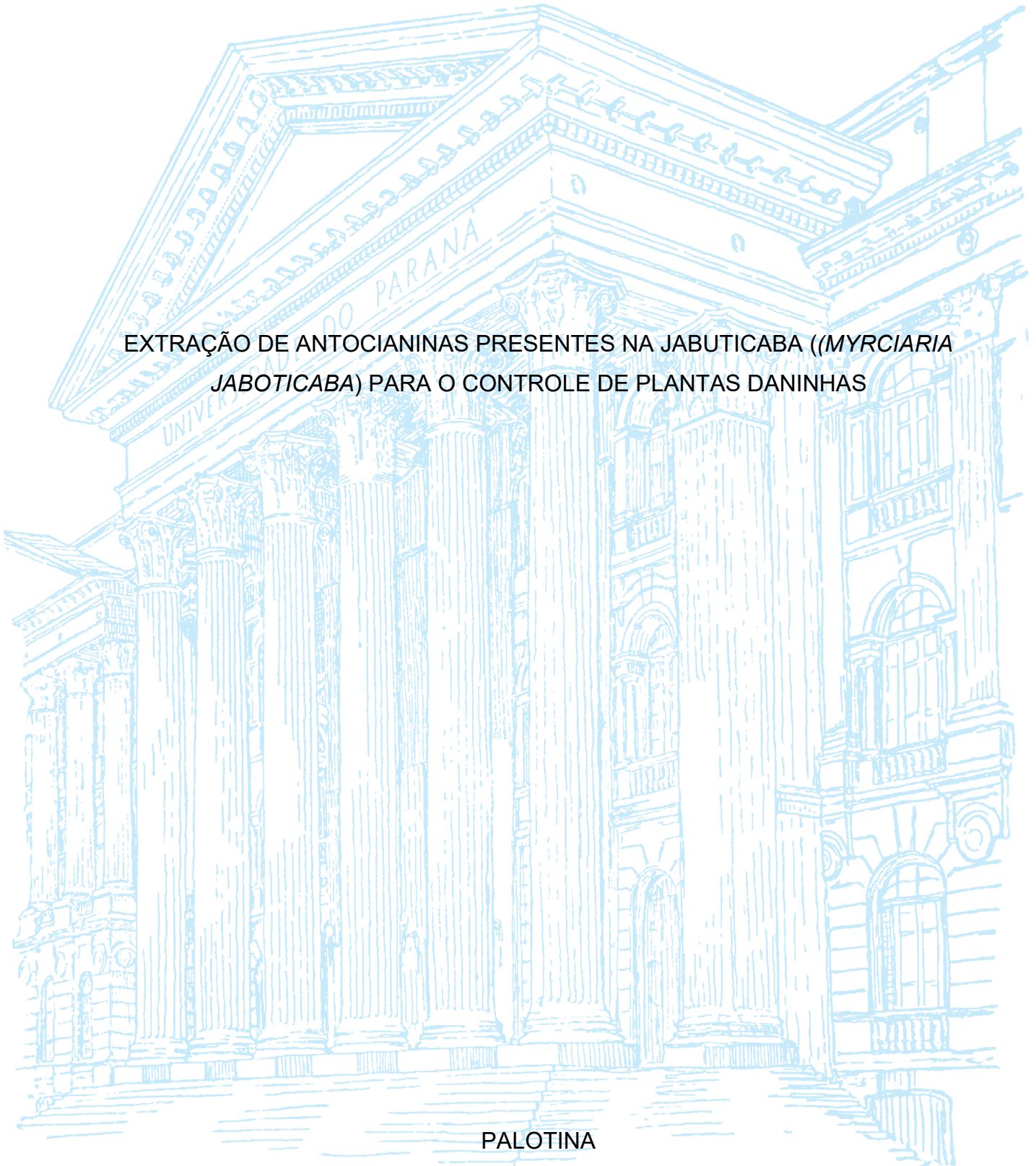


DAIANE LETÍCIA CERUTTI

EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS PRESENTES NA JABUTICABA ((*MYRCIARIA JABOTICABA*)) PARA O CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS

PALOTINA

2021



DAIANE LETÍCIA CERUTTI

EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS PRESENTES NA JABUTICABA (*MYRCIARIA  
JABOTICABA*) PARA O CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná como requisito à obtenção do título de Licenciada em Ciências Exatas-Habilitação em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Leidi Cecilia Friedrich

Co-orientadora: Prof. Dra. Letycia Lopes Ricardo

PALOTINA

2021

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

DAIANE LETÍCIA CERUTTI

### **EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS PRESENTES NA JABUTICABA (*MYRCIARIA JABOTICABA*) PARA O CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná como requisito à obtenção do título de obtenção do grau de Licenciado em Ciências Exatas, pela seguinte banca examinadora:

---

Prof. Me. Wander Mateus Branco Meier  
Departamento de Engenharia e Exatas da Universidade Federal do Paraná, UFPR.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita de Cássia dos Anjos  
Departamento de Engenharia e Exatas da Universidade Federal do Paraná, UFPR.

---

Prof. Dr. Rodrigo Sequinel  
Departamento de Engenharia e Exatas da Universidade Federal do Paraná, UFPR.

---

Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>.Roberta Chiesa Bartelmebs  
Departamento de Educação, Ensino e Ciências da Universidade Federal do Paraná,  
UFPR.

Palotina, 13 de Dezembro de 2021



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela sua presença e todas as bênçãos dadas a mim durante toda a minha graduação.

Agradeço aos meus pais, Cristiane e Norberto, que nunca mediram esforços para que eu alcançasse todos os meus sonhos e chegasse ao final da minha graduação, me amparando e dando forças para sempre continuar.

A minha irmã, Júlia que em inúmeras vezes me animou e me amparou.

A minha querida amiga Ana Paula que desde o início do curso me acompanhou incessantemente, me aconselhou e me ajudou inúmeras vezes.

Ao meu amigo e companheiro Everton por me dar ânimo e me incentivar sempre com muito amor e carinho.

A todos os demais amigos, que fizeram parte dessa etapa da minha vida e que me proporcionaram inúmeros momentos felizes e de aprendizados eternos.

Agradeço a Professora Leidi Cecilia Friedrich pela confiança depositada em mim e pela oportunidade de vivenciar experiências incríveis que levaram a formulação deste trabalho e contribuíram imensamente para minha formação.

A Professora Letycia Lopes Ricardo que sempre me ajudou e acreditou em mim.

Ao Dr. Cássio Pacheco, Professor Frank Habert Quina e a Professora Gislaine que me receberam em seus respectivos laboratórios, me ensinaram e contribuir para minha formação e tornaram possível esse trabalho.

A todos os professores da UFPR que fizeram parte da minha formação.

Agradeço aos Órgãos e fomentos de pesquisa CNPq, CAPES e Fundação Araucária pelas bolsas e apoio financeiro concedidos durante minha graduação.

*O que sabemos é uma gota o que ignoramos  
é um oceano” (Isaac Newton)*

## RESUMO

As antocianinas são o maior grupo de pigmentos encontrados na natureza solúveis em água, e fazem parte da classe dos flavonoides sendo responsáveis, entre outras atividades, pela proteção e reprodução das plantas. As antocianinas conferem as colorações desde azuis até vermelhas. Sua capacidade antioxidante chamam a atenção de diversas pesquisas, principalmente na área da saúde, indicando melhoras e fonte de possíveis tratamentos para doenças. Algumas das principais fontes de antocianinas conhecidas atualmente são as famílias das *Vitaceae* (uvas) e *Rosaceae* (cereja, ameixa, morango, amora e outras). Estudos atuais têm indicado um alto teor de antocianinas na casca da jabuticaba, árvore frutífera nativa do Brasil. As principais antocianinas encontradas são a cianidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo. Os antioxidantes atualmente também têm despertado interesse na área da agricultura, visando a formulação de novos herbicidas com compostos ativos e que sejam menos nocivos ao meio ambiente. Diante do exposto, buscou-se extrair e identificar duas antocianinas presentes na casca da jabuticaba e testar o extrato contendo estas na germinação pré-inicial de plantas daninhas. Para isso, realizou-se a extração e determinação da presença de antocianinas na casca da jabuticaba da espécie *MYRCIARIA JABOTICABA* (cultivar sabará) e a verificação dos efeitos do extrato sobre a germinação inicial de três espécies de plantas daninhas *A. hybridus* (caruru-roxo), *E. heterophylla* (amendoim-bravo) e *I. grandifolia* (corda-de-viola). A extração das antocianinas foi realizada pelas seguintes etapas: (1) submersão das cascas do fruto em metanol acidificado com HCl 0,01% durante 24 horas; (2) filtração simples do extrato e (3) extração das antocianinas da solução metanólica através da técnica de extração em fase sólida (SPE), utilizando cartuchos C18 de 500mg. Para a última etapa utilizou-se HCl 0,01%, acetato de etila e metanol acidificado com HCl 0,01%. Rotoevaporou-se então a fração de metanol contendo as antocianinas. A amostra obtida então foi diluída novamente em metanol e adicionada a concentração de 250 ppm em cada caixa gerbox contendo as sementes das plantas daninhas. O efeito do extrato sobre a germinação foi analisado através de nove parâmetros. A presença das antocianinas no extrato foi determinada pela espectroscopia de massas sendo que para a delphinidina-3-O-glicosídeo m/z: [M]<sup>+</sup> foi encontrado 465,13 e para a cianidina-3-O-glicosídeo m/z:[M]<sup>+</sup>, foi encontrado 449,13. Além disso pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência encontrou-se dois picos, um em t=18,7min e outro em t= 1,7min que indicam a presença das antocianinas cianidina-3-O-glicosídeo e delphinidina-3-O-glicosídeo, respectivamente. Os efeitos do extrato sobre a germinação inicial das plantas daninhas obtiveram resultados significativos apenas para a espécie *E. heterophylla* que teve sua porcentagem de germinação aumentada, e para a espécie *I. grandifolia* que teve sua velocidade de germinação e velocidade de germinação acumulada, aumentada e o tempo de germinação diminuído. Através dos resultados obtidos, comprovou-se a presença das antocianinas na casca da jabuticaba e sua extração da casca da jabuticaba, além disso, sobre as condições realizadas no trabalho, o extrato não obteve resultados significativos sobre a germinação inicial das três espécies daninhas que foram analisadas.

Palavras-chave: Alelopatia. Identificação. Delphinidina-3-O-glicosídeo. Cianidina-3-O-Glicosídeo.

