

Estudo Químico e Atividade Fitotóxica de Frações do Resíduo Agroindustrial Vinhaça frente à *Ipomoea purpurea*

Chemical Study and Phytotoxic Activity of Fractions from Agroindustrial Residue Vinasse against the Weed *Ipomoea purpurea*

Dandara A. Luz,^a Anne C. C. Gomes,^b Naomi K. Simas,^c Ricardo M. Kuster^{a,*} 

^a Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Química, Avenida Fernando Ferrari 514, CEP 29075-910, Goiabeiras, Vitória-ES, Brasil.

^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Curso de Graduação em Farmácia, Rua Professor Carlos Wenceslau 343, Realengo, CEP 21710-240, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

^c Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Farmácia, Bloco K, Sala 050, Ilha do Fundão, Cidade Universitária, CEP 21941-590, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

*E-mail: kusterrm@gmail.com

Recebido: 22 de Março de 2021

Aceito: 22 de Março de 2021

Publicado online: 17 de Junho de 2021

The vinasse residue produced on a large scale in Brazil and in the world by the sugarcane industry is considered highly polluting. The use of this industrial waste solves problems related to environmental pollution. After the fractionation process by liquid-liquid partition, the fractions VDiCl and VAcOEt, obtained with dichloromethane and ethyl acetate, respectively, presented the most promising results in our previous studies of phytotoxic activity against the species *Lactuca sativa*. Therefore, they were conducted to new bioassays in order to evaluate their phytotoxic potential against the highly invasive weed species *Ipomoea purpurea*. The fraction VDiCl showed an inhibitory effect of 55.2% on the growth of roots of *I. purpurea*, at 500 mg L⁻¹ (IC₅₀= 344 mg L⁻¹). Through ESI (-) FT-ICR MS and LC-ESI-MS, several compounds were identified in VDiCl composition, whereas syringic acid was the most abundant phenolic acid, and pinellin and tianshnic acids, the main fatty acids (oxylipins). The fractions VAcOEt inhibited 25.74% of *I. purpurea* roots growth at 500 mg L⁻¹, and its major constituents were identified as feruloylquinic acid and palmitic acid. Fatty acids and phenolic acids are known as phytotoxic compounds. Oxylipins were detected mainly in VDiCl, which suggests the involvement of these compounds with the phytotoxicity of VDiCl against *I. purpurea*. The results suggest the potential of the waste from sugarcane industry for the development of innovative products in the area of bio-herbicides, adding value to this waste and minimizing the chances of incorrect disposal.

Keywords: Sugar cane; industrial waste; phytotoxicity; weed

1. Introdução

A Alelopatia é definida como qualquer processo envolvendo, essencialmente, metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos (excluindo animais), incluindo efeitos estimulantes e inibitórios.¹ Este fenômeno é um mecanismo ecológico relevante que tem influência na dominação e sucessão de plantas e determina a sobrevivência da espécie no ambiente.²⁻³ Desde a década de 70, sabe-se que características alelopáticas de plantas poderiam ser exploradas para fins de controle de espécies daninhas nas mais variadas culturas.⁴

As substâncias químicas responsáveis pelo efeito alelopático são liberadas pelas plantas quando expostas a condições que prejudiquem seu desenvolvimento.⁵⁻⁶ Dentre os metabólitos alelopáticos, destacam-se ácidos fenólicos, terpenos, alcaloides, ácidos graxos de cadeias longas, lactonas e substâncias voláteis.⁷ Sendo também chamados de herbicidas da natureza.⁸

Devido aos malefícios causados pelo uso exacerbado de herbicidas sintéticos,⁹⁻¹⁰ a utilização de alternativas sustentáveis para o controle de plantas daninhas é essencial na produção agrícola, e a alelopatia ou produtos originários deste fenômeno (bio-herbicidas) são uma opção frente à aplicação de herbicidas sintéticos.¹¹ As substâncias alelopáticas podem ser utilizadas como herbicidas biodegradáveis ou podem servir como modelos no desenvolvimento de herbicidas de origem natural, pois são consideradas menos danosas, devido à sua origem e por possuírem tempo de meia-vida reduzido em comparação aos tradicionais herbicidas sintéticos.¹²⁻¹³

Através de bioensaios *in vitro* é possível verificar o potencial dos metabólitos secundários isolados ou em misturas quanto à fitotoxidez.¹⁴ Trabalhos que avaliaram o potencial fitotóxico de *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar), mostraram-se positivos quanto à capacidade das biomoléculas presentes nas folhas e no caldo da cana-de-açúcar no controle (redução do desenvolvimento) de plantas daninhas.¹⁵⁻¹⁸

No ano de 2020, foi produzido um volume de 340.016.178,0 mil L de vinhaça, proveniente do processamento da cana-de-açúcar.¹⁹ A vinhaça advém do processo de destilação do álcool, apresenta coloração castanha, e possui elevado teor de substâncias orgânicas. Cerca de 9-14 litros de vinhaça são produzidos para cada litro de etanol destilado.²⁰ Devido à elevada taxa de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), DQO (Demanda Química de Oxigênio), sólidos totais, presença de traços de metais e concentrações altas de nutrientes, como potássio (K) e nitrogênio (N), além de outras características, a vinhaça é considerada um resíduo altamente poluente, sendo cerca de 100 vezes mais contaminante que o esgoto doméstico.²¹⁻²² Desta maneira, caso seja lançada sem tratamento prévio em corpos d'água ou rios, a vinhaça pode provocar a produção primária em ecossistemas aquáticos e favorecer a eutrofização.²³⁻²⁴

