



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ - UESC**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL - PPGPV**

**ISABELLA BELTRAME DE PAULO**

**COMPOSTOS VOLÁTEIS POR CROMATOGRÁFIA E ETANOL POR  
ETILÔMETRO COMO TESTES DE VIGOR PARA SEMENTES DE QUINOA**

**ILHÉUS - BAHIA**  
**2023**

**ISABELLA BELTRAME DE PAULO**

**COMPOSTOS VOLÁTEIS POR CROMATOGRAFIA E ETANOL POR  
ETILÔMETRO COMO TESTES DE VIGOR PARA SEMENTES DE QUINOA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Área de concentração: Cultivos em Ambiente Tropical Úmido.

Orientador: Rafael Marani Barbosa

**ILHÉUS - BAHIA  
2023**

P324

Paulo, Isabella Beltrame de.

Compostos voláteis por cromatografia e etanol por etilômetro como testes de vigor para sementes de quinoa / Isabella Beltrame de Paulo. - Ilhéus : UESC, 2023.

53f. : il.

Orientador : Rafael Marani Barbosa.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal.

Inclui referências.

1. Quinoa – Sementes. 2. Cromatografia a gás. I. Barbosa, Rafael Marani. II. Título.

CDD – 633.6

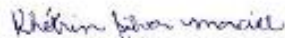
**ISABELLA BELTRAME DE PAULO**

**COMPOSTOS VOLÁTEIS POR CROMATOGRAFIA E ETANOL POR ETILÔMETRO  
COMO TESTES DE VIGOR PARA SEMENTES DE QUINOA**

Ilhéus-Ba, 12 de maio de 2023.



Prof. Dr. **Rafael Marani Barbosa**  
Examinador/Orientador



Profa. Dra. **Khêtrin Silva Maciel**  
Examinadora



Prof. Dr. **Marcelo Schramm Mielke**  
Examinador

## COMPOSTOS VOLÁTEIS POR CROMATOGRAFIA E ETANOL POR ETILÔMETRO COMO TESTES DE VIGOR PARA SEMENTES DE QUINOA

### RESUMO

A quinoa apresenta importância alimentar e nutricional por produzir um super alimento capaz de assegurar a segurança alimentar, principalmente em regiões vulneráveis. A cultura é propagada exclusivamente por sementes e estas apresentam características como tamanho reduzido, rápida germinação e baixa longevidade, tornando-as propensas ao processo deteriorativo acelerado. A deterioração causa queda da viabilidade e culmina na morte das sementes, o que gera a necessidade de atenção em relação a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de quinoa. Para sanar estes problemas podem ser aplicados testes de vigor. Dentre as inovações na área de Tecnologia de sementes tem-se a aplicação das análises de compostos voláteis. Os objetivos deste estudo foram analisar os compostos voláteis por cromatografia e etanol por etilômetro como testes de vigor para sementes de quinoa. Dois lotes de sementes de quinoa com qualidades distintas foram submetidos aos testes de determinação do teor de água, de germinação, de índice de velocidade de germinação e emergência de plântulas em casa de vegetação, para determinação da qualidade fisiológica. O estudo foi dividido em três partes. No estudo 1 foi efetuada a análise de compostos voláteis das sementes ao longo do processo germinativo. Para realização, as sementes foram submetidas aos tempos de embebição de 30 min, 2 h e 8 h, posteriormente adicionadas à câmara de germinação. Para a extração dos compostos foi utilizado o método de aeração por 6 h. Os extratos foram analisados pela técnica de cromatografia gasosa com Detector por Ionização de Chama (CG-DIC). O trabalho 2 foi realizado os testes de etanol com etilômetro, subdividido em três análises distintas para estabelecer os melhores parâmetros de análise, sendo a determinação do nível de água, da massa e verificação destes dois parâmetros em conjunto. As análises foram efetuadas por meio de um etilômetro modificado Drager Alcotest® 6810 ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ). O estudo 3 foi efetuado o teste de etanol com etilômetro com embebições prévias. As embebições foram de 30 min, 2 h e 8 h. Posteriormente adicionadas a metodologia padrão de etanol. Para o estudo 1 conclui-se que a análise de compostos voláteis por cromatografia em sementes embebidas em água por 2 h é uma metodologia que pode ser considerada como eficiente para distinguir lotes de sementes de quinoa, com base na liberação de etanol e do composto “y”. No estudo 2, o teste de etanol por etilômetro não foi eficiente para classificar os lotes de sementes de quinoa, não obtendo relação com os demais testes aplicados. No estudo 3, conclui-se que as análises de etanol por etilômetro só podem ser efetuadas com água, diferentemente do comportamento obtido por cromatografia que não requer presença de água para efetuar a análise dos lotes.

