Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.04,2024

ISSN 2178-6925

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLOROFILA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE *PIPER MARGINATUM* JACQ COLETADAS EM ITACOATIARA POR MEIO DA ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS.

DETERMINATION OF THE CHLOROPHYLL CONTENT OF EXTRACTS FROM *PIPER MARGINATUM* JACQ LEAVES COLLECTED IN ITACOATIARA USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY.

Ranna Ambrosio da Silva
Graduanda em Química Industrial
Universidade Federal do Amazonas-UFAM
E-mail: rannaambrosio07@gmail.com

Mateus Feitosa Santos
Graduando em Farmácia
Universidade Federal do Amazonas-UFAM
Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais-GPPN
Grupo de Pesquisa em Eletrocatálise e Química Bioinorgânica
E-mail: mateusfeitosa035@gmail.com

Eldon Carlos dos Santos Colares
Farmacêutico
Instituto Esperança de Ensino Superior
Responsável Técnico Pharbox
E-mail: eldon.colares@hotmail.com

Valdomiro Lacerda Martins
Químico-Universidade Federal da Paraíba
Mestrado em Química-Paraíba
Doutorado em Química- Universidade Federal de Pernambuco
E-mail: valdomiro@gmail.com

Resumo: As plantas medicinais são produtoras de diversos metabólitos e substâncias, dentre estas pode-se citar a clorofila que confere a coloração verde a folhas das plantas. Dentre os gêneros botânicos e famílias botânicas utilizadas em experimentos científicos destacam-se a família Piperaceae e o gênero *Piper*. O gênero *Piper* e a espécie *Piper marginatum* Jacq. que possui em suas folhas um alto teor de clorofila o que confere a coloração verde nas mesmas e muitas das vezes este teor não é quantificado e dentre as técnicas utilizadas para se analisar o teor de concentração de clorofila destaca-se a técnica de Espectrofotometria no UV-Vis. O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração de clorofila de diferentes extratos presente em *Piper marginatum* Jacq coletadas em Itacoatiara por meio da técnica de espectrofotometria no UV-Vis. As folhas de *Piper marginatum* Jacq. foram coletadas no Campus I da UFAM em Itacoatiara e foram levadas para o laboratório de Química onde foram limpas e submetidas ao processo de extração separadamente nos solventes (água e etanol) os extratos foram filtrados separadamente e armazenados em frasco âmbar e mantidos em temperatura adequada. Os extratos foram submetidos a diferentes tipos de testes: Teor de clorofila em UV-Vis, Refratividade, Condutividade elétrica e pH. As análises foram submetidas ao teste estatístico usando o software SISVAR para os parâmetros testados e as absorbâncias foram analisadas pelo software SciDavis. Os resultados obtidos avaliaram que o melhor solvente para extração de clorofila foi o etanol, todavia ambos extratos se apresentaram estáveis durante os ensaios. Estes resultados são um indicativo que a espécie possui estabilidade em ambos solventes todavia devem ser realizados testes complementares sobre a espécie.

Palavras-chaves: *Piper*, clorofila, UV-Vis, Estabilidade, Solventes.

ISSN 2178-6925

Abstract: Medicinal plants are producers of various metabolites and substances, among which we can mention chlorophyll, which gives the green color to plant leaves. Among the botanical genera and botanical families used in scientific experiments, the Piperaceae family and the Piper genus stand out. The genus Piper and the species *Piper marginatum* Jacq. which has a high chlorophyll content in its leaves, which gives them a green color and this content is often not quantified and among the techniques used to analyze the chlorophyll concentration, the UV Spectrophotometry technique stands out. -Vis. The objective of this work was to determine the chlorophyll concentration of different extracts present in *Piper marginatum* Jacq collected in Itacoatiara using the UV-Vis spectrophotometry technique. The leaves of Piper marginatum Jacq. were collected at UFAM Campus I in Itacoatiara and were taken to the Chemistry laboratory where they were cleaned and subjected to the extraction process separately in solvents (water and ethanol). The extracts were filtered separately and stored in an amber bottle and kept at an appropriate temperature. The extracts were subjected to different types of tests: Chlorophyll content in UV-Vis, Refractivity, Electrical conductivity and pH. The analyzes were subjected to statistical testing using the SISVAR software for the tested parameters and the absorbances were analyzed using the SciDavis software. The results obtained evaluated that the best solvent for chlorophyll extraction was ethanol, however both extracts were stable during the tests. These results are an indication that the species is stable in both solvents, however additional tests must be carried out on the species.

