

MAIARA CRISTINA GONÇALVES

**BENEFICIAMENTO PRIMÁRIO DE *Passiflora incarnata* L., PARA OBTENÇÃO DE
VITEXINA POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA EM
BOTUCATU (SP)**

Botucatu

2017

MAIARA CRISTINA GONÇALVES

**BENEFICIAMENTO PRIMÁRIO DE *Passiflora incarnata* L., PARA OBTENÇÃO DE
VITEXINA POR CROMATOGRAPHIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA EM
BOTUCATU (SP)**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Horticultura.

Orientador: Aloísio Costa Sampaio
Coorientador(a): Filipe P. Giardini

Botucatu

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

G635b Gonçalves, Maiara Cristina, 1987-
Beneficiamento primário de *Passiflora incarnata* L., para obtenção de vitexina por cromatografia líquida de ultra eficiência em Botucatu (SP) / Maiara Cristina Gonçalves. - Botucatu: : [s.n.], 2017
91 p.: il., color., grafs., tabs.

Dissertação(Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017
Orientador: Aloísio Costa Sampaio
Coorientador: Filipe Pereira Giardini Bonfim
Inclui bibliografia

1. Plantas Medicinais. 2. Passiflora - Pós-colheita. 3. Secagem. 4. Fragmentação. I. Sampaio, Aloísio Costa. II. Bonfim, Filipe Pereira Giardini. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

Ficha elaborada por : Maria Lúcia Martins Frederico - CRB-8:5255

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “BENEFICIAMENTO DE *Passiflora incarnata* L. PARA OBTENÇÃO DE VITEXINA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE UTRA EFICIÊNCIA EM BOTUCATU (SP)”

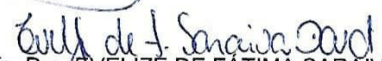
AUTORA: MAIARA CRISTINA GONÇALVES

ORIENTADOR: ALOISIO COSTA SAMPAIO

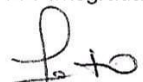
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ALOISIO COSTA SAMPAIO
Depto de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências - UNESP



Profa. Dra. EVELIZE DE FATIMA SARAIVA DAVID
./ Faculdade Integradas de Bauru



Profa. Dra. FÁTIMA CHECHETTO
Depto de Agronomia / Faculdade de Ciências Agrárias de Itapeva

Botucatu, 31 de agosto de 2017.

*Aos meus ancestrais,
À cultura popular,
Agricultura familiar e
Agroecologia
dedico*

AGRADECIMENTOS

À todos que contribuíram com a pesquisa e os ensinamentos que obtive durante o processo de formação de professores, agricultores e colegas de profissão.

Ao meu orientador Prof. Dr. Aloísio por me apoiar e estar sempre disposto a me ajudar, conversar me animando a seguir em frente.

À querida Profa. Dra. Terezinha de Fátima Fumis pelas orientações, ensinamentos, paciência, lenços, chás e abraços nos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. Filipe Giardini pela co-orientação e Prof. Dr. Lin Chau Ming pelas contribuições e apontamentos sobre os rumos do meu trabalho. Ao Departamento de horticultura pelas aulas e abertura para desenvolvimento do projeto na UNESP de Bauru.

À Profa. Dra. Anne Dokkedal e Prof. Dr. Luiz Leonardo Saldanha do laboratório de Química dos Produtos Naturais por me acolherem no laboratório e pela disposição e atenção comigo e minhas amostras.

À todos os produtores orgânicos e agroecológicos que conheci nesta jornada, principalmente o Sítio Dois Irmãos pela abertura e gentileza em todos os dias de campo, principalmente ao Piero, Alemão e Sr. João.

Aos colaboradores do IPMET e ao Gabriel pela montagem do termo-higrômetro e caronas para campo. Ao Giovani pela competência e delicadeza dos desenhos.

Ao Acir secretário da horticultura, bibliotecários e secretárias da pós-graduação pela dedicação ao trabalho sempre resolvendo facilmente minhas grandes dificuldades.

Às minhas mães (Maria Lucia da Cruz e Rubia Iacobucci) e avó Rita B. Nogueira por me guiarem nesta trajetória educacional me dando apoio incondicional e estando ao meu lado, mesmo longe, nos momentos que mais precisei, amo vocês.

Ao meu companheiro André Luiz Gobatto pelo amor, confiança e atenção. Por estar ao meu lado sempre. Agradeço pela prosa boa e por ser meu jardim.

À Jahbuticasa pela irmandade, agroecologia e abraços internos, externos e eternos.

À Casa Bananeira e a Família Silvestri tão amada e animada, pelos cuidados e risadas que e tornar meus dias muito mais alegres e saborosos. Com carinho especial aos queridos Paula Sivestri, Uids Evangelista e o pequeno Iori Sillvestri Evangelista, raio de sol das minhas manhãs.

À Luisa Lopes, Bárbara Lopes, Guilherme Francheschini pelas conversas e risadas que me ajudaram a não desistir dos meus objetivos.

Aos minhas amigas, mulheres fortes e corajosas intercambistas da pós-graduação, Gabriela Villamagua, Mariza Matsinhe e Meiling Li foi maravilhoso tê-las ao meu lado nesta etapa e aprender um pouquinho de cada cultura, para além de prazeroso e engraçado.

À vida e aos presentes que tenho recebido nesta jornada pelo mundo das plantas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro, concedido por meio de bolsa de Mestrado.

“Por um mundo onde sejamos socialmente iguais, humanamente diferentes e totalmente livres”.

Rosa Luxemburgo (1871-1919).

RESUMO

Objetivo da pesquisa foi avaliar o processo de beneficiamento primário de *Passiflora incarnata* realizado no município de Botucatu com a inclusão de um sistema de monitoramento da temperatura e umidade de baixo custo, por meio de um *software open-source* em um secador artesanal à lenha e a avaliação do processamento pós-colheita da biomassa de *P. incarnata*, quantificando teor de vitexina por CLUE-EM. O trabalho foi desenvolvido no sítio Dois Irmãos, entre as coordenadas geográficas, latitude 22°56'49,27" Sul e longitude 48°34'42,80" Oeste, aos 765 m de altitude no distrito de Rubião Júnior, bairro rural Chaparral. Acompanhou-se a colheita e o beneficiamento de *P. incarnata* durante dois anos (2015 e 2016). A metodologia utilizada foi a de observação direta. A estrutura do secador confeccionado pelo produtor familiar de alvenaria (barro-cimento), reutilizando uma construção que já existia na área. Para a avaliação do teor de vitexina foram escolhidos e marcados seis indivíduos de *P. incarnata* e coletados durante as três épocas de colheita de 2016 (abril, setembro e novembro) e três tratamentos prévios à secagem de fragmentação: parte aérea não fragmentada (NF); fragmentada média, de 1 cm a 5 cm (FM), e fragmentada pequena, abaixo de 0,5 cm (FP). As análises de CLUE-EM foram realizadas em espectrômetro de massas Accela (Thermo Scientific®) modelo LCQ Fleet com Ion Trap 3D via análise de injeção de fluxo (FIA) e ionização por eletronebulização com separações cromatográficas realizadas em coluna de fase reversa (C₁₈) e a fase móvel composta de uma mistura de MeOH:H₂O. A desidratação da parte aérea do *P. incarnata* ocorre, em média, durante cerca de 22 horas e meia, parando no período noturno por (11 horas) atingindo umidade relativa máxima de 73,8 % e mínima de 9,6 % e temperaturas máxima e mínima, respectivamente, de 53,5 e 20,9° C. Durante todo processo de desidratação o secador manteve a temperatura interna acima da temperatura do ambiente e a umidade relativa do ar abaixo da umidade do ambiente cumprindo sua função mesmo nos momentos que não foi alimentado por lenha. Apesar da grande variação nos teores de vitexina do tratamento não fragmentado e da segunda época de colheita e a média dos tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre os tipos de fragmentação pré-secagem e teores de vitexina, sendo a fragmentação recomendada para facilitar o processo de secagem da espécie.

Palavras-chave: Plantas Medicinais; Pós-colheita; Secagem; Fragmentação; CLUE-EM

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the process of primary processing of *Passiflora incarnata* in a low cost temperature and humidity monitoring system, which was carried out in Botucatu by means of an open-source software in a wood-fired drier and the evaluation of the post-harvest processing of the *P. incarnata* biomass by the vitexin content by UHPLC-MS with a data metabolic approach. The work was developed in Dois Irmãos, between the geographical coordinates, latitude 22°56'49.27 "South and longitude 48°34'42.80" West, at 765m altitude in the district of Rubião Júnior, rural district Chaparral. The experiment was conducted with different seasons of harvest and beneficiation of *P. incarnata* during two years (2015 and 2016). The methodology used was direct observation and photographic record. The structure of the dryer made by the producer was masonry (clay-cement), reused a construction that already existed in the area. Six individuals of *P. incarnata* were used to evaluate the vitexin content during the three harvest seasons in 2016 (april, september and november) and three treatments prior to fragmentation drying: non-fragmented aerial part (NF); Fragmented medium from 1 cm to 5 cm (FM) and small fragmented, below 0.5 cm (FS). The UHPLC-MS analysis was performed on an Accela mass spectrometer (Thermo Scientific ®) LCQ Fleet model with Ion Trap 3D via flow injection analysis (FIA) and electrospray ionization with reverse phase (C₁₈) column chromatographic separations and the mobile phase composed of a mixture of MeOH:H₂O. The dehydration of the shoot of the wild passion fruit occurred for twenty two and a half hours, the relative humidity reached at 73.8% (maximum) and 9.6% (minimum), the temperature kept between 53.5 and 20.9° C. With the dehydration process the internal temperature of dryer kept above of ambient temperature, while the air relative humidity stayed below of the ambient humidity, which guaranteed its function even without fueled by firewood accidentally.

Keywords: Medicinal plants; Post-harvest; Dryer; Fragmentation; UHPLC/MS.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Temperatura média diária (T), em °C, umidade relativa média diária (UR), em %, temperatura máxima e mínima (°C), umidade relativa máxima e mínima (%) e tempo médio de secagem do secador artesanal avaliado com termo-higrômetro produzido com software Arduíno.....	48
Tabela 2. Análise de macronutrientes do solo da área experimental, Sítio Dois Irmãos, Botucatu/SP (2016).....	71
Tabela 3. Análise de micronutrientes do solo da área experimental, Sítio Dois Irmãos, Botucatu/SP (2016).....	71
Tabela 4. Curva de calibração e dados de sensibilidade encontrados no padrão analítico da vitexina (Método Padrão Externo).....	79
Tabela 5. Teor de vitexina dos extratos da parte aérea de <i>P. incarnata</i> submetida a fragmentação pré-secagem (NF: não framentada, FM: fragmentada média (1 a 5 cm) e FP: fragmentada pequena (< 0,5 cm)) em três épocas de colheita por CLUE-EM.	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Projeção lateral com as dimensões externas da região de secagem com saídas de ar e porta (A) e região de fornalha (B) e planta baixa do secador artesanal,	35
Figura 2. Base física do Arduino e sensores instalados para medição das variáveis de temperatura e umidade em Botucatu/SP	36
Figura 3. Esquema do secador artesanal, a região do secador em que foram os tratamentos próxima a fornalha (PF) e distante da fornalha (DF), Botucatu/SP	38
Figura 4. Amostras dispostas dentro do secador para avaliação do teor de umidade de <i>P. incarnata</i> , Botucatu/SP	39
Figura 5. Colheita de <i>P. incarnata</i> em Botucatu/SP	43
Figura 6. Destaque da biomassa vegetal de <i>P. incarnata</i> recém colhida no Sítio Dois Irmãos, Botucatu/SP	43
Figura 7. Etapas pós secagem <i>P. incarnata</i> , ensacamento (A), pesagem lacre (B) e armazenamento (C) em Botucatu/SP	44
Figura 8. Termo-higrômetro instalado no Sítio Dois Irmãos, Botucatu/SP	45
Figura 9. Variação de temperatura do ambiente e do secador durante a desidratação de <i>P. incarnata</i> em Botucatu/SP	47
Figura 10: Variação de umidade (%) do ambiente interno e externo do secador durante a desidratação de <i>P. incarnata</i> em Botucatu/SP	49
Figura 11. Perda de água dos tratamentos PF (próximo a fornalha), DF (distante da fornalha) e ES (estufa) durante a desidratação das amostras em secador artesanal a lenha da parte aérea de <i>P. incarnata</i>	50
Figura 12. Regressão da perda da biomassa fresca das amostras próximo a fornalha (PF) e distante da fornalha (DF) em um secador artesanal a lenha em Botucatu/SP	51
Figura 13. <i>Passiflora incarnata</i> , com detalhes da flor: Pecíolo com glândulas (A), Brácteas (B), Filetes e Anteras (C), Ovário, Estiletes e Estigmas (D), Corona de filamentos (E) e disposição do aparelho reprodutor (F)	64
Figura 14. Face abaxial da folha e fases de desenvolvimento do fruto de <i>P. incarnata</i>	65

Figura 15. Tratamentos de processamento pré-secagem de <i>P. incarnata</i> : NF (não fragmentado), FM (fragmentação 1-5 cm) e FP (fragmentação < 0,5 cm). Detalhe do tratamento FM (A) e FP (B).....	73
Figura 16. Cromatograma analítico dos íons totais obtido por CLUE-EM para extrato de MeOH 85% (branco), vitexina comercial e amostra da parte aérea de <i>P. incarnata</i> com picos de vitexina (A) e isovitexina (B).....	77
Figura 17. Curva analítica obtida pelo método de calibração externa para a quantificação de flavonoides de <i>P. incarnata</i> utilizando padrão de vitexina.....	80
Figura 18. Boxplots dos teores de vitexina dos tratamentos (NF: não fragmentado, FM: fragmentada média de 1 a 5 cm e FP: fragmentada pequena < 0,5 cm) e épocas de colheita (1: abril, 2: setembro e 3: novembro).....	81
Figura 19. Boxplot dos teores de vitexina dos tratamentos (NF: não fragmentado, FM: fragmentada média de 1 a 5 cm e FP: fragmentada pequena < 0,5 cm) em relação a época de colheita (1: abril, 2: setembro e 3: novembro).....	82

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	15
LISTA DE TABELAS.....	17
LISTA DE FIGURAS.....	19
SUMÁRIO.....	21
INTRODUÇÃO GERAL.....	22
CAPÍTULO 1.....	26
Desempenho de um secador artesanal a lenha na desidratação de	
<i>Passiflora incarnata</i> L. cultivada em sistema orgânico.....	26
RESUMO.....	27
ABSTRACT.....	28
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA ESTUDADA.....	34
2.2. SECADOR ARTESANAL A LENHA.....	34
2.3. TERMO-HIGRÔMETRO.....	35
2.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE DA BIOMASSA.....	37
2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA DE TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA.....	40
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.1. COLHEITA E BENEFICIAMENTO.....	42
3.2. ESTUDO QUALITATIVO DO SECADOR A LENHA ARTESANAL.....	45
3.3. TEOR DE UMIDADE DA BIOMASSA.....	49
4. CONCLUSÃO.....	52
5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	53
CAPÍTULO 2.....	56
Influência do processamento pós-colheita e épocas de colheita no teor de	
vitexina de <i>Passiflora incarnata</i> L. por CLUE-EM.....	56
RESUMO.....	57
ABSTRACT.....	58
6. INTRODUÇÃO.....	59
7. MATERIAL E MÉTODOS.....	71
7.1. ÁREA DE ESTUDO.....	71
7.2. COLETA DE DADOS.....	72
7.3. PREPARO DOS EXTRATOS.....	73
7.4. CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS.....	74
7.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	75
8. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
8.1. ANÁLISE QUANTITATIVA DOS TEORES DE FLAVONOIDES.....	79
9. CONCLUSÃO.....	83
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
11. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90

INTRODUÇÃO GERAL

O panorama da cadeia produtiva de fitoterápicos no Brasil aponta que as últimas décadas foram um marco de divulgação e reconhecimento das substâncias bioativas oriunda dos vegetais. Nunca se teve no país tantos incentivos para produção de conhecimento científico, em diversas áreas, sobre este saber tão antigo que foi essencial para o desenvolvimento da espécie humana e da sociedade (LOURENZANI; LOURENZANI; BATALHA, 2004; NASCIMENTO; MALDONADO; ARNÓBIO, 2015).

A diversidade florística encontradas nos diferentes biomas brasileiros permitiu ao longo da ocupação do território popularização de uma infinidade de remédios caseiros para solucionar problemas de saúde e prevenir doenças, sua utilização depende da identificação correta da espécie da maneira de prepará-la, sendo as formas mais comuns em chás, macerados, sumos, xaropes e tinturas (ALMEIDA, 2006). Já os fitoterápicos, compreendidos como medicamentos produzidos exclusivamente com matéria-prima ativa vegetal, buscam aliar o conhecimento popular ao conhecimento científico promovendo produção industrial com alta tecnologia afim de garantir maior segurança, eficácia, dosagem correta, rastreabilidade dos medicamentos disponíveis no mercado (BRASIL, 2009)

Com 10 pouco mais de dez anos de implementação, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, tem instituído rumos para demandas econômicas e sociais tendo entre, outros objetivos, a inclusão efetiva ao Sistema Único de Saúde (SUS) e da agricultura familiar na cadeia produtiva, bem como a integração deste com os diversos elos que fazem parte da cadeia produtiva de plantas medicinais e fitoterápicos (OLIVEIRA; ROPKE, 2016).

Juntamente com a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares do SUS, o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), tem popularizado a fitoterapia entre profissionais da área da saúde, valorizando e ressignificando o uso de plantas e medicamentos fitoterápicos pela população. Pode se apontar a implementação das Farmácias Vivas como uma maneira de devolver a ciência das plantas medicinais para a comunidade, criando um norte para o desenvolvimento de cadeias produtivas locais (BRASIL, 2006a; BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012; DE ABREU MATOS, 2006; DE FIGUEREDO; GURGEL; GURGEL JUNIOR, 2014).

Com o intuito de orientar estudos e o cultivo das espécies com propriedades bioativas, foi desenvolvida uma Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao SUS (RENISUS), que abrange 74 espécies com potencial de avanço e de desenvolvimento da cadeia produtiva que gere produtos para rede pública de saúde DE SOUZA (BRASIL, 2009).

Uma das espécies citadas na lista é o maracujazeiro-silvestre (*Passiflora incarnata* L.), principal espécie do gênero conhecida e estudada mundialmente devido seu efeito tranquilizante do sistema nervoso, diminuindo sintomas de ansiedade, estresse e distúrbios do sono. Efeitos relacionado ao alto teor de flavonoides presentes em toda a planta, principalmente na parte aérea (CAMPOS, 2015; PATEL et al., 2011).