**Palavras-chave:** *Chenopodium quinoa* Willd; qualidade fisiológica; deterioração; aeração.

## VOLATILE COMPOUNDS BY CHROMATOGRAPHY AND ETHANOL BY MODIFIED ALCOHOL METER AS VIGORITY TESTS FOR QUINOA SEEDS

### ABSTRACT

Quinoa has food and nutritional importance for producing a super food capable of ensuring food security, especially in vulnerable regions. The crop is propagated exclusively by seeds and these have characteristics such as small size, fast germination and low longevity, making them prone to accelerated deterioration. Deterioration causes a drop in viability and culminates in the death of the seeds, which generates the need for attention in relation to the physiological and sanitary quality of quinoa seeds. To remedy these problems, vigor tests can be applied. Among the innovations in the field of seed technology is the application of volatile compound analysis. The objectives of this study were to analyze volatile compounds by chromatography and ethanol by modified alcohol meter as vigor tests for quinoa seeds. Two lots of quinoa seeds with different qualities were submitted to tests to determine water content, germination, germination speed index, seedling emergence in a greenhouse and electrical conductivity, to determine the physiological quality. The study was divided into three parts. In study 1, the analysis of volatile compounds in seeds during the germination process was carried out. For realization, the seeds were submitted to imbibition times of 30 min, 2 h and 8 h, later added to the germination chamber. For the extraction of compounds, the aeration method was used for 6 h. The extracts were analyzed using the gas chromatography technique with a Flame Ionization Detector (GC-FID). Work 2 involved ethanol tests with a modified alcohol meter, subdivided into three different analyzes to establish the best analysis parameters, namely the determination of water level, mass and verification of these two parameters together. The analyzes were performed using a modified alcohol meter Drager Alcotest® 6810 ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ). In study 3, the ethanol test was carried out with a modified alcohol meter with previous imbibitions. The imbibitions were 30 min, 2 h and 8 h. Later added to standard ethanol methodology. For study 1, it is concluded that the analysis of volatile compounds by chromatography on seeds soaked in water for 2 h is a methodology that can be considered efficient to distinguish lots of quinoa seeds, based on the release of ethanol and the compound "y". In study 2, the ethanol test by modified alcohol meter was not efficient to classify the quinoa seed lots, not obtaining a relationship with the other applied tests. In study 3, it was concluded that the analysis of ethanol by modified alcohol meter can only be performed with water, unlike the behavior obtained by chromatography, which does not require the presence of water to perform batch analysis.

**Keywords:** *Chenopodium quinoa* Willd; physiological quality; deterioration; aeration.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Testes de etanol aplicados e seus respectivos atributos de lote, massa, nível de água, número de repetições e períodos de leitura.....27
- Tabela 2** - Teor de água (TA), germinação (GE), índice de velocidade de germinação (IVG) e emergência de plântulas em casa de vegetação (E) dos lotes A e B de sementes quinoa.....31
- Tabela 3** - Liberação média de etanol (em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos lotes de sementes de quinoa A e B submetidos a embebição por 30 min, 2 h e 8 h em água.....35
- Tabela 4** - Teste de etanol para verificação de água e massa nos lotes de sementes de quinoa A e B, realizada com o volume de água de 2,5x a massas de 0,3 e 0,6 g. Analisados por etilômetro as 2, 4, 6, 8 e 10 horas após adicionadas aos frascos os .....39