Keywords: *Piper*, chlorophyll, UV-Vis, Stability, Solvents.

1.Introdução

As plantas medicinais atualmente vêm despertando o interesse da comunidade científica para a aplicação de diferentes produtos botânicos em ensaios biológicos e até mesmo em experimentos (MIRANDA, 2021). O Brasil é detentor da maior biodiversidade vegetal do planeta e atualmente o catálogo da flora brasileira é composto por cerca de 49.980 espécies classificadas em endêmicas, cultivadas e naturalizadas, o que caracteriza a Amazônia como o lar de mais de 1/4 dessa biomassa (IBGE, 2017; FLORA DO BRASIL, 2020).

O uso de plantas medicinais não é recente e desde os tempos mais remotos são apresentadas contribuições do uso destas para a promoção da saúde (MIRANDA, 2021). Dentre os gêneros botânicos e famílias botânicas utilizadas em experimentos científicos destacam-se a família Piperaceae e o gênero *Piper* que pertencem à ordem Piperales (BÁNKI *et al*., 2021), e em sua maioria são dicotiledôneas (SARJANI *et al*., 2017) e atualmente as suas espécies estão distribuídas em quatro subfamílias (Peperomioideae Miq., Piperoideae Arn., Verhuellioideae Trel. ex Samain & Wanke e Zippelioideae Samain & Wanke) e dez gêneros (BÁNKI *et al*., 2021).

A espécie *Piper marginatum* pertencente à família Piperaceae é chamada popularmente por capeba, malvavisco, pimenta-do-mato, caapeba-cheirosa e nhandi, além disto na terapêutica esta espécie é usada como fitoterápico. Na literatura já foram encontradas evidências das atividades fungicida in vitro e o extrato das folhas de P. marginatum foi ativo para *Colletotrichum scovileii* causador de antracnose no desenvolvimento de pimentões (ARAÚJO *et al*., 2014) assim como o extrato hidroalcoólico demonstrou atividade antimicrobiana contra os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (DUARTE *et al*., 2004; SANTANA, 2015).

O gênero *Piper* possui em suas folhas um elevado teor de clorofila o que confere a coloração verde e muitas das vezes este teor não é quantificado e dentre as técnicas utilizadas para se analisar o teor da concentração de clorofila destaca-se a técnica de Espectrofotometria no UV-Vis (THIESEN, 2017; LORENZEN, 1967).

Na literatura existem poucos relatos da determinação da concentração do teor de clorofila presente nas folhas das plantas do gênero *Piper* o que pode fornecer subsídios para pesquisas futuras na área, assim o objetivo deste trabalho foi

ISSN 2178-6925

determinar a concentração de clorofila presente nos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Piper marginatum* Jacq. coletadas em Itacoatiara por meio da técnica de espectrofotometria no UV-Vis.

2. METODOLOGIA

2.1 Coleta do vegetal

Folhas de *Piper marginatum* Jacq. foram coletadas na Universidade Federal do Amazonas no Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia e as coordenadas do local são (S 58°26 '54.3" W 3°8' 28,8").

2.2 Preparo dos extratos

As folhas de *Piper marginatum* Jacq. coletadas foram levadas para o laboratório 213 e limpas com flanela e água destilada. Após a limpeza as folhas foram pesadas separadamente e anotados os pesos. O peso obtido foi fracionado em 2 partes sendo 600g para cada um dos extratos, pois foram utilizados 2 solventes (água e etanol).

Foram utilizados dois graus com pistilo para obtenção dos extratos, onde as folhas foram trituradas utilizando o solvente indicado usando 400mL de cada um dos solventes e após a trituração completa os extratos foram filtrados em papel filtro separadamente e armazenados em geladeira e frasco âmbar devidamente identificados.

2.3 Análise do teor de clorofila por espectrofotometria

A determinação do teor de clorofila dos extratos aquoso e etanólico de *Piper marginatum* Jacq foi realizada no laboratório de química analítica da Universidade Federal do Amazonas do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia, laboratório 213.

O teor de clorofila foi determinado mediante metodologia convencional com uso de Espectrofotômetro UV-Vis, segundo método descrito por Arnon (1949) com modificações onde os diferentes extratos obtidos e armazenados na geladeira foram submetidos a centrifugação em tubos Falcon à 3500 RPM em uma centrífuga e os tubos foram retirados cuidadosamente da centrífuga tendo-se o cuidado para não ressuspender o material sólido sedimentado.