O estabelecimento de uma maneira adequada de gerenciar o resíduo agroindustrial, vinhaça, é um grande desafio para a indústria sucroalcooleira no que tange ao seu manuseio e descarte, já que sua composição limita sua utilização e disposição final.²⁵⁻²⁶ Com o intuito de agregar valor e diminuir os impactos que podem ser causados pelo seu manejo incorreto, esse trabalho identificou as biomoléculas por ESI(-)FT-ICR MS e LC-ESI-MS presentes nas frações do resíduo e avaliou a capacidade fitotóxica frente à planta daninha *Ipomoea purpurea*, que apresenta resistência ao herbicida sintético glifosato²⁷ e infesta diferentes culturas, causando dificuldades principalmente ao processo de colheita.²⁸

2. Metodologia

2.1. Material e solventes

A vinhaça foi doada pela Usina Paineiras, localizada no município de Itapemirim, Espírito Santo (Brasil), no início da safra do ano 2016. Todo material foi imediatamente congelado a -18 °C. Os solventes utilizados foram em grau HPLC e água destilada. A vinhaça descongelada foi centrifugada e o sobrenadante (1200 mL), foi concentrado em evaporador rotatório sob vácuo a uma temperatura de 40 °C e pressão de 65 milibar. Do extrato seco, 12 g foram ressuspensos em água destilada (20 mL). Em seguida, a suspensão aquosa foi submetida a extrações líquido-líquido sucessivas (100 mL x 3) em solventes orgânicos com grau de polaridade crescente: *n*-hexano, diclorometano e acetato de etila, sendo as frações nomeadas, VHex, VDiCl, VAcOEt, respectivamente, e o resíduo aquoso denominado VAq.

2.2. Atividade fitotóxica

Baseado nos efeitos das frações VHex, VDiCl, VAcOEt e VAq sobre a germinação e crescimento de radículas e hipocótilos de *Lactuca sativa* (alface), descritos em nosso

trabalho anterior,²⁹ as frações mais ativas (VDiCl e VAcOEt) foram selecionadas para a continuação da investigação do potencial fitotóxico frente à espécie daninha *Ipomoea purpurea*.

As frações foram solubilizadas em solvente orgânico adequado (MeOH ou CHCl₃), e o volume ajustado para as concentrações desejadas. Cada placa de Petri (d=6,0 cm, h=1,5 cm) contendo discos de papel de filtro, recebeu 0,5 mL da solução teste. Após a evaporação do solvente orgânico em temperatura ambiente (durante 24h), foram adicionados 2,5 mL da solução DMSO 0,1% (em água destilada) e 10 sementes da espécie daninha *Ipomoea purpurea*. Os bioensaios foram efetuados em triplicata. Como controles sem tratamento foram utilizadas placas de Petri com discos de papel contendo 2,5 mL de água destilada e 2,5 mL de DMSO 0,1%. Os bioensaios foram conduzidos em câmara de crescimento em ausência de luz, com temperatura em torno de 25 °C.

O crescimento de radículas de *I. purpurea* foi realizado medindo-se o comprimento de em papel milimetrado, 5 dias após a introdução das sementes. As percentagens de inibição do crescimento das raízes foram calculadas por comparação com o controle sem tratamento, utilizando o seguinte cálculo:

C= tamanho médio de raízes no controle e X= tamanho médio de raízes na amostra-teste.³⁰ Como controle positivo utilizou-se a menadiona (naftoquinona) a 143 mg L⁻¹ - CI₅₀ previamente estabelecida.³¹

2.3. Análise estatística dos resultados e determinação de concentração inibitória média (CI₅₀)

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) segundo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, e a Concentração Inibitória Média (CI₅₀) foi calculada por regressão não-linear, ambos através do *software* Graph Pad Prism.

2.4. ESI (-) FT ICR MS

As frações foram dissolvidas em 1 mL de solução de acetonitrila e água destilada (50% v/v), alcalinizadas com 4μL NH₄OH e introduzidas a uma taxa de fluxo de 6 μL min⁻¹ na fonte ESI (-).

Os parâmetros experimentais da fonte de ESI (-) foram tensão do capilar 3,8 Kv, temperatura de transferência de capilar 200 °C e pressão do gás nebulizador 1,4 Bar. O tempo de acumulação de íons foi de 0,010 segundos e a aquisição de espectros foi realizada a partir da acumulação de 32 scans e um domínio de tempo de 500 k. A calibração dos espectros foi feita externamente utilizando NaTFA (m/z de 200 a 1200). Com a potência de resolução do equipamento e a precisão de massa menor <1-2 ppm, foi possível atribuir inequivocamente a fórmula molecular de íons carregados.

Os espectros adquiridos foram analisados no programa Data Analysis (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). A

composição elementar foi determinada por razão massa/carga (m/z) de cada sinal. As propostas das m/z foram realizadas a partir de informações químicas descritos em literatura de moléculas identificadas e/ou isoladas em *Saccharum ssp.*

2.5. LC-ESI-MS

A análise foi realizada de acordo com Luz *et al.* (2020), com pequenas modificações. O equipamento de cromatografia utilizado foi Nexera X2, da Shimadzu. Acoplado ao espectrômetro de massas Maxis Impact, configuração ESI-Q-TOF (Bruker). A eluição ocorreu em coluna ODS Hypersil C18 150 x 2,1 mm, 3 µm de tamanho de partícula (Thermo Fisher Scientific) + pré-coluna C18 4 x 3,0 mm (Phenomenex). O espectrômetro de massas operou em modo negativo com voltagem do capilar de 5000 V, pressão do gás nebulizador de 2,0 bar e temperatura do capilar de 200 °C. A faixa de varredura foi de 50 a 1200 m/z. A fase móvel, que consiste em (A) solução aquosa de ácido fórmico (0,01%, v-v⁻¹) e (B) solução metanólica de ácido fórmico (0,01%, v-v⁻¹), foi bombeada através da coluna com taxa de fluxo de 0,2 mL min⁻¹ em um gradiente de concentração da seguinte forma: 0 -1,0 min (55% B), 1,0 -2,0 min (55% B), 2,0-9,0 min (60% B), 9,0-91 min (73% B) e 9,1-16,6 min- (100% B), 16,6 -17,0 min (100% B), 17,0 -24 min (0% B), fluxo de 0,2 mL/min. Os espectros adquiridos foram analisados no programa MzMine2.