As espécies mais importantes de *Passiflora* cultivadas nacionalmente são as que produzem frutos comerciais como *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* DEG, também indicada na lista da RENISUS como medicinal (BRASIL, 2009; COSTA; COSTA, 2005). Por não ser uma espécie utilizada com esse fim, são escassos os trabalhos que descrevam o processo de cultivo e pós-colheita de *P. incarnata* no país, sabendo-se pouco sobre sua adaptação, comportamento fisiológico e fitoquímico (CAMPOS. Entretanto o da fato da espécie ser a *Passiflora* mais identificada em formulações de fitoterápicos comercializados nacionalmente ter o cultivo ainda incipiente, demonstra um gargalo da cadeia produtiva, corroborando com a importância do fomento à produção nacional de plantas medicinais (NASCIMENTO; MALDONADO; ARNÓBIO, 2015; ORTEGA et al., 1989).

O PNPMF destaca também, a atuação da agricultura familiar como ideal para produção de insumos farmacêuticos de origem vegetal, oferecendo muitos ganhos para o crescimento de pequenas produções. Historicamente a concepção de agricultura familiar passou por diversas transformações, adaptando-se as mudanças ocorridas no ambiente rural e buscando estratégias de sobrevivência frente ao modelo imposto pelo agronegócio. Atualmente, a mesma é reconhecida como a responsável pela maior parte da produção de alimentos, que fazem parte da mesa dos brasileiros diariamente e tem se fortalecido coletivamente para solucionar as dificuldades do acesso à tecnologia e conhecimento técnico (ALTAFIN, 2007; BRASIL, 2016).

A colheita e procedimentos de pós-colheita são consideradas as fases mais delicadas para os produtores, por ser o momento em que mais se manuseia a matéria-

prima demandando certa agilidade e tecnologia para seu desenvolvimento satisfatório (MARQUES, 2009).

A secagem da matéria-prima vegetal deve ser monitorada, avaliando se a temperatura e a umidade durante o processo é adequada a espécie de interesse. Este processo é de suma importância para uma diminuir, de maneira eficaz, a atividade enzimática (DE OLIVEIRA, 2011). Indica-se que a planta a ser seca deva estar previamente limpa, livre de contaminantes ou que passe por um processamento para facilitar a secagem, como a fragmentação, que promoverá a desidratação homogênea da biomassa (CORRÊA JUNIOR; SCHEFFER, 2013).

O acesso de agricultores e agricultoras familiares a tecnologias recentes com este fim ainda é pequeno, principalmente por estas não serem adaptáveis às características sociais e econômicas do grupo fazendo com que estes tenham que desenvolver suas habilidades usando a criatividade para a construção de seus secadores (DAGNINO, 2004; MARQUES, 2009). O uso de *softwares open-source* são uma fonte inesgotável de soluções para o desenvolvimento de tecnologias sociais com inovações, robustez e automação dos processos desenvolvidos de forma autônoma produzidos a baixo custo em relação aos produtos comerciais (BARRETTO; PIAZZALUNGA, 2012; DE SOUZA et al., 2011; TORRES et al., 2015).

O controle de qualidade da biomassa vegetal após a colheita pode ser feito através de técnicas físico-químicas de separação de substâncias como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a mais difundida nas últimas décadas. Existem muitas variações do método, que é utilizado de acordo com a mistura a ser examinada, podendo variar o tipo de coluna, sistemas de injeção mais rápidos e detectores acoplados (FUNARI et al., 2013).

Entre as tecnologias disponíveis, existem as que possibilitam maior sutileza, resolução para identificação e quantificação de diversos compostos bioativos na mesma amostra, o que favorece o conhecimento maior sobre a espécie e ampara o uso holístico dos medicamentos fitoterápicos, além de apresentarem menor tempo de avaliação e que também promover a diminuição de resíduos ambientais, tornando o procedimento de análise fitoquímica, realizada por vezes com substâncias tóxicas, parte do processo de sustentabilidade do produto (MALDANER; JARDIM, 2009; WOLFENDER et al., 2013).

Com o uso de pequenas partículas porosas ($\leq 2 \mu\text{m}$) na fase estacionária e volumes de amostras, submetidos a altas pressões e velocidades lineares, a cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) pode aumentar a detectabilidade, eficiência e a resolução de análise. O uso de CLUE acoplada a espectrometria de massas (CLUE-EM), já está arraigado sendo empregada diversas áreas, com equipamentos com capacidade de trabalhar com baixos tempos de residência, de troca de canal e troca de varredura que conceda a quantidade suficiente de pontos para construção dos picos cromatográficos (MALDANER; JARDIM, 2012).

Desta forma, o objetivo geral do presente trabalho é elucidar um estudo de caso sobre o beneficiamento primário de *Passiflora incarnata* na cidade de Botucatu, interior de São Paulo, acompanhando o processo de secagem dos produtores familiares participantes do arranjo produtivo local de plantas medicinais, por meio da implantação de um termo-higrômetro digital de baixo custo desenvolvido com tecnologia *open-source* e avaliação do teor de vitexina por CLUE-EM de exemplares da espécie submetidos a técnica de fragmentação da biomassa pré-secagem em três colheitas.

CAPÍTULO 1

Desempenho de um secador artesanal a lenha na desidratação de *Passiflora incarnata* L. cultivada em sistema orgânico

RESUMO

O trabalho teve como objetivo relatar o processo de beneficiamento primário de *P. incarnata* a fim de avaliar as oscilações da temperatura, umidade relativa do ar e da perda de água da massa vegetal nas diferentes regiões de um secador a lenha artesanal. O estudo foi realizado no sítio Dois Irmãos, localizado entre as coordenadas geográficas, latitude 22°56'49,27" Sul e longitude 48°34'42,80" Oeste. A colheita e o beneficiamento primário de *P. incarnata* foi acompanhado durante dois anos (2015 e 2016) através da observação direta e registro fotográfico. Um modelo de termo-higrômetro confeccionado a partir da plataforma livre Arduíno, com sensores internos e externos ao secador para avaliar as variações de temperatura e umidade durante a secagem do mês de novembro de 2016. A desidratação da parte aérea de *P. incarnata* ocorre, em média, durante cerca de 22 horas e meia, sendo 11 horas de secagem ativa com a queima de madeira e o restante do tempo é em decorrência a pausa noturna sem adição de lenha na fôrnalha, notou-se que material continuou aquecido e perdendo massa durante a noite. O secador atingiu umidade relativa máxima de 73,8% e mínima de 9,6% e temperaturas máxima e mínima, respectivamente, de 53,5 e 20,9° C. A regressão apontou que a perda de peso das amostras foi constante e linear, sendo que o tratamento distante da fôrnalha apresentou R^2 menor que o tratamento próximo a fôrnalha. O protótipo utilizado gerou interesse dos agricultores, sendo então desenvolvido um modelo para auxiliar a aferir as temperaturas indicadas para a espécie em estudo, o mesmo apresenta dois sensores para detecção das variáveis, programação sonora e pode ser facilmente reproduzido a partir de conhecimentos básicos de programação, de maneira livre e a baixo custo.

Palavras-chave: Agricultura Familiar; Arduíno; Plantas Medicinais

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of temperature, relative air humidity and water loss of the vegetal mass on primary processing of *P. incarnata* with an artisanal firewood dryer in different regions. The study was carried out in Dois Irmãos, which located in latitude 22°56'49.27 "South and longitude 48°34'42.80" West. Three harvests of primary processing of *P. incarnata* were monitored in 2015 and 2016 through direct observation and photographic record. A thermohygrometer model made from free Arduino platform, with internal and external sensors to the dryer to monitor the temperature and humidity variations during the drying process in November of 2016. The dehydration of the aerial part of *P. incarnata* occurred for twenty-two hours, which was executed drying with wood burning, and the rest of night during the process without addition of wood in the furnace, we noticed that the material remained being heated and kept lost of mass at night. The maximum relative humidity of dryer reached at 73.8% and 9.6% at minimum, and the maximum and minimum temperature kept at, 53.5 ° C and 20.9 ° C, respectively. The regression indicated that the weight loss of samples was constant and linear, which the treatment of far from the furnace presented R^2 was smaller than the treatment near the furnace. The prototype gained interest of farmers, and the model was then developed to verify the indicated temperatures for the species under study, which presented two sensors for the detection of the variables, sound programming can be easily reproduced from basic programming knowledge, in a way of low cost or for free

Keywords: Family farming; Arduino; Medicinal plants

1. INTRODUÇÃO

Das ervas místicas utilizadas por raizeiros, pajés e benzedeiras aos medicamentos fitoterápicos, o uso do reino vegetal para o tratamento de doenças tem uma relação intrínseca com a cultura, ecologia, religiosidade e o desenvolvimento de diversos grupos étnicos nacionais. As plantas com fim medicinal nunca foram tão valorizadas quanto nas últimas décadas no país, crescendo os incentivos para a produção ou extrativismo sustentável, através da agricultura familiar e disponibilidade de conhecimento científico interdisciplinar sobre espécies nativas e adaptadas (ALMEIDA, 2003; BRASIL, 2006a).

A agricultura familiar representa a maioria dos produtores rurais do Brasil, cerca de 84% do total de agricultores. Estes ocupam 24,3% das terras disponíveis para estabelecimentos agropecuários chegando a empregar cerca de 12,3 milhões de pessoas no campo, apesar do pequeno espaço ocupado pelos empreendimentos familiares, estes são os principais responsáveis pelo abastecimento de alimentos no mercado interno sendo seu produto alinhado as necessidades da população (IBGE, 2006).

De caráter múltiplo, a agricultura familiar é composta por diversos grupos que apresentam características peculiares em cada região, pequenos e médios detentores de terras de até quatro módulos fiscais que mantêm a cultura da vida no campo viva, se adaptando as mudanças tecnológicas e ecológicas ocorridas principalmente no fim do século XX (MOREIRA, 2013).

Em busca de sistemas agrícolas mais sustentáveis, produtores, pesquisadores e profissionais passaram a considerar a complexidade do agroecossistema, não somente no aspecto econômico, mas também em seus aspectos ecológicos e sociais, respeitando suas diferenças culturais (AMOROZO, 2013).

Entre as diversas formas de agricultura de base ecológica somente a agricultura orgânica apresenta legislação específica, caracterizando técnicas específicas de otimização de recursos naturais e socioeconômicos disponíveis, empregando métodos biológicos e mecânicos em detrimento de materiais sintéticos, organismos geneticamente modificados e radiação ionizante, em qualquer parte do processo de produção, valorizando a integridade cultural das comunidades rurais, tendo como propósito a sustentabilidade econômica e ecológica (BRASIL, 2003).

Nesse setor a horticultura orgânica é a atividade produtiva que mais cresce, essencialmente pelo aumento significativo de consumidores nos últimos anos, devido ao

maior fluxo de informações sobre saúde, nutrição e impactos ambientais, causados pela agricultura convencional. Produtos orgânicos como frutas, hortaliças e plantas condimentares e medicinais podem ser encontradas em feiras livres e em grandes redes de supermercados, de maneira processadas ou *in natura* (SEDIYAMA; DOS SANTOS; DE LIMA, 2015).

O cultivo orgânico é o mais adequado para produção de plantas medicinais, por apresentar técnicas que não modificam a composição dos princípios ativos de interesse, mantendo relações ecológicas ideais para o desenvolvimento de metabolitos secundários e sem resíduos tóxicos que possam prejudicar os usuários. Além disso, é ideal para produção em pequenas e médias escalas, permitindo lucro por ser praticada a baixos custos (CORRÊA JUNIOR; SCHEFFER, 2013). Contudo, a maior parte das espécies medicinais disponíveis para comercialização é de origem extrativista, fato que dificulta a rastreabilidade da matéria-prima e que gera pressões ecológicas sob as vegetações nativas (BARATA, 2005).

De acordo com o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos deve-se estabelecer um mecanismo de incentivo para o desenvolvimento sustentável desta cadeia produtiva, com a inserção da agricultura familiar e formação técnico-científica que contribua com a promoção de boas práticas de cultivo, manipulação e produção de plantas medicinais (BRASIL, 2009).

Entre as espécies do gênero *Passiflora* a espécie *Passiflora incarnata* é a mais indicada para uso medicinal em farmacopeias do mundo todo. Popularmente é indicada como calmante, ansiolítico e sedativo leve, apesar de não se conhecer qual ou quais substâncias são responsáveis pelo efeito calmante, credita-se ao seu valor medicinal ao alto teor de flavonoides presentes em toda a planta, principalmente na parte aérea (DHAWAN; KUMAR; SHARMA, 2001; MASTEIKOVA et al., 2008). Também é indicada para o tratamento de ansiedade, deficit de atenção, aliviar os sintomas de abstinência do tabagismo, alcoolismo, nevralgias, insônia, eripsela e menopausa (GOSMANN et al., 2011; PATEL et al., 2009).

Como outros insumos vegetais do setor farmacêutico brasileiro a *P. incarnata* é pouco cultivada no país, apesar de ser a espécie de maracujazeiro mais utilizada em fitoterápicos nacionais, sendo escassos estudos sobre seu cultivo, pós-colheita e beneficiamento (CAMPOS, 2015; REIMBERG; COLOMBO; YARIWAKE, 2009). Para o maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims) encontram-se trabalhos relacionadas a

temperatura de secagem de diversas partes que são utilizada da planta como as folhas, casca, polpa e sementes (AMBEKAR; GOKHALE; LELE, 2013; CARLESSO et al., 2008; DEUS, 2011; OLIVEIRA, 2011).

Para assegurar à conservação da qualidade das técnicas de cultivo as plantas medicinais precisam passar por um beneficiamento ainda na propriedade agrícola, com procedimentos de pré-limpeza, secagem e em alguns casos pós-secagem (BRASIL, 2006b).

Após a colheita as principais atividades são a secagem e o armazenamento, nestas ocorrem maior contato direto e manejo da biomassa fresca pelo agricultor demandando maiores cuidados (TONIN, 2010).

Para manter íntegro por mais tempo os teores de princípio ativo, na espécie de interesse, é necessário diminuir ao máximo os teores de água da biomassa vegetal. O processo de desidratação envolve troca simultânea de calor e de massa, diminuindo a disponibilidade de água livre nos tecidos vegetais e também reduzindo a atividade enzimática, o crescimento microbiano e decomposições físico-químicas das moléculas bioativas (DE OLIVEIRA, 2011; PACHÚ, 2007).

A desidratação de plantas medicinais, aromáticas e condimentares por muito tempo foi feita a partir dos métodos de ventilação natural em que a biomassa ficava exposta à ação do sol e do vento, no campo ou em locais sombreados. Hoje em dia, os métodos artificiais, mesmo com alto custo, são considerados mais eficientes, principalmente, para secagem em larga escala por altas ou baixas temperaturas (MARCHESE; FIGUEIRA, 2005).

Industrialmente a escolha por um secador é feita a partir da análise do processo em que está inserida a etapa de secagem, incluindo informações sobre o produto final e sobre a matéria-prima utilizada, estabelecendo um roteiro ou fluxograma com questionamentos que direcionam o equipamento mais apropriado para cada situação (ALONSO; PARK, 2005; PARK et al., 2007). Entretanto, para muitos agricultores as informações e equipamentos sobre a secagem de plantas medicinais são escassos, além disso, as tecnologias disponíveis muitas vezes são inadequadas à realidade e incompatíveis financeiramente. Esta situação promove uma série de estratégias por parte dos produtores para beneficiarem sua mercadoria muitas vezes esbarrando em

dificuldades impostas pela tecnologia convencional para aperfeiçoar o processo de desidratação, já que estas são feitas para suprir o consumo de grandes empreendedores (MARQUES, 2009).

Adaptadas ao reduzido tamanho físico e financeiro, como no caso de agricultores familiares, o conceito de tecnologias sociais busca ser não discriminatório, orientado por um mercado interno de massa, visa libertar o potencial e a criatividade de quem produziu apoiado no conhecimento científico e tecnológico afim de promover a melhoria da qualidade de vida de comunidades (BARRETTO; PIAZZALUNGA, 2012; DAGNINO, 2004).

As plataformas abertas de desenvolvimento são uma maneira de adaptar e disponibilizar tecnologias recentes de baixo custo para diversas áreas de conhecimento, tendo como diferencial o uso de maneira *open-source*, onde uma comunidade de usuários *online* produz e aperfeiçoa constantemente seus projetos para estas plataformas, divulgando-os livremente, a partir de tutoriais e fóruns de discussão na internet sobre a sua utilização e programação (DA FONSECA; ALEXANDRE, 2011).

Um microcontrolador é compreendido como a evolução de um microprocessador, ampliado com sistemas de temporização, aquisição e de comunicação em um mesmo circuito integrado. O Arduíno é uma plataforma de prototipagem eletrônica *open-source* muito utilizadas atualmente, criada em 2005, tinha objetivo de ser utilizada em atividades educacionais de interação, foi produzido para desenvolver objetos interativos, por meio de sensores, chaves e outros atuadores utilizados como forma de interação no mundo físico (GONZAGA, 2015).

Apesar da importância do processo de desidratação para a manutenção da qualidade e estabilidade da matéria vegetal fazer parte do beneficiamento primário, observa-se que as opções de equipamentos e tecnologias disponíveis não estão acessíveis para os principais usuários, produtores e extrativistas da agricultura familiar, tornando-se necessárias intervenções coletivas para adaptação de tecnologias livres e acessíveis para o grupo (MARQUES, 2009).

Assim, o objetivo geral foi descrever o processo de beneficiamento primário de *P. incarnata* a fim de contribuir com o conhecimento local e avaliar as oscilações da temperatura, umidade relativa do ar e da perda de água da massa vegetal nas diferentes

regiões de um secador a lenha artesanal através da implantação de um termo-higrômetro com a plataforma livre Arduino.

2. MATERIAL E MÉTODOS

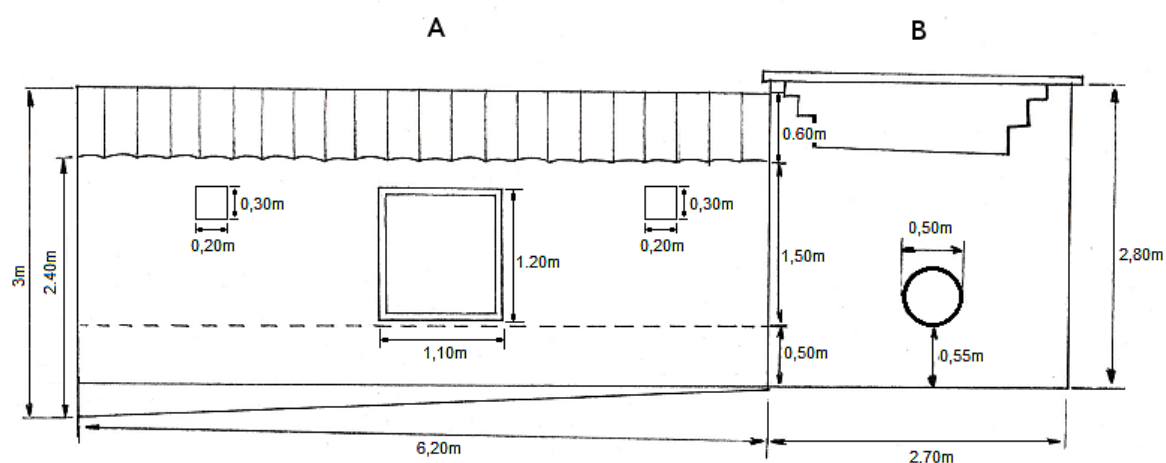
2.1. Caracterização da área estudada

A área em estudo está localizada no sítio Dois Irmãos, entre as coordenadas geográficas latitude 22°56'49,27" Sul e longitude 48°34'42,80" Oeste, aos 765 m de altitude no distrito de Rubião Júnior, bairro rural Chaparral. A classificação climática definida pelo método de Köppen como Cfa, o clima é caracterizado como temperado quente (mesotérmico) e úmido, com pequena deficiência hídrica (nos meses de abril, julho e agosto) sendo a temperatura média do mês mais quente superior a 22 °C (DA CUNHA; MARTINS, 2009).