Foram colocados aproximadamente cerca de 3 mL de cada uma das amostras do sobrenadante nas cubetas espectrofotométricas de 1 cm de caminho óptico e foi usado como branco da amostra a água. Como padrão da clorofila foi utilizado o corante verde brilhante diluído em água.

Após o término das leituras, foram desprezadas as soluções das cubetas e lavadas com etanol à 70% antes de proceder à próxima leitura visto que as amostras foram analisadas em triplicata, isto é, as dos extratos lidas individualmente e salvas em pastas do Excel devidamente identificadas este procedimento foi repetido durante 21 dias.

2.4 Análise de refratividade

Os extratos (aquoso e etanólico) foram submetidos ao teste de refratividade em aparelho refratômetro no laboratório de Química Analítica da UFAM onde com uma pipeta Pasteur individualmente e separadamente foram adicionados os extratos na lente do equipamento e foi realizada a leitura feita em triplicata de ambos os extratos e os valores anotados em planilhas do Excel, este processo foi repetido durante 21 dias.

ISSN 2178-6925

2.5 Análise de pH e de Condutividade elétrica

Os extratos etanólico e aquoso foram submetidos à leitura em pHmetro digital no laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica assim como foram analisados os padrões de condutividade elétrica também em triplicata onde os dados foram anotados e repassados para planilhas do Excel.

2.6 Análise visual

Com o intuito de obtermos uma análise mais compacta foram usadas reações básicas com solução de hidróxido de sódio à 1N e 0,1N a fim de acompanhar a mudança de coloração dos extratos em relação ao tratamento controle que foi o verde brilhante.

2.7 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio da coleta dos dados anotados onde foi construída uma planilha no Excel e os teores de clorofila dos extratos foram interpretados e comparados através do software SciDavis.

Os dados obtidos em triplicata foram submetidos ao cálculo da média para que posteriormente fossem avaliadas: variância, média, desvio padrão, coeficiente de variação e a concentração de clorofila utilizando o Software SISVAR.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teor de clorofila

O teor de clorofila foi determinado pela lei de formação da equação:

$$Clorofila\ (\mu g/L) = 26{,}73 \cdot (D664c - D665c) \cdot (v/(V \times L))$$

Onde:
V é o volume, em litros, da amostra filtrada.
v é o volume, em mL, de etanol/água usado para extração.
L é o caminho óptico, em cm, da cubeta espectrofotométrica usada.
$D664c$ é a densidade óptica a 664 nm, corrigida.
$D665c$ é a densidade óptica a 665nm, corrigida.

Os extratos apresentaram diferentes valores de absorção de clorofila conforme visto no quadro 1 abaixo.

Quadro 1: Teor de Absorção de clorofila

Extrato aquoso	1,336
Extrato etanólico	2,670

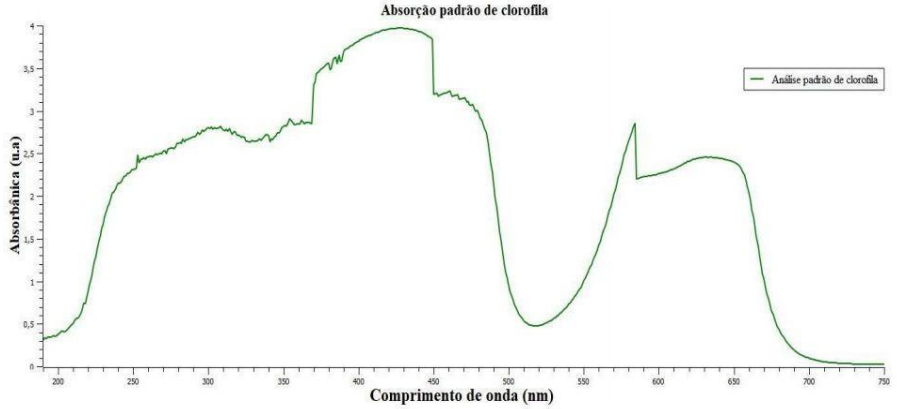
Fonte: Os autores., (2024)

A clorofila é um pigmento de origem vegetal concentrado majoritariamente nas regiões foliares das plantas, as quais possuem uma composição química bastante diversificada. Diferentes métodos podem ser usados para extrair a clorofila dos

ISSN 2178-6925

vegetais, todavia, é fundamental compreender que diferentes solventes tendem a extrair maior teor de clorofila do que outros (CHEN.,2023; ARNON.,1949).