## ABSTRACT

Anthocyanins are the biggest group of pigments found in nature soluble in water, and are part of the flavonoid class, being responsible, among other activities, for the protection and reproduction of plants. Anthocyanins impart colors ranging from blue to red. Its antioxidant capacity draws the attention of several researches, mainly in the health area, indicating improvements and source of possible treatments for diseases. Some of the main sources of anthocyanins known today are the families of *Vitaceae* (grapes) and *Rosaceae* (cherry, plum, strawberry, blackberry and others). Current studies have indicated a high content of anthocyanins in the bark of jaboticaba, a fruit tree native to Brazil. The main anthocyanins found are cyanidin-3-glucoside and delphinidin-3-glucoside. Antioxidants are currently also arousing interest in the agricultural area, aiming at the formulation of new herbicides with active compounds that are less harmful to the environment. Given the above, we sought to extract and identify two anthocyanins present in jaboticaba bark and test the extract containing these in the pre-initial germination of weeds. Thereunto, the extraction and determination of the presence of anthocyanins in the bark of the jaboticaba species *MYRCIARIA JABOTICABA* (sabará) and the verification of the effects of the extract on the initial germination of three weed species *A. hybridus* (purple weed) were carried out, *E. heterophylla* (wild peanut) and *I. grandifolia* (viola string). The extraction of anthocyanins was carried out by the following steps: (1) submersion of the fruit peels in methanol acidified with 0.01% HCl for 24 hours; (2) simple filtration of the extract and (3) extraction of anthocyanins from the methanolic solution through the technique of Solid Phase Extraction (SPE), using 500mg C18 cartridges. For the last step 0.01% HCl, ethyl acetate and methanol acidified with 0.01% HCl were used. The methanol fraction containing the anthocyanins was then roto evaporated. The sample obtained was then diluted again in methanol and added at a concentration of 250 ppm in each gearbox box containing the weed seeds. The effect of the extract on germination was analyzed using nine parameters. The presence of anthocyanins in the extract was determined by mass spectroscopy and for delphinidin-3-O-glucoside m/z: [M]<sup>+</sup> was found 465.13 and for cyanidin-3-O-glucoside m/z: [M]<sup>+</sup>, was found 449.13. Furthermore, by the High Performance Liquid Chromatography technique, two peaks were found, one at t=18.7min and the other at t=1.7min, which indicate the presence of the anthocyanins cyanidin-3-O-glycoside and delphinidin-3-O -glycoside, respectively. The effects of the extract on the initial germination of weeds obtained significant results only for the species *E. heterophylla*, which had its germination percentage increased, and for the species *I. grandifolia*, which had its germination speed and germination speed accumulated, increased and the decreased twinning time. Through the results obtained, the presence of anthocyanins in the jaboticaba bark and its extraction from the jaboticaba bark was confirmed. Furthermore, under the conditions carried out in the work, the extract did not obtain significant results on the initial germination of the three weed species that were analyzed.

Keywords: Allelopathy. Identification. Delphinidin-3-O-glycoside. Cyanidin-3-O-Glycoside.

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
1.1 CONTEXTO E PROBLEMA .....	10
1.2 OBJETIVOS .....	11
1.2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>12</b>
2.1 ANTOCIANINAS .....	12
2.2 JABUTICABA ( <i>MYRCIARIA JABOTICABA</i> ) COMO FONTE DE ANTOCIANINAS 15	
2.3 ANTOCININAS, ALELOPATIA E OS HERBICIDAS.....	16
2.4 HERBICIDAS A PARTIR DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS .....	18
<b>3 MÉTODOS E METODOLOGIA</b> .....	<b>21</b>
3.1 SOLUÇÕES .....	21
3.2 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS. ....	21
3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS ANTOCIANINAS .....	22
3.3.1 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC).....	22
3.3.2 ESPECTROSCOPIA DE MASSA DE BAIXA RESOLUÇÃO.....	23
3.3.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORVÇÃO NO UV/VIS .....	23
3.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO FITOTÓXICO DAS ANTOCIANINAS SOBRE PLANTAS DANINHAS .....	24
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>27</b>
4.1 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS .....	27
4.2 EFEITO FITOTÓXICO DAS ANTOCIANINAS SOBRE A GERMINAÇÃO E O CRESCIMENTO INICIAL DE PLANTAS DANINHAS.....	29
<b>5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES</b> .....	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>34</b>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CONTEXTO E PROBLEMA

As cascas e sementes de diversos frutos, que muitas vezes não são consumidas, possuem uma grande quantidade de compostos bioativos. Dentre as diversas atividades desses compostos, podemos citar as propriedades antioxidantes que protegem as células de ações oxidativas e sua influência direta em genes causando modificação em diversos mecanismos celulares. A utilização desses resíduos em diferentes atividades tem sido pesquisada, a fim de dar destino adequado agregando valor aos subprodutos, além do aproveitamento dos compostos presentes. Uma ampla variedade de compostos bioativos pode ser citada, entre estes encontramos as antocianinas que possuem alta capacidade antioxidante e são responsáveis pelas colorações azuis e vermelhas, e pela proteção dos frutos e plantas (BARROS, *et al.* 2019).

Os compostos fenólicos, classe a qual as antocianinas fazem parte, são também estudados quanto a sua capacidade aleloquímica, que tem gerado interesse crescente na agricultura para a formulação de bioherbicidas. Os aleloquímicos, são substâncias produzidas pelas plantas que podem ter efeitos benéficos ou maléficos sobre outras plantas. Na agricultura tem-se estudado a alelopatia na germinação de plantas daninhas, buscando analisar o efeito fitotóxico, ou seja, o efeito inibitório na germinação destas, visando o aumento da produtividade de diversos cultivares como a soja, milho e trigo (CHAID, *et al.* 2021).

A extração dos compostos fenólicos, como as antocianinas é uma etapa muito importante. A extração utiliza geralmente solventes orgânicos, nos quais, através da semelhança de polaridade consegue-se extrair e separá-los dos demais compostos (BARROS, *et al.* 2019). A presença do solvente etanol aumenta a solubilidade dos compostos fenólicos e a água auxilia na dessorção do soluto. O tempo de extração e a temperatura também influenciam neste processo, sendo que temperaturas muito elevadas ou extrações muito prolongadas acabam influenciando negativamente. A extração das antocianinas é favorecida em meio ácido por dois principais motivos: (1) os ácidos degradam as membranas celulares, aumentando a interação solvente-composto e (2) Hidrogênios livres em solução estabilizam as antocianinas quando apresentam um cátion flavílico (BARROS, *et al.* 2019).

As principais fontes de antocianinas na natureza estão presentes nas famílias das Vitaceae e Rosaceae, podendo ainda ser encontradas em outras famílias como a Solanaceae, Ericaceae e outras. Dentre a diversidade da flora brasileira, encontramos a Jabuticabeira (*MYRCIARIA JABOTICABA*), árvore com ocorrência espontânea em grande parte do território brasileiro. Estudos tem mostrado que a casca da Jabuticaba apresenta um teor de antocianinas significativo. As duas antocianinas presentes na Jabuticaba, relatadas na literatura, são cianidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo (JACKMAN, SMITH, 1996).

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 OBJETIVO GERAL

Extrair e identificar as antocianinas presentes na casca da jabuticaba e avaliar o potencial fitotóxico do extrato de antocianinas sobre a germinação e o crescimento inicial de três plantas daninhas.

### 1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a extração de antocianinas presentes na casca da jabuticaba;
- Determinar a presença das antocianinas no extrato através de técnicas analíticas;
- Analisar o potencial fitotóxico do extrato da jabuticaba sobre a germinação e o crescimento inicial de plantas daninhas;
- Agregar valor ao subproduto, casca de jabuticaba, através da sua utilização para obtenção de compostos com possível efeito fitotóxico.

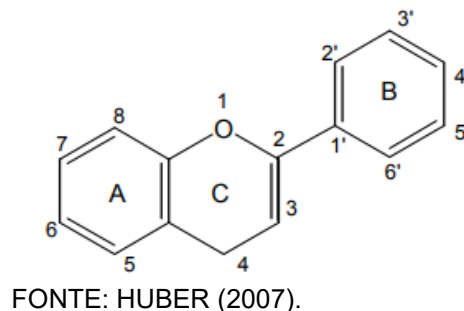
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ANTOCIANINAS

As antocianinas são o maior grupo de pigmentos solúveis em água conhecidos atualmente. Pertencentes a classe dos flavonoides, são substâncias provenientes do metabolismo secundário das plantas. Nas plantas a função dos flavonoides são a mediação desta com o ambiente em que se encontra, ou seja, atuam na reprodução, crescimento e proteção das plantas, entre outras funções (MALACRIADA, 2005). A classe dos flavonoides possui ação antioxidante devido as reações entre elétrons livres e/ou átomos de hidrogênio aos radicais livres, ou ainda através da quelação de metais, interferindo na formação de radicais livres que são catalisadores por metais solúveis (MEIRA, *et al.* 2017).

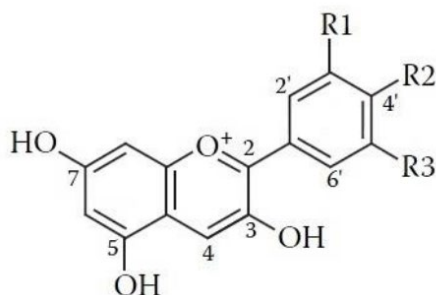
A classe dos flavonoides é subdividida em “[...] flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis e antocianinas” (MEIRA, *et al.* 2017, p. 54). A estrutura química básica desses compostos é definida por 15 carbonos dispostos em 2 anéis aromáticos ligados via carbono heterocíclico de pirano, sendo sua configuração C6-C3-C6, conforme mostrado na FIGURA 1 (MALACRIADA, 2005; HUBER, 2007).

FIGURA 1 – ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONÓIDES



As antocianidinas apresentam dois anéis aromáticos que são unidos por 3 carbonos e um oxigênio. Sendo que 90% das antocianidinas encontradas na natureza são: cianidina, pelargonidina, peonidina, pentunidina, deflinidina e malvidina. As antocianidinas vão variar conforme a presença de hidroxila e o grau de metilação desses grupos, sendo que a estrutura geral destas pode ser observada na FIGURA 2 e os possíveis radicais podem ser observados na TABELA 1 (STANQUEVIS, 2013).

FIGURA 2 – ESTRUTURA GERAL DAS ANTOCIANINAS



FONTE: STANQUEVIS (2013).

TABELA 1 – POSSÍVEIS RADICAIS DE CADA ANTOCIANIDINA

Antocianidina	R1	R2	R3
Pelargonidina	H	OH	H
Cianidina	OH	OH	H
Delfinidina	OH	OH	OH
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH	OH
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>

FONTE: STANQUEVIS (2013).

Quando as antocianidinas possuem um ou mais açúcares ligados à sua estrutura, denomina-se então de antocianinas. A glicosilação das antocianidinas ocorrem comumente na posição 3 do anel central, sendo os principais açúcares: a glicose, galactose, xilose e ramnose. além dos açúcares, também pode haver a presença de ácidos ligados a estes, sendo os mais comuns o ácido ferúlico, caféico, *p*-cumárico, malônico e oxálico (STANQUEVIS, 2013).

As antocianinas, cujo nome deriva das palavras gregas *anthos* = flor e *kiano* = azul são compostos que conferem coloração azul, vermelha e violeta a flores e frutos. Nas plantas desempenham a função de atração de insetos, proteção contra a luz solar, aumento da fotossíntese além de serem antioxidantes endógenos (STANQUEVIS, 2013; MEIRA *et al.* 2017).