3. Resultados e Discussão

3.1. Inibição do crescimento de raízes de *Ipomoea purpurea*

Em nosso trabalho anterior,³² as frações VDiCl e VAcOEt apresentaram uma CI₅₀ sobre o crescimento de raízes de *L.*

sativa de 168,4 mg L⁻¹ e 262,3 mg L⁻¹, respectivamente. Tendo em vista esses resultados preliminares, a fração VDiCl foi testada em *I. purpurea* nas concentrações de 500 – 168,4 mg L⁻¹, enquanto VAcOEt foi avaliada entre 500 e 262,3 mg L⁻¹ (Figuras 1 e 2).

A fração VDiCl apresentou atividade fitotóxica mais pronunciada sobre a planta daninha. A inibição a 500 mg L⁻¹ foi de 55,2%, e o valor estabelecido para a CI₅₀ foi de 344,0 mg L⁻¹. A fração VAcOEt, exibiu a 500 mg L⁻¹, inibição de 25,74%, dado este que atesta que a inibição em 50% encontra-se acima da concentração de 500 mg L⁻¹, sendo necessário concentrações maiores para suprimir o crescimento das raízes da espécie resistente como a *I. purpurea*.

O valor de CI₅₀ da VDiCl demonstra um potencial interessante quanto à atividade fitotóxica, já que trabalhos realizados com espécies da família Poaceae descrevem tal ação em concentrações mais elevadas. Por exemplo, o extrato metanólico de *Echinochloa colona* (L.) Link, a uma concentração de 10 000 mg L⁻¹, inibiu o crescimento em cerca de 72% de raízes de arroz,³³ enquanto a uma concentração de 2 000 mg L⁻¹ o extrato hidroalcolólico de *Cymbopogon sp.* inibiu o crescimento de raízes de *Mimosa pudica* em 46% e *Senna obtusifolia* em 30%.³⁴ Nos trabalhos de em *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar), a fitotoxicidade foi atribuída a presença de ácidos graxos e substâncias fenólicas.¹⁵⁻¹⁸ Há indícios de que os ácidos graxos atuem sobre a membrana plasmática celular, afetando principalmente sua permeabilidade, com a formação de um canal iônico, que resulta na destruição da organização da membrana³⁵ e dissociando pigmentos envolvidos em processos de fotossíntese.³⁶ Metabólitos fenólicos, devido à presença de anel aromático, possuem capacidade de interferir em processos com fluxo de carga (cátions e ânions), como fotossíntese, transporte, permeabilidade iônica da membrana celular e eliminação de radicais livres.³⁷

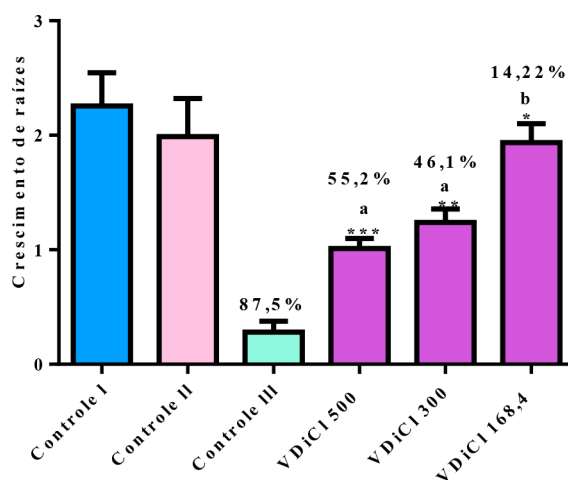


Figura 1. Efeito da fração em diclorometano da vinhaça sobre o crescimento de raízes de *I. purpurea* [Controle I = água destilada; Controle II = 0,1% DMSO; Controle III = Menadiona (143 mg L⁻¹)]. Resultados expressos em média ± desvio padrão. Significância determinada por ANOVA seguida pelo teste de Tukey. Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste de comparação múltipla de Tukey (p < 0,05). As porcentagens de inibição do crescimento são mostradas acima das letras

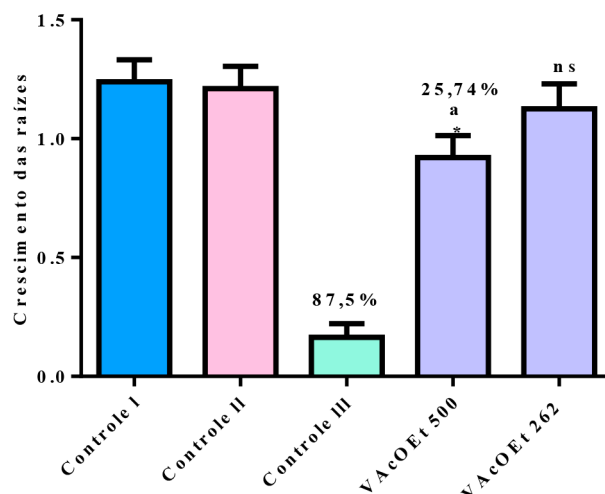


Figura 2. Efeito da fração em acetato de etila da vinhaça sobre o crescimento de raízes de *I. purpurea* [Controle I = água destilada; Controle II = 0,1% DMSO; Controle III = Menadiona (143 mg L^{-1})]. Resultados expressos em média \pm desvio padrão. Significância determinada por ANOVA seguida pelo teste de Tukey. Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste de comparação múltipla de Tukey ($p < 0,05$). As porcentagens de inibição do crescimento são mostradas acima das letras. (ns = não significativo comparado com o controle negativo)