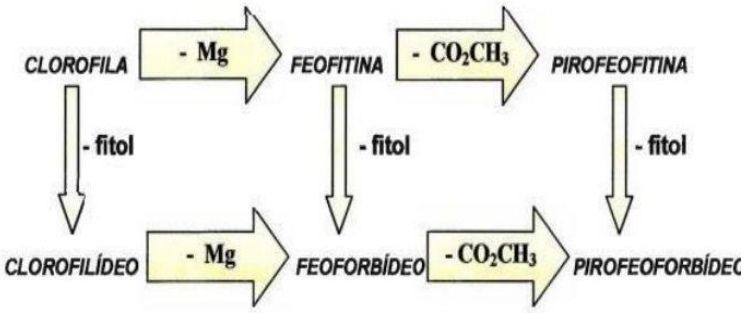
Neste trabalho o solvente que permitiu uma maior absorção para a clorofila foi o etanol, principalmente pelo fato de a polaridade do etanol ser excelente e permitirem que os



pigmentos foliares fossem extraídos por trituração, para que assim fosse realizada a análise espectrofotométrica. O espectro de absorção máxima da clorofila na presença de etanol é de 665nm. (LICHTENTHALER., 1996).

A clorofila é altamente sensível e pode sofrer um processo de conversão para a feofitina por meio da adição de um ácido, que atua removendo o magnésio da molécula de clorofila conforme explica (GOLTERMAN *et al*., 1978) e no esquema da figura 1 são apresentados os produtos de conversão da clorofila. É fundamental entender o comportamento da feofitina pelo fato desta absorver a luz a 665nm, todavia com menor intensidade, Figura 1.

Figura 1: Produtos de conversão da clorofila.



Fonte: Adaptado de Damodaran e Parkin., (2019).

No gráfico 1 é apresentada a absorbância do padrão de clorofila do verde brilhante monitorado com o auxílio do SciDavis.

Gráfico 1: Absorção da clorofila padrão

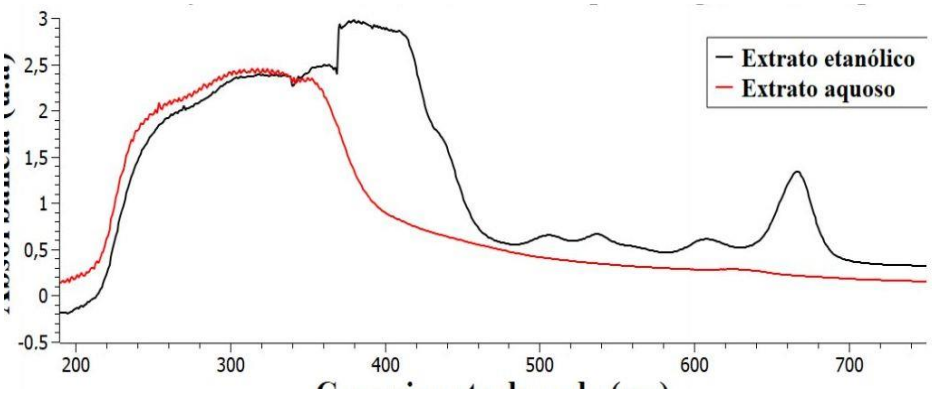
ISSN 2178-6925

Fonte: Os autores., (2024)

No gráfico 2 são apresentadas as absorbâncias da clorofila nos diferentes solventes testados as linhas de cor vermelha contornam a área de absorção da clorofila usando a água e a linha preta contorna a área de absorção da clorofila usando o etanol.

Gráfico 2: Absorção da clorofila em solventes diferentes.

Fonte:



Os autores., (2024)

As análises realizadas por meio da técnica do UV-Vis apresentam diferentes teores de absorções de clorofila em ambos os extratos comparados ao controle padrão da amostra que é o verde brilhante e que possui dois picos principais de absorção onde o primeiro é em 450nm e o segundo em 570 nm que se encontra dentro dos padrões estabelecidos pela literatura.

Comparando os dados do padrão com os dos solventes utilizados nota-se que o extrato aquoso começa a absorver a clorofila em um comprimento de onda 235 nm e alcança o seu maior pico de absorção em 350 nm, isto pode estar associado à

ISSN 2178-6925

absorção parcial que a água realiza pois abstrai parcialmente os pigmentos que tem afinidade com o meio aquoso e tendem a ser arrastadas com maior facilidade Mussi *et al*. (2003); Porra., (1989).