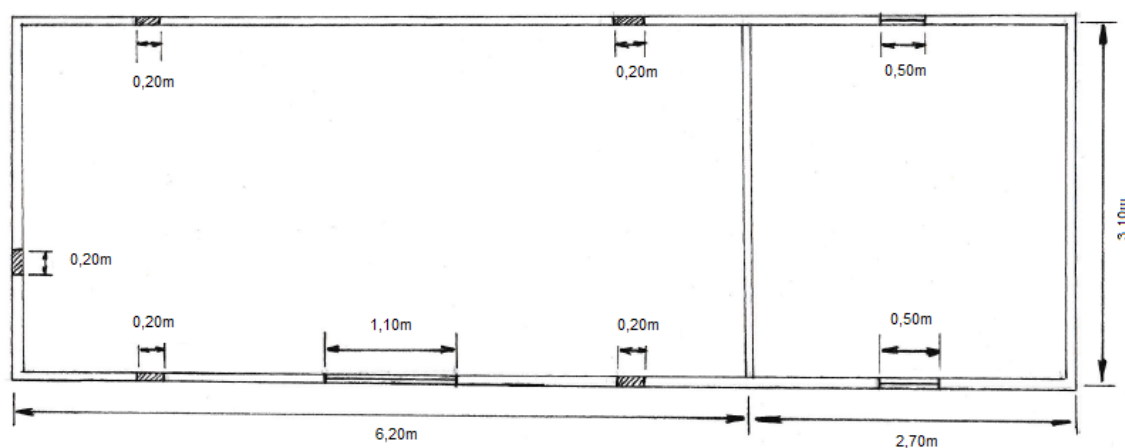
Acompanhou-se a colheita e o beneficiamento de *P. incarnata* durante dois anos (2015 e 2016), através de observações diretas, ou seja, observações e registro livre dos fenômenos em campo, que consistiram em: descrição da rotina do informante durante todo o processo de pós-colheita de *P. incarnata*, através dos registros fotográficos e da descrição de cada etapa.

2.2. Secador artesanal a lenha

O secador existente na propriedade foi confeccionado pelo produtor, de alvenaria (barro-cimento), com área total de 26,70 m², incluindo uma estrutura de apoio de malha a 0,50 m do chão e uma fornalha alimentada por lenha de eucalipto com chaminé e ventilador que separam o ar quente da fumaça. Maiores detalhes das diferentes partes do secador podem ser observados na Figura 1.



Planta baixa



Área do secador: 18,60m²

Área do forno: 8,10m²

Área total: 26,70m²

Figura 1. Projeção lateral com as dimensões externas da região de secagem com saídas de ar e porta (A) e região de fornalha (B) e planta baixa do secador artesanal.

2.3. Termo-higrômetro

Um modelo de termo-higrômetro foi produzido pensando no contexto socioeconômico dos produtores de *P. incarnata* da região buscando adaptar as necessidades destes produtores e ser reproduzível. O equipamento foi utilizado para avaliar a temperatura e umidade do secador e do ambiente do entorno durante a

desidratação da massa fresca da colheita de outubro de 2016. O protótipo foi construído com auxílio técnico do Instituto de Pesquisas Meteorológicas (IPMet) FC/ UNESP/ Bauru/ SP e por um aluno de graduação do curso de Meteorologia, da mesma unidade, utilizando a plataforma de computação física do Arduino, que foi escolhida por ser uma plataforma livre que pode possibilitar a inclusão de diversos softwares a medida que for necessário para facilitar o controle das variáveis do secador.

Os sensores de temperatura e umidade relativa do ar foram instalados externamente, a dois metros e meio do solo, juntamente com a plataforma física do Arduino, distante cinco metros do secador (Figura 2) e internamente os sensores foram distribuídos próximo ao telhado do secador, a um metro e meio da biomassa a ser seca. As leituras dos sensores foram obtidas a cada cinco segundos, e gravadas num cartão de memória, através da transformação dos níveis de tensão em valores de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar (%), estes foram armazenados em planilhas eletrônicas (THOMAZINI, 2015).



Figura 2. Base física do Arduino e sensores instalados para medição das variáveis de temperatura e umidade em Botucatu/SP

2.4. Determinação do teor de umidade da biomassa

Durante a secagem de *P. incarnata*, no mês de novembro de 2016, foram avaliados os teores de umidade das folhas de *P. incarnata*, com auxílio do termo-higrômetro que foi implantado, mantendo-se a temperatura controlada entre 50 e 60 °C $\pm$ 3 °C.

Foram utilizadas seis repetições para cada tratamento, designado pela região do secador: próximo da fôrnalha (PF) e distante da fôrnalha (DF), com aproximadamente 100 gramas de biomassa fresca em sacos de papel pardo espalhados em cada lado do secador (Figura 3). Para comparação a secagem também foi avaliada em estufa elétrica de bandejas no laboratório a 60°.

As medições foram realizadas com auxílio de uma balança semi-analítica digital (SHIMADZU, UX series) a cada 30 minutos nas primeiras 5 horas, pausando durante o período noturno e retornando, após 13 horas, no período matutino a cada uma hora, até o momento em que os produtores a caracterizavam o material como seco (folhas e galhos quebrando facilmente) (MARTINS et al., 2002; THOMAZINI, 2015) (Figura 4).

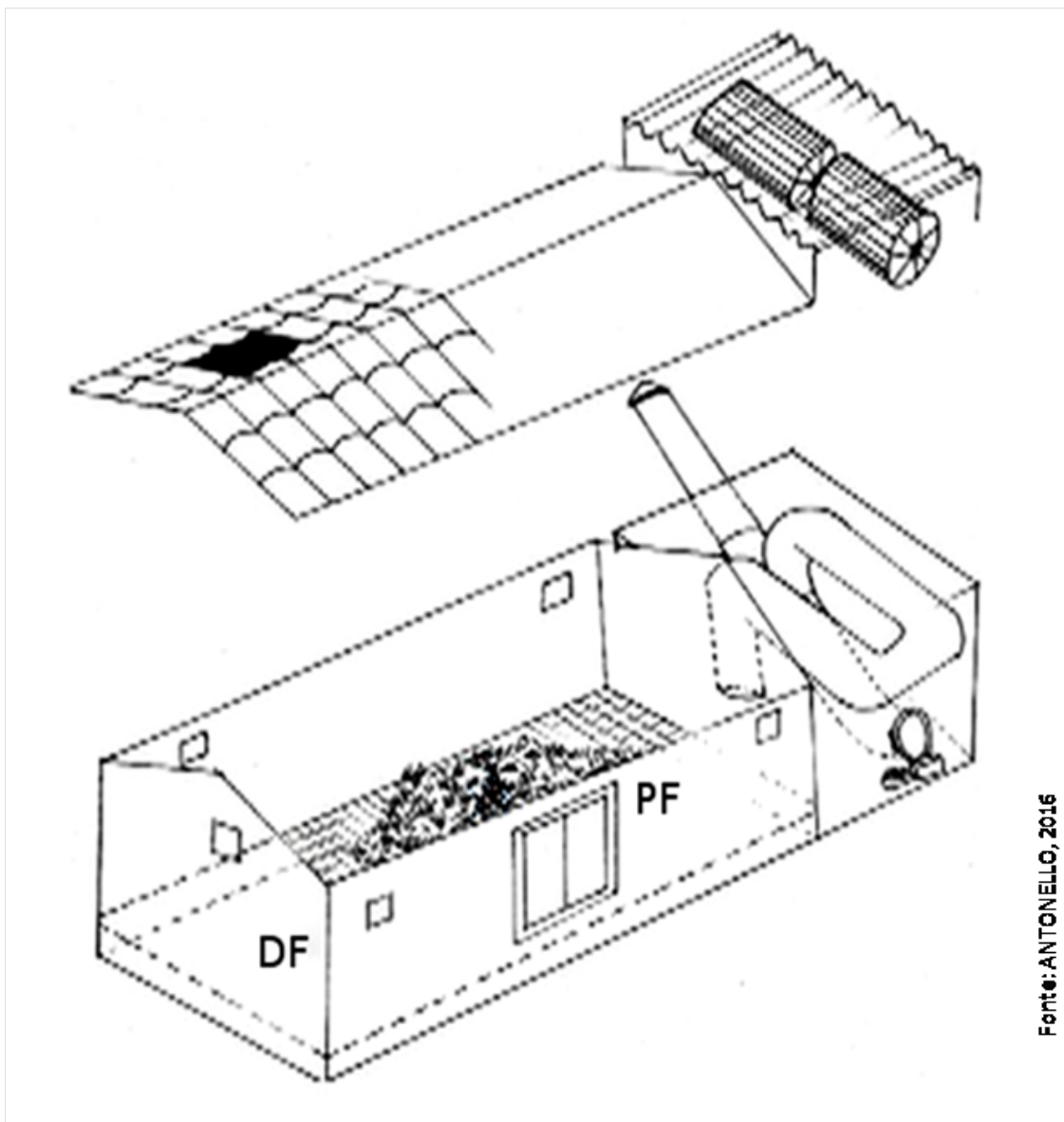


Figura 3. Esquema do secador artesanal, a região do secador em que foram os tratamentos próxima a fornalha (PF) e distante da fornalha (DF). Botucatu/SP



Figura 4. Amostras dispostas dentro do secador para avaliação do teor de umidade de *P. incarnata*, Botucatu/SP

Para a determinação do teor de umidade de *P. incarnata* foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\% \text{ b.s.} = \left(\frac{ma}{ms} \right) * 100 \quad (3)$$

Onde % b.s. é a porcentagem da umidade em base seca, *ma* é a massa de água (peso inicial- peso final) e *ms* é massa seca.

Para avaliar a diferença nas médias dos pesos ao longo da secagem entre os tratamentos, os dados foram submetidos a um teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney (Teste U). Também foi realizada uma análise de regressão afim de apontar a relação entre a variável independente (peso) e variável resposta (tempo) (ZAR, 1999). Todos os testes foram realizados em nível de significância de 5%.

O gráfico de perda de água em relação ao tempo (% b.s.), as análises e equações de regressão foram realizados com auxílio do programa Libreoffice Calc 5.0.

2.5. Análise estatística de temperatura e umidade relativa

A partir dos dados de duas secagens, foram construídos gráficos de temperatura e umidade relativa do secador e do ambiente através dos dados recolhidos a cada cinco segundos e das médias da temperatura em cada hora (THOMAZINI, 2015).

Os dados foram organizados em tabelas expondo as porcentagens de temperatura e umidade máxima e mínima registradas pelo termo-higrômetro no secador artesanal (BEKKIOU et al., 2009; THOMAZINI, 2015).

Para a medição da temperatura média e umidade relativa do ambiente foi utilizado o método de poucas observações recomendado pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), designado temperatura e umidade relativa do ar média compensada (RAMOS; FORTES, 2009):

$$T_{med} = \frac{T_{12h, k} + 2T_{24h, k} + T_{max, k} + T_{min, k}}{5} \quad (1)$$

$$UR_{med} = \frac{UR_{12h, k} + UR_{18h, k} + 2UR_{24h, k}}{4} \quad (2)$$

Onde:

k = dia em que foi realizada a secagem.

Tmed/ UR med= temperatura e umidade relativa média do dia

t12h/ UR 12h= temperatura e umidade relativa as 12 h

t24h/ UR 24h= temperatura e umidade relativa as 24 h

tmax/ UR max= temperatura e umidade relativa máxima obtida no dia

tmin/ UR min= temperatura e umidade relativa mínima obtida no dia

A fim de adquirir também uma medida única diária das variáveis analisadas no secador, de maneira mais fiel ao observado, foram calculadas, inicialmente a temperatura e umidade relativa máximas, médias e mínimas diárias. A partir da diferença entre máximas e mínimas originou-se as variáveis ΔT e ΔUR que são, respectivamente, à variação da temperatura e da umidade relativa ao longo do dia (THOMAZINI, 2015).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Colheita e Beneficiamento

A época de colheita de *P. incarnata* no município de Botucatu ocorre nos meses de abril, outubro e novembro. Em uma área de 1,4 ha cultivados, em 2015 (três colheitas) a propriedade Dois Irmãos comercializou cerca de 450 g/m² de biomassa seca para a indústria. Este valor é bem maior que o obtido por Tonin (2010) no cultivo de estacas de raiz de *P. incarnata*, mas similar aos rendimentos descritos no cultivo da espécie em Cuba (FUENTES FIALLO et al., 2000). Os motivos do sucesso apontado pelo produtor foram a adaptação das plantas ao ambiente, com baixa incidência de pragas e a mão de obra especializada para manutenção, colheita e secagem. A mão de obra empregada é sempre as mesmas a cerca de quatro, deve-se ressaltar que a experiência com o cultivo faz a diferença na qualidade do produto final.

As colheitas foram realizadas no período matutino, manualmente, com auxílio de foices (Figura 5). Durante o processo de colheita foi efetuada a separação de outras espécies que eventualmente não foram eliminadas na capina seletiva, sendo a espécie mais observada o picão-preto (*Bidens pilosa* L.). Após o corte, rente ao solo, a parte aérea era imediatamente colocada sobre uma lona 5x10 m (Figura 6), sendo que em média por manhã eram colhidas um total de três a cinco lonas, que após a desidratação totalizaram cerca de 90 kg de biomassa vegetal seca de *P. incarnata* por dia de trabalho. O uso da lona para evitar o contato da biomassa recém colhida com o solo é um cuidado importante para manter a qualidade do produto que será comercializado evitando contaminação microbiana oriunda de partículas de terra (CORRÊA JUNIOR; SCHEFFER, 2013).



Figura 5. Colheita de *P. incarnata* em Botucatu/SP



Figura 6. Destaque da biomassa vegetal de *P. incarnata* recém colhida no Sítio Dois Irmãos, Botucatu/SP

Ao final do período matutino a massa fresca era levada para a desidratação, sendo acomodada no secador formando uma camada com cerca de 20 cm de altura. O período de secagem duravam em média 22 horas e meia. O secador era alimentado, manualmente, por lenha durante pouco mais de 11 horas. Durante o processo a biomassa era revolvida somente uma vez, encerrando a secagem quando as folhas apresentavam aspecto quebradiço. Em um estudo com produtores de carqueja (*Baccharis* sp) do Sul do país verificou-se que produtores com tecnologias mais desenvolvidas relatavam tempos mais longos de secagem, de 2 a 25 h, enquanto os que apresentavam tecnologias menos desenvolvidas tinham período de secagem entre 2 a 5 horas (CARDON; DE CARVALHO, 2005).

Ao fim a biomassa seca foi ensacada em sacos duplos (preto e de rafia), pesada, os sacos imediatamente costurados e armazenados em um galpão arejado, sem incidência de luz solar direta, sob paletes distante da parede e da umidade (Figura 7). As informações de peso, lote, data da colheita são marcadas em uma etiqueta com o nome da espécie e local de cultivo para controlar a rastreabilidade do produto a ser comercializado.



Figura 7. Etapas pós secagem *P. incarnata*, ensacamento (A), pesagem lacre (B) e armazenamento (C) em Botucatu/SP

3.2. Estudo qualitativo do Secador a lenha artesanal

A incorporação da leitura do termo-higrômetro na rotina de desidratação necessária para manter a constância das variáveis e a qualidade na matéria-prima colhida, assim a partir do protótipo desenvolvido para análise da temperatura e umidade foi produzido um modelo para auxiliar a aferir as temperaturas indicadas para a espécie no Sítio Dois Irmãos (Figura 8), o modelo apresenta dois sensores para detecção das variáveis e programação sonora caso ultrapasse 60°C. Este pode ser facilmente reproduzido a partir de conhecimentos básicos de programação, de maneira livre e a baixo custo.



Figura 8. Termo-higrômetro instalado no Sítio Dois Irmãos, Botucatu/SP

A busca pela sustentabilidade ecológica, social e econômica na transição agroecológica compreende também garantir autonomia na produção, fácil acesso e a troca de informações e conhecimento de maneira livre, neste contexto as tecnologias devem se adaptar as necessidades locais sendo implementadas para a resolução de problemas comuns aliando a tecnologia ao conhecimento popular em proporcionando desenvolvimento social (BARRETTO; PIAZZALUNGA, 2012; BAUMGARTEN; CATTANI; HOLZMANN, 2006).

A escolha do tipo de secagem é algo particular de cada produtor familiar, variando de acordo com a necessidade, conhecimento e valor relacionado ao princípio ativo de interesse (Figura 9). Raizeiros de Estado do Alagoas, caracterizados socialmente como

um grupo de baixa escolaridade e renda, utilizam técnicas tradicionais para secagem das plantas, a sombra ou diretamente ao sol, muitas vezes secas nas próprias barracas onde são comercializadas aplicando as técnicas aprendidas com os pais e avós (ARAÚJO et al., 2009).

Foi verificado um grande interesse em aperfeiçoar gradativamente o processo de secagem de *P. incarnata* pelos produtores por ser um processo moroso e que demanda uma série de cuidados. Como também descrito na região Sul, produtores de plantas medicinais utilizam inicialmente locais de âmbito domésticos para realização da secagem da biomassa, como fogões a lenha da própria cozinha e ventiladores domésticos, mas com o tempo e retorno do investimento tratavam de fazer melhorias no processo. Utilizando secadores de bandeja móveis, a lenha, com sistema de corrediças com rodas que permite a saída e entrada dessas para fora do secador e termostato para controle da temperatura (MARQUES, 2009).

As secagens avaliadas foram similares, assim os resultados apresentados na Figura 9 e Figura 10 são referentes o valor médio obtido nas duas desidratações de *P. incarnata*. A biomassa entrava no secador ao meio dia e permanecia até aproximadamente as 11h da manhã do outro dia.

Nota-se na avaliação do processo (Figura 9) que o sistema aplicado pelo produtor apresenta um aumento não uniforme e pouco constante da temperatura do ar de secagem. Nas primeiras duas horas (período vespertino) o secador aumenta de temperatura lentamente, com pouca variação, ficando cerca de 4 a 8 °C acima da temperatura ambiente, caracterizando o aquecimento de toda a estrutura do secador e da massa vegetal. Diferente do que ocorre em secadores solares, onde a variação de temperatura é diretamente relacionada a radiação solar, a resposta tanto para aumentar como para diminuir a temperatura ocorre quase que imediatamente (BEKKIOU et al., 2009; THOMAZINI, 2015).