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Lote B sendo submetido a danos mecânicos com o auxílio de Vórtex....21
- Figura 2** - Sementes de quinoa, cultivar BRS Piabiru: lote A (a esquerda) e lote B submetido a estresses (à direita).....22
- Figura 3** - Curva de embebição de sementes de quinoa, apresentando seu padrão trifásico.....25
- Figura 4** - Sistema de aeração de sementes, composto de duas bombas, carvão ativado, dois fluxômetros e câmara de germinação (fluxo no sentido horário).....26
- Figura 5** - Etilômetro modificado Drager Alcotest® 6810.....28
- Figura 6** - Comparação entre todos os extratos obtidos dos lotes de sementes de quinoa A e B, submetidos às embebição por 30 min, 2 h e 8 h em água.....32
- Figura 7** - Comparação entre os cromatogramas dos lotes de sementes de quinoa A e B em relação ao número de compostos liberados.....33
- Figura 8** - Comparação entre os cromatogramas do lote B de sementes de quinoa, submetidos a 2 h de embebição em água, com o padrão interno de nonanol.....34
- Figura 9** - Comparação entre os cromatogramas do lote B de sementes de quinoa e o do etanol.....34
- Figura 10** - Liberação média de etanol (em área) nos lotes de sementes de quinoa A e B submetidos a embebição por 30 min, 2 h e 8 h em água. Contendo seus respectivos teores de água.....35
- Figura 11** - Teste de etanol para estabelecimento do nível de água em sementes de quinoa do lote A, submetidas aos níveis de água de 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5x a massa da amostra. Analisadas por etilômetro em 2, 4, 12, 16 e 24 horas após adicionadas aos frascos.....37



**Figura 12** - Teste de etanol para estabelecimento da massa de sementes de quinoa do lote A, realizada com as massas de 0,15 g; 0,3 g; 0,45 g e 0,6 g. Analisados por etilômetro as 2, 4, 12, 16 e 24 horas após adicionadas aos frascos.....38

**Figura 13** - Teste de etanol pela metodologia de compostos voláteis em sementes de quinoa lote A, subdividida em três e submetidas a embebição prévia com o volume de água de 2,5× a massa de 0,6 g. O "0" foi retirado toda água, o "2,5" permaneceu com a quantidade de água inicial e o "5" adicionou o dobro de água. Analisados por etilômetro em 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 e 18 h após adicionadas aos frascos.....40

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>14</b>
2.1. As características gerais da cultura da quinoa.....	14
2.1.1. As sementes de quinoa .....	15
2.2. Qualidade fisiológica de sementes.....	16
2.3. Os teste de vigor baseado na liberação de compostos voláteis .....	17
2.4. O teste de vigor baseado na liberação de etanol .....	19
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1. Determinação da qualidade fisiológica dos lotes A e B</b> .....	<b>22</b>
3.1.1. Teor de água (TA) .....	22
3.1.2. Teste de germinação (GE) .....	23
3.1.3. Emergência de plântulas em casa de vegetação (EM).....	23
3.1.4. Índice de velocidade de germinação (IVG) .....	23
<b>3.2. Estudo 1 - Teste de compostos voláteis liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa</b> .....	<b>24</b>
3.2.1. Tratamentos aplicados nas sementes de quinoa.....	24
3.2.2. Coleta de voláteis liberados pelas sementes de quinoa do Lote A e B	25
3.2.3. Análises químicas dos extratos obtidos da aeração das sementes do lote A e B .....	26
<b>3.3. Estudo 2 - Teste de etanol analisado por etilômetro</b> .....	<b>27</b>
3.3.1. Estudo do nível de água ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa.....	28
3.3.2. Estudo da quantidade de massa de sementes ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa .....	28
3.3.3. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa.....	28
<b>3.4. Estudo 3 - Teste de etanol por etilômetro com embebições prévias</b> ....	<b>29</b>
3.4.1. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias.....	29
3.4.2. Estudo dos diferentes níveis de água no teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias .....	29
<b>3.5. Procedimentos estatísticos</b> .....	<b>30</b>
3.5.1. Determinação da qualidade fisiológica dos lotes A e B .....	30
3.5.2. Estudo 1 - Teste de compostos voláteis liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa .....	30
3.5.3. Estudo 2 - Teste de etanol analisado por etilômetro.....	30
3.5.4. Estudo 3 - Teste de etanol por etilômetro com embebições prévias ....	30
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1. Determinação da qualidade fisiológica dos lotes A e B</b> .....	<b>31</b>