No extrato etanólico conforme visto no gráfico 2 e na tabela 1 a absorção foi muito maior, isto acontece pois o etanol possui em sua estrutura a hidroxila que tem afinidade com a clorofila, principalmente pelo fato de que do ponto de vista químico as ligações entre as moléculas de clorofilas são frágeis (não-covalentes), rompendo-se com facilidade ao macerar o tecido em solventes orgânicos conforme aborda Mussi *et al*. (2003).

Um outro fator que justifica uma maior absorção da clorofila em meio etanólico é o caráter hidrofílico/hidrofóbico pois os solventes polares como a acetona, o metanol, o etanol, o acetato de etila, a piridina e a dimetilformamida são os mais eficazes para a extração completa das clorofilas (BRAZ-FILHO, 1994). Estudos randomizados realizados para extrair clorofilas a e b, revelaram que o aumento da polaridade da clorofila b em relação à clorofila a deve-se à presença do substituinte aldeído (VON ELBE, 2000; MUSSI, 2003).

Os dois produtos da degradação da clorofila a são o feoforbídeo a e a feofítina os quais podem interferir na determinação da clorofila a ao absorverem luz e fluorescerem na mesma região do espectro. Se esses compostos estiverem presentes na amostra, podem ocorrer erros significativos na concentração de clorofila e influenciar nos resultados experimentais (BARROSO, 1998).

3.2 Análise físico química dos extratos

A análise físico química dos extratos é apresentada na tabela 1.

Tabela 1: Análise físico química dos extratos

Parâmetro	Extrato aquoso	Extrato etanólico
Média de absorbância	2,1	2,8
Desvio padrão	0,14	0,1
Coeficiente de variação	0,2%	0,3%
Variância	0,02	0,01
Condutividade elétrica	0,1mV	0,3mV
pH	6,2	6,4
Refratividade	0,3	0,2

Fonte: Os autores., (2024)

Na tabela 1 onde são apresentadas as análises estatísticas do perfil físico-químico pode-se notar que as diferenças entre ambos os extratos são pequenas, todavia padrões como a condutividade elétrica medida em mV, pH e refratividade são fundamentais para compreender diferentes processos e aplicações dos extratos botânicos em diferentes ensaios biológicos que visam desenvolver novos métodos de estudos usando estes produtos (GRASSHOFF, 1999).

Quando investigamos um extrato notamos que parâmetros como controle do pH, da condutividade elétrica e da refratividade da concentração dos extratos é fundamental, pois, de acordo com Ferreira e Borguetti (2004), no desenvolvimento dos

ISSN 2178-6925

extratos podem ser extraídas substâncias como açúcares e aminoácidos que são capazes de influenciar na concentração iônica e ser osmoticamente ativos dependendo do solvente utilizado.

Os resultados da refratividade apresentaram-se similares aos obtidos., (2018) que avaliaram o papel da refratividade em ensaios alelopático utilizando extrato das raízes e folhas de *M. lathyroides* e apresentaram valores variando entre 0,1 e 0,3, o que reforçou para os autores que os extratos aquosos das folhas e raízes de *M. lathyroides* apresentaram efeitos tóxicos sobre a germinação e o crescimento de plântulas de alface comprovando que é fundamental a análise deste parâmetro para os experimentos.

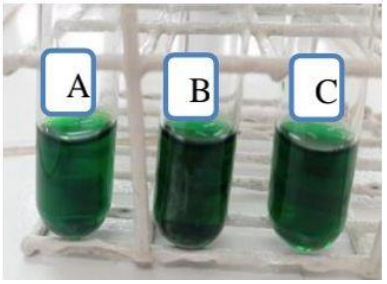
As folhas possuem um alto teor de clorofila assim notou-se um aumento no valor numérico da condutividade elétrica de cada extrator, evidenciando maior liberação de compostos para os extratos provenientes das folhas de acordo com o aumento das concentrações analisadas. De acordo com Melhorança Filho *et al*. (2011) a extração de ativos muitas vezes, não depende somente dos compostos secundários, mas também da quantidade em que são sintetizados e da viabilidade de chegarem ao sítio de ação e se concentrarem no extrato, dados similares foram descritos por Chen Ying (2023) e Katsimichas (2023).

3.3 Testes confirmatórios

Diferentes reagentes podem influenciar na absorção de clorofila assim como degradar a clorofila pelo fato de que os metabólitos presentes nos extratos botânicos podem sofrer reações químicas e mudarem de cor.

