

Quantificação de compostos fenólicos nas folhas da *Conyza bonariensis* (L.) em estágio vegetativo

Quantification of phenolic compounds in leaves of *Conyza bonariensis* (L.) in vegetative stage

RESUMO

Matheus dos Santos Silva
silvam.2019@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Santa Helena, Paraná,
Brasil.

Adriana Maria Meneghetti
adrianam@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Santa Helena, Paraná,
Brasil.

Os metabólitos secundários desempenham papéis importantes na bioquímica e fisiologia dos vegetais, dentre elas defesa contra inimigos naturais, sobre plantas daninhas e efeitos sobre a germinação de sementes. Diante disso, este trabalho teve como objetivo a quantificação de compostos fenólicos – fenóis simples e polifenóis – em extratos das folhas da *Conyza bonariensis* (L.) como possibilidade para compostos com atividade alelopática. Para isso foram coletadas plantas da *C. bonariensis* em estágio vegetativo, separados em parte aérea e raiz, lavadas em água corrente, secas em estufa e moídas e em seguida preparados os extratos aquosos e etanólicos, seguida da construção da curva de calibração para posterior leitura em espectrofotometria UV/VIS (foram separados os materiais) e determinação de fenóis simples e polifenóis na amostra. Os extratos foram identificados e acondicionados para posterior determinação em função da suspensão das atividades no âmbito da UTFPR.

PALAVRAS-CHAVE: Fitoquímica. Metabólitos Secundários. Alelopatia.

ABSTRACT

Secondary metabolites play important roles in the biochemistry and physiology of vegetables, including defense against natural enemies, on weeds and effects on seed germination. Therefore, this study aimed to quantify phenolic compounds – simple phenols and polyphenols – in extracts from the leaves of *Conyza bonariensis* (L.) as a possibility for compounds with allelopathic activity. For this, plants of *C. bonariensis* were collected in vegetative stage, separated in shoot and root, washed in running water, dried in greenhouse and ground and without preparation the aqueous and ethanolic extracts, followed by the construction of the calibration curve for subsequent reading in UV/VIS spectrophotometry (the materials were separated) and determination of simple phenols and polyphenols in the sample. The extracts were identified and packaged for further determination, depending on the suspension of activities within the UTFPR.

KEYWORDS: Phytochemistry. Secondary metabolites. Allelopathy.

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

A *Conyza*, planta herbácea, de altura de 60 a 120 cm, sua germinação, ocorre no outono e inverno, com seus ramos compridos obtém uma dispersão facilitada e produz uma numerosa quantidade de semente (LAZAROTO; FLECK; VIDAL, 2008). Espécies de *Conyza* tem resistências a solos com baixa incidência de argila e toleram o estresse hídrico (DAUER; MORTENSEN; HUMSTON, 2006; SOARES et al., 2007).

Nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste encontram-se climas com características parecidas, sendo favoráveis para o surgimento das três espécies de *Conyza*, (*Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis*, e *Conyza sumatrensis*). É conhecida como erva daninha, com atributos de infestações nas conhecidas plantas, como a soja, milho, cana-de-açúcar e algodão (SANTOS et al. 2014). A *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist, tem infestado locais inoportunos, como lavouras das regiões de uso agrícola. (LAZAROTO; FLECK; VIDAL, 2008; WALKER et al. 2007; ZABIOLE et al., 2019).

O uso contínuo de herbicida qualifica biotipos resistentes de plantas daninhas, e um acréscimo do aumento de seu número (POWLES; HOLTUM, 1994). Os indicativos apontam que em uma população de plantas, o aparecimento de resistência a um herbicida se deve à seleção de genótipos resistentes preexistentes, que, devido a pressão de seleção, exercida por repetidas aplicações de um mesmo herbicida, encontram condições para multiplicação (BETTS et al. 1992). As resistências destas plantas abrangem situações problemáticas, fazendo com que o custo para o controle dobre (PANNELL et al., 2016).

Os metabólitos secundários desempenham papéis importantes na bioquímica e fisiologia dos vegetais, dentre elas defesa contra inimigos naturais, bem como sobre plantas daninhas e efeitos sobre a germinação das sementes – alelopatia (SOUZA FILHO, 2006).

Os polifenóis são compostos orgânicos caracterizados pela presença de múltiplas unidades estruturais de fenol, encontrados em alimentos de origem vegetal como frutas, sucos, chás, café e vinho tinto, cereais e chocolate, sendo estes os principais antioxidantes. Metabólitos como os polifenóis, flavonóides, antocianinas entre outros, possuem ação antioxidante atenuando danos oxidativos gerados pelos radicais livres nas células (FURLAN; RODRIGUES, 2016).

Os compostos fenólicos são caracterizados por um amplo grupo de moléculas encontradas em vegetais como frutas, sucos, chás, cereais e chocolate, estruturas que formam os polifenóis sendo estes os principais antioxidantes. Metabólitos como polifenóis, flavonoides, antocianinas são compostos naturais, na presença de estrutura o fenol, apresentado radicais livres como glicosídeos possuem ação antioxidante atenuando danos oxidativos gerados pelos radicais livres nas células (FURLAN; RODRIGUES, 2016).