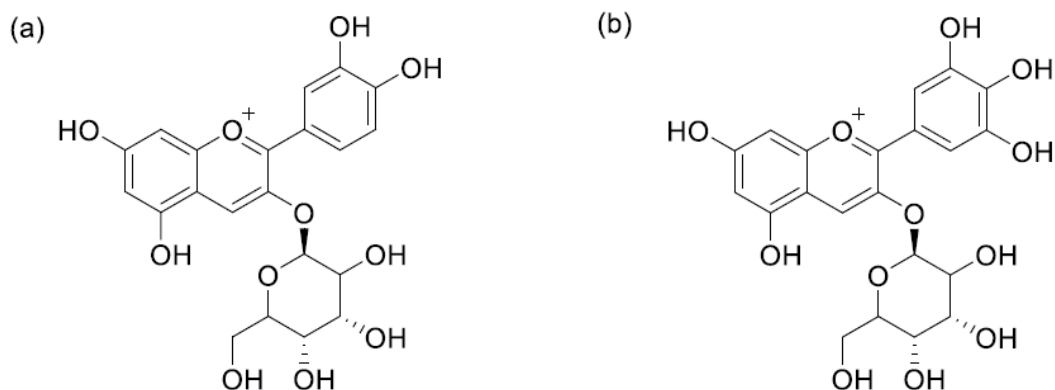
Sua extração é facilmente realizada com reagentes polares, sendo os mais utilizados o metanol e etanol. Além disso, a extração com reagentes alcoólicos acidificados é empregada por evitarem o aparecimento de fungo e garantirem maior estabilidade. Entretanto, o uso abusivo de ácidos pode comprometer a estrutura química das antocianinas, podendo levar a formação de antocianidinas. Porém, o uso

correto de ácido causa a degradação da membrana celular, auxiliando na interação do solvente e dos compostos, além de ajudarem na estabilização da molécula, através da disposição de hidrogênio que auxilia na estabilização de cátions flavílicos. A temperatura também deve ser observada sendo que estudos apontam para a estabilidade química das antocianinas até 60°C (CARDOSO, 2011).

A interferência do pH no meio onde se encontram as antocianinas pode acarretar na mudança da sua coloração. Em pH ácido próximo a 1, as antocianinas apresentam coloração vermelha, entretanto em pH 4,5 apesar de ainda ser ácido, a coloração vermelha se apresenta bem menos intensa (CARDOSO, 2011).

Dentre as diversas fontes de antocianinas destacamos a jabuticaba, a qual estudos apontam para um alto teor, principalmente na casca. O teor de antocianinas presentes na casca da jabuticaba se mostra superior quando comparado com o fruto do açaí, amora, pitanga roxa, acerola, goiaba, camu-camu fresco, casca da berinjela e pétalas de hibisco, o respectivo teor de cada um pode ser observado (MEIRA, *et al.* 2017). As principais antocianinas encontradas na casca da jabuticaba são a delphinidina-3-glicosídeo e cianidina-3-glicosídeo, suas estruturas podem ser vistas na FIGURA 3.

FIGURA 3 – ESTRUTURAS DAS ANTOCIANINAS PRESENTES NA CASCA DA JABUTICABA: (A) CIANIDINA-O-GLICOSÍDEO E (B) DELFINIDINA-O-GLICOSÍDEO



FONTE: SILVA (2020).

As antocianinas são relacionadas a vários benefícios na saúde humana como ação antioxidante, anti-inflamatória, redução de lipídeos, neuro proteção e outras (CAI, *et al.* 2021). Estas ainda tem despertado interesse na indústria alimentícia, por ser uma fonte de novos pigmentos alimentícios não tóxicos, com benefícios a saúde

humana e muito abundante na natureza (CAI, *et al.* 2021; GHASEMPOUR; HALLAJ-NEZHADI, 2021). Pesquisas também apontam que o consumo das cascas de Jaboticaba tem apresentado melhora na saúde de pacientes (BARROS, *et al.* 2019) Entretanto, o estudo de antioxidantes, em específico antocianinas, e seus efeitos em plantas daninhas ou culturas como a soja e o milho são pouco estudados.

## 2.2 JABUTICABA (*MYRCIARIA JABOTICABA*) COMO FONTE DE ANTOCIANINAS

A *MYRCIARIA JABOTICABA*, conhecida popularmente como jabuticabeira, é uma árvore frutífera nativa do Brasil pertencente à família das *Myrtaceae*, seus frutos são considerados exóticos. Seu cultivo ocorre em todo Brasil, mas principalmente nas regiões Centro/Sul/Sudeste nos estados do Paraná, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Minas Gerais. Seu valor comercial não é alto já que é muito perecível, tendo uma vida útil de até três dias após sua colheita (CITADIN; DANNER; SASSO, 2010).

A jabuticabeira é uma árvore de grande rusticidade e longevidade, com altura de 10-15 m, apresenta tronco liso de 30-40 cm de diâmetro, flores brancas e sésseis. Os frutos da jabuticabeira, as jaboticabas, são caracterizadas por serem frutos globulosos com uma casca vermelha escura próxima ao negro, sua polpa é mucilaginoso, de sabor agridoce podendo apresentar de uma a quatro sementes. Seus usos vão desde o consumo *in natura* até a fabricação de produtos como: licores, geleias, vinagres, sorvetes, bebidas fermentadas, entre outras. (ALEZANDRO, *et al.* 2013; INADA, *et al.* 2021; CITADIN; DANNER; SASSO, 2010).

A jaboticaba é um fruto rico em compostos fenólicos, principalmente antocianinas e elagitaninos. Na literatura mais de 80 compostos fenólicos já foram descritos, assim como seus derivados, como as antocianinas, derivados do ácido hidroxibenzoico como os elagitaninos, galotaninos, derivados do ácido elágico, ácidos hidroxicinâmicos, flavonóis, flavonóis, flavanonas e flavona, dentre os compostos bioativos presentes na sua composição podemos citar diferentes vitaminas, minerais, ácidos orgânicos, açúcares, ente outros. A maioria desses compostos estão presentes na casca e sementes do fruto (ALEZANDRO, *et al.* 2013; INADA, *et al.* 2021; SILVA, 2016).

Outros estudos apontam também para atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* contra micro-organismos de extrato orgânico das sementes da jaboticaba (HACKE, *et al.* 2016). Além dessas pesquisas, estudos *in vitro* e *in vivo* em

camundongos constataram atividade antiproliferativa e antimutagênica da casca da jaboticaba, além disso tal estudo verificou ainda a diminuição da proliferação da leucemia e câncer de próstata (LEITE-LEGATTI, *et al.* 2012). Estudos utilizando a casca da jaboticaba na alimentação de ratos constataram a diminuição de colesterol total e triacilgliceróis (BATISTA, 2013; LENQUISTE *et al.* 2012). Entretanto, mesmo com seu potencial agrícola e comercial poucos estudos são desenvolvidos a fim de diminuir seus resíduos gerados a partir do processamento da fruta.

Segundo Fidelis (2019) p. 26 que faz referência à Sagar *et al.* (2018):

Resíduos de frutas e verduras, provenientes do processamento, representam, aproximadamente, 25 a 30% dos produtos. Sementes, cascas e bagaço são consideradas fontes de fitoquímicos, compostos bioativos de alto valor, como os polifenóis, carotenóides, fibras alimentares, vitaminas, enzimas, óleos, etc. Esses subprodutos têm potencial para serem direcionados para o desenvolvimento de alimentos funcionais ou enriquecidos, medicamentos e produtos farmacêuticos, ou, ainda, para a indústria têxtil, contribuindo também para um desenvolvimento sustentável.

As pesquisas desenvolvidas visam ampliar o valor comercial e o mercado dessa fruta. Nesse sentido além da determinação da composição da jaboticaba, busca-se auxiliar na seleção de mudas com características superiores, aperfeiçoar técnicas de cultivo e agregar valor aos subprodutos como a casca e sementes (MEIRA, *et al.* 2017).

### 2.3 ANTOCININAS, ALELOPATIA E OS HERBICIDAS

O termo alelopatia foi proposto pela primeira vez em 1937 por Molisch e deriva das palavras gregas *allelon* = de um para outro e *pathós* = sofrer, ou seja, prejuízo mútuo. Assim, a alelopatia se refere as substâncias, liberadas por plantas, capazes de inibir ou prejudicar o crescimento e desenvolvimento de outras plantas. No ano de 1984 o termo alelopatia passou a incluir o efeito benéfico além do prejudicial, isso através de interações químicas, podendo ser causado também por microrganismos. Em 1996, quando ocorreu o primeiro Congresso Mundial de Alelopatia, o termo alelopatia passou a ser definido como qualquer processo que envolva metabólitos secundários, produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influencie o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos (ANAYA, 1999).

Os aleloquímicos são biomoléculas, gerados pelo metabolismo secundários, que são responsáveis pelo efeito alelopático de plantas no ambiente. Esses

compostos químicos podem ser encontrados nos tecidos vegetais, flores, frutos, raízes, rizomas, caules, folhas e sementes (PUTNAN; TANG, 1986). Todas as plantas são capazes de produzir aleloquímicos, entretanto, há diferenças na quantidade e qualidade das moléculas produzidas e a ação benéfica ou maléfica destes compostos está relacionada com propriedades químicas, grupos funcionais e a concentração. A resposta de outros organismos aos aleloquímicos também podem variar, existem espécies menos tolerantes e espécies mais tolerantes aos diferentes compostos (PUTNAN; TANG, 1986).

Devido ao destaque que o Brasil recebe no cenário mundial por sua alta produção de grãos e exportação, há uma necessidade crescente de melhorar a produção e contornar situações que diminuem a produção. A safra de 2018/2019, bateu o recorde de 241,3 milhões de toneladas, representando um aumento de 6% na produtividade, se comparada com a safra anterior. Em 2019 a soja foi o produto mais exportado e o milho bateu recorde de exportação, alcançando 43,25 milhões de toneladas (SISCOMEX, 2020).

As maiores produções de cereais no Brasil estão concentradas nas regiões Sul e Centro-Oeste. O estado do Paraná é o segundo maior produtor de grãos no Brasil com uma produção de 16.164,807 toneladas de soja e 16.584,035 toneladas de milho em 2019 (IBGE, 2020). A agricultura é um dos principais setores econômicos no Paraná, os principais cereais aqui produzidos são o milho, trigo e a soja.

A modernização dos implementos agrícolas e insumos, trouxeram vantagens para a produção agrícola, como por exemplo, a facilitação no plantio e colheita das culturas e no aumento da produtividade (PARANÁ, 2019). Além disso, um dos principais contribuintes para tamanho sucesso na produção de cereais no Brasil, é o controle eficiente das plantas daninhas, que prejudicam o desenvolvimento das culturas de interesse econômico, com a utilização de herbicidas. Desde 1991 o uso destas substâncias cresceu substancialmente no Brasil superando o crescimento de outros países (MORAES, 2019).

