. Screening plants for new medicines. In: WILSON, E. O. (Ed.). **Biodiversity**. Washington, DC: National Academy Press, 1988. p. 83-97.

FAVERO, S.; SOLON, S.; BRUM, G. L.; SCHLEDER, E. J. D. ; MANIERI, E.; BAPTISTA, A. P. M.; KAWAMINAMI, L. T. **Teor de cumarina em folhas de plantas jovens de guaco em relação a diferentes doses de adubação orgânica em cultivo protegido**. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/44_015.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2012.

FERNANDES, J. B.; VARGAS, V. M. Mutagenic and antimutagenic potential of the medicinal plants *M. laevigata* and *C. xanthocarpa*. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 269-273, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

FERRO, D.; MENEZES, J. A.; PEREIRA, A. M. S.; BERTONI, B. W.; ALVES, M. J. Q. F.; SARTI, S. J. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 115-116p.

FONSECA, S. G. C. **Farmacotécnica de fitoterápicos**. Fortaleza: UFCE, 2005. 64p. Disponível em: <http://www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos.PDF>. Acesso em: 12 dez. 2012.

FURNALETO, L.; MARINS, V. D.; ENDO, R. Qualidade microbiológica de drogas vegetais comercializadas nas ruas da cidade de Londrina/Pr e de seus infusos. **Saúde em Revista**, v. 5, n.10, p. 49-52, 2003.

FURTINI NETO, A. E.; TOKURA, A. M. **Fertilidade e adubação de plantas medicinais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 87p.

GARCIA, A. A.; CARRIL, E. P. Metabolismo secundário de plantas. **Reduça (Biología)**, v.2, n.3, p.119-145, 2009.

GARRET, R. **Cumarina, C₉H₆O₂**. Disponível em: <http://qnint.s bq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=EGwfxWnqDymHlIheEJmzQtaOi6FS0_DJLGH3oRRKy0ahwBB0NhnVJGwTf46Fgh93kbBveU0w4TW7OCTcnNeUuA==>>. Acesso em: 02 out. 2012.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.353-358, 2005.

GUERRA, C. C.; LÓPEZ, T. A.; LÓPEZ, Z. P.; GÁLVEZ, R. R.; FERRADÁ, C. A. R.; LANDRIAN, C. C.; LUZ, L. A.; ARIAS, M. R. 2002. Desinfecção química de plantas medicinais II (*Plantago lanceolata* L.). **Revista cubana de plantas medicinais**, v.7, n.3, p.131-134, 2002.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Brasil alimentos**, n. 9, p. 23-30, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Sinopse do censo demográfico 2010**. Disponível em: <<http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=29&uf=31>>. Acesso em: 02 dez. 2012.

KALIL, E. M.; COSTA, A. J. F. Desinfecção e esterilização. **Acta Ortopédica Brasileira**, v.2, n.4, 1994.

KNEIFEL, W.; CZECH, E.; KOPP, B. Microbial contamination of medicinal plants: a review. **Planta Medica**, v.68, p.5-15, 2002.

LABUZA, T. P. **Moisture sorption: Practical aspects of isotherm measurement and use**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1984. 74p.

LAMEIRA, O. A.; PINTO, J. E. B. P. (Eds.). **Plantas medicinais: do cultivo, manipulação e uso à recomendação popular**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 264p.

LOURENZANI, A. E. B. S.; LOURENZANI, W. L.; BATALHA, M. O. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. **Informações Econômicas**, v.34, p.15-25, 2004.

LUCETTI, E. C. P. **Efeitos centrais da cumarina (1,2-benzopirona): estudo comportamental e neuroquímico em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos**. 2010. 88f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.7, n.3, p.86-96, 2005.

MARCONDES, N. S. P.; ESMERINO, L. A. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas em hortas domésticas. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v.16, n. 2, p. 133-138, 2010.

MARTINAZZO, A. P.; CORRÊA, P. C.; RESENDE, O.; MELO, E. C. Análise e descrição matemática da cinética de secagem de folhas de capim-limão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.11, n.3, p.301-306, 2007.