<b>4.2. Estudos 1 - Teste de compostos voláteis liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa.....</b>	<b>32</b>
<b>4.3. Estudo 2 - Teste de etanol analisado por etilômetro .....</b>	<b>36</b>
4.3.1. Estudo do nível de água ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa.....	36
4.3.2. Estudo da quantidade de massa de sementes ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa .....	37
4.3.3. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa.....	38
<b>4.4. Estudo 3 - Teste de etanol por etilômetro com embebições prévias .....</b>	<b>39</b>
4.4.1. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias.....	39
4.4.2. Estudo dos diferentes níveis de água no teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias.....	39
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>5.1. Determinação da qualidade fisiológica dos lotes .....</b>	<b>41</b>
<b>5.2. Estudos 1 - Teste de compostos voláteis liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa.....</b>	<b>42</b>
<b>5.3. Estudo 2 - Teste de etanol analisado por etilômetro .....</b>	<b>45</b>
5.3.1. Estudo do nível de água ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa.....	45
5.3.2. Estudo da quantidade de massa de sementes ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa .....	45
5.3.3. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa.....	46
<b>5.4. Estudo 3 - Teste de etanol por etilômetro com embebições prévias .....</b>	<b>47</b>
5.4.1. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias.....	47
5.4.2. Estudo dos diferentes níveis de água no teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias.....	47
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>49</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) apresenta importância alimentícia, por suas sementes serem o único modo propagativo da espécie e ainda serem classificadas como um superalimento que contém, em níveis altos, todos os componentes essenciais para uma boa alimentação, nutrição e o desenvolvimento humano. Estas características das sementes possibilitam que a cultura proporcione segurança nutricional e alimentar para a população, principalmente de regiões com adversidades na produção de alimentos.

Entretanto, as sementes de quinoa apresentam as características de germinação rápida, pequena longevidade e tamanho reduzido, no qual 100 sementes compõem apenas 0,3 gramas. Tais características em conjunto tornam essas sementes propensas ao processo de deterioração veloz, gerando a necessidade de cuidados sobre as qualidades das sementes. Tal prudência pode ser sanada através de estudos relacionados à análise da qualidade de sementes.

Por meio de testes de vigor de sementes se torna possível identificar diferenças entre os lotes de sementes, direcionando qual o lote apresenta o melhor potencial fisiológico e a melhor expressão em campo. Atualmente, existem diversos testes de vigor já estabelecidos, porém entre as inovações tecnológicas na área de Tecnologia de sementes, surge a análise de compostos voláteis analisados por cromatografia gasosa e o etanol por etilômetro.

Os compostos voláteis são liberados pelas sementes ao longo da germinação, decorrentes do processo deteriorativo. A deterioração gera diversas alterações nas sementes, como por exemplo, os danos aos sistemas de membranas, entre elas as membranas mitocôndrias. Conseqüentemente, essas as mitocôndrias causam impactos negativos na eficiência mitocondrial, prejudicando o processo energético e ocasionando a realização de um ou mais processos fermentativos para liberação de energia para as sementes.

Outro dano decorrente da deterioração é a degradação dos lipídios. Os lipídios compõem as reservas das sementes e as membranas fosfolipídicas, especificamente nas duplas camadas fosfolipídicas. Com a junção de todos os danos resultantes do processo deteriorativo, ocorre a liberação dos compostos voláteis pelas sementes.

Os estudos confirmam esta relação entre a liberação de compostos voláteis e o vigor de sementes. Porém, a liberação destes compostos é diretamente afetada pelas características da espécie estudada e de suas sementes, além dos manejos aplicados ao longo do ciclo da cultura e do processo produtivo das sementes.

Tais características reforçam a necessidade de estudar os protocolos da análise de compostos voláteis e etanol para cada cultura, de modo a proporcionar as melhores condições para cada espécie estudada e viabilizando a máxima eficiência. Disponibilizando dados e informações importantes sobre a fisiologia das sementes, que auxiliaram no entendimento sobre o processo complexo de deterioração em que todas as sementes estão sujeitas. Direcionando na escolha de práticas de manejos apropriados e até mesmo na criação de novas metodologias, para serem aplicados em todo o ciclo das sementes.