Os herbicidas são substâncias químicas capazes de controlar populações de plantas daninhas que competem com plantas de interesse comercial por nutrientes e água. A palavra herbicida vem do latim *herba*, planta e *caedere*, matar. Por volta dos anos de 1940 existia no mercado poucas opções de herbicidas e as escolhas se restringiam a usar o 2,4-D (Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético) para folhas largas ou algum outro herbicida não seletivo como arsenato de chumbo ou sais. Apenas na

década de 1970, houve um grande aumento do lançamento de herbicidas no mercado, entretanto, esses novos produtos não apresentavam mecanismo de ação diferente, apenas eram lançados com nomes distintos (OLIVEIRA, 2011a; MARCHI, 2008).

O uso de herbicidas na agricultura possui diversos aspectos positivos, como a interferência precoce nas plantas daninhas que causam danos principalmente no início da germinação das culturas e aumento da cobertura vegetal morta que auxilia na proteção do solo (OLIVEIRA, 2011a). Todavia, existem também limitações na utilização destes produtos e o principal problema encontrado está ligado à alta toxicidade da maior parte deles. A produção de resíduos tóxicos, o manejo inadequado por parte de agricultores e a utilização de grandes quantidades de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação por muito tempo, acaba selecionando biótipos de plantas daninhas resistentes, que passam a não ser mais controladas pelos próprios herbicidas (OLIVEIRA, 2011a).

Os herbicidas podem ser classificados em grupos quanto ao seu mecanismo de atuação na planta e sua estrutura química básica. Herbicidas pertencentes ao mesmo grupo químico geralmente possuem, também, o modo de atuação parecido (OLIVEIRA, 2011b) e, provavelmente, atuam nos mesmos sítios de ação. O mecanismo de ação do herbicida está associado ao primeiro ponto do metabolismo da planta onde ele atua. Após o aparecimento dos sintomas iniciais, ocorre uma sequência de eventos até levar a planta à morte. Toda injúria e sintomas causados após a aplicação é denominado modo de ação (OLIVEIRA, 2011b).

#### 2.4 HERBICIDAS A PARTIR DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS

Os estudos de aleloquímicos, podem ser aliados no desenvolvimento de herbicidas com mecanismos de ação distintos, uma alternativa importante para aumentar a produtividade das culturas de interesse (SILVA, 2012). Segundo Pires e Oliveira (2011) compostos como alcalóides, benzoxiazinonas, derivados do ácido cinâmico, coumarinas e compostos cianogênicos possuem potencial alelopático e podem substituir herbicidas tóxicos, sendo que são facilmente encontrados em plantas que podem ser usados como herbicidas naturais. A TABELA 2 mostra alguns herbicidas que possuem compostos ativos provenientes de fontes naturais (PIRES; OLIVEIRA, 2011).

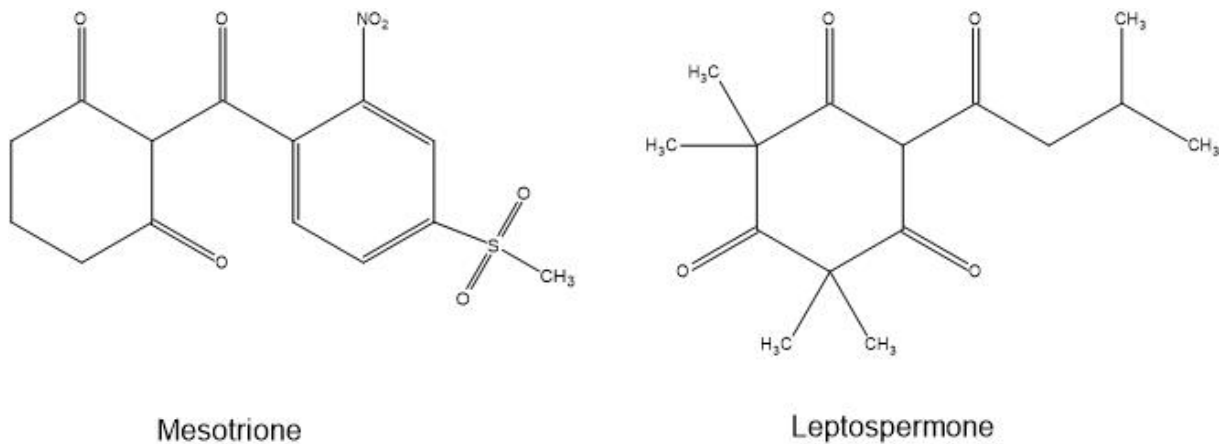
TABELA 2 – HERBICIDAS DE FONTES NATURAIS

Composto natural	Fonte (planta ou microrganismo)	Herbicida (nome comercial)	Fabricante/País
Anisomicina	<i>Streptomyces</i> sp.	Methoxyphenone	Nihon/Japão
Benzoxazinonas (ácido hidroxâmico)	Gramíneas	Banzanin	BASF/Alemanha
Bialafos	<i>Streptomyces hygroscopius</i> e <i>Streptomyces viridochromogenes</i>	Herbiaceae	Japão
Cineole	Diversas plantas	Cinmethyline	Shell/EUA
Ácido fusárico	<i>Fusarium</i> sp.	Picloram	DOW/EUA
Iprexil	<i>Iprex pachyon</i>	Bnzodox	Gulf/EUA
Moniliformina	<i>Fusarium moniliforme</i>	3,4-dibutoxy moniliformin	Ciba-Geigy/Suíça
Fosfinitricina	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	Glufosinate	Hoechst/Alemanha
Ácido quinolínico	<i>Nicotina tabacum</i>	Quinclorac	BASF/Alemanha

FONTE: HATZIOS (1987 apud PIRES; OLIVEIRA, 2011).

Recentemente, lançou-se no mercado o herbicida Callisto® da companhia do grupo Syngenta, um herbicida que utiliza em sua formulação o aleloquímico, a mesotriona. A mesotriona de fórmula molecular  $C_{14}H_{13}NO_7S$  pertence ao grupo químico das tricetonas, sua estrutura molecular pode ser observada na FIGURA 4. Tal molécula resultou da identificação de substâncias alelopáticas provenientes da planta escova-de-garrafa (*Callistemon citrinus*), na qual identificou-se a leptospermone (FIGURA 4) e que, posteriormente, produziu-se outras moléculas das quais resultou a mesotriona com atividade herbicida 100 vezes maior. O Callisto® é um herbicida seletivo de ação sistêmica, indicado para o controle pós-emergente de plantas daninhas, na cultura de milho e cana-de-açúcar (MITCHELL, *et al.* 2001).

FIGURA 4 – ESTRUTURA MOLECULAR DA LEPTOSPERMONE E MESOTRIONE



FONTE: A AUTORA (2021).

Os aleloquímicos também são liberados pelos resíduos das culturas, como a palhada. Algumas culturas com alto nível de aleloquímicos tem sido estudadas, como é o caso do sorgo, que tem sido utilizado como cobertura para a inibição do crescimento de plantas daninhas. As raízes do sorgo liberam compostos como a benzoquinona sorgoleone que é um potente inibidor da respiração mitocondrial e do transporte de elétrons no fotossistema II. O sorgoleone é um dos aleloquímicos mais conhecidos atualmente e é capaz de interferir no crescimento de várias espécies de plantas daninhas. Inúmeros outros aleloquímicos são relatados na literatura (SANTOS, *et al.* 2012).

Desta forma, a formulação de novos herbicidas naturais ou a formulação de substâncias com ação biocida pode contribuir para o aumento da produtividade das culturas de interesse, melhorando assim o desempenho dos cultivares (PIRES; OLIVEIRA, 2011).

### 3 MÉTODOS E METODOLOGIA

#### 3.1 SOLUÇÕES

Os reagentes utilizados no desenvolvimento da pesquisa do presente trabalho estão listados na TABELA 3.

TABELA 3 – REAGENTES E SOLVENTES UTILIZADOS NA PESQUISA

Reagente/Solvente	Procedência
Acetato de etila	Vetec
Ácido clorídrico	Vetec
Metanol	Sigma Aldrich

FONTE: A AUTORA (2021).

Para as soluções preparadas foram utilizadas água deionizada ( $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$ , milliQ, Millipore) em temperatura ambiente.

- Solução aquosa de ácido clorídrico 0,01%: 135 ml de HCl 37% foram adicionados lentamente em um béquer de 250 ml com aproximadamente 100 ml de água deionizada. Essa solução foi transferida para um balão volumétrico (500 ml) e o volume foi completado com água deionizada.

- Solução de metanol acidificado: 135 ml de HCl 37% foram adicionados lentamente em um béquer de 250 ml com aproximadamente 100 ml de Metanol. Essa solução foi transferida para um balão volumétrico (500 ml) e o volume foi completado com Metanol.

#### 3.2 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS.

A extração de antocianinas presentes na jabuticaba foi realizada em colaboração com o laboratório de Fotoquímica de Corantes Naturais, no Instituto de Química (IQ) da Universidade de São Paulo (USP), coordenado pelo professor Dr. Frank Herbert Quina. Para esse processo, utilizou-se 5kg do fruto.

A metodologia utilizada foi a de Figueroa *et al.* (2016) com adaptações. Para esse processo, utilizou-se 5kg da jaboticaba da espécie *MYRCIARIA JABOTICABA* (sabará), que foram adquiridas no Mercado Municipal de São Paulo.

As cascas dos frutos foram submersas em metanol acidificado com HCl 0,01% durante 24 horas, na ausência de luz. O tempo de extração foi determinado levando-se em consideração que se muito prologado pode haver degradação e oxidação das antocianinas. Após a extração, realizou-se a filtração simples onde obteve-se uma solução de coloração roxa escura na qual continha entre outros compostos, as antocianinas.

Para extrair-se as antocianinas da solução metanólica utilizou-se a técnica de extração em fase sólida (SPE), para tanto foi utilizando cartuchos C18 de 500mg. Para ativar os cartuchos utilizou-se 5ml de metanol, após 5ml de solução aquosa de HCl 0,01%. Após adicionar o extrato bruto aos cartuchos seguiu-se as seguintes etapas: (1) eluição dos ácidos orgânicos e açúcares com solução aquosa de HCl 0,01%; (2) eluição dos compostos fenólicos com acetato de etila; (3) eluição das antocianinas com metanol acidificado com HCl 0,01%. (SILVA, 2020; LONGO, VASAPOLLO, 2006). Com isso a fração contendo as antocianinas foi rotoevaporada a 25°C e a 10 rpm no qual obteve-se 320mg.

Uma fração contendo 97mg das antocianinas foi congelada a uma temperatura próxima de -3°C e transportada de São Paulo – SP até Palotina – PR. Durante o transporte devido ao descongelamento a amostra precisou ser liofilizada para retirar-se a água presente na amostra. O procedimento de liofilização foi realizado pelo laboratório de Pesquisa do Instituto Federal do Paraná, Campus Umuarama, sob coordenação do professor Dr. Otávio Sakai.