3.2. Identificação das substâncias das frações VDiCl e AcOEt

A fração VDiCl foi analisada por ESI(-)FT-ICR MS para verificação da fórmula molecular exata das substâncias, bem como a fragmentação de algumas delas por dissociação induzida por colisão (DIC). Em paralelo, a amostra também foi analisada por LC-ESI-MS para verificar a presença de substâncias de mesma massa, visto que na primeira técnica não houve uma separação cromatográfica prévia à espectrometria de massas. A fonte de ionização por eletronebulização, em modo negativo, foi escolhida devido à riqueza de substâncias ácidas, como ácidos carboxílicos e fenóis na fração VDiCl.²⁹

A Figura 3 mostra o cromatograma obtido por LC-ESI-MS inserido no espectro de massas (EM) adquirido da análise por ESI(-)FT-ICR MS. Os valores m/z do EM estão

com cinco dígitos após a vírgula, pois a técnica FT-ICR MS possui um analisador de ressonância ciclotrônica de íons (ICR), que permite uma altíssima resolução. A Tabela 1 propõe uma sugestão molecular para a maioria dos íons presentes na amostra.

O sistema de eluição utilizado para a obtenção do cromatograma foi escolhido baseado na presença majoritária de substâncias lipofílicas, características de uma fração diclorometânica. Desta maneira, as substâncias mais polares e menos abundantes, não foram bem separadas, como verifica-se pelos tempos de retenção muito próximos (entre 2 e 6 min) na Tabela 1. Desta maneira, já cientes de que a cana-de-açúcar é uma fonte de ácidos fenólicos e flavonoides, cada uma das estruturas conhecidas foi extraída dos dados cromatográficos pelo MzMine conforme dispostas na Tabela 1. Para ilustrar o processo de identificação molecular, vamos exemplificar com o ácido siríngico. No

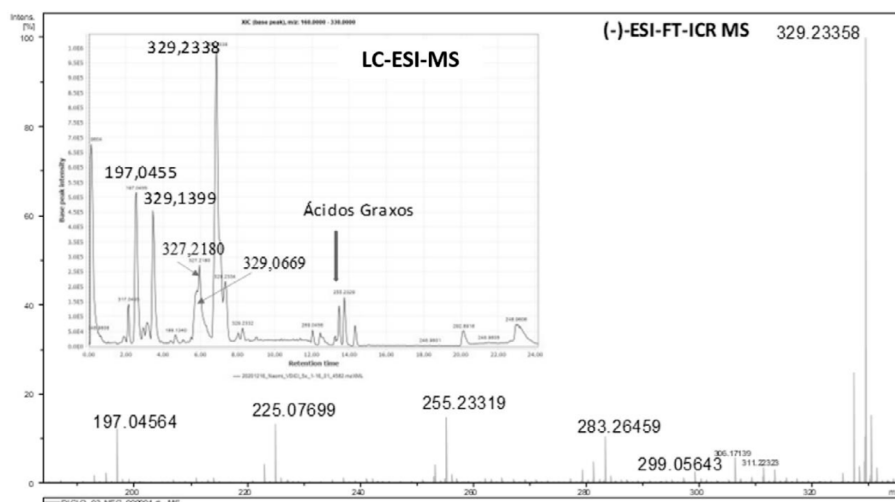


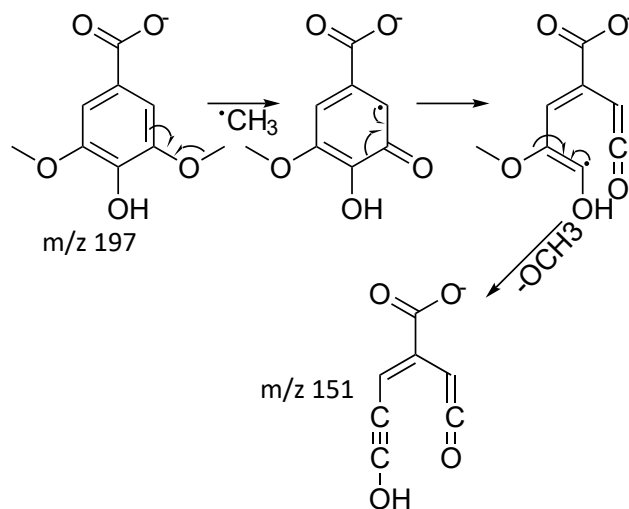
Figura 3. Cromatograma LC-ESI-MS e espectro de massas (EM) ESI (-) FT-ICR MS da fração VDiCl

Tabela 1. Composição Química da fração ViDCl determinada por LC-ESI-MS e ESI(-)FT-ICR MS.