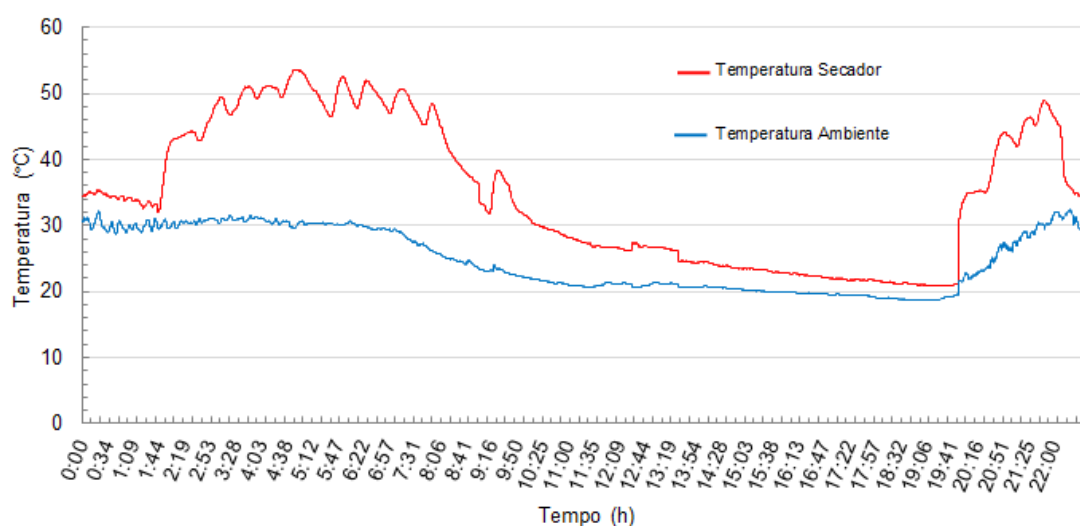


Figura 9. Variação de temperatura do ambiente e do secador durante a desidratação de *P. incarnata* em Botucatu/SP

Ao fim da segunda hora de secagem observa-se um crescimento constante da temperatura que se mantém na média dos 49°C até a oitava hora de secagem (período noturno). Durante às dez horas seguintes (da nona hora até à 19ª hora) secador apresentou as menores médias de temperatura mantendo a temperatura sem lenha na média de 26°C. Esta ficou acima, mas muito próxima, da temperatura do ambiente (20°C), a queda de temperatura noturna no secador artesanal foi constante durante todo o período sem aquecimento através da queima da lenha. O que demonstra que o secador durante a maior parte do tempo cumpre seu papel mantendo a biomassa vegetal desidratando. Nas últimas três horas (período matutino) a temperatura aumenta ficando na média de 41°C.

Na literatura encontram-se com frequência estudos sobre componentes voláteis presentes nos óleos essenciais, que via de regra são afetados significativamente por altas temperaturas e pelo tempo de secagem (COSTA et al., 2005; DE OLIVEIRA, 2011; ROSADO et al., 2011). Já espécies com componentes glicosilados, com maracujazeiro, orienta-se não ultrapassar a temperatura máxima de 100°C, porém devido a heterogeneidade das espécies essa recomendação é apenas aproximada (MÜLLER; HEINDL, 2006).

Existem divergências sobre a temperatura ideal de secagem de muitas espécies, para a espécie em estudo encontram-se estudos que indicam temperaturas acima de 60 °C, já os métodos oficiais, como o da farmacopeia brasileira, indicam temperaturas entre

45 e 60 °C (ANVISA, 2015; FUENTES; LEMES; RODRÍGUEZ, 2000). Contudo as temperaturas médias alcançadas pelo secador durante toda a secagem ficaram abaixo desta indicação, sendo que durante 11 horas de secagem ativa (alimentada por lenha) a média da temperatura foi dentro do indicado não ultrapassando o limite recomendado (Tabela 1) (BRASIL, 2006b; CORRÊA JUNIOR; SCHEFFER, 2013).

Tabela 1. Temperatura média diária (T), em °C, umidade relativa média diária (UR), em %, temperatura máxima e mínima (°C), umidade relativa máxima e mínima (%) e tempo médio de secagem do secador artesanal avaliado com termo-higrômetro produzido com software Arduíno

Local	T (°C)	U.R.(%)	T máxima e mínima (°C)	UR máxima e mínima (%)	Tempo médio de secagem (h)
Secador	34,8	39,5	53,5-20,9	73,8 - 9,6	22,5
Ambiente	18,7	65,8	32,4 - 18,7	95,7 - 37,9	----

A grande variação de temperatura pode ser um fator que influencie a degradação dos flavonoides, contudo avaliando secagem em estufa de circulação de ar de *Passiflora edulis*, verificou-se que o aumento da temperatura e do tempo influenciaram significativamente na redução da massa e no aumento do teor de flavonoides totais expressos em quercetina (DE OLIVEIRA, 2011). Assim o controle da temperatura do secador através de um termo-higrômetro digital pode auxiliar na constância da temperatura durante a fase ativa da secagem.

A oscilação da umidade relativa do secador foi inversa ao da temperatura (Figura 10) (BEKKIOU et al., 2009; THOMAZINI, 2015). Durante as primeiras duas horas a umidade se manteve constante, na média de 39% e a do ambiente 53%. Ao fim da segunda hora (1h:41min:20s) a umidade que estava em 40,3% aumentou em 20 segundos para 50,2% matendo-se alta durante cinco minutos e igualando-se a umidade externa por alguns minutos. Este aumento da umidade do ar do secador caracteriza, provavelmente, o momento em que a massa vegetal começou a perder água para o ambiente.

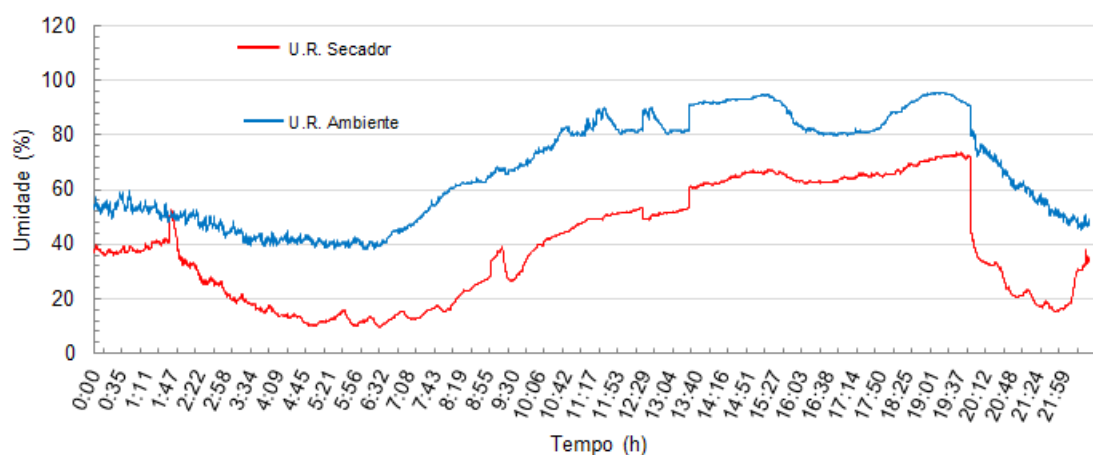


Figura 10: Variação de umidade (%) do ambiente interno e externo do secador durante a desidratação de *P. incarnata* em Botucatu/SP

Após este período a umidade volta a decrescer, atingindo novamente as menores porcentagens de umidade observadas (Figura 10). Nesta fase a média da umidade do secador ficou abaixo 30%, enquanto externamente a umidade média estava, no mesmo período, mais que o dobro. Durante o período noturno a umidade começa a aumentar chegando ao seu máximo valor tanto no secador como no ambiente, contudo a umidade do secador nesse período ainda é mais baixa que a do ambiente, tendo respectivamente, média de 54% e de 83% indicando que mesmo sem o aquecimento da lenha o secador continua reduzindo a umidade da biomassa, visto que o ar atua como um sorvedor, evaporando a umidade interna e ao mesmo tempo absorvendo a umidade liberada na superfície do material vegetal a ser seco (CORNEJO, 1987). Na última fase da secagem no período matutino os valores de umidade relativa do secador decrescem ficando na média de 25%.

3.3. Teor de umidade da biomassa

O teor de umidade (% b.s.) das amostras *in natura* foi determinado pela fórmula em triplicata obtendo inicialmente os seguintes valores de umidade: 134,64% para próximo à fornalha (PF), 95,24% para distante da fornalha (DF). A redução de massa no fim do processo foi de 72% para PF e de 60% para DF.

No interior da planta os processos de secagem ocorrem através da transferência de água livre para a interface planta-ar que ocorre por difusão. A saída da umidade para o

fluxo de ar e o deslocamento de energia térmica contida no ar quente para a superfície da planta ocorrem através de convecção, já a transferência desta energia para o interior da biomassa fresca ocorre por condução (NGUYEN; MAHAPATRA, 2007).

Assim de acordo com a Figura 11 a umidade média perdida nos primeiros 30 minutos foi maior em PF do que em DF, demonstrando que a temperatura neste tratamento tornou-se constantemente mais rápido, que os outros tratamentos. A fase de perda de água constante ocorreu em tempos diferentes para cada tratamento, sendo possível notar pelo gráfico o início da fase em que a água livre foi retirada sem nenhuma resistência para todos os tratamentos. A perda de água da biomassa de *P. incarnata* na estufa (ES) apresentou perdas constantes no teor de umidade, este fato pode estar relacionado as condições mais constantes ocorridas no laboratório em relação a constância das variáveis do secador artesanal (temperatura, umidade, velocidade do ar). Foi possível verificar a fase final da curva, caracterizada por uma fase decrescente onde cada vez menos água é evaporada.

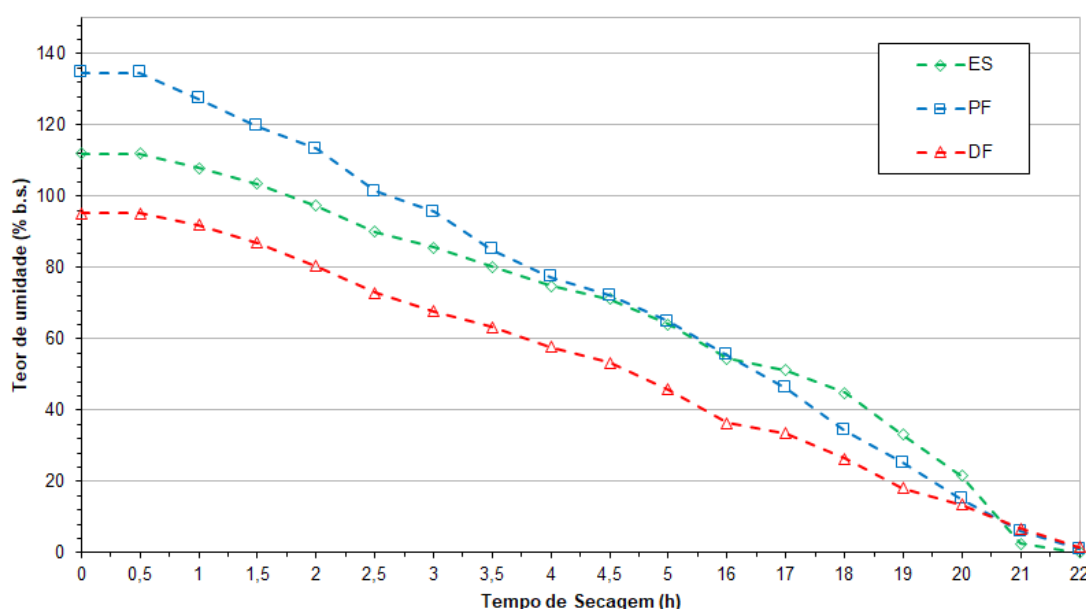


Figura 11. Perda de água dos tratamentos PF (próximo a fôrnelha), DF (distante da fôrnelha) e ES (estufa) durante a desidratação das amostras em secador artesanal a lenha da parte aérea de *P. incarnata*

A regressão apontou que a perda de peso das amostras foi constante e linear, sendo que DF apresentou R^2 menor que o tratamento PF (Figura 12). O peso médio ao longo da secagem, apresentou diferença significativa entre tratamentos PF e DF (Mann-Whitney, $U = 2286,0$; $p = 0,023$). As amostras espalhadas mais próximas e mais distantes

da fôrnelha do secador apresentaram pequena diferença significativa no teor de umidade e peso, demonstrando a importância do revolvimento da massa vegetal para homogeneizar a perda de água durante a desidratação.

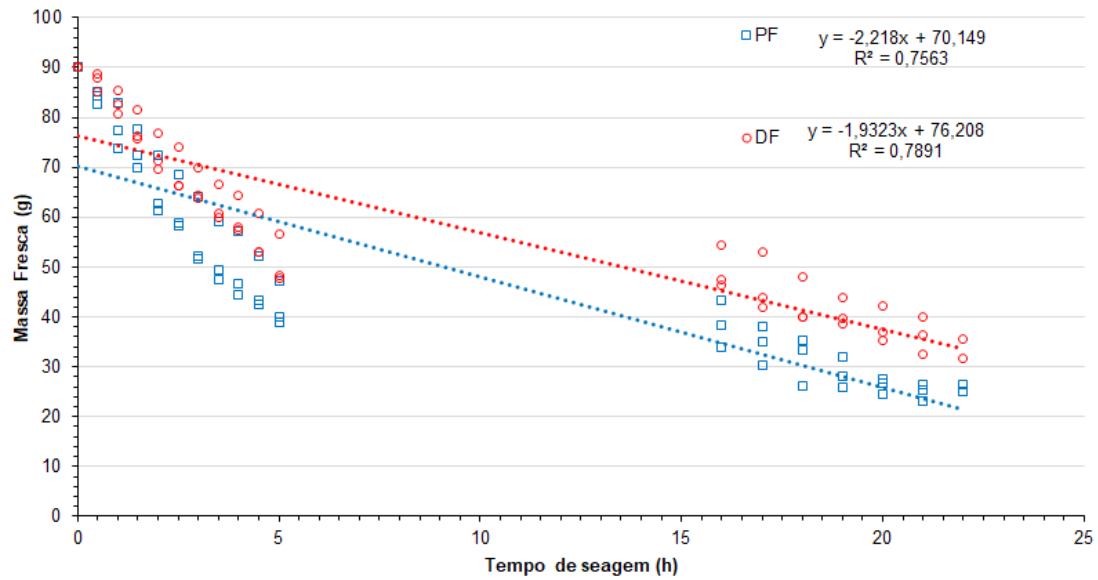


Figura 12. Regressão da perda da biomassa fresca das amostras próximo a fôrnelha (PF) e distante da fôrnelha (DF) em um secador artesanal a lenha em Botucatu/SP

4. CONCLUSÃO

O trabalho pode contribuir com a validação de uma tecnologia social de secagem de *P. incarnata*, ao analisar o desempenho do secador em relação a variáveis temperatura e umidade; observou que o método de desidratação elaborado pelos agricultores da região de Botucatu é adequado as recomendações de secagem da espécie, na maior parte do tempo. A inclusão de plataformas livres na produção do termo-higrômetro visou valorizar a autonomia e sustentabilidade tecnológica do secador artesanal, sendo o monitoramento essencial para o melhor desempenho do processo. Em relação à perda de umidade da biomassa no secador artesanal, notou-se que ao fim da secagem as amostras de *P. incarnata* próximo a fôrnalha, perderam peso mais rápido do que as que estavam mais distante da fôrnalha, demonstrando que o revolvimento da biomassa vegetal é necessário para homogeneizar a secagem.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALMEIDA, M. Z. DE. **Plantas Medicinais**. - EDUFBA, 2003.
- ALONSO, L. F. T.; PARK, K. J. Dryer selection methods. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 25, n. 2, p. 208–216, jun. 2005.
- AMBEKAR, S. A.; GOKHALE, S. V.; LELE, S. S. Process Optimization for Foam Mat-Tray Drying of *Passiflora edulis* Flavicarpa Pulp and Characterization of the Dried Powder. **International Journal of Food Engineering**, v. 9, n. 4, p. 433–443, 2013.
- AMOROZO, M. C. DE M. **Sistemas agrícolas de pequena escala e a manutenção da agrobiodiversidade—uma revisão e contribuições**. Rio Claro: Amorozo M. C. de M., 2013.
- ANVISA, A. N. DE V. S. **Monografia da espécie *Passiflora incarnata* Linnaeus (maracujá-vermelho)**. Monografia—BRASÍLIA: Ministério da Saúde, 2015.
- ARAÚJO, A. C. et al. Caracterização socio-econômico-cultural de raizeiros e procedimentos pós-colheita de plantas medicinais comercializadas em Maceió, AL. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, p. 81–91, 2009.
- BARATA, L. E. S. Empirismo e ciência: fonte de novos fitomedicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 57, n. 4, p. 4–5, dez. 2005.
- BARRETTO, S. F. A.; PIAZZALUNGA, R. Tecnologias sociais. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 4, p. 4–5, 2012.
- BAUMGARTEN, M.; CATTANI, A. D.; HOLZMANN, L. Tecnologias sociais e inovação social. **Cattani AD, Holzmann L, organizadores. Dicionário de trabalho e tecnologia. Porto Alegre: Editora da UFRGS**, p. 302–304, 2006.
- BEKKIOU, N. et al. Modelling of a solar wood dryer with glazed walls. **Maderas. Ciencia y tecnología**, v. 11, n. 3, p. 191–205, 2009.
- BRASIL. LEI N° 10.831. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. 2003.
- BRASIL. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. 2006a.
- BRASIL, M. DAA., Pecuária e Abastecimento. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. 4. ed. BRASÍLIA: Marianne Christina Scheffer, Cirino Corrêa Júnior, 2006b.
- BRASIL, Ministério da Saúde. RENISUS – **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. 2009.
- CAMPOS, M. G. **Efeito da adubação orgânica na produção de fitomassa e nos compostos bioativos de *Passiflora incarnata* L.** Dissertação (Mestrado)—Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2015.
- CARDON, L. M.; DE CARVALHO, R. I. N. Métodos de coleta, secagem, armazenamento, destino e condições de transporte da carqueja e da espinheira santa na região metropolitana de Curitiba. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 3, n. 1, p. 49–56, 2005.
- CARLESSO, V. D. O. et al. Secagem e armazenamento de sementes de maracujá amarelo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 65–74, 2008.
- CORNEJO, F. E. P. **Estudo dos parametros de secagem e construção de um secador de baixo custo para files salgados de pescado**. Campinas: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 1987.
- CORRÊA JUNIOR, C.; SCHEFFER, M. C. **Boas práticas agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. EMATER, 2013.