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS ANTOCIANINAS

#### 3.3.1 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

A análise por HPLC foi realizada em um HPLC Shimadzu Prominence com detector UV/Vis Central Analítica do IQ-USP. O cromatógrafo foi equipado com uma coluna de C18 (150 mm, 5 µm), mantida a 30 °C com fluxo de 0,8 ml/min. As soluções

foram preparadas imediatamente antes das análises cromatográficas e agitadas em banho ultrassônico por 15 minutos antes de sua utilização.

- Solvente A (0,05% HCOOH/H<sub>2</sub>O): 125 ml de ácido fórmico (HCOOH) foram diluídos em 250 ml de água deionizada.

- Solvente B (0,05% HCOOH/MeCN): 125 ml de ácido fórmico (HCOOH) foram diluídos em 250 ml de acetonitrila.

A pureza foi verificada por HPLC: em uma coluna 150 mm, 5 µm) eluída em 30 °C com um gradiente de solvente, 0,05% de ácido fórmico em água (solvente A) e 0,05% de ácido fórmico em acetonitrila (solvente B), com fluxo de 0,8 ml/min.

Condição da corrida: 5–100% B de 0 até 20 min, 100% B de 20 até 30 min.

### 3.3.2 ESPECTROSCOPIA DE MASSA DE BAIXA RESOLUÇÃO

As análises de espectrometria de massa e foram realizadas na Central Analítica do IQ-USP. As antocianinas foram confirmadas por espectro de massa de baixa resolução, determinado pela Electrospray Ionization Time of Flight (ESI-TOF),

A identificação das antocianinas presentes na jabuticaba foi realizada pela por espectrometria de massa no modo positivo em metanol. A antocianina delphinidina-3-O-glicosídeo teve a sua massa/carga (m/z) do seu íon ([M]<sup>+</sup>) calculado para C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>O<sub>12</sub>, 465,10, e para a cianidina-3-O-glicosídeo m/z do seu [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>O<sub>11</sub> 449,10. A pureza foi verificada por HPLC: em uma coluna 150 mm, 5 µm eluída em 30 °C com um gradiente de solvente, 0,05% de ácido fórmico em água (solvente A) e 0,05% de ácido fórmico em acetonitrila (solvente B), com fluxo de 0,8 ml/min. Condição da corrida: 5–100% B de 0 até 20 min, 100% B de 20 até 30 min.

### 3.3.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO UV/VIS

Os espectros de absorção foram realizados em um espectrofotômetro modelo Cary 50 da Varian, com varredura na região de 200 a 800 nm Central Analítica do IQ-USP. Para essas análises utilizou-se uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm. Acoplou-se ao equipamento um banho termostático que mantém a temperatura da cela a 25 °C.

### 3.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO FITOTÓXICO DAS ANTOCIANINAS SOBRE PLANTAS DANINHAS

Os testes referentes ao potencial fitotóxicos foram realizados em colaboração com o laboratório de Oxidações Biológicas do Departamento de Bioquímica – da Universidade Estadual de Maringá (UEM), coordenado pela professora Dra. Emy Luiza Ishii-Iwamoto.

O extrato contendo as antocianinas foi testado sobre a germinação das plantas daninhas *Amaranthus hybridus* (caruru-roxo), *Euphorbia heterophylla* (amendoim-bravo) e *Ipomoea grandifolia* (corda-de-viola). As sementes utilizadas foram obtidas do fornecedor comercial Cosmos Agrícola Produtos e Serviços Rurais Ltda, Brasil e armazenadas em dessecador, na geladeira.

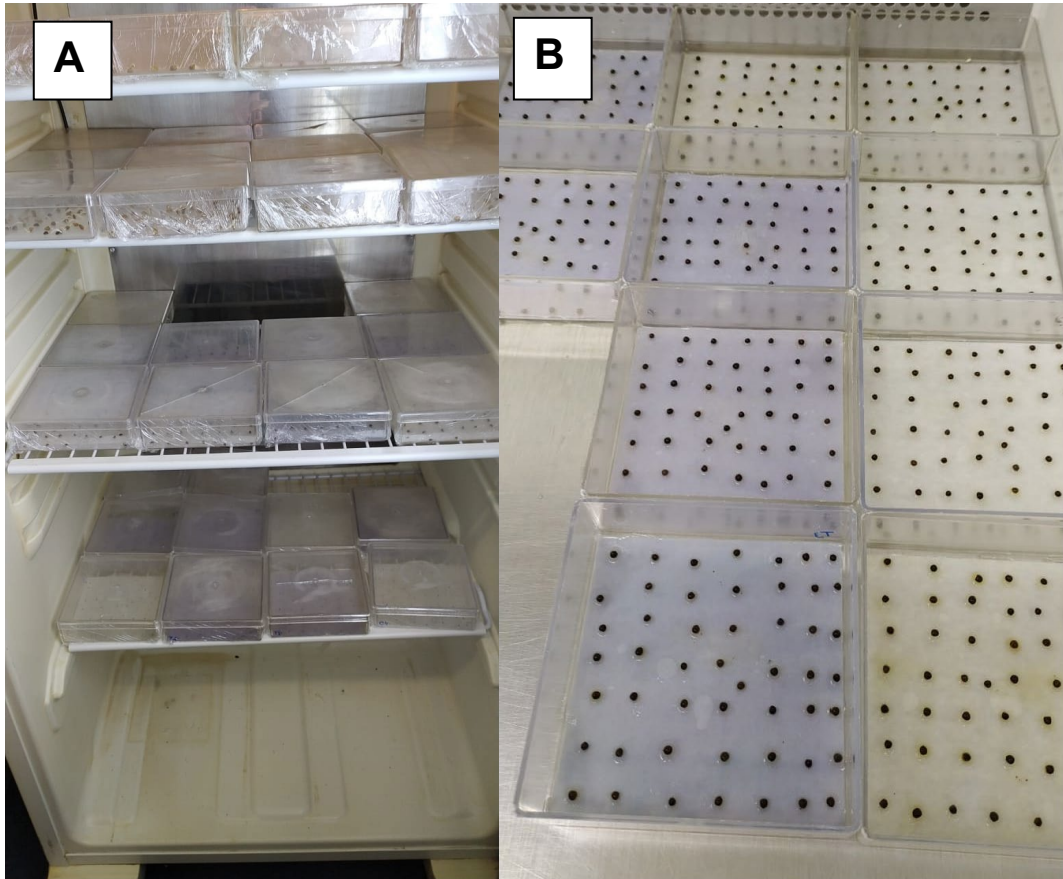
As sementes, foram previamente selecionadas quanto ao tamanho e à forma e posteriormente foram submetidas a um processo de germinação específico. As sementes de *E. heterophylla* foram apenas lavadas em água destilada. As sementes de *A. hybridus* foram desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos e lavadas abundantemente em água destilada. As sementes de *I. grandifolia*, foram submetidas a superação da dormência por escarificação química em ácido sulfúrico P.A. durante 45 minutos submersas no ácido e agitadas continuamente, em seguida foram lavadas abundantemente com água destilada.

A fração contendo as antocianinas foi solubilizada em metanol e colocado em caixas gerbox (11 x 11 cm). Em cada gerbox foi adicionado 5 ml da solução sobre duas folhas de papel germitest. O extrato permaneceu em repouso durante 24 horas para a completa evaporação do metanol. No controle foi adicionado apenas metanol. Após 24 horas em repouso, foi adicionado 10 ml de água destilada cada gerbox, de modo que a concentração final do extrato fosse de 250 ppm (adaptado de Araniti et al., 2014, com modificações).

Em cada gerbox foram dispostas 50 sementes das plantas daninhas (IMAGEM 1A). Depois de semeados os gerbox foram submetidos a luz UV em câmara de fluxo para desinfecção, vedados com plástico filme e levados para câmara de germinação com fotoperíodo e temperaturas específicas para cada espécie (IMAGEM 1B). Para a espécie *E. heterophylla* o regime de fotoperíodo foi de 12 horas claro/escuro e temperatura constante de 25 °C. Para *A. hybridus* o regime de fotoperíodo foi de 8 horas de luz à temperatura de 30 °C e 16 horas escuro na

temperatura de 20 °C. Na espécie *I. grandifolia* a câmara de germinação manteve a temperatura constante de 30 °C e fotoperíodo de 12 horas.

IMAGEM 1 – SEMENTES DIPOSTAS NA CAIXA GERBOX SOB PAPEL GERMITEST



FONTE: A AUTORA (2021).

Após 96 horas para *E. heterophylla* e *I. grandifolia*, e 168 horas para *A. hybridus*, as plântulas que cresceram foram removidas e as suas raízes e caules foram medidos para determinação do comprimento. Logo em seguida as plântulas foram pesadas e levadas à estufa de secagem com temperatura de 60 °C onde permaneceram por 48 horas e foram novamente pesadas. Esse procedimento foi realizado para determinação das massas frescas e secas.

Além disso, diariamente as sementes germinadas foram contadas para determinação do índice de velocidade de germinação (IVG) e velocidade de germinação acumulada (VGA) e tempo médio de germinação (TMG) (LABOURIAU, OSBORN, 1984; CHIAPUSIO, *et. al.* 1997). Foram consideradas germinadas, aquelas sementes que emitiram radícula de 2 mm, ou maior.

Os resultados significativos entre os valores médios dos tratamentos e o valor do controle estão indicados por meio de asteriscos nos gráficos. Os resultados foram identificados através da análise de TEST T, realizado pelo software GraphPad Prisma, utilizado para identificar as diferenças significativas em um nível de 5%. Todos os dados foram comparados e discutidos em relação aos seus respectivos controles.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS

Após o processo de extração das antocianinas obteve-se ao todo 320mg de antocianinas. Dessa quantidade 97mg foram destinadas à presente pesquisa. As antocianinas obtidas após a rotoevaporação pode ser vista na IMAGEM 2.