Diante disso, este trabalho teve como objetivo a quantificação de compostos fenólicos – fenóis simples e polifenóis - em extratos das folhas da *Conyza bonariensis* (L.) como alternativa de contribuir para possíveis compostos ativos da espécie com atividade alelopática.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das plantas inteiras (folha, caule e raiz) da espécie vegetal foi realizada em área pertencente ao Campus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Santa Helena, PR, em estágio vegetativo (de 30 a 40 dias após emergência), entre os meses outubro e novembro. As mesmas foram separadas em folha, caule e raiz e encaminhadas ao laboratório, lavadas em água corrente, e a seguir secas em estufa a 65 °C até massa constante.

A identificação da espécie *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist, foi realizada por especialistas e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, sob o número de registro UNOP 8568 (Figura 1).

Figura 1 – Exsicata da *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist.



Fonte: Meneghetti (2019).

A preparação do extrato aquoso ocorreu a partir de 2,0 g do material seco, moído e homogeneizado (folha) da espécie vegetal buva (*C. bonariensis*) foram adicionados 40 mL de água destilada. A mistura foi fervida por 2 minutos e filtrada (extração 01). Em seguida, seguiu-se a segunda extração, a partir de 2,0 g de material, adicionou-se 50 mL de água destilada. A mistura fervida por dois minutos e filtrada (extração 02). A seguir misturaram-se as extrações 01 e 02 e completado o volume para 100 mL com água destilada (extrato aquoso).

O extrato etanólico foi preparado a partir de 1,0 g de material seco, adicionado 40 mL de etanol (70%), colocado em banho ultrassom por 20 min (extração 01). Em seguida, 1,0 g do material seco, adicionou-se 30 mL de etanol (70%) em banho ultrassom por 20 min (extração 02), a seguir das extrações 01 e 02 foram misturadas e completado o volume para 100 mL.

Para a quantificação de compostos fenólicos (Método de Folin-Ciocalteu) prepara-se a curva de calibração por meio de espectrofotometria UV/VIS. Inicialmente, realiza-se a curva padrão utilizando para isso uma solução de ácido gálico, diluindo-se em balão volumétrico de 10 mL, 50 mg de ácido gálico em metanol.

A partir dessa solução (5 mg mL⁻¹) realizam-se sucessivas diluições em metanol, obtendo as concentrações: 500; 250; 150; 100 e 50 mg L⁻¹. Para a amostra em branco foi utilizado apenas metanol.

Em seguida, acrescenta-se em cada tudo de ensaio 40 μL da solução, 3,16 mL de água destilada e 200 μL de reagente Folin-Ciocalteu 2 mol L⁻¹ e 600 μL de solução de Na₂CO₃ (20%) saturada previamente preparada e realiza-se leitura após 30 min em espectrofotômetro em comprimento de onda de 765 nm. Com os dados obtidos calcula-se a equação da reta (SINGLETON; ROSSI, 1965).

Para a determinação de polifenóis na amostra, ao término da curva de calibração, procede-se a análise da amostra em triplicata, empregando-se 40 μL da solução do extrato, 3,16 mL de água destilada e 200 μL de reagente Folin-Ciocalteu 2 mol L⁻¹ e 600 μL de solução de Na₂CO₃ (20%) saturada previamente preparada. Agita-se por 15 s em agitador do tipo vórtex, deixar 30 min em banho maria a 40 °C, para proceder a leitura em espectrofotômetro a 765 nm. Para o branco das amostras, adiciona-se metanol ao invés da solução de extrato. Os valores obtidos são comparados com a curva padrão de ácido gálico e o conteúdo de polifenóis totais expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de planta seca, baseados na curva de calibração do ácido gálico

Para a quantificação de fenóis simples prepara-se a curva de calibração por meio de espectrofotometria UV/VIS. Inicialmente, realiza-se a curva padrão utilizando para isso uma solução de ácido tânico diluindo-se em balão volumétrico de 10 mL, 100 mg de ácido tânico em metanol.

A partir dessa solução (10 mg mL⁻¹) realizaram-se sucessivas diluições em metanol, obtendo-se as seguintes concentrações: 1200; 1000; 800; 600; 400; 200 e 100 mg L⁻¹. Para a amostra em branco foi utilizado apenas metanol.

Em seguida, acrescentou-se em cada tudo de ensaio 500 μL da solução padrão de ácido gálico, 2 mL de água destilada e 500 μL de reagente Folin-Ciocalteu 2 mol L⁻¹ e 5 mL de solução de Na₂CO₃ (7%) saturada previamente preparada e realizou-se leitura após 30 min em espectrofotômetro em comprimento de onda de 760 nm. Perfazendo um volume de 12 mL com água destilada. Os dados obtidos foram calculados conforme a equação da reta (SINGLETON; ROSSI, 1965).