- COSTA, L. DO B. et al. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 956–959, 2005.
- DA CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, v. 14, n. 1, p. 01, 2009.
- DA FONSECA, E. G.; ALEXANDRE, S. **Tutorial sobre Introdução a Projetos Utilizando o Kit de Desenvolvimento Arduíno**. XXXIX Congresso Brasileiro de Educação em Engenharia, Cobenge. **Anais**. Blumenau: FURB: 2011.
- DAGNINO, R. A tecnologia social e seus desafios. **Tecnologia social: uma estratégia para o desenvolvimento**. Rio de Janeiro: Fundação Banco do Brasil, v. 1, p. 187–210, 2004.
- DE OLIVEIRA, M. T. R. **Secagem e qualidade do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip.** Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2011.
- DEUS, G. I. **Efeitos da temperatura de secagem nos teores de compostos cianogênicos totais e fibra alimentar de casca de maracujá**. Dissertação (Mestrado)—Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2011.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Anti-anxiety studies on extracts of *Passiflora incarnata* Linneaus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, n. 2, p. 165–170, 2001.
- FUENTES FIALLO, V. et al. Instructivo técnico del cultivo de *Passiflora incarnata* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 5, n. 3, p. 118–122, 2000.
- GONZAGA, D. A. **Controle multivariável utilizando plataforma Arduíno para secador de plantas medicinais e software de aquisição de dados**. Dissertação de Mestrado—Viçosa: universidade federal de viçosa, 2015.
- GOSMANN, G. et al. Composição química e aspectos farmacológicos de espécies de *Passiflora* L.(Passifloraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. S1, 2011.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006**. Rio de Janeiro, 2006.
- 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 Medicinales**, v. 7, n. 3, p. 86–96, 2005.
- MARQUES, F. C. **Velhos conhecimentos, novos desenvolvimentos: transições no regime sociotécnico da agricultura: a produção de novidades entre agricultores produtores de plantas medicinais no Sul do Brasil**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.
- MARTINS, P. M. et al. Influência da temperatura e velocidade do ar de secagem no teor e composição química do óleo essencial de capim-limão. **Acta Horticulturae**, n. 569, p. 155–160, fev. 2002.
- MASTEIKOVA, R. et al. Antiradical activities of the extract of *Passiflora incarnata*. **Acta Pol Pharm**, v. 65, n. 5, p. 577–83, 2008.
- MOREIRA, R. J. Críticas ambientalistas à revolução verde. **Estudos sociedade e agricultura**, 2013.
- MÜLLER, J.; HEINDL, A. Drying of medicinal plants. In: **Medicinal and aromatic plants**. Alemanha: R.J. Bogers, L.E. Craker and D. Lang, 2006. p. 237–252.
- NGUYEN, C. N.; MAHAPATRA, A. K. **Drying of Medicinal Plants**. International Symposium on Medicinal and Nutraceutical Plants 756. **Anais**.2007. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/756/756_5.htm>. Acesso em: 3 jan. 2017
- OLIVEIRA, A. R. **Avaliação do efeito da secagem de folhas de *Passiflora edulis*, em estufa com circulação de ar, sobre o rendimento de flavonóides**. Campina Grande – Paraíba: Universidade Estadual Da Paraíba, 2011.

- PACHÚ, C. O. **Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos**. Tese (Doutorado)—Campina Grande – Paraíba: Universidade Federal de Campina Grande, 2007.
- PARK, K. J. B. et al. Seleção de secadores: fluxograma. **Revista Brasileira de produtos agroindustriais**, v. 9, n. 2, p. 179–202, 2007.
- PATEL, S. S. et al. Recent updates on the genus *Passiflora*: a review. **Int J Res Phytochem Pharmacol**, v. 1, n. 1, p. 1–16, 2011.
- PATEL, S. S. et al. *Passiflora incarnata* Linn: A review on morphology, phytochemistry and pharmacological aspects. **Pharmacognosy Reviews**, v. 3, n. 5, p. 186–192, 2009.
- RAMOS, A. M.; DOS SANTOS, L. A. R.; FORTES, L. T. G. **Normais climatológicas do Brasil 1961-1990**. [s.l: s.n.].
- REIMBERG, M. C. H.; COLOMBO, R.; YARIWAKE, J. H. Multivariate analysis of the effects of soil parameters and environmental factors on the flavonoid content of leaves of *Passiflora incarnata* L., Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 853–859, 2009.
- ROSADO, L. D. S. et al. Influência do processamento da folha e tipo de secagem no teor e composição química do óleo essencial de manjerição cv. Maria Bonita. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 291–296, 2011.
- SEDIYAMA, M. A. N.; DOS SANTOS, I. C.; DE LIMA, P. C. Cultivo de hortaliças no sistema orgânico. **Ceres**, v. 61, n. 7, 2015.
- THOMAZINI, L. F. V. **Estudo do comportamento da temperatura e da umidade relativa do ar no interior de um secador solar misto de ventilação natural**. Dissertação de Mestrado—Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2015.
- TONIN, F. B. **Propagação de *Passiflora incarnata* L. com o uso de estacas radiculares**. Tese—BOTUCATU: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA UNESP, 2010.
- ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Nova Jersey: Prentice Hall.v. 4, 1999.

CAPÍTULO 2

**Influência do processamento pós-colheita e épocas de colheita no teor de vitexina
de *Passiflora incarnata* L. por CLUE-EM**

RESUMO

O objetivo foi avaliar quantitativamente, através da abordagem metabolômica, o teor de flavonoides, expresso em vitexina, dos extratos de *P. incarnata* submetidos a fragmentações pré-secagem, em três épocas de colheita, por CLUE-EM. A coleta de dados ocorreu no sítio Dois Irmãos, entre as coordenadas geográficas, latitude 22°56'49,27" Sul e longitude 48°34'42,80" Oeste. Para a avaliação do teor de vitexina foram escolhidos e marcados seis indivíduos de *P. incarnata* e coletados durante as três épocas de colheita de 2016 (abril, setembro e novembro) e três tratamentos prévios à secagem de fragmentação: parte aérea não fragmentada (NF); fragmentada média de 1 cm a 5 cm (FM) e fragmentada pequena, abaixo de 0,5 cm (FP). As análises de CLUE-EM foram realizadas em espectrômetro de massas Accela (Thermo Scientific®) modelo LCQ Fleet com Ion Trap 3D via análise de injeção de fluxo e ionização por eletronebulização com separações cromatográficas realizadas em coluna de fase reversa (C₁₈) e a fase móvel composta de uma mistura de MeOH:H₂O. Considerando as diferentes colheitas e processamento de pós-colheita, avaliados no presente trabalho, pode-se concluir que os tamanhos de fragmentação da biomassa fresca, imediatamente antes da secagem da época de colheita, de *P. incarnata*, não influenciou significativamente nos teores de vitexina, com valor médio para todos os extratos ficando acima do teor mínimo recomendado pela ANVISA. Neste estudo o uso da CLUE-EM foi satisfatório, com baixo tempo e maior resolução das análises com uso de quantidades mínimas de reagentes.

Palavras-chave: RENISUS. Metabolômica. Fitoterápicos

ABSTRACT

The objective of this experiment was to evaluate the effect of pre-drying fragments by CLUE-EM on flavonoid content expressed in vitexin of *P. incarnata* L. in three harvests. . Data collection took place in Dois Irmãos, small rural property, which located in latitude 22°56'49.27 "South and longitude 48°34'42.80" West. For the evaluation of the vitexin content, six individuals of *P. incarnata* were collected during three harvest seasons in 2016 (april, september and november) and three treatments prior to the drying of fragmentation: non-fragmented aerial part (NF) ; Fragmented medium from 1 cm to 5 cm (FM) and small fragmented, below 0.5 cm (PS). UHPLC-MS analyzes were performed on Accela (Thermo Scientific ®) LCQ Fleet mass spectrometer with Ion Trap 3D via flow injection and electron-ionization ionization analysis with chromatographic separations performed on reverse phase (C₁₈) column and phase Composed of a mixture of MeOH: H₂O. We evaluated in the present research by considering different harvest seasons and post-harvest process , with an average for all extracts being above the minimum recommended by ANVISA, we concluded that the fragment sizes of fresh material just before drying in harvest season, ,did not significantly influenced vitexin contents. The results of use UHPLC-MS was satisfactory in this study, for low time and higher resolution of the analyzes with the minimal cost of reagents.

Keywords: RENISUS; Metabolomic; Phytotherapy.

6. INTRODUÇÃO

Historicamente os produtos de origem vegetal sempre tiveram grande importância comercial para o Brasil, que mesmo possuindo uma das maiores biodiversidades do mundo detém uma pequena parcela do mercado mundial de fitomedicamentos, sendo os lucros concentrados no eixo das nações desenvolvidas advindo de um pequeno número de grandes corporações multinacionais (CARVALHO *et al.*, 2007; NASCIMENTO; MALDONADO; ARNÓBIO, 2015; PINTO *et al.*, 2002; VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Em 2008 a OMS apontou o crescimento do uso de terapias alternativas e complementares como a fitoterapia, homeopatia e acupuntura, revelando a importância destas no tratamento de doenças em muitos países. Fatores relevantes para o aumento do uso estão relacionados a maiores investimentos na divulgação do tema e o custo/benefício ao consumidor final, outro fator de interesse está relacionado ao seu uso frequente e a crença de que as plantas medicinais não possuem efeitos colaterais (SANTOS *et al.*, 2011).

Com a implementação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS) e da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (2006) foi proposto um viés integrativo entre os elos da cadeia produtiva de plantas medicinais, tendo como fundamento garantir o acesso gratuito, seguro e o uso racional de medicamentos de origem vegetal aumentando as opções terapêuticas do SUS, a fim de promover o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e fortalecimento das indústrias farmacêuticas nacionais (BRASIL, 2012b, 2006b).

Visando este desenvolvimento o SUS com auxílio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão brasileiro que regula o registro de derivados de drogas vegetais, apresentou em 2009, uma relação de 71 espécies na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), ou seja, espécies com potencial de avanço nas pesquisas para produção de fitoterápicos para a rede pública de todo o país. Por meio da Portaria nº. 533/GM/MS, de 28 de março de 2012, da RENAME já estão disponíveis em farmácias vivas e de manipulação da rede 12 dessas espécies (BRASIL, 2009, 2012a).

Entre as indicadas a lista aponta três espécies do gênero *Passiflora*: *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener, *P. alata* Curtis e *P. incarnata* (BRASIL, 2009; MADOGGIO, 2011), gênero mundialmente conhecido por sua utilização alimentícia, ornamental e medicinal. No Brasil as espécies de maior importância econômica são as que produzem frutos comestíveis (WAGNER JÚNIOR *et al.*, 2006; ZUCARELI *et al.*, 2003).

Pertencente a família Passifloraceae Juss. ex Roussel, as espécies são distribuídas espacialmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo, na América e em menor diversidade nos continentes africano e asiático (CERVI, 1997; IMIG, 2013). Inclusa na ordem Malpighiales com linhagens surgidas antes do período Terciário, entre 111-100 milhões de anos atrás, é constituída por mais de 700 espécies. Atualmente, conforme o sistema de classificação *Angiosperm Phylogeny Group* (APGIII) foram anexadas três famílias ao clado Passifloraceae *latu senso*, Malesherbiaceae com gênero único e 24 espécies, Turneraceae com 10 gêneros e cerca de 200 espécies e Passifloraceae *sensu stricto*, 28 gêneros com aproximadamente 900 espécies (APG III, 2009; BRASILEIRO, 2014).

Embora presente no Velho Mundo, o interesse pela família iniciou com a chegada dos colonizadores ao continente americano pelo contato com o gênero *Passiflora* L.. O interesse não ocorre somente por sua beleza e forma, mas também pelo sabor, aroma e por toda relação com o místico atribuída as flores do maracujazeiro encontradas nas artes, representada em pinturas históricas e na poesia, como o símbolo da paixão humana e divina (CERVI, 1997).

Passifloraceae *stricto sensu* está subdividida em duas tribos, Paropsiae DC., árvores ou arbustos distribuídos pelo continente africano com características basais parafiléticas, representados por seis gêneros e a tribo Passifloreae DC. A mais representativa na América, é um grupo monofilético com flores especializadas, hábito trepador (vinhas ou lianas) que utilizam como mecanismo de escalada gavinhas axilares (APG III, 2009). Tem ampla distribuição pela América Latina e no Brasil são encontrados quatro gêneros: *Ancistrothyrsus* Harms, *Dilkea* Mast., *Mitostemma* Mast. e *Passiflora*. O monofiletismo do gênero *Passiflora* é sustentado por estudos moleculares, entretanto algumas diferenças morfológicas de hábito, brácteas, tamanho das flores, frutos e a distribuição dos nectários separam o gênero em quatro subgêneros (BRASILEIRO, 2014;

DURKEE, 1982; FREITAS, 2011), tendo como principais representantes os subgêneros *Passiflora* e *Decaloba* (FARIAS, 2014; MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.*, 2010).

O gênero *Passiflora* é o mais expressivo em Passifloraceae, com mais de 500 espécies distribuídas em regiões tropicais, pode apresentar hábito trepador, herbáceo ou lenhoso, raramente arborescente. Folhas alternas, algumas vezes simples, lobadas ou digitadas, estípulas originadas da base do pecíolo, raramente ausente e com ampla variação morfológica. O pecíolo possui nectários, pode ou não conter glândulas, sésseis ou estipitadas (CERVI, 1997).

Suas flores apresentam uma diversidade de cores, geralmente bissexuais de simetria radial. Sépalas e pétalas semelhantes na morfologia, cálice de 3-5 sépalas livres, imbricadas, textura de cartáceas a coriáceas e coloração verde; corola 3-5 pétalas membranáceas, raras ou ausentes, corona membranosa ou filamentosa, as fímbrias são frequentemente claviformes originários do ápice da superfície interna do hipanto geralmente colorida; opérculo membranáceo, às vezes ausente, límen anelar, soldado ou não ao androginóforo ou cupuliforme, membranáceo ou coriáceo, raro ausente, anel nectarífero em geral presente; androginóforo alongado, raro inconspícuo; estames de 3-5 inseridos na parte inferior do perianto, anteras versáteis com duas células com deiscência longitudinal, ovário súpero, unilocular de 3–5 carpelos unidos com placentação parietal, estiletes 3–4 separados. Pedúnculos axilares, solitários ou pareados; brácteas alternas ou verticiladas (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004).

A polinização das flores é feita por insetos, principalmente abelhas dos gêneros *Xylocopa*, *Centris* e *Eulaema*. Os frutos do tipo cápsula ou baga, placentação parietal; sementes numerosas, foveoladas, reticuladas ou alveoladas, às vezes transversalmente sulcadas, envolta de arilo mucilaginoso, de sabor ácido-adocicado, ocasionalmente dispersas por aves e mamíferos (COSTA; COSTA, 2005).

Alguns nomes populares das plantas do gênero estão relacionados ao formato de seus frutos, *Granadilla* pela semelhança com frutos de romã (*Punica granatum* L.), o termo maracujá de origem guarani *mborukujá* cujo significado é “criador de moscas” pela semelhança do conteúdo dos frutos ou do tupi *murukuîá* “alimento na cuia” (CERVI, 1997; DE ALMEIDA NAVARRO; TREVISAN; DA SILVA FONSECA, 2012). Há indícios de que o fruto tipo baga era muito apreciado pelos povos pré-colombianos existindo registros de um sítio arqueológico na Colômbia onde foram encontrados vestígios botânicos de

sementes carbonizadas de *P. ligularis* Juss. em um sarcófago datado de 700 a.C. a 1310 a.C. (MORCOTE-RÍOS, 2006).

As espécies do gênero *Passiflora* nativas são amplamente divulgadas pela medicina popular tradicional, encontrando-se diversos relatos sobre o uso. Alguns estudos clínicos e pré-clínicos descrevem que diferentes partes da planta apresentam ação ansiolítica, anti-inflamatória, antiespasmódica, antimicrobiana, anti-hipertensiva, antioxidante, hipolipidemiante, cicatrizante e sedativa (COSTA, 2013; GOSMANN *et al.*, 2011; MADOGLIO, 2011). Apesar de conhecer o potencial medicinal de muitas espécies, ainda tem-se pouca compreensão sobre as melhores maneiras de incrementar e manter agronomicamente a produtividade das moléculas bioativas de interesse (FIGUEREDO *et al.*, 2014).

Diferente da maioria das espécies do gênero, tem como centro de origem América do Norte, sul dos Estados Unidos da América, ocorrendo de forma espontânea em toda a América tropical, desde o sul dos EUA, México até o Brasil. Também existem relatos de sua ocorrência nas Bermudas, Caribe e Guianas, região mediterrânea e Índia. Trepadeira perene, de crescimento rápido, folhas simples, com 3-5 lóbulos, estípulas lineares, pecíolo com glândulas, brácteas de bordo inteiro ou serrados, opérculo denticulado, corona de filamentos em mais de duas séries (Figura 13) e fruto bacóide, pouco utilizado para consumo (Figura 14) (CERVI, 1997).

A *P. incarnata* é a espécie-tipo do gênero, ou seja, foi a primeira espécie a ser descoberta pelos europeus que logo notaram a sua beleza e relacionaram-na a alguns elementos do cristianismo, na passagem da Paixão de Cristo. Por seus atributos e exótico sabor, em 1605, chegou a Europa por dispersão humana, através de missionários que a ofereceram de presente ao Papa, logo outras mudas foram propagadas para outros locais do mundo, sendo utilizadas até hoje principalmente pela sua ação medicinal, sendo a espécie de *Passiflora* mais estudada para esse fim sendo encontrada em diversas farmacopeias do mundo inclusive a brasileira (CERVI, 1997; REIMBERG, 2006).

Em regiões tropicais o desenvolvimento vegetativo da espécie ocorre satisfatoriamente de setembro a março estacionando seu desenvolvimento de abril a agosto. Diferente das espécies tropicais é bastante resistente a baixas temperaturas (CAMPOS, 2015; KNIGHT, 1991; TONIN, 2010).

Na literatura encontram-se informações etnobotânicas de uso por indígenas do Sudoeste dos EUA, conhecida com *apricot-vine*, *wild passion flower* e *maypops*, onomatopeia, que caracteriza o som de estalo quando os frutos são esmagados. Arremessá-los era uma brincadeira comum de crianças do sul dos EUA, os frutos (cozidos e crus) também eram utilizados na culinária e suas folhas indicadas, medicinalmente, em infusões (ALLEN; BOND; MAIN, 2002; HARVAD, 1895).

No Brasil a espécie é conhecida popularmente como maracujazeiro-silvestre ou maracujina, sua utilização está relacionada com a produção de medicamentos fitoterápicos formulados com a parte aérea, indicados principalmente no tratamento de insônia e ansiedade por causar um efeito sedativo no Sistema Nervoso Central, prolongando os níveis do ácido gama-aminobutírico, o GABA, diminuindo a atividade das células nervosas, propiciando relaxamento e demonstrando melhora significativa na qualidade de sono (NGAN; CONDUIT, 2011; VELOSO *et al.*, 2008).