Com isso os objetivos deste trabalho foram analisar os compostos voláteis por cromatografia gasosa e etanol por etilômetro como testes de vigor para sementes de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. As características gerais da cultura da quinoa

A quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), pertencente à família Amaranthaceae, é classificada como cultura dicotiledônea, anual, herbácea, de origem andina (HAJIHASHEMI et al., 2020). A planta de quinoa é consolidada como versátil por ter a capacidade de tolerar diferentes níveis de estresses salinos, hídricos (PATHAN; SIDDIQUI, 2022) e abióticos como frio, geadas (BIONDI et al., 2022) e calor (LOZANO-ISLA et al., 2023).

A busca e a aquisição das sementes de quinoa aumentou em todo o mundo nos últimos anos (MELINI; MELINI, 2021). Causando, conseqüentemente, a ampliação das antigas áreas de produção de quinoa presentes na América do Sul e a implementação de novas áreas em regiões como a Ásia, a América do Norte, a África e a Europa (BAZILE; JACOBSEN; VERNIAU, 2016). Como resultado, a produção mundial da quinoa alcançou o patamar de 147 milhões de toneladas, em uma área de 191 mil hectares (FAO, 2022).

Essa grande procura e aquisição da quinoa se deve às qualidades de suas sementes, que apresentam importância alimentar e nutricional. A notoriedade da quinoa já foi ressaltada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), no qual a definiu como cultura que pode assegurar a segurança nutricional e alimentar futura (BAKHTAVAR; AFZAL, 2020), e pela Assembleia Geral das Nações Unidas, que definiu o ano de 2013 como o ano internacional da quinoa (FAO, 2013).

A utilização das sementes de quinoa, exibem uma infinidade de preparos, podendo ser consumidas frescas, moídas, cozidas e fermentadas, o que possibilita a produção de uma diversidade de produtos como por exemplos pães, massas, cervejas e até farinha (MELINI; MELINI, 2021).

Associados a estes pontos, as sementes de quinoa também produzem óleo em grande quantidade e de alta qualidade, sendo classificada como uma semente

oleaginosa alternativa (NAVRUZ-VARLI; SANLIER, 2016).

No quesito nutricional, as sementes de quinoa é definida como superalimento por conterem altos níveis de todos os aminoácidos, proteínas, vitaminas e minerais essenciais para o desenvolvimento humano, além de ser livre de glúten, proporcionando ação antidiabética, antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena e antiobesidade (PATHAN; SIDDIQUI, 2022).

Deste modo a quinoa se torna uma cultura estratégica para ser empregada em ambientes que apresentam vulnerabilidade como a escassez das chuvas, as dificuldades no fornecimento de água, as altas temperaturas e/ou os solos com níveis elevados de salinidade, erosão ou desertificação (AHMADZAI, 2020).

### **2.1.1. As sementes de quinoa**

As sementes de quinoa apresentam, além de importância alimentar e nutricional, relevância agrícola por a cultura ser propagada unicamente via sementes. Estas sementes são caracterizadas pela variação em sua coloração podendo ser branca, amarela claro, vermelha ou preta; por serem arredondadas, pequenas, com o diâmetro de 1,0 a 4,0 mm e espessura de 1,0 mm (AHMED; JUHAIMI; ÖZCAN, 2021), no qual 100 sementes compõem apenas 0,3 gramas.

Outra característica importante é sua tolerância à dessecação. As sementes de quinoa são classificadas como recalcitrantes (FARNSWORTH, 2000). Deste modo estas sementes se apresentam sensíveis ao processo de dessecação, ou seja, não toleram secagem a níveis críticos de 15% e, conseqüentemente, permanecem com altos teores de água quando armazenadas. Bem como não suportam temperaturas baixas ao longo do armazenamento. Como resultado, mesmo que as condições de armazenamento se apresentem favoráveis, os altos níveis de teor de água atrelada às temperaturas aplicadas ocasionam a perda da viabilidade das sementes de quinoa em um período de tempo curto (GOLLDFARB; QUEIROGA, 2013).