Para isto foram utilizadas soluções de hidróxido de sódio nas concentrações de 1N e 0,1N, as mudanças nas colorações são apresentadas na Figura 2. Em cada um dos tubos de ensaio foi adicionado 3 mL de solução sendo que apenas em 2 foram adicionados os reagentes para comparar com o controle.

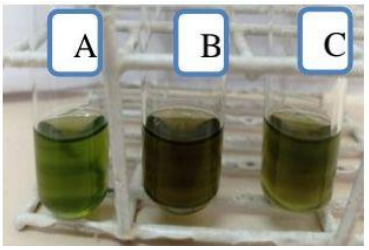
Figura 2: Solução verde brilhante padrão



Fonte: Os autores., (2024).
Legenda: A: Sem NaOH, B: Com NaOH à 1N, C: Com NaOH 0,1N.

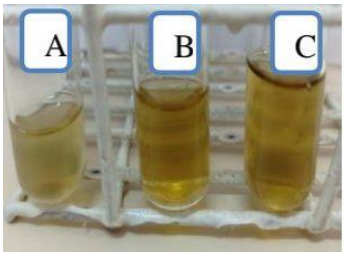
Figura 3: Solução extrato etanólico

ISSN 2178-6925



Fonte: Os autores., (2024).
Legenda: A: Sem NaOH, B: Com NaOH à 1N, C: Com NaOH 0,1N.

Figura 4: Solução extrato aquoso



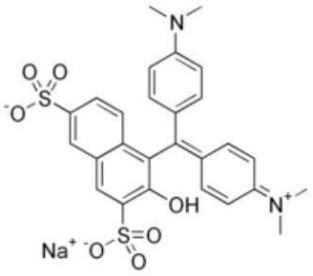
Fonte: Os autores., (2024).

Legenda: A: Sem NaOH, B: Com NaOH à 1N, C: Com NaOH 0,1N

Diferentes extratos botânicos são capazes de alterarem a sua coloração na presença de diferentes meios reacionais, no teste contendo apenas o corante verde brilhante é possível notar que não foram observadas mudanças na coloração, porém o meio ficou altamente básico por conta da adição do NaOH em diferentes concentrações.

A seguir é apresentada a estrutura do corante verde brilhante, os átomos de NaOH por serem base possuem a capacidade de atuarem na hidrólise de radicais hidroxila como visto na imagem abaixo, onde plausivelmente pode sofrer uma reação de adição e liberar água e formar estruturas eletrônicas estáveis.

Figura 5: Estrutura do corante verde brilhante



Fonte: Adaptado de Química e Vida., (2022).

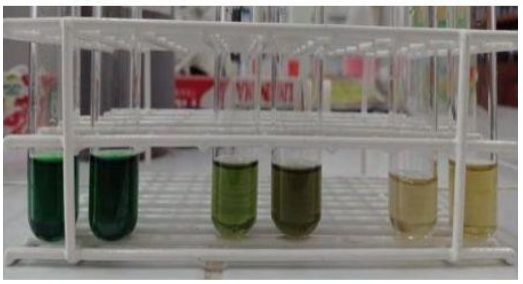
Os extratos aquosos e etanólico mudaram de cor principalmente pelo fato de que a Piper marginatum Jacq é rica em diversos metabólitos secundários como os flavonoides que também são carreados durante a extração da clorofila, assim ao

ISSN 2178-6925

adicionar as soluções de NaOH em diferentes concentrações nos extratos notou-se uma mudança rápida o que pode revelar a presença de diferentes metabólitos secundários presentes nos extratos da espécie (SIMÕES.,2017; ARNON.,1949).

Os flavonoides e as clorofilas possuem afinidade por meios básicos o que justifica a mudança de cor o que pode fornecer informações acerca de quais metabólitos se fazem presentes nos extratos estudados e assim como podem oferecer mais detalhes sobre a composição físico química das clorofilas presente em *Piper marginatum* Jacq conforme visto na figura 6 a seguir (SIMÕES.,2017)