Ao término da construção da curva, procede-se a análise da amostra em triplicata, empregando-se 500 μL da solução do extrato etanólico, 2 mL de água destilada e 500 μL de reagente Folin-Ciocalteu 2 mol L⁻¹ e 5 mL de solução de Na₂CO₃ (70%) saturada previamente preparada. Agita-se por 10 min em agitador do tipo vórtex, e deixou-se por 30 min em banho maria a 40 °C, para proceder a leitura em espectrofotômetro a 765 nm. Para o branco das amostras, adiciona-se metanol ao invés da solução de extrato. Os valores obtidos são comparados com a curva padrão de ácido gálico e o conteúdo de fenóis totais expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de planta seca, baseados na curva de calibração do ácido gálico (SWAIN; HILLIS, 1959).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Coleta do material botânico e preparação dos extratos

As plantas foram coletadas em estágio vegetativo (Figura 1) em estágio vegetativo, e separadas em folha, caule e raiz, lavadas, e secas em estufa a 65 °C.

Figura 2 - *Conyza bonariensis* (L) em estágio vegetativo



Fonte: Meneghetti (2019).

A partir do material, seco e moído realizou-se processo de extração. Foram preparados dois extratos, aquosos e misturados e um extrato etanólico para preparo das curvas de calibração (SINGLETON e ROSSI, 1965).

Para a curva de calibração foram separados os materiais e preparados os reagentes e em decorrência do cenário atual, devido à doença COVID-19, causada pelo SARS-CoV-2, o trabalho foi interrompido.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *Conyza bonariensis* (L.) é considerada planta infestante, em especial nos estados do Sul do Brasil, e sua capacidade de proliferação tem prejudicado as lavouras cultivadas.

Compostos fenólicos podem ser alternativa com possibilidade para atividade alelopática.

A partir do material, seco e moído realizou-se processo de extração, para posterior determinação de compostos fenólicos e polifenólicos, porém os extratos foram devidamente acondicionados em função da suspensão das atividades no âmbito da UTFPR, devido a pandemia do COVID-19.

Este trabalho tem caráter promissor e pode auxiliar na investigação de novos compostos.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Bolsa de Iniciação Científica – PIBIC - 2019/2020.

REFERÊNCIAS

BETTS, K. J. . EHLKE, N. J.; WYSE, D. L.; GRONWALD, J. W.; SOMERS, D. A. Mechanism of inheritance of diclofop resistance in italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). **Weed Science**, v.40, n.2, p.184-189, 1992.

DAUER, J. T.; MORTENSEN, D. A.; HUMSTON, R. Controlled experiments to predict horseweed (*Conyza canadensis*) dispersal distances. **Weed Science**, v.54, n.3, p.484-489, 2006.

FURLAN, A. da S.; RODRIGUES, L. Consumo de Polifenóis e sua associação com conhecimento nutricional e atividade física. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 22, n.6, p.461-464, 2016.

FURLAN, A. da S.; RODRIGUES, L. Consumo de Polifenóis e sua associação com conhecimento nutricional e atividade física. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.22, n.6, p.461-464, 2016.

LAZAROTO, C. A.; FLECK, N. G.; VIDAL, R. A. Biology and ecophysiology of hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) and horseweed (*Conyza canadensis*). **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.852-860, 2008.

PANNELL, D. J.; TILLIE, P.; RODRÍGUEZ-CEREZO, E.; ERVIN, D.; FRISVOLD, G. B. Herbicide resistance: economic and environmental challenges. **AgBioForum**, v.19, n.2, p.136-155, 2016.

POWLES, S. B.; HOLTUM, J. A. M. **Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry**. Boca Raton, 1994.

SANTOS, G.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; FRANCISCHINI, A. C.; OSIPE, J. B. Multiple resistance of *Conyza sumatrensis* to Chlorimuronethyl and to Glyphosate. **Planta Daninha**. v.32, n.2, p.409-416, 2014.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.20, p.144-158, 1965.

SOARES, D. J.; OLIVEIRA, W. S. de; UZUELE, E. L.; CARVALHO, S. J. P. de; OVEJERO, R. F. L.; CHIRSTOFFOLETI, P. J. Growth and development of *Conyza bonariensis* based on days or thermal units. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.52, n.1, p.45-53, 2007.

SOUZA FILHO, A. P. **Alelopatia e as plantas**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006, 169 p.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.: the quantitative analysis of phenolic constituent. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.10, n.1, p.63-68, Jan, 1959.

WU, W.; WALKER, S.; ROLLIN, M. J.; TAN, D.K.Y. ROBINSON, G.; WERTH, J.
Germination, persistence, and emergence of flaxleaf fleabane (*Conyza bonariensis* L. Cronquist). **Weed Biology and Management**, v.7, n.1, p.192-199, 2007.

ZABIOLE, L. H. S.; PEREIRA, V. G. C.; RUBIN, R. S.; ADEGAS, F. S.; ALBRECHT, L. P.
Paraquat resistance of *Sumatran Fleabane* (*Conyza sumatrensis*). **Planta Daninha**, v.37, p.2-8, 2019.