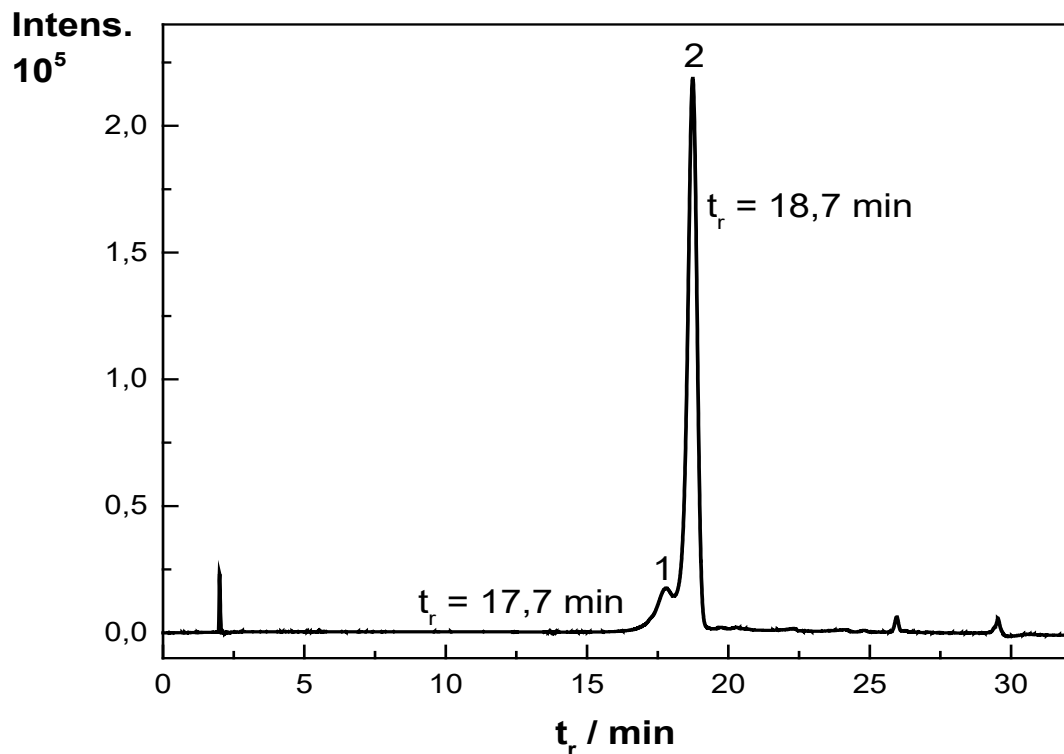
IMAGEM 2 – EXTRATO CONTENDO AS ANTOCIANINAS



FONTE: A AUTORA (2020).

Através do cromatograma, FIGURA 5, oriundo da análise do extrato, houve a constatação da presença das antocianinas deflinidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-glicosídeo, comprovando-se a presença de ambas as antocianinas.

FIGURA 5 – CROMATOGRAMA DO EXTRATO DAS JABUTICABAS INDICANDO A PRESENÇA DAS ANTOCIANINAS DEFLINIDINA-3-O-GLICOSÍDEO E CIANIDINA-3-O-GLICOSÍDEO ACOMPANHADO POR UV-VIS EM 500NM

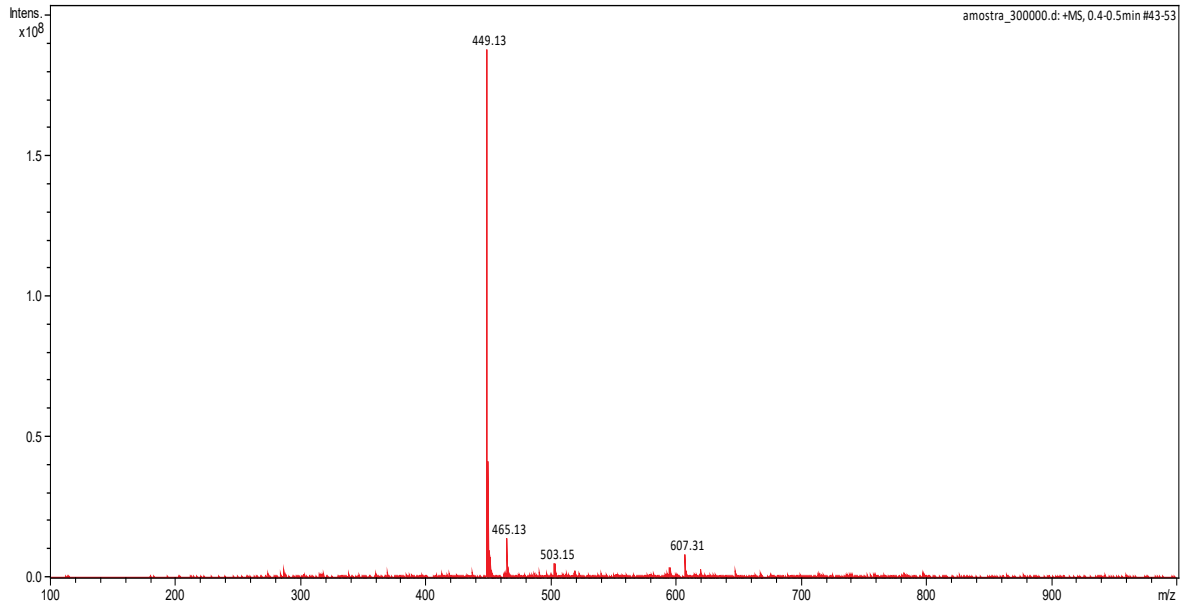


FONTE: SILVA (2020).

Observa-se dois picos, um em  $t=18,7$ min e outro em  $t= 17,7$ min que indicam a presença das antocianinas cianidina-3-O-glicosídeo e deflinidina-3-O-glicosídeo, respectivamente.

Determinou-se também a presença das antocianinas pela espectrometria de massas, que pode ser vista na FIGURA 6.

FIGURA 6 – ESPECTRO DE MASSA DE BAIXA RESOLUÇÃO DO EXTRATO PURIFICADO DE ANTOCIANINAS PRESENTES NA JABUTICABA EM METANOL



FONTE: SILVA (2020).

No espectro de massas pode-se observar a presença dos íons  $[M^+]$  em 449,13m/z para a cianidina-3-O-glicosídeo e em 465,13m/z para a deflinidina-3-O-glicosídeo. A estrutura proposta para a cianidina-3-O-glicosídeo ( $C_{21}H_{21}O_{11}$ ) apresenta  $[M^+]:m/z$  esperado de 449,10, o qual encontrou-se o valor de 449,13, já a estrutura da deflinidina-3-O-glicosídeo ( $C_{21}H_{21}O_{12}$ ) apresenta  $[M^+]:m/z$  calculado de 465,10 enquanto encontrou-se 465,13. Tais valores encontrados correspondem as massas moleculares das suas respectivas estruturas propostas.

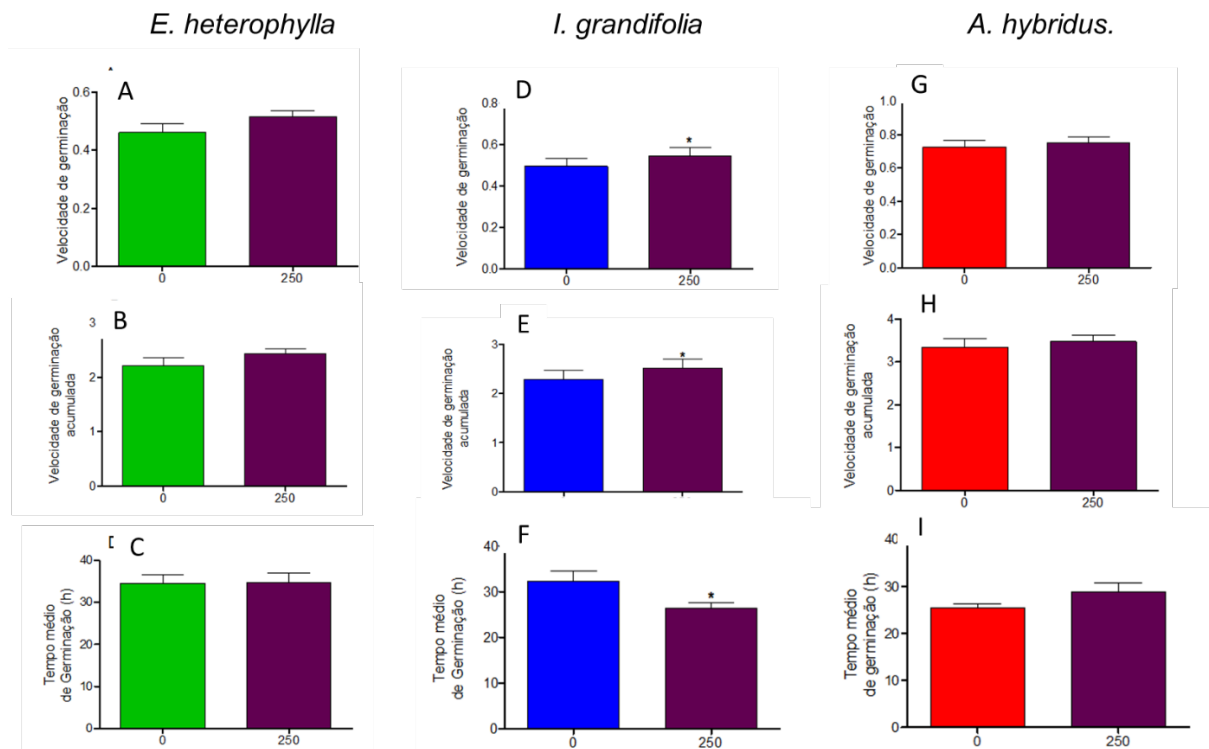
Através dos resultados acima apresentados comprovou-se a presença e a real extração das antocianinas deflinidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-glicosídeo como esperado e relatado em estudos encontrados na literatura como Alezandro, *et al.* (2013), Wu, *et al.* (2012) e Lenquiste, *et al.* (2015).

#### 4.2 EFEITO FITOTÓXICO DAS ANTOCIANINAS SOBRE A GERMINAÇÃO E O CRESCIMENTO INICIAL DE PLANTAS DANINHAS.

O efeito fitotóxico das antocianinas foi analisado sobre os seguintes parâmetros de germinação (percentual de germinação, IVG, VGA e TMG) e biométricos (comprimento radicular, comprimento do caule e biomassa fresca e seca). A avaliação do potencial fitotóxico foi realizado com a fração oriundas da partição líquido-líquido metanólica.

A planta daninha *I. grandifolia* foi sensível ao tratamento com as antocianinas sobre os índices de germinação. Houve diminuição na VGA de 11%, em relação ao controle (FIGURA 6E), e diminuição do IVG de 13%, em relação ao controle (FIGURA 6F), em relação ao controle o TMG, no entanto, foi aumentado em 25% (FIGURA 6D). Não houve alterações significativa no IVG, VGA e TMG das plantas daninhas *E. heterophylla* e *A. hybridus* (FIGURA 7). A autora Imatomi (2010) encontrou alterações significativas nesses parâmetros ao testar o extrato aquoso de folhas da mesma família, das Myrtaceas, sobre os mesmos índices nas plantas daninhas *E. heterophylla* e *I. grandifolia*, sobre condições diferentes (IMATOMI, 2010).