Atrelado aos pontos anteriores, as características de germinação das sementes de quinoa também se tornam relevantes. Quando as sementes são adicionadas em ambiente ideal, com condições adequadas de temperatura, oxigênio e água, o processo germinativo se apresenta acelerado (PANDO; CASTELLANOS, 2016). Sendo que em menos de 12 horas as sementes já exibem o desenvolvimento de estruturas essenciais como a raiz primária (AMISTÁ; TAVANO, 2013) e com sete dias

a germinação se apresenta completa com todas as estruturas formadas (STRENSKE et al., 2017).

Baseados em todas essas informações e em função de sua importância nutricional, alimentar e agrícola, as sementes de quinoa necessitam de atenção em relação à sua qualidade fisiológica e sanitária (BAKHTAVAR; AFZAL, 2020; MARCOS-FILHO, 2001).

Essa atenção pode ser sanada por meio da realização de estudos acerca dos cuidados das sementes de quinoa e o controle dos seus parâmetros de qualidade. De modo a permitir a disponibilidade de sementes de quinoa com alta qualidade e alto desempenho agrícola. Assegurando a produtividade e a qualidade do produto a ser colhido (NASCIMENTO, 2011). Portanto se torna imprescindível os estudos relacionados à qualidade fisiológica das sementes de quinoa e suas análises.

## **2.2. Qualidade fisiológica de sementes**

A metodologia básica para inspecionar a viabilidade das sementes de modo geral é por meio de teste de germinação padronizado pelas normas da Regra de Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e da Associação Internacional de Análise de Sementes (ISTA, 2019). Porém, mesmo o teste de germinação sendo amplamente utilizado, esta técnica apresenta alguns empecilhos que prejudicam a sua aplicação.

O primeiro empecilho do teste é o fato de o mesmo ser efetuado em ambiente controlado sob condições ótimas de temperatura, oxigênio e água, o que normalmente não representa as condições de campo, nos quais, as sementes são submetidas (SANTOS et al., 2009).

O segundo ponto é em relação ao tempo de execução do teste de germinação que varia de acordo com a velocidade do processo germinativo das sementes estudadas. De modo que em algumas culturas o tempo de execução pode ser lento, o que gera o aumento do tempo de liberação dos resultados (MARCIN et al., 2021).

O terceiro empecilho é a possibilidade de ocorrer a superestimativa do real potencial fisiológico das sementes analisadas e assim não permitir a identificação de diferenças na qualidade dos lotes que apresentam a viabilidade semelhante (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA-NETO, 1999). Em virtude destes empecilhos já se estabeleceu a utilização de métodos de avaliação do vigor como forma complementar os resultados do teste de germinação.



Os testes de vigor têm como objetivo principal detectar, de forma precisa, as diferenças entre os lotes de semente que apresentam potencial fisiológico semelhante e, assim, obter a identificação de lotes com maior probabilidade de alcançar o melhor desempenho após a semeadura e durante o armazenamento (MARCOS-FILHO, 2015b).

Existem diversas técnicas de avaliação do vigor de sementes já estabelecidas e protocoladas, como por exemplo o teste de tetrazólio, o teste de envelhecimento acelerado, o teste de deterioração controlada, o teste de frio (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA-NETO, 1999) e o teste de condutividade elétrica (MIRA et al., 2011). Porém, entre as inovações tecnológicas na área de Tecnologia de sementes, surge a análise de compostos voláteis liberados por sementes.

### **2.3. Os testes de vigor baseado na liberação de compostos voláteis**

Os compostos voláteis liberados das sementes para atmosfera são constituídos de diversas substâncias carbonílicas de pequeno peso molecular que são produzidos a partir dos danos oxidativos gerados pelo processo deteriorativo das sementes (KNUTSON; HANDELMAN; VITERI, 2000; SMITH; ADAMSON, 1989). Podendo ser analisadas por cromatografia, em específico, a cromatografia gasosa.