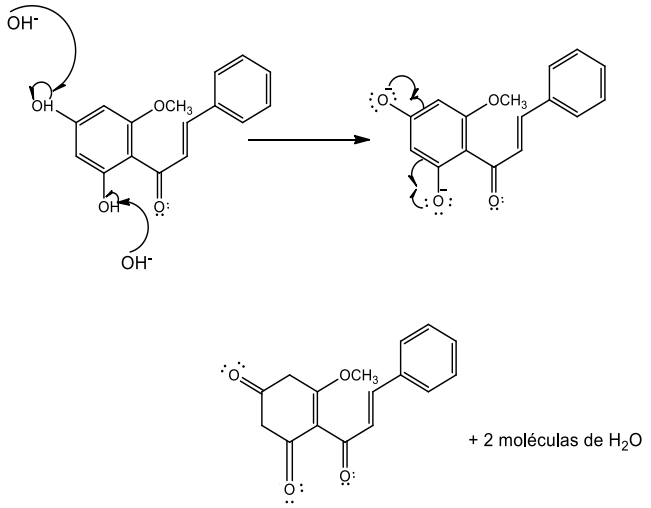
Figura 6: Solução padrão e Extratos após adição de NaOH



Fonte: Os autores., (2024).

Os extratos de *Piper marginatum* Jacq possuem diferentes compostos químicos e a estrutura destes compostos pode ser afetado com o uso de bases como o NaOH, visando isto foi plotado um mecanismo visual utilizando um flavonoide já descrito na literatura isolado de uma espécie pertencente ao gênero *Piper* frente ao ser submetido com o NaOH visando deixar o estudo mais completo conforme visto na figura 7 a seguir.

Figura 7: Proposta mecanística da ação do NaOH frente um flavonoide de uma espécie de *Piper.*



Fonte: Os autores., (2024).

O mecanismo esboçado acima apresenta a interação do grupamento hidroxila do NaOH interagindo com os grupamentos hidroxila do flavonoide plotado no software ChemDraw.

A reação inicia com dois ataques nucleofílicos de duas moléculas de hidroxila abstraindo um átomo de hidrogênio e liberando duas moléculas de água, o oxigênio

ISSN 2178-6925

ao perder um átomo de hidrogênio fica carregado eletronegativamente e isto faz com que as duplas ligações presentes no anel benzênico por meio de reação de estabilização usando meia seta se unam e formem dois grupos carbonílicos na estrutura do flavonoide, reações como estas são investigadas em laboratórios de Fitoquímica, Farmacognosia, Química Medicinal e Química de Produtos Naturais visando compreender reações orgânicas de interesse medicinal (MATOS.,2009; SOUZA.,2012).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da investigação dos padrões físicos químicos é possível afirmar que a espécie *Piper marginatum* Jacq é uma espécie que possui diversos potenciais terapêuticos e é muito importante no conhecimento popular e medicinal das pessoas.

Quanto aos solventes testados com o intuito de extrair a clorofila, o que apresentou melhor extração foi o etanol por conta de suas propriedades físico químicas.

Os parâmetros analisados neste trabalho são inéditos, ainda não foram descritos em outros trabalhos, as análises de pH, refratividade e condutividade elétrica mantiveram-se estáveis durante todo o processo de análise físico química e análise estatística.

O mecanismo envolvendo o uso de NaOH frente um flavonoide isolado de uma espécie de *Piper* ainda não havia sido descrito na literatura e nem explicado, sendo um dos pontos cruciais para o estudo da química de produtos naturais.

Os extratos apesar de algumas diferenças quanto ao teor de clorofila extraída apresentaram características similares durante a análise estatística, fato este pelo qual espera-se que testes posteriores usando estes extratos sejam desenvolvidos visando analisar o potencial bioativo e físico químico da espécie.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo, E.R. et al. Extratos de Piper marginatum e Azadirachta indica no controle de Colletotrichum scovileii em pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 2, p. 88-94, fev. 2014.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in Beta vulgaris. **Plant Physiology.** 24:1-15.

Bánki, O.; Roskov, Y.; Vandepitte, L.; De Walt, R. E.; Remsen, D.; Schalk, P.; Orrell, T.; Keping, M.; Miller, J.; Aalbu, R. et al. **Catalogue of Life Checklist** (Version 2021-08-25). 2021.

Barroso, G.F. Bmlp - **Programa Brasileiro de Intercâmbio em Maricultura. Programa de Monitoramento Ambiental.** Protocolo para Análise de clorofila a e feopigmentos pelo método fluorímétro TD-700 Vitória, Espírito Santo, 1998.p.1-21.

Braz-Filho R. **Quim Nova.** 1994;17(5):405-45.