FIGURA 7 – ANÁLISE DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) E VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO ACUMULADA (VGA) E DO TEMPO MÉDIO DE GERMINAÇÃO (TMG) DE *E. HETEROPHYLLA*, *I. GRANDIFOLIA* E *A. HYBRIDUS*



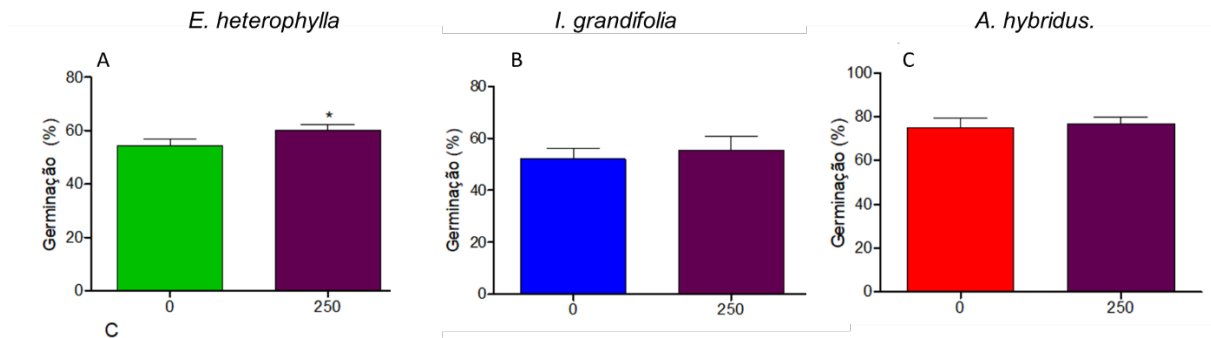
Legenda: Os valores são expressos como média  $\pm$  EP (n=5). Pares de símbolos iguais na mesma coluna indicam diferenças significativas de acordo com TESTE T ( $p \leq 0,05$ ).

FONTE: A AUTORA (2021).

Esses resultados corroboram com pesquisas que apontam que apesar do percentual de germinação não ser afetado por aleloquímicos, pode-se verificar mudança nos padrões de índices de germinação quando submetidas a tratamentos com aleloquímicos. Embora as antocianinas não tenham alterado os parâmetros de germinação de *E. heterophylla*, a porcentagem de sementes que germinaram foi modificada nesta espécie, houve aumento de 9%, em relação ao controle (FIGURA

5A). Não foram observadas alterações na porcentagem de germinação das demais espécies (FIGURA 8).

FIGURA 8 – ANÁLISE DA PORCENTAGEM (%) DE GERMINAÇÃO DE *E. HETEROPHYLLA*, *I. GRANDIFOLIA* E *A. HYBRIDUS*

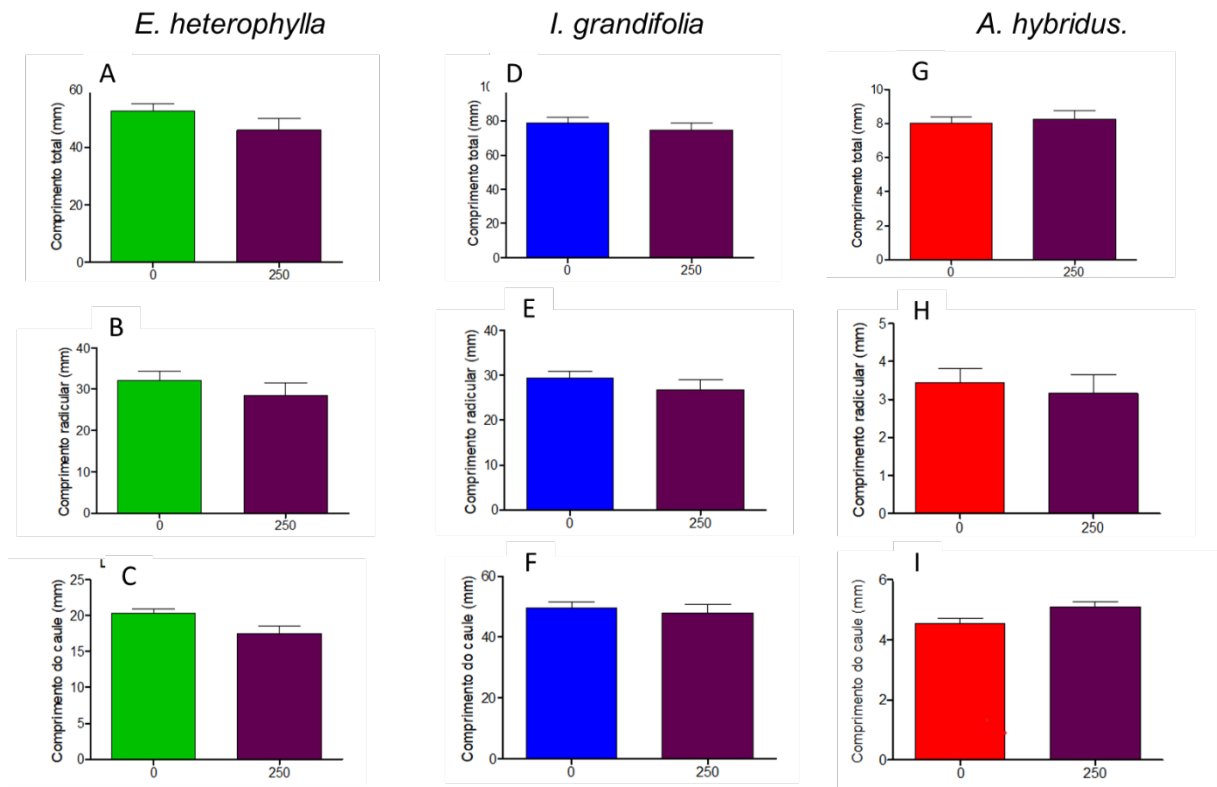


Legenda: Os valores são expressos como média  $\pm$  EP (n=5). Pares de símbolos iguais na mesma coluna indicam diferenças significativas de acordo com TESTE T ( $p \leq 0,05$ ).

FONTE: A AUTORA (2021).

O efeito fitotóxico das antocianinas também foi testado nos parâmetros de crescimento. Não houve alterações significativas no crescimento das raízes, dos caules e nas biomassas frescas e secas das três plantas daninhas testadas (FIGURAS 9 e 10).

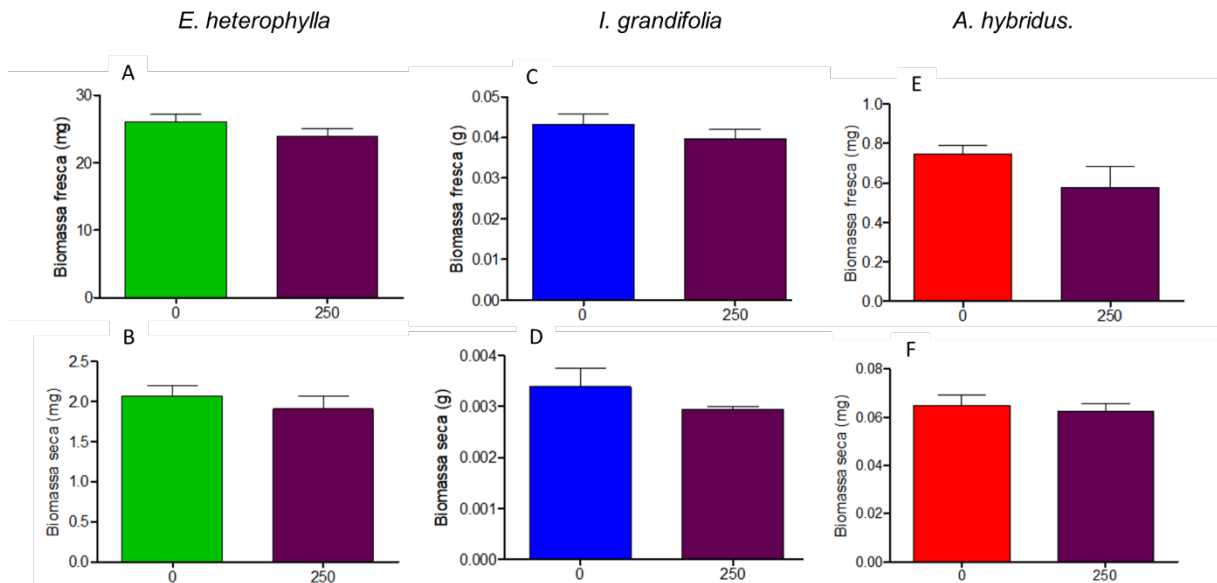
FIGURA 9 – ANÁLISE DO COMPRIMENTO TOTAL, COMPRIMENTO RADICULAR E COMPRIMENTO DO CAULE DE *E. HETEROPHYLLA*, *I. GRANDIFOLIA* E *A. HYBRIDUS*



Legenda: Os valores são expressos como média  $\pm$  EP (n=5). Pares de símbolos iguais na mesma coluna indicam diferenças significativas de acordo com TEST T ( $p \leq 0,05$ ).

FONTE: A AUTORA (2021).

FIGURA 10 – ANÁLISE DA BIOMASSA FRESCA E BIOMASSE SECA DE *E. HETEROPHYLLA*, *I. GRANDIFOLIA* E *A. HYBRIDUS*



Legenda: Os valores são expressos como média  $\pm$  EP (n=5). Pares de símbolos iguais na mesma coluna indicam diferenças significativas de acordo com TEST T ( $p \leq 0,05$ ).

FONTE: A AUTORA (2021).

## 5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A determinação dos compostos presentes em subprodutos como o caso de cascas e sementes pode contribuir para a agregação de valor, além de dar destino correto diminuindo impactos ambientais. Neste trabalho constatou-se que na casca da jaboticaba, estão presentes duas antocianinas, já reportadas na literatura, sendo elas: delphinidina-3-glicosídeo e cianidina-3-glicosídeo, que podem ser empregadas em diferentes atividades para o benefício humano. A extração das antocianinas não visou a quantificação, apenas a determinação, que foi realizada através das técnicas de RMN e HPLC acoplado com detector UV-Vis.

Nesse sentido, a análise da influência das antocianinas sobre a germinação e crescimento inicial de três espécies de plantas daninhas apresentou resultados que apontam para um fraco efeito tanto estimulante, quanto inibitório. A espécie mais sensível em relação a germinação foi *I. grandifolia*, a qual apresentou aumento na VGA e no IVG e redução no TMG. Além disso a variável mais sensível para a *E. heterophylla* foi o percentual de germinação, nas condições em que foram realizados os testes.

Os resultados indicam o efeito de aleloquímicos presentes na casca da *MYRCIARIA JABOTICABA*, e corroboram com estudos que concluem a presença de aleloquímicos na família das *MYRCIARIA JABOTICABA*. Entretanto, os efeitos observados mostram uma maior sensibilidade sobre a germinação inicial do que do crescimento, do extrato metanólico da casca de jaboticaba. Os mecanismos que geram tais efeitos é um desafio aos pesquisadores devido as suas complexidades.

O presente trabalho é uma pesquisa inicial, inúmeras outras condições podem ser reproduzidas a fim de obter-se resultados conclusivos a respeito do efeito fitotóxico, não somente das antocianinas presentes na casca da jaboticaba, mas dos compostos bioativos em geral encontrados no fruto. Tendo em vista o pouco efeito negativo e até mesmo o efeito positivo causado pelas antocianinas sobre as plantas daninhas, que estudos podem ser realizados sobre culturas de interesse como o milho e a soja, buscando verificar se ocorrem melhoras em suas germinações.