Tempo de Retenção (min)	Íon [M-H] ⁻	Fórmula Molecular	Íons Fragmentos (MS ²)	Proposta Estrutural	Classe de Substância Natural
2,53	167,0349	C ₈ H ₇ O ₄		Ácido vanílico	Ácido fenólico
2,61	197,0455	C ₉ H ₉ O ₅	167, 151, 145, 129	Ácido siríngico	Ácido fenólico
2,65	225,0765	C ₁₁ H ₁₃ O ₅	210, 195, 180	Ácido diidrosinápico	Ácido fenólico
2,68	149,0244	C ₉ H ₁₀ O ₂	-	Ácido hidrocinâmico	Ácido fenólico
2,76	163,0399	C ₉ H ₇ O ₃	-	Ácido p-cumárico	Ácido fenólico
2,84	195,0664	C ₁₀ H ₁₁ O ₄	-	Ácido hidroferúlico	Ácido fenólico
2,90	165,0555	C ₉ H ₉ O ₃	-	Ácido diidrocumárico	Ácido fenólico
2,91	193,0507	C ₁₀ H ₉ O ₄	-	Ácido ferúlico	Ácido fenólico
3,07	137,0244	C ₇ H ₅ O ₃	-	Ácido 4-hidroxibenzoico	Ácido fenólico
3,20	211,0610	C ₁₀ H ₁₁ O ₅	-	Ácido eudesmico	Ácido fenólico
3,22	223,0609	C ₁₁ H ₁₁ O ₅	208, 179, 164	Ácido sinápico	Ácido fenólico
3,41	329,1399	C ₁₉ H ₂₁ O ₅	-	Giberelina	Diterpenóide
5,70	329,0669	C ₁₇ H ₁₃ O ₇	-	Tricina	Flavonoide
5,95	327,2180	C ₁₈ H ₃₁ O ₅	291, 265, 255, 239, 221	Ácido 9,12,13-trihidroxi-10,15-octadecadienoico	Oxilipina
5,97	299,0560	C ₁₆ H ₁₁ O ₆	-	Diosmetina	Flavonoide
6,86-6,87	329,2337	C ₁₈ H ₃₃ O ₅	314, 299, 293, 271, 229, 211, 202, 171	Ácido pinélico e ácido tianshico	Oxilipina
12,07	269,0456	C ₁₅ H ₉ O ₅		Apigenina	Flavonoide
13,37	253,2176	C ₁₆ H ₂₉ O ₂	211, 183	Ácido palmitoléico	
13,49	279,2329	C ₁₈ H ₃₁ O ₂	235, 204, 201, 176, 163	Ácido linoleico	Ácido graxo
13,78	255,2329	C ₁₆ H ₃₁ O ₂	211, 183	Ácido palmítico	Ácido graxo
13,82	281,2486	C ₁₈ H ₃₃ O ₂	201, 176, 172	Ácido oleico	Ácido graxo
14,37	283,2638	C ₁₈ H ₃₅ O ₂	239, 211, 185	Ácido esteárico	Ácido graxo

espectro de massas, o valor m/z 197.04564 para o íon [M-H]⁻ possibilitou encontrar a fórmula molecular C₉H₉O₅. Além disso, o fragmento 151 permitiu confirmar a estrutura, a qual é muito conhecida em *Saccharum officinarum*.¹⁶ A Figura 4 ilustra o processo de fragmentação.

Próximo ao tempo de retenção do ácido siríngico (2,61 min) existem muitas substâncias, encobertas pela maior intensidade do sinal. Através do programa MzMine, os ácidos vanílico, diidrosinápico, hidrocinâmico, hidroxicinâmico (*p-cumárico*), hidroferúlico, diidrocumárico, ferúlico,

**Figura 4.** Proposta de fragmentação do ácido siríngico

4-hidroxibenzóico (catéquico), eudémico e sinápico foram identificados por um processo denominado desreplicação em química de produtos naturais. Todos os ácidos fenólicos são conhecidos em *Saccharum officinarum*.^{15,16,38} A importância da técnica cromatográfica acoplada ao espectrômetro de massas (LC-ESI-MS) pode ser verificada, quando, no programa MzMine, busca-se o íon que se quer analisar. Por exemplo, pesquisando o íon 329, o seguinte cromatograma é devolvido (Figura 5):

Desta maneira, verificou-se a presença de inúmeras substâncias presentes em VDiCl com massa molecular referente ao íon m/z 329. Destas foi possível identificar o flavonoide tricina ($[M-H]^-$ 329,0669, t_R 5,7 min), além das oxilipinas ácido pinelico e tianshico ($[M-H]^-$ 329,2337, t_R 6,86 e 6,87 min) descritas em outro trabalho, como isômeros posicionais. (Figura 6).²⁹

Oxilipinas são ácidos graxos oxigenados (grupos álcool e epóxido) originados em condições de estresse vegetal a partir de ácidos graxos insaturados, como ácido linoleico e linolênico.³⁹⁻⁴¹ Em 3,41 min, uma outra substância surgiu no cromatograma, com íon m/z 329,1399 e fórmula molecular $C_{19}H_{21}O_5$. Nenhuma substância foi encontrada na literatura para *Saccharum officinarum* com essa fórmula molecular, mas suspeita-se de molécula da classe das giberelinas, as quais podem ser sintetizadas em ambientes favoráveis ao metabolismo de fungos,⁴² como o processo de

fermentação fúngica (*Saccharomyces cerevisiae*) do caldo de cana, de onde se originou o resíduo vinhaça.

Em nossos trabalhos anteriores,^{29,32} a fração AcOEt foi analisada por ESI(-) FT-ICR MS e foram identificados sinal intenso para as classe dos ácidos fenólicos, ácido feruolquínico ($[M-H]^-$ íon; m/z 367.10390; $M=C_{17}H_{20}O_9$; $MS^2=251; 201; 176$) e, em menor intensidade, para os ácidos graxos, como ácido palmítico ($[M-H]^-$ íon; m/z 255.23308; $M=C_{16}H_{31}O_2$; $MS^2=202; 176$). Sinais minoritários referentes ao ácido 9,12,13-trihidroxi-10-octadecenoico/ácido 9,10,13 trihidroxi-11-octadecenoico e ($[M-H]^-$ íon; m/z 329.23363; $M=C_{18}H_{33}O_5$; $MS^2=314; 299; 229; 211; 171$) e flavonoides, como vitexina ($[M-H]^-$ íon; m/z 431.09882; $M=C_{21}H_{19}O_{10}$ - $MS^2=341; 311$) também foram observados no espectro.