A relação entre a liberação desses compostos voláteis e a viabilidade das sementes têm como base o fato de que a partir do momento que as sementes atingem a maturidade fisiológica, o ponto máximo dos níveis de germinação e do vigor, se inicia o processo de deterioração. Este processo, também conhecido como envelhecimento, é definido como inevitável, contínuo e irreversível (DELOUCHE, 1963) no qual há uma queda gradativa da viabilidade e do vigor das sementes devido a uma série de alterações bioquímicas, citológicas, fisiológicas e físicas, que culminam na morte da semente.

Deste modo, com o decorrer do envelhecimento as enzimas apresentam-se menos eficientes para exercer suas funções. Ocorre o acúmulo de mutações genéticas, se inicia o processo de peroxidação lipídica e a ocorrência de danos às membranas celulares, que perdem sua permeabilidade (TAIZ et al., 2017).

O processo de peroxidação lipídica é caracterizado pela degradação dos lipídios que compõem as reservas das sementes, principalmente das oleaginosas que são ricas em lipídios. Além disso, compõe também as membranas celulares que são constituídas de dupla camada fosfolipídica. De modo geral, os lipídios são

caracterizados como substâncias com instabilidade química e propensos à ocorrência da deterioração. Como consequência da degradação dos lipídios, ocorre uma série de reações dentro das células, que geram grandes quantidades de produtos tóxicos denominados de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS), responsáveis por causarem o estresse oxidativo em todas as células (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019).

Embora todas as células sejam afetadas pelo processo deteriorativo, algumas se apresentam mais propensas. O principal ponto das transformações danosas são provavelmente as membranas (MARCOS-FILHO, 2015), em especial as membranas das mitocôndrias. Como consequência dos danos, ocorre a redução do número absoluto e a queda na eficiência mitocondrial (XIN et al., 2014), danificando o metabolismo energético aeróbio e impactando na fosforilação oxidativa (BENAMAR; TALLON; MACHEREL, 2003).

Com estes danos, a produção de energia para as células se torna notavelmente menor e ineficiente no suprimento de todos os processos metabólicos essenciais à germinação de sementes e sucedendo na diminuição drástica da produção de novas proteínas e ácidos nucleicos (MARCOS-FILHO, 2015). Para superar essa deficiência energética realiza-se uma ou mais formas de fermentação, que associados aos demais danos, como a degradação lipídica, geram a produção dos compostos voláteis liberados pelas sementes.

Desta forma os diferentes danos gerados pelo processo deteriorativo influenciam diretamente na quantidade e na diversidade dos compostos volatilizados pelas sementes para a atmosfera. A produção dessas substâncias voláteis varia a partir dos fatores que afetam o processo deteriorativo, como os métodos de manejo e os preparos empregados na produção de sementes, a espécie estudada, e as condições de armazenamento de sementes tais como o tempo e a umidade (SCHWEMBER; BRADFORD, 2005).

As variações na quantidade de compostos voláteis liberados pelas sementes podem ser constatadas quando comparamos os poucos estudos sobre essa relação, onde observa-se que as sementes deterioradas de carvalho europeu produziram menos compostos quando comparadas a cultura da ervilha (COLVILLE et al., 2012) e da alface (MIRA et al., 2010). Porém, mesmo com essa diferença verificou-se que independente das espécies estudadas e das diferenças na quantidade de produtos liberados, o etanol se torna uma substância sempre frequente na relação dos compostos voláteis liberados pelas sementes e o processo de deterioração.

#### 2.4. O teste de vigor baseado na liberação de etanol

O etanol é um composto gerado a partir do momento que se inicia o processo germinativo, no qual as sementes em processo deteriorativo avançado, têm a queda do nível energético. Para superar essa deficiência energética, realiza-se uma ou mais formas de fermentação, em especial a fermentação alcoólica que tem como, um dos produtos finais, o etanol (TAIZ et al., 2017). Portanto quanto maior o nível de envelhecimento ou quanto mais imatura forem as sementes maior será a produção de etanol, o qual, pode servir como um indicativo da perda da integridade das membranas e, desta forma, pode proporcionar um instrumento para a análise da deterioração (BUCKLEY; HUANG, 2011), denominado de teste de etanol.