## REFERÊNCIAS

- ALEZANDRO, M. R.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F. M.; GENOVES, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Pi jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Rev. Food Reserach International [online]**. v. 54, p 468-477, 2013.
- ANAYA, A. L. Allelopathy as a tool in the mangement of biotic resources in agroecosystems. **Crit Rev Plant Sci**, v.18, p.697-739, 1999.
- ARANITI, F.; MARRELLI, M.; LUPINI, A.; MERCATI, F.; STATTI, G. A.; ABENAVOLI, M. R. Phytotoxic activity of *cachrys pungens* Jan, a mediterranean species: separation, identification and quantification of potencial allelochemicals. *Acta Physiol . Plant*, v.36, p.1071-1038, 2014.
- BARROS, H. D.F.Q.; BASEGGIO, A. M.; ANGOLINI, C. F.F.; PASTORES, G. M.; CAZARIN, C. B. B.; MAROSTICA, M. R. Influence of different types of acids and pH in the recovery of bioactive compounds in Jaboticaba peel (*Plinia cauliflora*). *Rev. Food Research International*, v.124, p. 16-26, 2019.
- BATISTA, Â. G.; LENQUISTE, B. A.; MOLDENHAUER, C.; GODOY, J. T.; REIS, S. M. P. M.; MARÓSTICA, M. R. J. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg.) peel improved triglycerides excretion and hepatic lipid peroxidation in high-fat-fed rats. **Rev. Nutr. [online]**. 2013, vol.26, n.5, pp.571-581.
- CAI, D.; LI, X.; CHEN, J.; JIANG, X.; MA, X.; SUN, J.; TIAN, L.; VIDYARTHI, S. K.; XU, J.; PAN, Z.; BAI, W. A comprehensive review on innovative and advanced stabilization approaches of anthocyanin by modifying structure and controlling environmental factors. **Rev. Food Chemistry**. v. 366, 2021. Disponível em <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0308814621016174?token=A542FDEF4A40DF82B376107D570E656140BA21373340D71A299520290880566DE5F28865742EC92A9A8C577BB85E391B&originRegion=us-east-1&originCreation=20211019152937>> Acesso em 19 de out 2021.
- CARDOSO, L. M.; LEITE, J. P. V. I.; PELUZIO, M. C. G. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. **Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm. [online]**. vol.40, n.1, p.116-138. 2011.
- CHAID, S.; PISTEVOS, J. C. C.; BERTRAND, C.; BONNARD, I. Allelopathy and allelochemicals from microalgae: An innovative source for bio-herbicide compounds and biocontrol research. **Algal Research**, v. 54, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926421000321>> Acesso em 17 de Set. 2021.
- CHIAPUSIO, G.; SANCHEZ, A. M.; REIGOSA, M. J.; GONZÁLEZ, L.; PELLISSIER, F. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process. **J. Chem. Ecol.** V. 23, p. 2445–2453, 1997.
- CITADIN, I. DANNER, SASSO, S, A, Z.; Jaboticabeiras. **Revistas Brasileira de Fruticultura**. v. 32, n. 2, p.343-656. 2010.

FIDELIS, M. Otimização da extração de compostos fenólicos, atividade antioxidante, antimicrobiana e antiproliferativa de sementes de *Myrciaria dubai* (H.B.K) McVaugh e *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O.Berg. 2019. 113f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa.

FIGUEROA, M. P. G.; REGULES, A. E. O.; ORTÍN, A. B. B.; PLAZA, E. G.; BERRÍOS, C. A. New Pyranoanthocyanins Synthesized from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Anthocyanins. México: **Journal of the Mexican Chemical Society**. v. 60, n.1 p. 13-18. 2016.

GHAREAGHAJLOU, N.; GHASEMPOUR, Z.; HALLAJ-NEZHADI, S. Red cabbage anthocyanins: Stability, extraction, biological activities and applications in food systems. **Food Chemistry**, v. 365, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814621014886>>. Acesso em 18 de set. 2021.

HACKE, A. C. M.; GRANATO, D.; GALVÃO, L. M.; WEINERT, P. L.; PRADO-SILVA, L.; ALVARENGA, V. O.; SANT'ANA, A. S.; BATAGLION, G. A.; EBERLIN, M. N.; ROSSO, N. D. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. 2206-2217, 2016.

HATZIOS, K. K. Biotechnology applications in weed management: now and in the future. **Ad agron**, v.41, p. 325-375, 1987.

HUBER, L. S. Flavonóides: identificação de fontes brasileiras e investigação dos fatores responsáveis pelas variações na composição. 2007. 128f. Tese (doutorado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Engenharia de alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Disponível em: [http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/256158/1/Huber\\_LisiaSenger\\_D.pdf](http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/256158/1/Huber_LisiaSenger_D.pdf). Acesso em 09 set 2020.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. LSPA – Levantamento sistemático da produção agrícola. “Produção por ano da safra e produto (Toneladas)”. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=destaques>>. Acesso 20 ago. 2020.

IMATOMI, M. Estudos alelopáticos de espécies da família Myrtaceae do Cerrado. 2010. Tese (Doutorado em Ciências) Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos. <<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/1701/3411.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em 09 out 2020.

INADA, K. O. P.; LEITE, I. B.; MARTINS, A. B. N.; FIALHO, E.; BARNERÁN, F. A. T.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. Jaboticaba berry: A comprehensive review on its polyphenol composition, health effects, metabolism, and the development of

food products. **Food Research International**. v. 147, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996921004178>>. Acesso em 18 de set. 2021.

JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. Anthocyanins and betalains; Houghton, J.D., eds.; Blackie Academic & Professional, Glasgow, **1996**, cap. 8.

LABOURIAU, L. G. e OSBORN, J. H. 1984. Temperature dependence of the germination of tomato seeds. **J. Therm. Biol.** 9:285–294.

LEITE-LEGATTI, A, BATISTA, A. G.; DRAGANO, N. R. V.; MARQUES, A. C.; MALTA, L. G.; RICCIO, M. F.; EBERLIN, M. N.; MACHADO, A. R. T.; SILVA, L. B. C.; RUIZ, N. L. T. G.; CARVALHO, J. E. C.; PASTORE, G. M.; MARÓSTICA, M. R. J Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Revista Food Research International** [online], v. 49, n. 1, p. 596-603, nov. 2012.

LENQUISTE, S. A.; MARINELI, R. S.; MORAES, E. A. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity model. **Food Research International**, 2015, 77, 162-170, 2015.

LENQUISTE, S. A.; BATISTA, A. G; MARINELI, R. S.; DRAGANO, R. VI.; MARÓSTICA JR, M. R. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n.1, p. 153-160. Nov. 2012.

LONGO, L.; VASAPOLLO, G. Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry*, **2006**, 94, 226-231.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.

MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G. Herbicidas: mecanismos de Ação e uso. **EMBRAPA**, Distrito Federal, 2008. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/571939/1/doc227.pdf>>. Acesso em 26 ago. 2020.

MEIRA, Nicole de Almeida Nunes; PEREIRA, Neila de Paula. Flavonoides e antocianinas em *Myrciaria Cauliflora* (Jaboticaba) visando à aplicabilidade cosmética. **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, feb. 2017. ISSN 1518-8361. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/48805>>. Acesso em: 09 oct. 2020. doi:<http://dx.doi.org/10.5380/acd.v17i3.48805>.

MITCHELL, G.; BARTLETT, D. W.; FRASER, T. E.; HAWKES, T. R.; HOLT, D. C.; TOWNSON, J. K.; WICHERT, R. A. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Manag. Sci.* **2001**. 57, 120–128.

MORAES, R. F. Agrotóxicos no Brasil: Padrões de uso, políticas da regulação e prevenção da captura regulatória. IPEA- Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Setembro, 2019. Disponível em: <[http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/9371/1/td\\_2506.pdf](http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/9371/1/td_2506.pdf)> Acesso em 25 ago. 2020.

OLIVEIRA, R. S.; Introdução ao controle químico. In: CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax Editora Ltda, 2011. p. 125-140 a.

OLIVEIRA, R. S.; Mecanismo de ação de Herbicidas. In: CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax Editora Ltda, 2011. p. 141-192 b.

PARANÁ, Secretaria da agricultura e do abastecimento. Agronegócio do Paraná mantém ritmo de crescimento, diz Censo. Curitiba, 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.pr.gov.br/Noticia/Agronegocio-do-Parana-mantem-ritmo-de-crescimento-diz-Censo>>. Acesso em 20 ago. 2020.

PIRES, N.M.; OLIVEIRA, V.R. Alelopatia. In: OLIVEIRA, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo** (coords.). Agropecuária, Guaíba, 2011 P.145-185. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/910833/1/BMPDcap5.pdf>>. Acesso em 25 ago. 2020.

PUTNAM, A.R., TANG, C.S. Allelopathy: state of the science. In: PUTNAM, A.R.; TANG, C.S. (Eds.) *The science of allelopathy*. New York: John Wiley & Sons, 1986. p.1-19.

SAGAR, N.A.; PAREEK, S.; SHARMA, S.; YAHIA, E.M.; LOBO, M.G. Fruit and vegetable waste: bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.17, n. 3, p. 512–531, 2018.

SANTOS, I. L. V. L.; SILVA, C. R. C.; SANTOS, S. L.; MAI M. M. D. Sorgoleone: Benzoquinona lipídica de sorgo com efeitos alelopáticos na agricultura coo herbicida. ver. Arq. Inst. Biol. v.19, n.1, p 135-144, 2010.

SILVA, C. P. A. (Foto)Química de Piranoflavílios, Brasil. 2020. 149 f. Tese (Doutorado em Ciências (Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020. Disponível em: <<https://repositorio.usp.br/item/002788093>>. Acesso em: 17 set. 2021.

SILVA, P. S. S. Atuação dos aleloquímicos no organismo vegetal e formas de utilização da alelopatia na agronomia. **Biotemas**, Florianópolis, v. 25, n. 3, p. 65-74, jun. 2012. ISSN 2175-7925. Disponível em:< <https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/23116>>. Acesso em: 19 ago. 2020. doi:<https://doi.org/10.5007/2175-7925.2012v25n3p65>.

SILVA, T. B. R. Transformações metabólicas in vitro de compostos fenólicos da jaboticaba na digestão e na fermentação colônica. 2016. 94 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (RJ) 2016. Disponível em <<http://www.ppgn.ufrj.br/wp-content/uploads/2017/11/DISSERTACAO-Tamirys-Barcellos-Revoredo-Silva.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2020.

SISCOMEX. Vendas externas do agronegócio somam US\$ 96,8 bilhões em 2019. Brasília, 2020. Disponível em:<<http://www.siscomex.gov.br/vendas-externas-do-agronegocio-somam-us-968-bilhoes-em-2019/>>. Acesso em: 20 ago. 2020.

STANQUEVIS, R. Otimização de obtenção de um extrato aquoso de milho roxo (*Zea mays* L.) rico em antocianinas e perfil de degradação. 2013. Tese (Mestrado em Bromatologia) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade São Paulo. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-17012014-132805/publico/DissertacaoCorrigidaReginaStanquevis.pdf>>. Acesso em 09 set 2020.

WU, S.; DASTMALCHI, K.; LONG, C.; KENNELLY, E.J. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60, 7513-7525, 2012.