A presença de ácidos graxos saturados (esteárico e palmítico), insaturados (oleico, linoleico e palmitoleico), das oxilipinas e dos ácidos fenólicos em VDiCl explica o efeito inibitório sobre o crescimento radicular de *Ipomoea purpurea*, visto que a ação fitotóxica destes compostos é descrito em trabalhos anteriores^{15-18,31}, porém há de se considerar influência na concentração dos compostos nas amostras testadas, bem como o efeito sinérgico de diferentes classes¹⁵. Já é bem conhecido na literatura, o sinergismo para atividade alelopática de ácidos graxos e ácidos fenólicos.^{15,31} Entretanto, devido ao efeito alelopático pronunciado

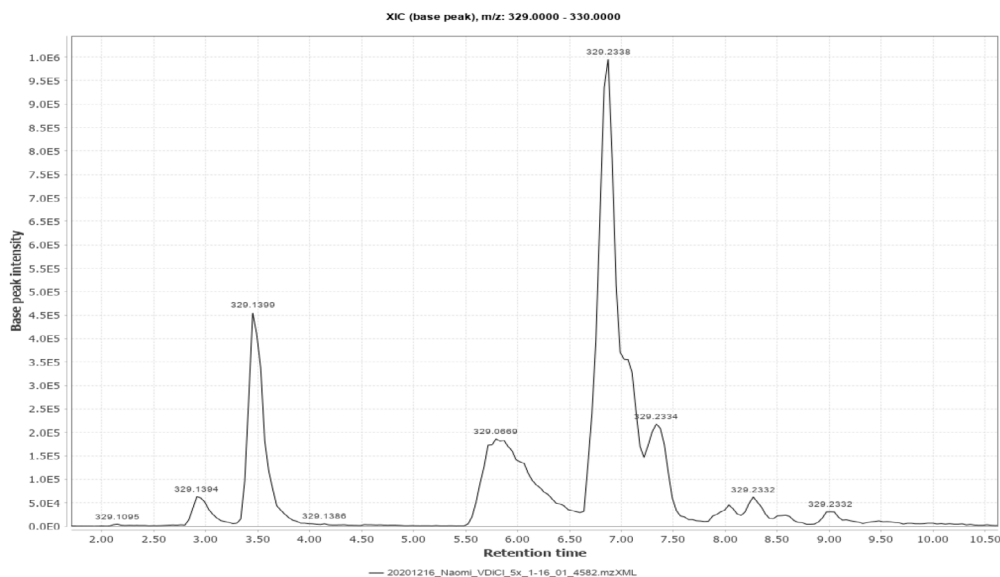


Figura 5. Cromatograma da pesquisa pelo íon 329 no programa Mzmine2

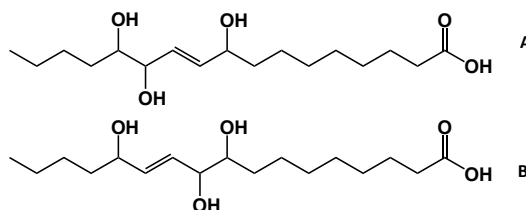


Figura 6. Estruturas das oxilipinas, (A) ácido pinelico e (B) ácido tianshico.

encontrado na VDiCl quando comparada a VAcOEt, nos leva a sugerir a importância das oxilipinas nessa interação. Conheça-se bem o papel das oxilipinas como agentes alelopáticos entre espécies de algas⁴³⁻⁴⁴ e atuação destas biomoléculas na defesa de plantas, principalmente quando expostos a patógenos.⁴⁵⁻⁴⁷

A *Ipomoea purpurea* é considerada uma planta daninha competitiva em diversas cultivares, sua infestação ocorre em diversas partes do mundo e seu controle é considerado difícil e de elevado custo,^{27,48} normalmente realizado através de aplicação do herbicida sintético glifosato, porém a espécie é considerada resistente ao glifosato emergente.^{27,49} Além de promoverem aumento na resistência em ervas daninhas, o uso exacerbado de herbicidas sintéticos provoca danos ao meio ambiente, além de diversos problemas relacionados a saúde humana e animal.⁵⁰⁻⁵¹ Dessa forma, nosso trabalho, demonstra a possibilidade do reaproveitamento do resíduo vinhaça largamente produzido e também informações valiosas acerca de um potencial bio-herbicida no controle de espécie daninha de elevada resistência.

4. Conclusão

Os resultados deste estudo demonstram o potencial fitotóxico de biomoléculas presente no resíduo vinhaça advindos da indústria sucroalcooleira frente a espécie resistente *Ipomoea purpurea*. No estudo químico realizado com as frações VDiCl e VAcOEt da vinhaça, foram identificadas as classes dos ácidos graxos e ácidos fenólicos, estes já descritos com interessante atividade fitotóxica. A presença de oxilipinas, parece potencializar a atividade fitotóxica na fração VDiCl, principalmente em espécie daninha de elevada resistência como *I. purpurea*. Dessa forma, sugere-se que o resíduo vinhaça possa ser utilizado como matéria-prima para a elaboração de produtos de inovação, agregando valor a este material e minimizando as chances de danos ao meio ambiente pelo descarte incorreto.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. Os autores agradecem CAPES (23038.007083 / 2014-40) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) (445987/2014 -6 e 465450 / 2014-8) pelo apoio financeiro. Agradecemos também ao Núcleo de Competências em Química do Petróleo (NCQP-UFES) (PELO) uso seus laboratórios e instalações, ao Laboratório Multiusuário de Análises Biomoleculares (LABIOM- UFES) pela liofilização das amostras, ao Centro de Espectrometria de massas de Biomoléculas (CEMBIO-UFRJ) pela análise de LC-MS e a Usina Paineiras pela doação dos resíduos industriais.