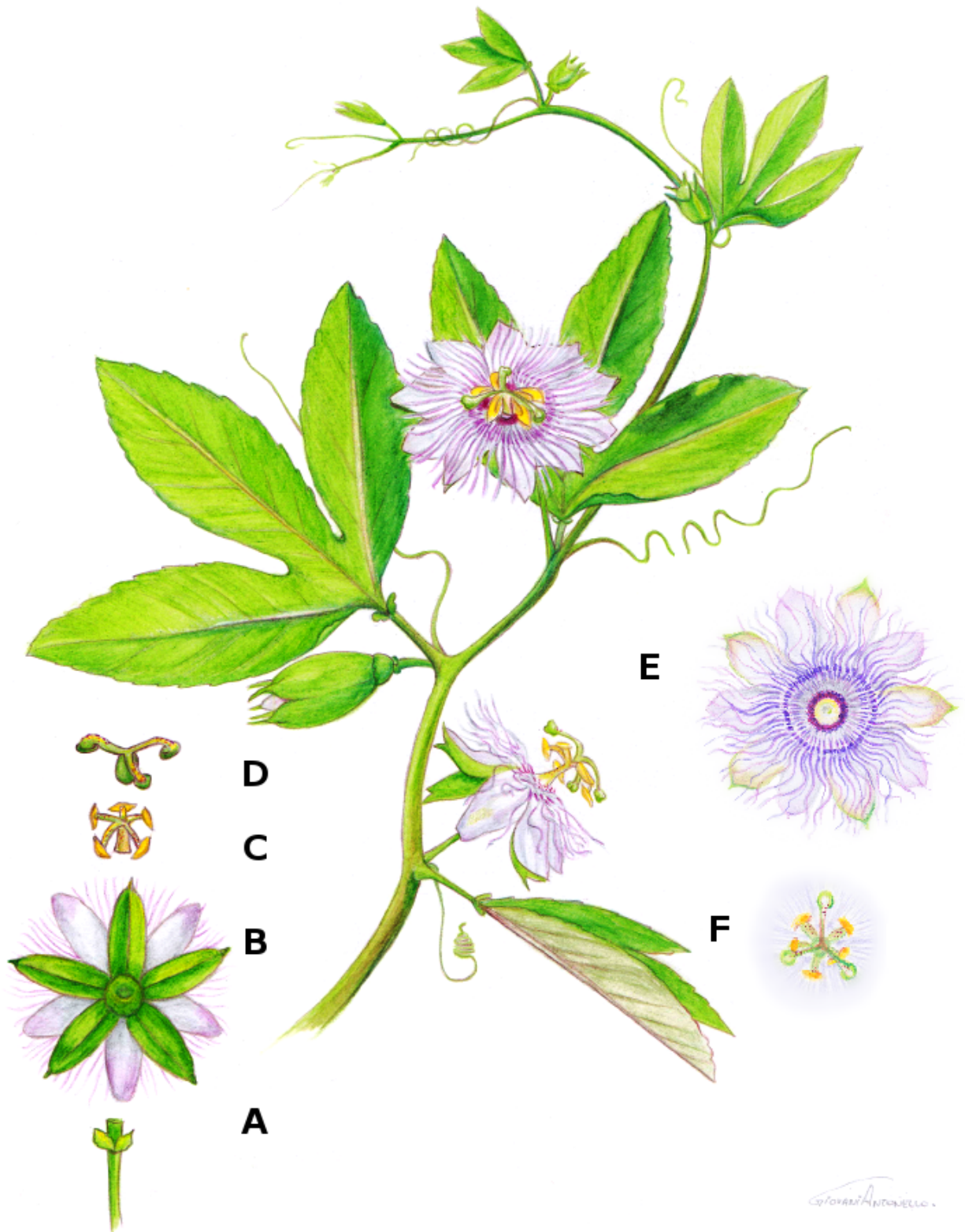


Figura 13. *Passiflora incarnata*, com detalhes da flor: Pecíolo com glândulas (A), Brácteas (B), Filetes e Anteras (C), Ovário, Estiletes e Estigmas (D), Corona de filamentos (E) e disposição do aparelho reprodutor (F)



Figura 14. Face abaxial da folha e fases de desenvolvimento do fruto de *P. incarnata*

A farmacopeia brasileira indica a infusão de 3 gramas da parte aérea de *P. incarnata* para 150 mL de água, tomar após 10 ou 15 minutos do preparo, de duas a quatro vezes ao dia (BRASIL, 2011). Já a Instrução Normativa (IN) nº 10 de 26 de Novembro de 2014 da ANVISA prevê doses diárias de 30 a 120 mg de flavonoides totais, expressos em vitexina. A mesma ainda inclui a espécie na lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado, que permite o registro de espécies vegetais como fitoterápico, para doenças que possam ser tratadas sem acompanhamento ou apresentação de dados adicionais de segurança e eficácia baseando-se em seu histórico de uso pela população de pelo menos 30 anos (ANVISA, 2014).

Da mesma forma que outros insumos vegetais do setor farmacêutico brasileiro, a *P. incarnata* é timidamente explorada economicamente, sendo pouco cultivada e estudada no país apesar de ser a espécie de maracujazeiro mais utilizada em fitoterápicos nacionais (ZUANAZZI; MAYORGA BORGES, 2010).

Pela diversidade e abundância de matéria-prima a origem destes no Brasil é predominantemente extrativista, o que muitas vezes causa dificuldades na rastreabilidade dos insumos, gerando dúvidas sobre a identificação da espécie, contaminação, inconstância na disponibilidade da matéria-prima vegetal, sendo que estas dificuldades no controle da qualidade dos insumos muitas vezes estão relacionadas ao aumento das pressões ecológicas na vegetação nativa (BARATA, 2005; MING, 2006).

Seguindo indicações do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e do manual de boas práticas agrícolas de produção de plantas medicinais, aromáticas e condimentares, o cultivo orgânico é considerado o mais adequado para produção de plantas medicinais, visto que este não utiliza práticas que possam alterar os princípios ativos de interesse como a fertilização química e uso de agrotóxicos sem o risco de resíduos tóxicos que possam prejudicar usuários, além disso, por ser um cultivo de base ecológica integram-se a outros cultivos sendo recomendadas em pequenas áreas e permitindo ser praticada a baixos custos pela agricultura familiar (CORRÊA JUNIOR; SCHEFFER, 2013).

No município de Botucatu, interior de São Paulo, foi observado que a adubação orgânica pode contribuir de maneira positiva no incremento de fitomassa seca do *P. incarnata*, influenciando nos teores de flavonoides totais da folha (CAMPOS, 2015).

Avaliando-se a influência dos parâmetros do solo dos fatores ambientais no teor de flavonoides por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos ultravioleta (CLAE-UV/DAD) em *P. incarnata* notou-se que as variáveis ambientais pouco influenciaram na quantidade de flavonoides totais, diferente de alguns elementos encontrados no solo (B, Fe e Cu) que apresentaram correlação inversa a concentração desses nas folhas da espécie (REIMBERG; COLOMBO; YARIWAKE, 2009).

A colheita e procedimentos de pós-colheita são consideradas as fases mais delicadas para os produtores, por ser o momento em que mais se manuseia a matéria-prima demandando certa agilidade e tecnologia para seu desenvolvimento satisfatório (MARQUES, 2009). Indicações de processamento pós-colheita variariam de acordo com a espécie e a parte da planta utilizada, que podem passar por etapas de pré-limpeza como lavagem, descascamento, desfolhamento, fragmentação ou fatiamento. Estas tem a finalidade de retirar de partes indesejadas com o intuito de facilitar e manter a qualidade no processo de secagem (BRASIL, 2006a; CORRÊA JUNIOR; SCHEFFER, 2013).

Ao fragmentar os órgãos vegetais facilita-se o processo de secagem, que ocorrerá de maneira mais homogênea e em menor tempo, todavia a técnica deve ser realizada imediatamente antes da secagem. Dependendo da espécie e da parte utilizada não é recomendada, por deixar as moléculas bioativas de maior volatilidade mais expostas, aumentando consideravelmente as perdas de substâncias voláteis, durante o processo de secagem (BLANK et al., 2007; COSTA; COSTA, 2005; DE OLIVEIRA, 2011; MARCHESE; FIGUEIRA, 2005).

O flavonoide vitexina é o marcador de referência no controle de qualidade de *P. incarnata*, testes quantitativos em farmacopeias aceitas no Brasil (Inglesa e Francesa) classificam na biomassa seco o conteúdo mínimo de 1,5% flavonoides totais, expressos em vitexina, determinado por espectrometria com leitura de 401 nm (ANVISA, 2015).

O acúmulo de flavonoides nas folhas está relacionado a proteção dos tecidos dos raios UVB, coloração, propriedades antifúngicas, propriedades adstringentes e sabor amargo contra herbivoria. Produzidos pelo metabolismo secundário das plantas são biossintetizados pela via dos fenilpropanoides, em duas rotas biogenéticas principais: a via do ácido mevalônico e, a mais usual, a via do ácido chiquímico (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Estudos fitoquímicos das espécies e seus compostos representam uma ferramenta importante para oficializar o conhecimento popular sobre plantas medicinais, caracterizando moléculas e a dinâmica dos compostos mais abundantes, a fim de controlar qualidade da biomassa produzida e comercializada (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001).

De acordo com estudos da composição fitoquímica do gênero foram identificados fenóis, flavonoides glicosilados, alcaloides indólicos, esteróis, lignanos, aminoácidos, óleos essenciais e compostos cianogênicos (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004; DHAWAN; KUMAR; SHARMA, 2001; PEREIRA et al., 2004). Para a *P. incarnata* são encontrados diversos trabalhos descrevendo sua composição (PATEL et al., 2009, 2011; REHWALD; STICHER; MEIER, 1995). Os flavonoides C-glicosilados, derivados de luteonina e apigenina como: orentina, isoorientina, vitexina isovitexina, schaftosídeo e isoschaftosídeo são citados como componentes de maior concentração estando presente em todo sistema vascular da planta, principalmente nas folhas (ABOURASHED; VANDERPLANK; KHAN, 2002; LOPES, 2013).

A cromatografia líquida é uma técnica físico-química de separação de substâncias de uma mistura frequentemente empregada em laboratórios, na indústria química e farmacêutica e na área médica sendo aplicável também a diversos campos de pesquisas agrárias como detecção de contaminantes em alimentos, água e solo oriundos de agrotóxicos e na identificação de moléculas bioativas de plantas medicinais (MALDANER; JARDIM, 2012; SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

Analizando os compostos bioativos de 95 espécies de *Passiflora* em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), referentes a uma coleção com amostras de diversos locais do mundo, os flavonoides schaftosídeo e isoschaftosídeo estavam presentes em 53% das amostras, já a vitexina com 38% foi o composto menos detectado (ABOURASHED; VANDERPLANK; KHAN, 2002).

No decorrer dos anos, melhorias foram incorporadas à técnica, como o desenvolvimento de novas partículas, suportes cromatográficos e instrumentação que tem proporcionado análises mais rápidas sem perder a eficiência e com maior rendimento e baixo impacto ambiental (MALDANER; JARDIM, 2012).

A cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) é a técnica mais bem estabelecida atualmente, caracterizada por utilizar partículas menores na fase

estacionária que diminuem o tempo e os resíduos químicos das análises, apresentando maior sensibilidade e resolução em relação à CLAE (COSTA et al., 2016).

Pela alta eficiência e aplicabilidade tem sido cada vez mais frequente o uso de técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas (EM), técnica analítica empregada na caracterização de moléculas através da relação massa/carga de íons, em estudos metabolômicos de análise de qualidade de extratos vegetais (MALDANER; JARDIM, 2012).

Em um trabalho sobre a variação de metabólitos secundários de 17 espécies de *Passiflora* em diferentes partes do mundo, com uso de CLUE-EM foram detectados 97 metabólitos, dos quais 78 foram identificados. A elevada abundância de flavonoides C-glicosilados na constituição química das espécies indica a presença de transferases C-glicosiladas (GTs) que ainda não foram descritas para o gênero. Em relação às espécies, *P. caerulea* L. foi a que mais apresentou similaridade de composição química com *P. incarnata* (FARAG et al., 2016).

Em extratos das sementes e da polpa das espécies *P. alata* e *P. edulis* através de CLUE-EM e CLUE-EM/EM foi possível identificar qualitativamente os alcaloides harmana, harmina (na polpa), além de harmol, harmalol e harmalina nos extratos das sementes (VIEIRA, 2013).

O pouco do que se conhece sobre a química dos produtos naturais, cerca de 10% da diversidade mundial, deve-se a estas técnicas experimentais de separação utilizadas para acessar, identificar e quantificar nas bibliotecas naturais, entre uma diversidade de moléculas, as que são biologicamente ativas de interesse medicinal (FUNARI et al., 2013).

O uso da metabolômica voltada para a análise de produtos naturais de plantas é considerada uma das abordagens mais avançadas para o mapeamento químico de organismos. A caracterização da grande variedade de moléculas encontradas em amostras biológicas, a partir de sistemas de abordagem fundamentada sobretudo na aquisição imparcial de dados, por meio da coleta minuciosa das amostras vegetais e análise de dados em EM ou ressonância magnética nuclear (RMN), afim de fornecer informações sobre sistemas complexos de maneira holística das espécies de interesse (WOLFENDER et al., 2013). Partindo deste pressuposto pode-se avançar nas pesquisas

de novos fitoterápicos onde a ação do protótipo ou fármaco seja baseada no sistema biológico seja multifatorial (FUNARI et al., 2013).

Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar quantitativamente, através da abordagem metabolômica, o teor de flavonoides, expresso em vitexina, dos extratos de *P. incarnata* L. submetidos a fragmentações pré-secagem, em três épocas de colheita, por CLUE-EM

7. MATERIAL E MÉTODOS

7.1. Área de estudo

O trabalho foi desenvolvido no município de Botucatu/SP, tem classificação climática definida pelo método de Köppen como Cfa, o clima é caracterizado como temperado quente (mesotérmico) e úmido, com pequena deficiência hídrica (nos meses de abril, julho e agosto) sendo a temperatura média do mês mais quente superior a 22 °C (DA CUNHA; MARTINS, 2009).

A área em estudo está localizada no sítio Dois Irmãos, entre as coordenadas geográficas latitude 22°56'49,27" Sul e longitude 48°34'42,80" Oeste, aos 765 m de altitude no distrito de Rubião Júnior, bairro rural Chaparral. O local escolhido para o desenvolvimento do experimento foi a área mais antiga de cultivo de *P. incarnata* do sítio, com dois anos (2016), o solo da área experimental foi classificado como Nitossolo Vermelho.

Foram coletadas amostras do local de acordo com critérios descritos por Raij e colaboradores (1997). A análise química do solo foi feita pelo Laboratório de Análise de Solos da Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA/UNESP (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Análise de macronutrientes do solo da área experimental, Sítio Dois Irmãos, Botucatu/SP (2016)

pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	S.B.	C.T.C.	V%	S
CaCl ₂	g/dm ₃	mg/dm ₃	mmol _c /dm ³							mg/dm ³	
4,0	15	15	3	15	1,5	12	6	25	38	52	19

Tabela 3. Análise de micronutrientes do solo da área experimental, Sítio Dois Irmãos, Botucatu/SP (2016)

Boro	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco
mg/dm ³				
0,15	1,3	17	6,8	3,3

Em relação às características do entorno da área de estudo, a vegetação natural encontra-se modificada, com extensas áreas de cultivo de eucalipto e pastagem, contudo ainda é possível observar pequenos remanescentes que promovem o crescimento de espécies nativas próximas à borda das estradas. O sítio apresenta ambientes diversificados com plantas ornamentais, área de pomar, hortaliças e uma área de recuperação da mata ciliar próximo a mina de água.

O sistema de cultivo utilizado é orgânico em moita, maneira mais eficiente para a colheita da biomassa, sem a utilização de estruturas de fixação como se encontra na literatura para espécies produtoras de fruto.

7.2. Coleta de dados

Foram escolhidos e marcados seis indivíduos de *P. incarnata*, esses foram coletados durante as três épocas de colheita de 2016 (abril, setembro e novembro). As amostras foram coletadas em triplicatas ao fim da tarde e imediatamente levadas para o laboratório de Horticultura e Fisiologia Vegetal no Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências (FC) da UNESP Câmpus de Bauru, onde foram pesadas, fragmentadas com auxílio de tesoura de poda, armazenados respectivamente por um ano, sete e cinco meses (Figura 15).

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados 3 x 3 com três tratamentos de fragmentação da parte aérea: Tratamento 1 não fragmentada (NF); Tratamento 2 cortes abaixo de 0,5 cm (FM); Tratamento 3 cortes de 1 cm a 5 cm (FP) pré-secagem combinados com três épocas de colheitas, onde foram utilizados seis indivíduos com repetição. As exsicatas destas plantas foram depositadas no herbário da Unesp de Bauru-UNBA.



Figura 15. Tratamentos de processamento pré-secagem de *P. incarnata*: NF (não fragmentado), FM (fragmentação 1-5 cm) e FP (fragmentação < 0,5 cm). Detalhe do tratamento FM (A) e FP (B)

7.3. Preparo dos extratos

A parte aérea de *P. incarnata* dos diferentes tratamentos foi seca em estufa de ar circulante (60° C) por 48 h até estabilização do peso. As amostras foram pulverizadas em moinho de facas (Marconi, SP, Brasil) e posteriormente pesadas e embaladas em recipientes de vidro devidamente etiquetados e armazenadas em local seco e escuro.

O preparo dos extratos foi realizado no Laboratório de Produtos Naturais da UNESP (FC/Bauru). A extração a partir do material seco foi realizada com 5 mL de metanol:água (MeOH-H₂O) 85:15 (v/v) na proporção planta:solvente de 1:10 (m/v) em ultrassom 25 minutos e centrifugado a 4000 rpm por 7 min. Após a secagem, uma alíquota de 10 mg do extrato foi dissolvida em 1 mL de MeOH:H₂O (85:15, v/v), grau EM .

O extrato foi pré-tratado para a remoção de compostos apolares em cartuchos de extração em fase sólida com sílica C₁₈ (Supelco/Discovery 50 mg mL) e filtrada em filtro de seringa com membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) com poro de 0,22 µm, após o processo estes foram armazenados em frascos de 1 mL e acondicionados em geladeira até a realização das análises.

7.4. Condições cromatográficas

As análises de CLUE-EM foram realizadas no Laboratório de Biodiversidade e Sustentabilidade da UNESP (CLP/São Vicente). Os espectros de massas foram obtidos em um espectrômetro de massa Accela (Thermo Scientific®) modelo LCQ Fleet com Ion Trap (IT) 3D via análise de injeção de fluxo (FIA) e ionização por eletronebulização (ESI). As separações cromatográficas foram realizadas com uma coluna de fase reversa (C₁₈) e a fase móvel composta de uma mistura de MeOH:H₂O.

O extrato metanólico a 85% foi dissolvido em MeOH:H₂O (7: 3, v / v), grau massas, e infundido no ESI via FIA utilizando uma bomba de seringa com fluxo de 10 µL min⁻¹. A tensão capilar era de - 46 V, a tensão de pulverização era de 4,9 kV e o deslocamento da lente do tubo era de -167 V. A temperatura capilar era de 280 °C. O nitrogênio foi usado tanto como gás de secagem quanto a uma taxa de fluxo de 60 unidades e como gás nebulizador. A temperatura do vaporizador foi de 154° C e um potencial de - 4 V foi utilizado no capilar. Os espectros de massa de íons foram registrados em modo negativo na faixa de *m/z* 50-1000. Todos os parâmetros do espectrômetro de massa foram ajustados para otimizar as relações sinal ruído para os íons de interesse.