MARTINAZZO, A. P.; MELO, E. C.; CORRÊA, P. C.; SANTOS, R. H. S. Modelagem matemática e parâmetros qualitativos da secagem de folhas de capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.12, n.4, p. 488-498, 2010.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: UFV, 1995, 220p.

MARTINS, S. R.; PEIL, R. M.; SCHWENGBER, J. E.; ASSIS, F. N.; MENDEZ, M. E. G. Produção de melão em função de diferentes sistemas de condução de plantas em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 24 - 30, 1998.

MATTOS, F. R. **Modelo computacional para simular a redução da microbiota contaminante em pepinos (*Cucumis sativus* L.) submetidos a tratamento térmico**. 2000. 74f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

MEDEIROS, A. C. D. ; PORTO, K. L.; PAIVA, A. V. R.; PROCÓPIO, J. V. V. Análise de contaminantes microbiológicos em produtos comercializados em farmácia de manipulação. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.1, n.1, p. 1-12, 2007.

MING, L. C. **Plantas medicinais aromáticas e condimentares: Avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998.

MING, L. C.; SILVA, S. M. P.; SILVA, M. A. S.; HIDALGO, A. F.; MARCHESE, J. A.; CHAVES, F. C. M. Manejo e cultivo de plantas medicinais: algumas reflexões sobre perspectivas e necessidades no Brasil In: **Diversos olhares em etnobiologia, etnoecologia e plantas medicinais**. Cuiabá: Unicen, 2003. p.149-156.

MIRANDA, J. A. **Caracterização fotofísica de derivados de cumarina**. 2009. 160f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

MONTANARI JÚNIOR, I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas**. Campinas: CPQBA-UNICAMP, 2002. 7p. Disponível em: <<http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/producao.htm>>. Acesso em: 01 dez. 2012.

NEGRELLE, R. R. B.; DONI, M. E. Efeito da maturidade dos ramos na formação de mudas de guaco por meio de estaquia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 351-355, 2001.

OLIVEIRA F.; AKISUE G.; AKISUE, M. K.; JORGE, L. I. F. Morfodiagnose de *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker - Guaco-do-mato - estudo do axófito. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, p.45-57, 1986.

OLIVEIRA, F.; OGA, S.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. Parâmetros físicos e químicos e efeito antiedema dos extratos fluidos de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e de guaco de mato (*Mikania laevigata* Schutz Bip. ex Baker). **Anais de Farmácia e Química**, v.25, n.1/2, p.50-54, 1985.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.4, p. 641-650, 2010.

ORLANDO, S. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico bruto da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville (Barbatimão)**. 2005. 89f. Dissertação (Mestrado em Promoção da Saúde) – Universidade de Franca, São Paulo, 2005.

PARK, K. J.; YADO, M. K. M.; BROD, F. P. R. Estudo de secagem de pêra bartlett (*pyrus* sp.) em fatias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n. 3, p. 288-292, 2001.

PAULILO, M. T. S.; LAPA, F. S.; FALKENBERG, M. B. Effect of light intensity and growth substratum on plant development and production of secondary metabolites in *Cordia curassavica* (Jacq.) Roem. & Schult. **Revista Árvore**, v. 34, n.3, p. 417-423, 2010.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos: Interação com as plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, n. 29, p. 62-76, 2002.

PENNA, T. C. V.; MACHOSHVILI, I. A. Esterilização térmica: conceitos básicos da cinética de morte microbiana. **Revista Farmácia Bioquímica UNIV. SÃO PAULO**, S. 1, p. 1-5, 1997.

PEREIRA, A. M. S.; CÂMARA, F. L. A.; CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M.; FRANÇA, S. C. Seasonal variation in coumarin content of *Mikania glomerata*. **Journal of Herbs, Spices e Medicinal Plants**, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2000.