Chen Ying, Li Xiao, Zhao Xueliang, Song Wenyang, Xu Chongxuan Marine chlorophyll-a prediction based on deep auto-encoded temporal convolutional network model, **Ocean Modelling**, Volume 186, 2023, 102263, ISSN 1463-5003.

Da Silva, M. de S. A., Yamashita, O. M., Rossi, A. A. B., Karsburg, I. V., Concenço, G., & Felito, R. A. (2018). Potencial alelopático do extrato aquoso das folhas e raízes frescas de Macroptilium lathyroides na germinação e no desenvolvimento inicial de alface. **Revista De Ciências Agro-Ambientais**, *16*(1), 88–95.

Duarte, M.C.T.et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcólicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. **Revista Brasileira de Farmacognosia,** v. 14, p. 06-08. 2004.

Ferreira, A.G.; Borghetti, F. **Germinação: do básico ao aplicado.** Porto Alegre: Artmed, 2004.323p.

Flora Do Brasil (em construção). **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2020.

Golterman, H. L., Clymo, R. S. Ohnstad, M. A. M. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters: Oxford. **Blackwell Scientific Publications**, v.I.B.P. Handbook. 8. 1978. 213 p

Grasshoff, K.; Ehrhardt, M.; Krelling, K.; **Methods of seawater analysis.** 3a.ed., Wiley VCH, 1999.

Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística **(IBGE)**: Censo agro,2017.

Katsimichas, A., Stathi, S., Dimopoulos, G., Giannakourou, M., & Taoukis, P. (2023). A cinética de campos elétricos pulsados auxiliou na extração de pigmentos de Chlorella pyrenoidosa. **Ciência Alimentar Inovadora e Tecnologias Emergentes**, 103547.

Lichtenthaler, H. K.; Gitelson, A. A.; Lang, M. Non-destructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tabacco by reflectance measurements**. Journal of Plant Physiology**, v. 148, n.3, p.483-493, 1996.

Matos, F. J. De A. **Introdução à Fitoquímica experimental.** 3. ed./ Fortaleza: Edições UFC, p. 15, 2009.

Melhorança Filho, A.L.; Oliveira, W.S.; Oliveira Junior, P.P.; Araújo.M.L. Potencial alelopático de diferentes espécies de plantas daninhas sobre o desenvolvimento de plântulas de feijão. **Ensaios e Ciência**, Campo Grande, v.15, n.5, p.31-40,2011.

Lorenzen, C. J. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. **Limnol. Oceanogr**., Texas, US, v. 12, n. 2, p. 343-346,1967.

Miranda, J. J. M. Medicinal plants and their traditional uses in different locations. Cap. 7, p. 207-223. In: Bhat, R. A.; Hakeem, K. R.; Dervash, M. A. **Phytommedicine: A Treasure of Pharmacologically Active Products from Plants**, 1a ed. 774 p., 2021.

Porra, Robert. J.; Thompson, William A.; Kriedemann, Paul E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochimia et Biophysica Acta,** p. 384 – 394, 04 1989.

Santana, H. T. et al. Essential oils of leaves of *Piper* species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.17, n.1, p.105-111, jan./mar. 2015.

Sarjani, T M.; Mawardi; Pandia, E. S.; Wulandari, D. Identifikasi Morfologi dan Anatomi Tipe Stomata. **Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA (JIPI),** v. 1, n. 2, p.182-191,2017.

Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R**. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento.** Porto Alegre: Artmed, 2017, 486p.

Srinivasan Damodaran, Kirl L. Parki: tradução Adriano Brandeli: **Química de alimentos de Fennema**-Revisão técnica: Adriano Brandeli. -5 ed.-Porto Alegre: Artmed, 2019.

Souza, G. H. B.; Mello, J. C. P.; Lopes, N. P. **Revisões em processos e técnicas avançadas de isolamento e determinação estrutural de ativos de plantas medicinais.** Ouro Preto: Editora UFOP, 2012. 311 p.

Taiz, Lincoln; Zeiger, **Eduardo. Fisiologia Vegetal**. 3ª. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 139-160 p

ISSN 2178-6925

Thiesen, L. A., Pinheiro, M. V. M., Holz, E., Fontana, D. C., & Dos Santos, J. (2017). Correlação de Pearson entre pigmentos fotossintetizantes e fitomassa de plantas de *Aloysia triphylla*. **Journal of Environmental Analysis** and Progress, 2(3), 249-257.

Von Elbe J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos** 2.ed. Zaragoza: Wisconsin-Madison, 2000. Cap.10, p.782-799.