Referências Bibliográficas

- Macias, F. A.; Gallindo, J. C. G.; Molinillo, J. M. G.; Plant biocommunicators: Application of allelopathic studies. In: Years of Natural Products Research Past, Present and Future, Ed Teus J.C. Luijendijk, Phytoconsult, 2000.
- Gatti, A. B.; Perez, S. C. J. G. A.; Lima, M. I. S.; Efeito alelopático de *Aristolochia esmeranziae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Botanica Brasílica* **2004**, *18*, 459. [Link]
- Taiz, L.; Zeiger, E.; *Fisiologia vegetal*, 4a ed., Artmed: Porto Alegre, 2009.
- Putnam, J. D.; Barnes, J. P.; Exploitation of allelopathy for weed control in annual and perennial cropping systems. *Journal of Chemical Ecology* **1983**, *9*, 1001. [CrossRef] [PubMed]
- Amb, M. K.; Ahluwalia, A. S.; Allelopathy: Potential Role to Achieve New Milestones in Rice Cultivation. *Rice Science* **2016**, *23*, 165. [CrossRef]
- Bertin, C., Yang, X., Weston, L. A.; The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant Soil* **2003**, *256*, 67. [CrossRef]
- Xuan, T. D.; Anh, L. H.; Khang, D. T.; Tuyen, P. T.; Minh, T. N.; Khanh, T. D.; Trung, K. H.; Weed Allelochemicals and Possibility for Pest Management. *International Letters of Natural Sciences* **2016**, *56*, 25. [CrossRef]
- Putman, R.; *The natural history of Deer*, 1st ed., Cornell University Press: London, 1988.
- Panagopoulos, Y.; Makropoulos, C.; Mimikou, M.; Decision support for diffuse pollution management. *Journal Environmental Modelling Software* **2012**, *30*, 57. [CrossRef]
- Gupta, P. K.; *Reproductive and Developmental Toxicology*, 2nd ed., Academic Press: New York, 2017.
- Hussain, I.; Singh, N. B.; Singh, A. Singh, H.; Allelopathic potential of sesame plant leachate against *Cyperus rotundus* L. *Annals of Agrarian Science* 2017, *15*, 141. [CrossRef]
- Duke, S.; Lydon, J.; Herbicides from Natural Compounds. *Weed Technology* **1987**, *1*(2), 122. [Link]
- Qian, H.; Xu, X.; Chen, W.; Jiang, H.; Jin, Y.; Liu, W.; Fu, Z.; Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. *Chemosphere* **2009**, *75*, 368. [CrossRef]
- Wu, H.; Prtley, J.; Leerle, D.; Haig, T.; An, M.; Screening Methods for the Evaluation of Crop Allelopathic Potential. *The Botanical Review* **2001**, *67*, 23. [CrossRef]
- Gomes, A.C.C., Gomes, A.K.C., Magalhães, Magalhães, P.D., Buss, D. F., Simas, N. K., Kuster, R. M.; *In vitro* phytotoxic activity of *Saccharum officinarum* leaves on lettuce and weed *Calopogonium mucunoides*. *Allelopathy Journal* **2016**, *39*, 177. [Link]
- Sampietro, D. A., Vattuone, M. A.; Nature of the interference mechanism of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) straw. *Plant and Soil* **2006**, *280*, 157. [CrossRef]
- Sampietro, D.A.; Vattuone, M. A.; Isla, M. I.; Plant growth inhibitors isolated from sugarcane (*Saccharum officinarum*) straw. *Journal of Plant Physiology* **2006**, *163*, 837. [CrossRef] [PubMed]