PERES, L. E. P. **Metabolismo secundário**. Disponível em: <<http://www.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/uploadsprofessor/ce5449dfcf0e02f741a5af86c3c5ae9a.pdf?PHPSESSID=e32d8df36f08f86ef80010a253f33762>>. Acesso em: 01 dez. 2012.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

RADÜNZ, L. L. **Secagem de alecrim pimenta, guaco e hortelã comum sobre diferentes temperaturas e sua influência na quantidade e qualidade dos princípios ativos. Viçosa, MG. 2004. 90 f.**Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

RADÜNZ, L. L.; MELO, E. C.; BERBERT, P. A.; BARBOSA, L. C. A.; SANTOS, R. H. S.; ROCHA, R. P. Influência da temperatura do ar de secagem na quantidade do óleo essencial extraído de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 41-45, 2003.

RADÜNZ, L. L.; MOSSI, A. J. ; ZAKRZEWSKI, C. A.; AMARAL, A. S.; GRASSMANN, L. Análise da cinética de secagem de folhas de sálvia. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.9, p.979–986, 2010.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REIS, M. S.; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agrônômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M.; SCHENKERL, E. P.; GOSMANN, G. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2002. p.41-62.

REIS, R. C.; BARBOSA, L. S.; LIMA, M. L.; REIS, J. S.; DEVILLA, I. A.; ASCHERI, D. P. R. Modelagem matemática da secagem da pimenta Cumari do Pará. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.4, p. 347-353, 2011.

REZENDE, O.; CORRÊA, P. C.; GONELI, A. L. D.; BOTELHO, F. M.; RODRIGUES, S. Modelagem matemática do processo de secagem de duas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.10, p.17-26, 2008.

RIBEIRO, C. V. C.; KAPLAN, M. A. C. Tendências Evolutivas de Famílias Produtoras de Cumarinas em *Angiospermae*. **Química Nova**, v, 25, n.4, p. 533-538, 2002.

ROCHA, L.; LUCIO, E. M. A.; FRANCA, H. S.; SHARAPIN, N. *Mikania glomerata* Spreng: desenvolvimento de um produto fitoterápico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p. 744-747, 2008.

RODRIGUES, D. G.; SILVA, N. B. M.; REZENDE, C.; JACOBUCCI, H. B.; FONTANA, E. A. Avaliação de dois métodos de higienização alimentar. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 3, p. 341-350, 2011a.

RODRIGUES, H. J. B.; SÁ, L. D. A.; RUIVO, M. L. P.; COSTA, A. C. L.; SILVA, R. B.; MOURA, Q. L.; MELLO, I. F. Variabilidade quantitativa de população microbiana associada às condições microclimáticas observadas em solo de floresta tropical úmida. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 26, n.4, p.629-638, 2011b.

ROSAL, L. F.; PINTO, J. E. B. P.; BRANT, R. F. Produção de biomassa e óleo essencial de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivado no campo sob níveis crescentes de adubo orgânico. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 2, p. 63-67, 2009.

SANTANA, L. R. L.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C.; ALCÂNTARA, L. M.; OLIVEIRA, T. W. S.; RODRIGUES, B. M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 264-269, 2006.

SANTOS, S.C. **Caracterização cromatográfica de extratos medicinais de guaco**: *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker e *M. glomerata* Sprengel e ação de *M. laevigata* na inflamação alérgica pulmonar. 2005. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2005.

SANTOS, V. R.; GOMES, R. T.; OLIVEIRA, R. R.; CORTES, M. E.; BRANDÃO, M. G. L. Susceptibility of oral pathogenic microorganisms to aqueous and ethanolic extracts of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). **International Journal of Dentistry**, v. 8, n.1, p. 1-5, 2009.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n.12, p. 3875-3883, 1991.

SCHÜTZ, M. V.; VELAZQUEZ, C. C.; ABEGG, M. A. Avaliação da qualidade microbiológica das drogas vegetais mais comercializadas em farmácias de manipulação de Toledo – PR. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 12, n. 3, p. 181-186, 2008.

SECRETARIA DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO – PREFEITURA MUNICIPAL DE MONTES CLAROS – MG. **Geografia**. Prefeitura de Montes Claros. [20--?a]. Disponível em: <<http://www.montesclaros.mg.gov.br/cidade/aspectosgerais/geografia.htm>>. Acesso em: 02 dez. 2012.