A análise quantitativa de vitexina presente nas amostras foi realizada pelo método de calibração externa, com o padrão de vitexina (Sigma-Aldrich®). A partir de uma solução mãe, foram preparadas amostras em triplicata, cobrindo intervalos lineares com oito níveis de concentração (0,001-0,2 mg mL⁻¹) de vitexina em MeOH:H₂O (85:15 v/v). As áreas médias sob os picos cromatográficos das amostras foram calculadas e os valores obtidos interpolados em função da concentração usando regressão linear (RIBANI et al., 2004). O software Xcalibur (Thermo Scientific®) foi utilizado para adquirir e processar os dados.

Após o processamento dos cromatogramas os dados foram exportados para uma planilha global do Excel®.

Mesmo com a precisão do equipamento, a análise de lotes com alto número de amostras podem prejudicar a qualidade dos dados, devido o tempo de preparação das amostras e flutuações na performance do cromatógrafo e espectrômetro de massa (ZELENA et al., 2008). Por isso as amostras foram avaliadas de maneira randomizada, intercaladas à frações de controle de qualidade (QC) durante as injeções. Os QC foram feitos a partir do conjunto de amostras biológicas analisadas. A estabilidade do sistema (CLUE-EM) foi acompanhada através do tempo de retenção e precisão de compostos identificados em literatura.

Através da curva analítica foram obtidos os coeficientes linear(a), angular (b), correlação (r^2), o limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ), expressos, respectivamente por:

$$LD = 3,3 \times \frac{a}{b} \quad (4)$$

$$LQ = 10 \times \frac{a}{b} \quad (5)$$

7.5. Análise Estatística

Foi realizada a análise de variância utilizando o teste ANOVA afim de verificar diferenças entre os tratamentos de fragmentação e também entre as colheitas, adotou-se um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Todos os gráficos e testes estatísticos foram realizados no pacote básico do R (TEAM, 2016).

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil cromatográfico do extrato MeOH 85% da parte aérea de *P. incarnata* foi analisado em coluna Acquity® BEH C₁₈ (100 x 2,1 mm de diâmetro interno; partículas de 1.7 µm) um gradiente otimizado de 20-100% de MeOH:H₂O em 5 minutos, vazão de 300 µL e com volume de injeção de 1 µL. As amostras de extrato foram injetadas na concentração final de 2 ppm. A partir da comparação de tempo de retenção (Tr) e espectros de massa em modo negativo das substâncias presentes nos extratos com dados da literatura, foi possível identificar os principais flavonoides C-glicosilados presentes no espectro de massa das amostras de acordo com a Figura 16.

Os principais flavonoides C- glicosilados identificados nas amostras (Figura 16): vitexina (Tr = 2,58 min; *m/z* 431) e seu isômero isovitexina (Tr = 2,71 min; *m/z* 431); orientina e isoorientina (respectivamente, Tr = 2,76 e 2,80 min; *m/z* 447); schaftosideo e isoschaftosideo (Tr = 3,70 e 3,80 min; *m/z* 563); e vicianin-2 (Tr = 4,96 min; *m/z* 593). Embora não se tenha demonstrado que os flavonoides estejam diretamente ligados a atividade farmacológica do *P. incarnata*, estes compostos são amplamente utilizados como marcadores para avaliação do controle de qualidade (WOHLMUTH et al., 2010).

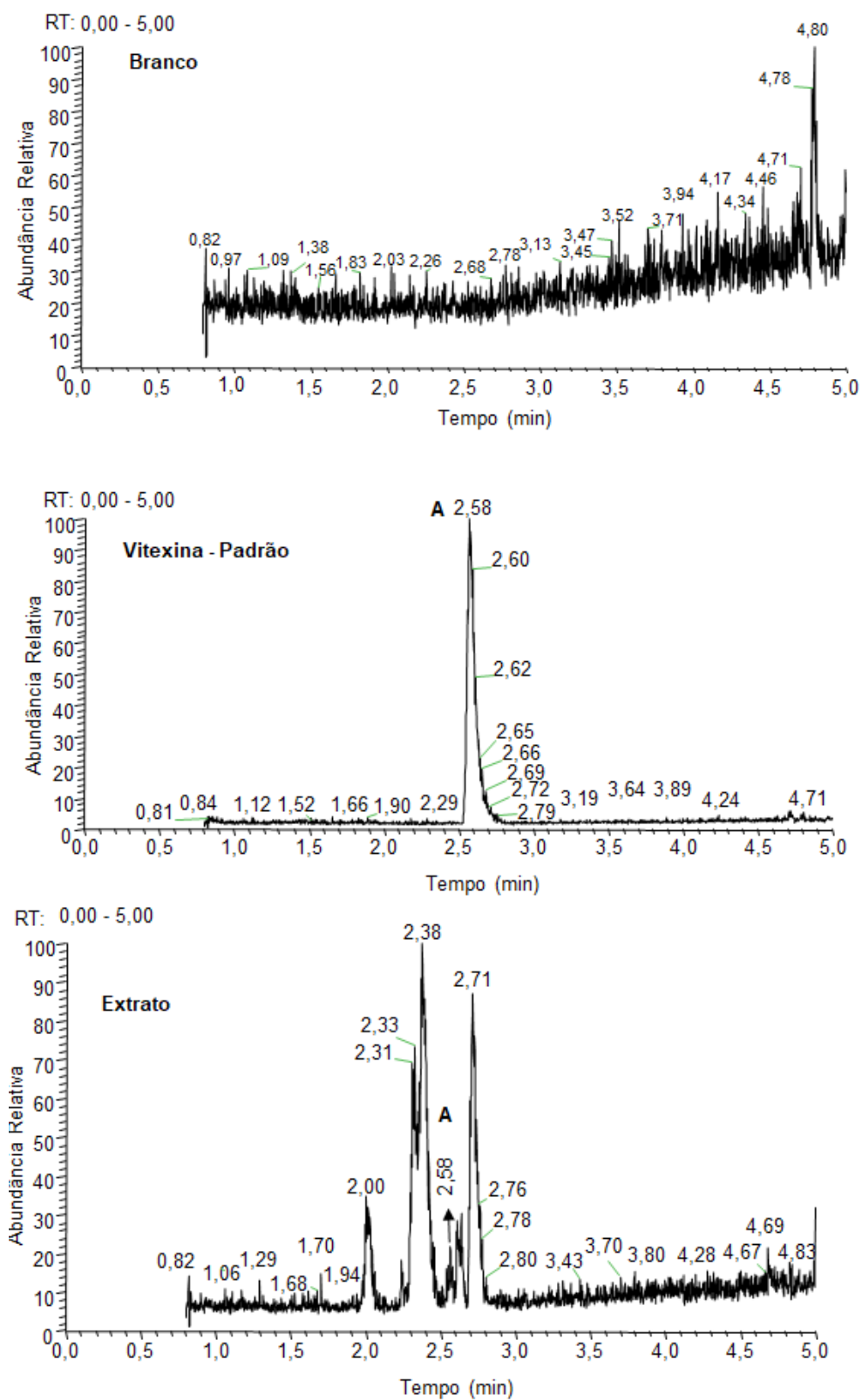


Figura 16. Cromatograma analítico dos íons totais obtido por CLUE-EM para extrato de MeOH 85% (branco), vitexina comercial e amostra da parte aérea de *P. incarnata* com picos de vitexina (A) e isovitexina (B)

Comparando a eficiência das técnicas de CLAE e CLUE-DAD a composição química de extratos aquosos de algumas espécies de *Passiflora* brasileiras e colombianas observou-se que esta técnica, utilizando coluna Perkin Elmer® BHE, gradiente de acetonitrila ácido fórmico a 5%, na faixa de 190 a 450 nm e no modo positivo, reduziu pela metade o tempo total de análise (10 minutos), sem que ocorresse perda na resolução dos picos (COSTA et al., 2016).

Os principais flavonoides C-glicosilados caracterizados neste estudo foram: vitexina (Tr = 2,58 min; m/z 431) e seu isômero isovitexina (Tr = 2,71 min; m/z 431); orientina e isoorientina (respectivamente, Tr = 2,76 e 2,80 min; m/z 447); schaftosideo e isoschaftosideo (Tr = 3,70 e 3,80 min; m/z 563); e vicianin-2 (Tr = 4,96 min; m/z 593). Embora não se tenha demonstrado que os flavonoides estejam diretamente ligados a atividade farmacológica de *P. incarnata*, estes compostos são amplamente utilizados como marcadores para avaliação do controle de qualidade (WOHLMUTH et al., 2010).

Ao avaliar a tintura mãe da parte aérea de *P. incarnata* simultaneamente para CLAE- DAD em coluna monolítica tipo C₁₈ e CLUE (partículas 2.7 µm), com coluna Acquity® BEH C₁₈ (partículas 1.7 µm) também por DAD, observou-se melhora no tempo total das análises cromatográficas para colunas com partículas menores, o desempenho do sistema CLUE-DAD foi similar ao uso de duas colunas monolíticas (PIETROGRANDE et al., 2010). Para a espécie estudada, quanto aos métodos de análise, a CLAE é a técnica mais escolhida para caracterização dos compostos fenólicos.

Na avaliação da influência do tipo de extrato (aquosos e etanólicos) no teor de flavonoides antioxidantes de *P. incarnata*, cultivado sob clima temperado frio da região nordeste da Europa, utilizou-se CLAE ultravioleta visível (UV/Vis) na fase estacionária coluna XTerra RP18 150 x 3.9 mm (3.5 µm) e detecção a 360 e 275 nm identificando mais flavonoides no extrato etanólico, pouco mais de dez tipos (MASTEIKOVA et al., 2008).

A partir de dados obtidos por CLAE- UV/Florescência Nova-pak® RP-C₁₈ 150 x 3.9 mm (4 µm) avaliou-se um método de identificação simultânea de alcaloides e flavonoides de extratos metanólicos de *P. incarnata* produzidas na Austrália (GRICE; FERREIRA; GRIFFITHS, 2001). O uso de CLAE - EM também tem permitido a identificação de diversas estruturas químicas caracterizadas nos extratos metanólicos da espécie cultivadas no mundo todo (BUCHBAUER; JIROVETZ, 1992; CHIMICHI et al., 1998; RAFFAELLI et al., 1997; WOHLMUTH et al., 2010).

Nota-se que as técnicas de separação mais utilizadas atualmente são complementares apresentando vantagens e limitações, a velocidade do método na validação da autenticidade do material é uma vantagem que gera interesse na rotina da produção em larga escala (PEREIRA et al., 2004).

Neste trabalho a caracterização de flavonoides por espectrometria de massas foi realizada através do modo negativo, que pode ser considerado complexo, contudo é o mais sensível a estas estruturas, sendo necessária alta energia de colisão para que ocorra a fragmentação adequada (SALDANHA, 2013). Analisando as massas de vários espectros EM-EM de dissociação induzida por colisão dos flavonoides C-glicosilados verificou-se diferenças marcantes entre os isômeros, principalmente nas unidades de fragmentação, 8-C e 6-C glicosídeos como a vitexina e isovitexina (WARIDEL et al., 2001).

8.1. Análise quantitativa dos teores de flavonoides

Os dados quantitativos (Tabela 4) demonstraram uma elevada linearidade entre a área do pico e as concentrações de vitexina ($r^2 > 0,999X$) com a dispersão dos resíduos seguindo padrão aleatório de distribuição demonstrando o ajuste ideal dos dados para linha de regressão (Figura 17) (RIBANI et al., 2004).

Tabela 4. Curva de calibração e dados de sensibilidade encontrados no padrão analítico da vitexina (Método Padrão Externo)

Padrão	n	Concentração ($\mu\text{l/ml}$)	Equação de calibração	Correlação (r^2)	LD	LQ	RDS (%)
Vitexina	8	2	$Y=238833 \cdot X + 1611,99$	0,9992	0,0223	0,0674	0,9-15,7

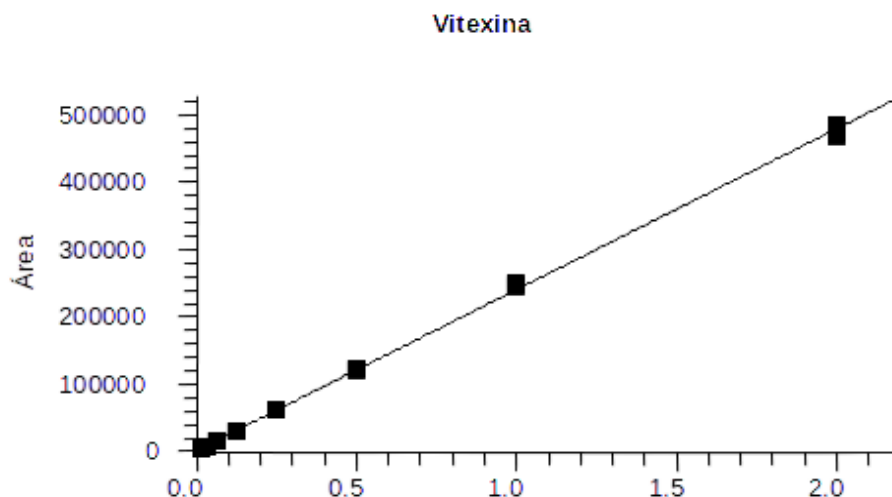


Figura 17. Curva analítica obtida pelo método de calibração externa para a quantificação de flavonoides de *P. incarnata* utilizando padrão de vitexina

A análise quantitativa da vitexina dos tratamentos de *P. incarnata* foi realizada a partir da curva analítica para determinação da linearidade, os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio das injeções (Tabela 5). A média dos valores obtidos para todos os tratamentos ficaram dentro dos teores de vitexina recomendados pela ANVISA para *P. incarnata* (ANVISA, 2015).

Tabela 5. Teor de vitexina dos extratos da parte aérea de *P. incarnata* submetida a fragmentação pré-secagem (NF: não fragmentada, FM: fragmentada média (1 a 5 cm) e FP: fragmentada pequena (< 0,5 cm)) em três épocas de colheita por CLUE-EM

Processamento (Fragmentação)									
NF				FM (1-5 cm)			FP (< 0,5 cm)		
Épocas de Colheita (meses)									
Teor de vitexina mg/g de matéria seca	Abr	Set	Nov	Abr	Set	Nov	Abr	Set	Nov
	4,60 ^a	3,80 ^a	4,26 ^a	3,92 ^a	2,85 ^a	4,37 ^a	3,87 ^a	2,98 ^a	3,31 ^a
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,862	1,496	1,632	0,748	1,153	1,266	1,227	1,724	1,124

n=18 * média $\pm$ desvio padrão ^a os pares de resultados com a mesma letra em sobrescrito não diferem estatisticamente entre si (ANOVA, p = 0,05)

Avaliando o teor de determinados flavonoides isômeros em 115 amostras de espécies de *Passiflora* de diversas partes do mundo por CLAE, verificou-se que *P.*

incarnata da América do Norte (Mississípi e Florida) apresentaram baixos teores de vitexina (0,06 mg/ g de matéria seca), enquanto outras espécies ainda pouco difundidas apresentaram teores mais elevados do que os encontrados neste trabalho e seu isômero (Abourashed et al., 2002).

Também através de CLAE-UV *Passiflora incarnata* 15,94 mg/g de planta seca de flavonoides totais expressos em vitexina, valor maior do que obtido em todos os tratamentos do presente trabalho, contudo a técnica utilizada não separou o isômero da vitexina que comumente é encontrado em maior quantidade (Figura 16).

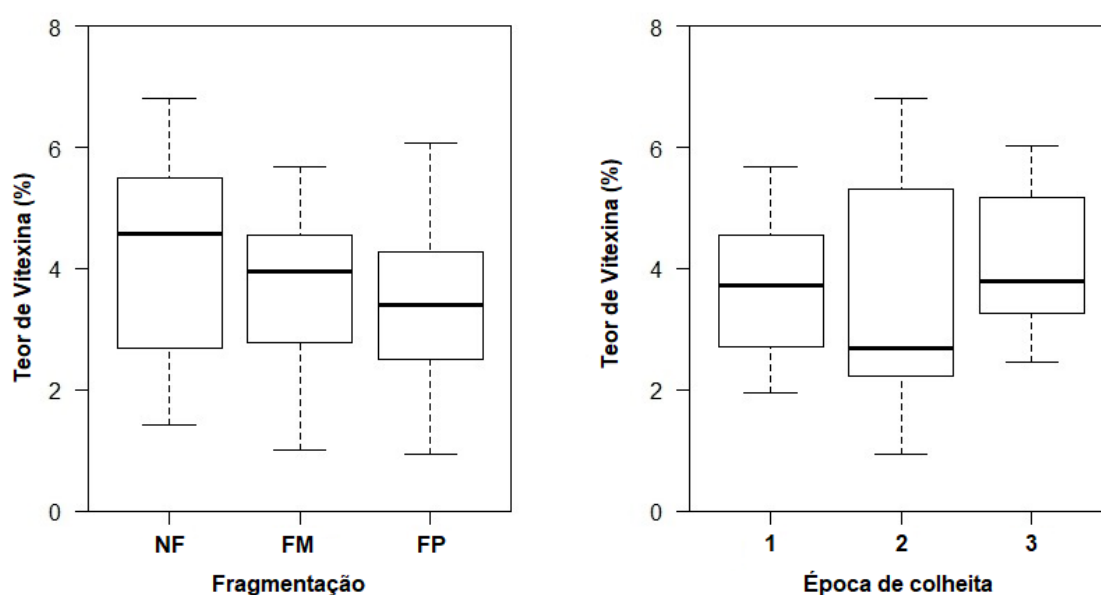


Figura 18. Boxplots dos teores de vitexina dos tratamentos (NF: não fragmentado, FM: fragmentada média de 1 a 5 cm e FP: fragmentada pequena < 0,5 cm) e épocas de colheita (1: abril, 2: setembro e 3: novembro).

Mesmo com grande variação nos teores de vitexina do tratamento não fragmentado e da segunda época de colheita (Figura 18), a média dos tratamentos não apresentaram diferenças significativas na avaliação dos teores de vitexina entre os tipos de fragmentação pré-secagem em diferentes épocas de colheita (Figura 19).