18. Sampietro, D.A., Vattuone. M. A.; Sugarcane straw and its phytochemicals as growth regulators of weed and crop plants. *Plant Growth Regulation* **2006**, *48*, 21. [CrossRef]
19. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento safra brasileira cana, v. 7 - Safra 2019/20, n. 3 - Terceiro levantamento, Brasília, 2020. [Link]
20. España-Gamboa, E.; Mijangos-Cortés, J. O.; Hernández-Zárate, G.; Domínguez Maldonado, J.A.; Alzate-Gaviria, L. M.; Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. *Biotechnology for Biofuels* **2012**, *82* [CrossRef] [PubMed]
21. Freire, W. J.; Cortez, L. A. B.; *Vinhaça de cana-de-açúcar*, Agropecuária: Guaíba, 2000.
22. Soler Da Silva, M. A.; Kliemann, H. J.; Borges De-Campos, A.; Madari, B. E.; Borge, J. D.; Gonçalves, J. M.; Effects of vinasse irrigation on effluent ionic concentration in Brazilian Oxisols. *African Journal of Agricultural Research* **2013**, *8*, 5664. [CrossRef]
23. Aparicio, J. D.; Benimeli, C. S.; Almeida, C. A.; Polti, M. A.; Colin, V.; Integral use of sugarcane vinasse for biomass production of actinobacteria: Potential application in soil remediation. *Chemosphere* **2017**, *181*, 478. [CrossRef]
24. Martinelli, L. A.; Filoso, S.; Expansion of sugarcane ethanol production in Brazil: environmental and social challenges, *Ecological Applications* **2008**, *18*, 885. [CrossRef] [PubMed]
25. George, P. A. O.; Cabello, J. J. E.; Gutierrez, A. S.; Hens, L.; Vandecasteele. R.; Residue from Sugarcane Juice Filtration (Filter Cake): Energy Use at the Sugar Factory. *Waste Biomass Valor* **2010**, *1*, 407. [CrossRef]
26. Carrilho, E. N. V. M.; Labuto, G.; Kamogawa, M.Y.; Destination of vinasse, a residue from alcohol industry: Resource recovery and prevention of pollution. *Environmental Materials and Waste: Resource Recovery and Pollution Prevention* **2016**, 21. [CrossRef]
27. Kuester, A., Chang, S., Baucom, R. S.; The geographic mosaic of herbicide resistance evolution in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*: Evidence for resistance hotspots and low genetic differentiation across the landscape. *Evolutionary Applications*. **2015**, *8*, 821. [CrossRef][PubMed]
28. Lorenzi, H. J.; *Plantas daninhas do Brasil*, 3a ed., Instituto Plantarum: São Paulo 2000.
29. Luz, D. A.; Gomes, A. C. C.; Simas, N. K.; Heringer, O. A.; Romão, W.; Lovatti, B. P. O.; Scherer, R.; Filgueiras, P. R. Kuster, R. M.; Sugarcane waste product as source of phytotoxic compounds for agriculture. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture* **2020**, *9*, 385. [CrossRef]
30. Chiapusio, G.; Sánchez, A.M.; Reigosa, M. J.; González, L. Pellissier, F.; Do Germination Indices Adequately Reflect Allelochemical Effects on the Germination Process? *Journal of Chemical Ecology* **1997**, *23*, 2445. [CrossRef]
31. Baratelli, T. G.; Gomes, A. C. C.; Wessjohann, L. A.; Kuster, R. M.; Simas, N. K.; Phytochemical and allelopathic studies of *Terminalia catappa* L. (Combretaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **2012**, *41*, 119-125. [CrossRef]
32. Luz, D. A.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Espírito Santo, 2018. [Link]
33. Sitthinoi, P.; Lertmongkol, S.; Chanprasert, W.; Vajrodya, S.; Allelopathic effects of jungle rice (*Echinochloa colona*(L.) Link) extract on seed germination and seedling growth of rice. *Agriculture and Natural Resources* **2017**, *51*, 74. [CrossRef]
34. Dias, A. P. C.; Souza Filho, A. P. S.; Atividade potencialmente alelopática em extratos hidroalcoolicos de *Cymbopogon* sp (POACEAE). *Revista ciência agrárias* **2005**, *44*, 37. [Link]
35. Alamsjah, M. A.; Hirao, S.; Ishibashi, F.; Oda, T.; Fujita, Y.; Algicidal activity of polyunsaturated fatty acids derived from *Ulva fasciata* and *U. pertusa* (Ulvaceae, Chlorophyta) on phytoplankton. *Journal of Applied Phycology* **2008**, *20*, 713. [CrossRef]
36. Wu, J.; Chiang, Y.; Huang, W.; Jane, W.; Cytotoxic effects of free fatty acids on phytoplankton algae and cyanobacteria. *Aquatic Toxicology* **2006**, *80*, 338. [CrossRef] [PubMed]
37. Macías, F. A.; Molinillo, J. M.; Varela, R. M.; Galindo, J. C.; Allelopathy –a natural alternative for weed control. *Pest Management Science* **2007**, *63*, 327. [CrossRef][PubMed]
38. Singh, A.; LaL, U. R.; Mukhtar, H. M.; Singh, P. S.; Shah, G.; Dhawan, R. K.; Phytochemical profile of sugarcane and its potential health aspects. *Pharmacognosy Review* **2015**, *9*, 45–54. [CrossRef] [PubMed]
39. Bléé, E.; Phytooxylipins and plant defense reactions. *Progress in Lipid Research* **1998**, *37*, 33. [CrossRef]
40. Grechkin, A. N.; Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway. *Progr Lipid Res* **1998**, *37*, 31. [PubMed] [CrossRef]
41. Wastermack C., Feussner I.; The oxylipin pathways: Biochemistry and function. *Annual Review of Plant Biology* **2018**, *69*, 363. [CrossRef] [PubMed]
42. Mander, L. N.; The chemistry of gibberellins: an overview. *Chemical Reviews* **1992**, *92*, 573. [CrossRef]
43. Ternon, E.; Pavaux, A.; Marro, S.; Thomas, O. P.; Lemée, R.; Allelopathic interactions between the benthic toxic dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata* and a co-occurring diatom. *Harmful Algae* **2018**, *75*, 35. [CrossRef]
44. Ruocco, N.; Albarano, L.; Esposito, R.; Zupo, V.; Costantini, M.; Ianora, A.; Multiple Roles of Diatom-Derived Oxylipins within Marine Environments and Their Potential Biotechnological Applications. *Mar. Drugs* **2020**, *18*, 342. [PubMed] [CrossRef]
45. Bléé, E.; Impact of phyto-oxylipins in plant defense. *Trends in Plant Science* **2002**, *7*, 315. [CrossRef] [PubMed]
46. Göbel. C.; Feussner, I.; Hamberg, M.; Rosahl, S.; Oxylipin profiling in pathogen-infected potato leaves. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2002**, *5*, 55. [PubMed][CrossRef]
47. Pickett, J. A., Birkett, M. A., Blassioli Moraes, M. C., Bruce, T. J. A., Chamberlain, K., Gordon-Weeks, R., Matthes, M. C., Napier, J. A., Smart, L. E., Wadhams, L. J.; Woodcock, C. M.; cis -Jasmone as allelopathic agent in inducing plant defence. *Allelopathy Journal* **2007** *19*, 109. [Link]
48. Kissmann, K. G.; Groth, D.; *Plantas infestantes e nocivas*, 2a ed, BASF: São Paulo, 1999.
49. Sandermann, H.; Plant biotechnology: ecological case studies on herbicide resistance. *Trends in Plant Science* **2006**, *11*, 324. [CrossRef] [PubMed]
50. Peres, F.; Moreira, J. C.; Dubois, G. S.; Em É veneno ou é remédio? *Agrotóxicos, saúde e ambiente*, 1a ed., Fiocruz., Rio de Janeiro, 2003.
51. Varah, A.; Ahodo, K.; Coutts, S. R.; Hicks, H.L.; Comont, D.; Crook, L.; Hull, R.; Neve, P.; Childs, D. Z.; Freckleton, R. P.; Norris, K.; The costs of human-induced evolution in an agricultural system. *Nature Sustainability* **2020** *3*, 63. [CrossRef] [PubMed]