SECRETARIA DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO – PREFEITURA MUNICIPAL DE MONTES CLAROS – MG. **Divisão territorial de distritos**. [20--?b]. Disponível em: <<http://www.montesclaros.mg.gov.br/planejamento/mapas/polos-distritos-comunidades-rurais.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2012.

SEDIYAMA, M. A. N.; VIDIGAL, S. M.; PEDROSA, M. W.; PINTO, C. L. O.; SALGADO, L. T. Fermentação de esterco de suínos para uso como adubo orgânico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.6, p.638–644, 2008.

SILVA, D. J. H.; SEDIYAMA, M. A. N.; MATA, A. C.; ROCHA, D. M.; PICANÇO, M. C. **Produção de frutos de tomateiros em quatro sistemas de cultivo**. Ceres, Viçosa, v. 47, n.252, p. 130-141, 1997.

SILVA, F.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa: Arte e Livros, 2000.135p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

SILVEIRA, P. F. da; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 618-626, 2008.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6 ed. rev. ampl. Porto Alegre: UFSC, 2004. 1104 p.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, SPI; Rio de Janeiro: CTAA, 1995. 159p.

SOARES, R. D.; CHAVES, M. A.; SILVA, A. A. L.; SILVA, M. V.; SOUZA, B. S. Influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço

(*Ocimum basilicum* L.) com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1108-1113, 2007.

SOARES, S. P.; VINHOLISA, A. H. C.; CASEMIROA, L. A.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G.; Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odonto Ciência**, v. 23, n.2, p. 141-144, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. Laboratórios reforçam apostas no segmento fitoterápico. **Boletim eletrônico**, São Paulo, n. 1018, 2012. Disponível em: < <http://boletim.s bq.org.br/noticias/n400.php>>. Acesso em: 24 set. 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. **Química nova interativa**. [20--?]. [Informações sobre a área de química]. Disponível em: <qnint.s bq.org.br>. Acesso em: 03 jul. 2012.

SOUZA, E. L.; SILVA, C. A.; SOUSA C. P.. Bacteriocins: molecules of fundamental impact on the microbial ecology and potential food biopreservatives. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 4, p. 559-566, 2005.

SOUZA, T. P.; LIONZO, M. I. Z.; PETROVICK, P. R. Avaliação da redução da carga microbiana de droga vegetal através do processamento tecnológico: decocção e secagem por aspersão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p.94-98, 2006.

SREBERNICH, S. M. Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.4, p.744-750, 2007.

SUYENAGA, E. S.; RECHE, E.; FARIAS, F. M.; SCHAPOVAL, E. E.; CHAVES, C. G.; HENRIQUES, A. T. Antiinflammatory investigation of some species of *Mikania*. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 519-523, 2002.

TOFANELLI, M. B. D.; REZENDE, S. G. Sistemas de condução na produção de folhas de *ora-pro-nobis*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, p. 466-469, 2011.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894p.

VICENTE, E. C.; MAIA, E.; OLIVEIRA, P. S. Produção de plantas medicinais adubadas com torta de filtro. **Cesumar**, v.10, p. 7-12, 2008.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VOEKS, R. A.; LEONY, A. Forgetting the forest: assessing medicinal plant erosion in eastern Brazil. **Economic Botany**, v. 58, p. 294 - 306, 2004.

VON HERTWIG, I. F. **Plantas** aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem, comercialização. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414 p.

WANSER A. F.; MUELLER S.; BECKER W. F.; SANTOS J. P.; SUZUKI, A. Espaçamento entre plantas e cachos por haste no tutoramento vertical do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 565-570, 2009.

WANSER, A. F.; MUELLER, S.; BECKER, W. F.; SANTOS, J. P. Produção do tomateiro em função dos sistemas de condução de plantas. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p.238-243, 2007.

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W. S. M.; FÁVERO, M. L. D; CORRÊA JÚNIOR, C.; STREMEL, D. P. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 1, 2004.