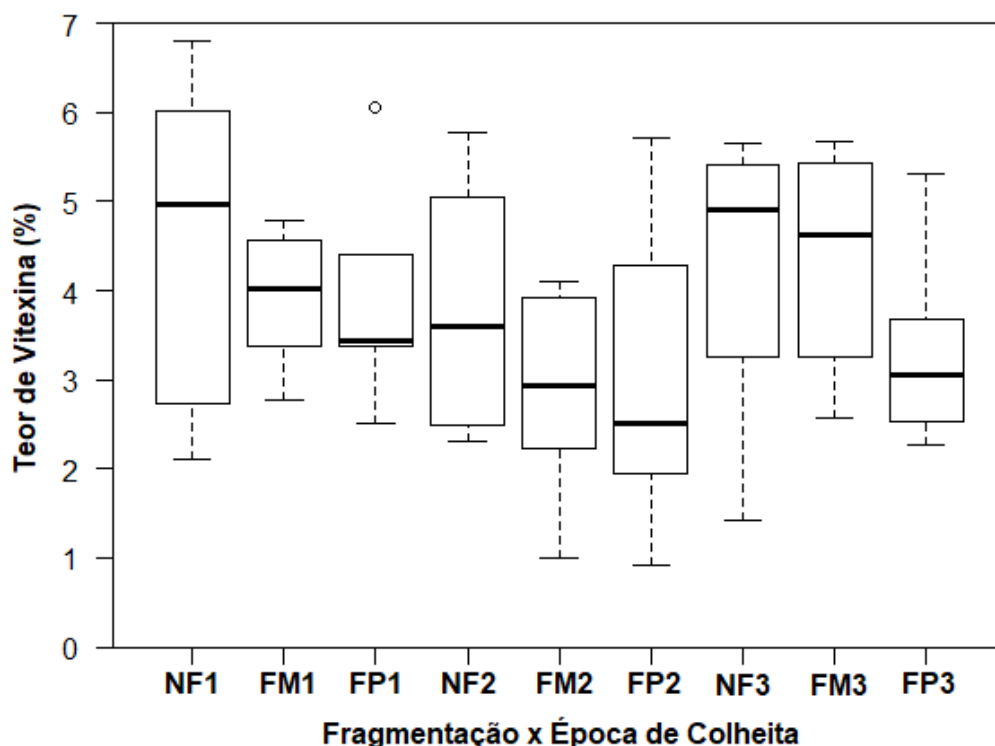


Figura 19. Boxplot dos teores de vitexina dos tratamentos (NF: não fragmentado, FM: fragmentada média de 1 a 5 cm e FP: fragmentada pequena < 0,5 cm) em relação a época de colheita (1: abril, 2: setembro e 3: novembro)

Diferente do observado para processamento de pré-secagem de plantas medicinais com componentes voláteis como capim limão, gengibre e carqueja, percebeu-se que o tamanho do fragmento do material vegetal submetido à extração de óleos essenciais também pode influenciar o rendimento dos extratos (COSTA et al., 2005; MAIA; BOVI; DUARTE, 1991; SILVA et al., 2010).

Operações de pré-limpeza buscam tornar a secagem mais eficiente utilizando técnicas de fragmentação como descascar, picar, rasurar, fatiar e desfolhar de acordo com a espécie de interesse (CORRÊA JUNIOR; SCHEFFER, 2013). O hábito trepador de *P. incarnata* podem dificultar a secagem em grande quantidades de maneira homogênea e a separação de material estranho enrolado em suas gavinhas e caule (FUENTES; LEMES; RODRÍGUEZ, 2000). Assim a fragmentação feita imediatamente antes da secagem da parte aérea pode contribuir como desidratação mais rápida sem perdas no teor de vitexina.

9. CONCLUSÃO

Considerando as diferentes colheitas e processamento de pós-colheita, avaliados no presente trabalho, pode-se concluir que os tamanhos de fragmentação da biomassa vegetal fresca, imediatamente antes da secagem da época de colheita, de *P. incarnata*, não influenciou significativamente nos teores de vitexina, com valor médio para todos os extratos ficando acima do teor mínimo recomendado pela ANVISA.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOURASHED, E. A.; VANDERPLANK, J. R.; KHAN, I. A. High-speed extraction and HPLC fingerprinting of medicinal plants—I. Application to *Passiflora* flavonoids. **Pharmaceutical biology**, v. 40, n. 2, p. 81–91, 2002.
- ALLEN, G. M.; BOND, M. D.; MAIN, M. B. 50 Common Native Plants Important In Florida's Ethnobotanical History. *Wildlife Ecology and Conservation*. p. 22, 2002.
- ANVISA, A. N. DE V. S. **Determinação do teor de flavonoides totais expressos em vitexina em extratos de *Passiflora incarnata***, 2014.
- ANVISA, A. N. DE V. S. **Monografia da espécie *Passiflora incarnata* Linnaeus (maracujá-vermelho)**. Monografia—BRASÍLIA: Ministério da Saúde, 2015.
- APG III. An uptade of the Angiosperm Phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants. v. 161:2, p. 105–121, 2009.
- BARATA, L. E. S. Empirismo e ciência: fonte de novos fitomedicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 57, n. 4, p. 4–5, dez. 2005.
- BLANK, A. F. et al. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 557–564, 2007.
- BRASIL, A. N. DE V. S. **Formulário de fitoterápicos da farmacopeia brasileira**. 1ª ed. BRASÍLIA: ANVISA, 2011.
- BRASIL, M. DA A., Pecuária e Abastecimento. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. 4. ed. BRASÍLIA: Marianne Christina Scheffer, Cirino Corrêa Júnior, 2006a.
- BRASIL, M. DA S. RENISUS – Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. . 2009.
- BRASIL, M. DA S. PORTARIA Nº 533. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). . 28 mar. 2012 a.
- BRASIL, M. DA S. S. DE A. À S. D. DE A. B. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. In: **Cadernos de Atenção Básica: A. Normas e Manuais Técnicos**. [s.l.] MS, 2012b. p. 156.
- BRASIL, M. DA S. S. DE C., Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. [s.l.] Ministério da Saúde (MS), 2006b.
- BRASILEIRO, J. C. B. **Morfologia foliar comparada de *Passiflora* L.(Passifloraceae)**. Dissertação—[s.l.] Universidade de São Paulo, 2014.
- BUCHBAUER, G.; JIROVETZ, L. Volatile Constituents of the Essential Oil of *Passiflora incarnata* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 4, n. 4, p. 329–334, 1992.
- CAMPOS, M. G. **Efeito da adubação orgânica na produção de fitomassa e nos compostos bioativos de *Passiflora incarnata* L.** Dissertação (Mestrado)—Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2015.
- CARVALHO, A. C. B. et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 5, n. 11, p. 26–32, 2007.
- CERVI, A. C. **Passifloraceae do Brasil: estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora***. [s.l.] Cyanus, 1997.
- CHIMICHI, S. et al. Isolation and characterization of an unknown flavonoid in dry extracts from *Passiflora incarnata*. **Natural Product Letters**, v. 11, n. 3, p. 225–232, 1998.
- CORRÊA JUNIOR, C.; SCHEFFER, M. C. **Boas práticas agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. [s.l.] EMATER, 2013.

- COSTA, L. DO B. et al. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 956–959, 2005.
- COSTA, G. M. Estudo químico de espécies brasileiras e colombianas do gênero *Passiflora*. 2013.
- COSTA, G. M. et al. Chemical profiles of traditional preparations of four South American *Passiflora* species by chromatographic and capillary electrophoretic techniques. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 4, p. 451–458, 2016.
- DA CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, v. 14, n. 1, p. 01, 2009.
- DE ALMEIDA NAVARRO, E.; TREVISAN, R. G.; DA SILVA FONSECA, R. Recensão crítica do livro "O português e o tupi no Brasil". **Língua e Literatura**, n. 30, p. 359–377, 2012.
- DE OLIVEIRA, M. T. R. **Secagem e qualidade do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip.** Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2011.
- DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 1–23, 2004.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Anti-anxiety studies on extracts of *Passiflora incarnata* Linneaus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, n. 2, p. 165–170, 2001.
- DURKEE, L. T. The floral and extra-floral nectaries of *Passiflora*. II. The extra-floral nectary. **American Journal of Botany**, p. 1420–1428, 1982.
- FARAG, M. A. et al. Comparative metabolite profiling and fingerprinting of genus *Passiflora* leaves using a multiplex approach of UPLC-MS and NMR analyzed by chemometric tools. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 408, n. 12, p. 3125–3143, 2016.
- FARIAS, V. DE. Anatomia foliar de *Passiflora* L.(Passifloraceae): aspectos taxonômicos e evolutivos. 2014.
- FIGUEREDO, C. A. DE et al. The National Policy on Medicinal Plants and Phytotherapy: building, perspectives and challenges. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 2, p. 381–400, 2014.
- FREITAS, L. B. História evolutiva das espécies de *Passiflora* L. de ocorrência no Rio Grande do Sul: aspectos genéticos, estrutura populacional e filogenia molecular. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. S1, 2011.
- FUENTES, V.; LEMES, C.; RODRÍGUEZ, C. Instructivo Técnico del cultivo de *Passiflora Incarnata* L. **Rev Cubana Plant Med**, 2000.
- FUNARI, C. S. et al. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, p. 1605–1609, 2013.
- 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.
- GOSMANN, G. et al. Composição química e aspectos farmacológicos de espécies de *Passiflora* L.(Passifloraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. S1, 2011.
- GRICE, I. D.; FERREIRA, L. A.; GRIFFITHS, L. R. Identification and simultaneous analysis of harmaline, harmine, harmol, isovitexin, and vitexin in *Passiflora incarnata* extracts with a novel HPLC method. **Journal of liquid chromatography & related technologies**, v. 24, n. 16, p. 2513–2523, 2001.
- HARVAD, V. Food plants of the North American Indians. v. 22, n. 3, p. 98–123, 1895.
- IMIG, D. C. **Estudo taxonômico da família Passifloraceae Juss, no Distrito Federal, Brasil**. Dissertação (Mestrado)—Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2013.

- KNIGHT, R. J. Development of Tetraploid Hybrid Passion Fruit Clones with Potential for the North Temperate Zone. **HortScience**, v. 26, n. 12, p. 1541–1543, 12 jan. 1991.
- LOPES, A. C. W. C. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para extrato de *Passiflora incarnata* Linneaus**. Dissertação (Mestrado)—Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.
- MADOGLIO, F. A. Investigação fitoquímica das partes aéreas de *Passiflora alata* Curtis. 2011.
- MAIA, N. B.; BOVI, O. A.; DUARTE, F. Obtenção e análise do óleo essencial do gengibre: efeito de secagem e processamento. **Bragantia**, v. 50, n. 1, p. 83–92, 1991.
- MALDANER, L.; JARDIM, I. UHPLC—Uma abordagem atual: desenvolvimentos e desafios recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 3, p. 197–207, 2012.
- 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.
- MARQUES, F. C. **Velhos conhecimentos, novos desenvolvimentos: transições no regime sociotécnico da agricultura: a produção de novidades entre agricultores produtores de plantas medicinais no Sul do Brasil**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.
- MASTEIKOVA, R. et al. Antiradical activities of the extract of *Passiflora incarnata*. **Acta Pol Pharm**, v. 65, n. 5, p. 577–83, 2008.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A. et al. Palynotaxonomy of *Passiflora* L. subg. *Decaloba* (DC.) Rchb.(Passifloraceae) in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 1, p. 133–145, 2010.
- MING, L. C. **Plantas medicinais na Reserva Extrativista Chico Mendes: uma visão etnobotânica**. [s.l.] UNESP, 2006.
- MORCOTE-RÍOS, G. Tumbas y plantas antiguas del suroccidente colombiano. **Boletín Museo del Oro**, n. 54, p. 46–71, 2006.
- NASCIMENTO, O.; MALDONADO, J.; ARNÓBIO, A. Estudo do desempenho comercial dos insumos farmacêuticos vegetais sob a ótica do Comércio Exterior. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 9, n. 3, p. 233–246, 2015.
- NGAN, A.; CONDUIT, R. A double-blind, placebo-controlled investigation of the effects of *Passiflora incarnata* (Passionflower) herbal tea on subjective sleep quality. **Phytotherapy research**, v. 25, n. 8, p. 1153–1159, 2011.
- PATEL, S. S. et al. *Passiflora incarnata* Linn: A review on morphology, phytochemistry and pharmacological aspects. **Pharmacognosy Reviews**, v. 3, n. 5, p. 186–192, 2009.
- PATEL, S. S. et al. Recent updates on the genus *Passiflora*: a review. **Int J Res Phytochem Pharmacol**, v. 1, n. 1, p. 1–16, 2011.
- PEREIRA, C. A. et al. A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. **Phytochemical Analysis**, v. 15, n. 4, p. 241–248, 2004.
- PIETROGRANDE, M. C. et al. Characterization of new types of stationary phases for fast and ultra-fast liquid chromatography by signal processing based on AutoCovariance Function: A case study of application to *Passiflora incarnata* L. extract separations. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 26, p. 4355–4364, 2010.
- PINTO, A. C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, n. 1, p. 45–61, 2002.
- RAFFAELLI, A. et al. Mass spectrometric characterization of flavonoids in extracts from *Passiflora incarnata*. **Journal of Chromatography A**, v. 777, n. 1, p. 223–231, 1997.

- SALDANHA, L. L. **Prospecção química e avaliação das atividades antioxidante e alelopática de *Myrcia bella* Cambess.** [s.l.] Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Botucatu, UNESP, 2013.
- RAIJ, B. VAN et al. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** 2. ed. Campinas: Boletim Técnico nº 100, 1997.
- REHWALD, A.; STICHER, O.; MEIER, B. Trace analysis of harman alkaloids in *Passiflora incarnata* by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Phytochemical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 96–100, 1995.
- REIMBERG, M. C. H. **Estudo de algumas variáveis que interferem na concentração de flavonóides do cultivo de folhas de *Passiflora incarnata* L.** [s.l.] Universidade de São Paulo, 2006.
- REIMBERG, M. C. H.; COLOMBO, R.; YARIWAKE, J. H. Multivariate analysis of the effects of soil parameters and environmental factors on the flavonoid content of leaves of *Passiflora incarnata* L., Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 853–859, 2009.
- RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, 2004.
- SANTOS, R. L. et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 4, p. 486–491, 2011.
- SILVA, F. G. et al. Influência do processamento pós-colheita e armazenamento na composição química da droga vegetal e do óleo essencial de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 4, p. 436–442, 2010.
- SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 435–440, 2010.
- TEAM, R. C. R: **A Language and Environment for Statistical Computing.** Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2014. R Foundation for Statistical Computing, 2016.
- TONIN, F. B. **Propagação de *Passiflora incarnata* L. com o uso de estacas radiculares.** Tese—Botucatu: Universidade Estadual Paulista UNESP, 2010.
- VELOSO, D. P. et al. Plantas utilizadas em fitomedicamentos para os distúrbios do sono. **Natureza on line**, v. 6, n. 1, p. 29–35, 2008.
- VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. DA S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.
- VIEIRA, G. P. **Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e alcaloides em folhas e frutos (pericarpo, polpa e sementes) de *Passifloras* spp.** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2013.
- VIZZOTTO, M.; KROLOW, A.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado. Documentos**, 316, p. 17, 2010.
- WAGNER JÚNIOR, A. et al. Influência do substrato na germinação e desenvolvimento inicial de plantas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). **Ciência e Agrotecnologia**, 2006.
- WARIDEL, P. et al. Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of C-glycosidic flavonoid isomers. **Journal of Chromatography A**, v. 926, n. 1, p. 29–41, 2001.
- WOHLMUTH, H. et al. Pharmacognosy and chemotypes of passionflower (*Passiflora incarnata* L.). **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 6, p. 1015–1018, 2010.
- WOLFENDER, J.-L. et al. Plant metabolomics: from holistic data to relevant biomarkers. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 1056–1090, 2013.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147–152, 2001.

ZELENA, E. et al. Development of a Robust and Repeatable UPLC-MS Method for the Long-Term Metabolomic Study of Human Serum. **Pharmacol. Toxicol**, v. 48, p. 653–683, 2008.

ZUANAZZI, J. A. S.; MAYORGA BORGES, P. E. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1421–1428, 2010.

ZUCARELI, C. et al. Fitoreguladores e germinação de sementes de maracujá doce em condições de laboratório. **Scientia agraria**, v. 4, n. 1, p. 9–14, 2003.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa buscou fazer uma pequena contribuição a técnicas utilizadas pelos agricultores familiares durante o beneficiamento pós-colheita de plantas medicinais. A fim de produzir uma discussão sobre como tecnologias atuais podem apoiar o conhecimento popular melhorando a eficiência dos processos de secagem de *P. incarnata*.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTAFIN, I. Reflexões sobre o conceito de agricultura familiar. **Brasília: CDS/UnB**, 2007.
- BARRETTO, S. F. A.; PIAZZALUNGA, R. Tecnologias sociais. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 4, p. 4–5, 2012.
- BRASIL. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. 2006a.
- BRASIL, Ministério da Saúde. RENISUS – **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. 2009.
- BRASIL. **Plano Safra da Agricultura Familiar 2016/2017**, 2016. Disponível em: <http://www.mda.gov.br/sitemda/sites/sitemda/files/user_arquivos_3/ps01.pdf>.
- BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. D. M. The use of phytotherapy and medicinal plants in primary healthcare units in the cities of Cascavel and Foz do Iguaçu-Paraná: the viewpoint of health professionals. **Ciência & Saúde coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.
- CAMPOS, M. G. **Efeito da adubação orgânica na produção de fitomassa e nos compostos bioativos de *Passiflora incarnata* L.** Dissertação (Mestrado)—Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2015.
- CORRÊA JUNIOR, C.; SCHEFFER, M. C. **Boas práticas agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. EMATER, 2013.
- DE ABREU MATOS, F. J. O projeto farmácias vivas e a fitoterapia no nordeste do Brasil. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 5, n. 3, p. 24–32, 2006.
- DE FIGUEREDO, C. A.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 2, 2014.
- DE OLIVEIRA, M. T. R. **Secagem e qualidade do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip.** Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2011.
- DE SOUZA, A. R. et al. A placa Arduino: uma opção de baixo custo para experiências de física assistidas pelo PC. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 33, n. 1, p. 17021–1725, 2011.
- FUNARI, C. S. et al. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, p. 1605–1609, 2013.
- LOURENZANI, A.; LOURENZANI, W. L.; BATALHA, M. O. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. **Informações econômicas**, v. 34, n. 3, p. 15–25, 2004.
- MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química nova**, 2009.
- MALDANER, L.; JARDIM, I. UHPLC—Uma abordagem atual: desenvolvimentos e desafios recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 3, p. 197–207, 2012.
- MARQUES, F. C. **Velhos conhecimentos, novos desenvolvimentos: transições no regime sociotécnico da agricultura: a produção de novidades entre agricultores produtores de plantas medicinais no Sul do Brasil**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.
- NASCIMENTO, O.; MALDONADO, J.; ARNÓBIO, A. Estudo do desempenho comercial dos insumos farmacêuticos vegetais sob a ótica do Comércio Exterior. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 9, n. 3, p. 233–246, 2015.
- OLIVEIRA, A. C. D.; ROPKE, C. Os dez anos da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e os principais entraves da cadeia produtiva de extratos vegetais e medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 10, n. 2, p. 185–198, 2016.

- ORTEGA, G. G. et al. Brazilianische Phytotherapeutika. Ihre rolle im Arzneimittelmarkt. **Dtsch. Apoth. Ztg**, v. 129, p. 1847–1848, 1989.
- PATEL, S. S. et al. Recent updates on the genus Passiflora: a review. **Int J Res Phytochem Pharmacol**, v. 1, n. 1, p. 1–16, 2011.
- TORRES, J. D. et al. Aquisição de dados meteorológicos através da plataforma Arduíno: construção de baixo custo e análise de dados. **Scientia Plena**, v. 11, n. 2, 2015.
- WOLFENDER, J.-L. et al. Plant metabolomics: from holistic data to relevant biomarkers. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 1056–1090, 2013.