O teste de etanol tem como princípio avaliar a quantidade de etanol volátil que é liberado pelas sementes ao longo do processo germinativo (BARBOSA et al., 2021). Esta verificação é feita por meio de sensor de etanol ou analisador de respiração modificado, também conhecido como etilômetro. Essa metodologia, além de ser simples e barata, também se apresenta rápida pois o maior período de tempo necessário para efetuar o teste é simplesmente a duração da hidratação das sementes antes de executar a medição (KATAKI; TAYLOR, 2001; SUMALATHA et al., 2018).

Estudos confirmam a relação entre a liberação de etanol e o vigor de sementes, porém, assim como os compostos voláteis, a taxa de difusão destes se apresentam extremamente dependente da espécie estudada, das características estruturais das sementes como o tamanho, a existência e as propriedades de barreiras de difusão (tegumento e cutícula) (DUDAREVA; PICHERSKY; GERSHENZON, 2004), a composição, a umidade e a maturidade das sementes, bem como das condições do armazenamento em que estão submetidas (KODDE et al., 2012).

A eficiência do teste de etanol por etilômetro foi comprovada em culturas de importância econômica como a canola (BUCKLEY; HUANG; MONREAL, 2013), o azevém (CAVALCANTE et al., 2017), o feijão-caupi (CAVALCANTE et al., 2019), a soja (CAVALCANTE et al., 2023), a melancia, a pimenta e o rabanete (KUCUKHUSEYIN et al., 2021). E para espécies florestais como a *Amburana cearensis*, o *Cenostigma pyramidale* e a *Myracrodruon urundeuva* (ORNELLAS et al., 2022).

Alguns trabalhos já foram além e estabeleceram protocolos como nas culturas do arroz vermelho que definiu a metodologia do teste com a utilização de 50 sementes,

com o volume de água 2,5 vezes o valor da massa, a uma temperatura de 40 °C e por 24 horas de embebição das sementes (BARBOSA et al., 2021); já na cultura do melão estabeleceu a realização utilizando 25 sementes, com o volume de água de 0,5 mL, a 40 °C por 6 horas (ORNELLAS et al., 2019). A utilização destes protocolos permitiu identificar o nível de vigor e também classificar os lotes de sementes à semelhança de outros testes de vigor.

Assim estes trabalhos expressam que as variáveis em que as sementes são submetidas, influenciam nos resultados e diferem entre espécies, o que reforça a necessidade de efetuar os estudos e os protocolos para cada cultura de forma a encontrar as variáveis que melhor se encaixam com cada espécie e promovam a maior eficiência possível do teste. Um exemplo de cultura que pode ser estudada e não apresenta protocolos estabelecidos é a quinoa.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos Laboratórios de Fitotecnia e Controle Biológico e Semioquímicos da Universidade Estadual de Santa Cruz. As sementes utilizadas foram de quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild), cultivar BRS Piabiru, da safra de 2021, provenientes de doação pela Embrapa Cerrados. As sementes de quinoa foram divididas em duas partes, definidas como o lote A e o lote B. O lote A permaneceu intacto, do mesmo modo que foi adquirido.

O lote B foi submetido a estresses de modo a reduzir a qualidade fisiológica das sementes, de maneira a proporcionar um lote de vigor diferente do lote A (intacto). Os estresses aplicados foram: o de temperatura, no qual as sementes do lote B foram submetidas a temperatura de 50 °C por 48 horas seguidas; e os danos mecânicos gerados pela utilização de Vórtex de movimentação orbital por 3 horas seguidas (Figura 1).

**Figura 1** - Lote B sendo submetido a danos mecânicos com o auxílio de um Vórtex.



Os lotes A e B foram submetidos aos seguintes testes:

**Figura 2** - Sementes de quinoa, cultivar BRS Piabiru: lote A (a esquerda) e lote B submetido a estresses (a direita).



### 3.1. Determinação da qualidade fisiológica dos lotes A e B

#### 3.1.1. Teor de água (TA)

Para a realização da determinação do teor de água utilizaram-se duas repetições de cinquenta sementes de quinoa de cada lote. Os recipientes de alumínio com as suas respectivas tampas foram pesados em balança de precisão compondo o valor de “tara”. As sementes foram adicionadas aos recipientes de alumínio, que foram novamente pesados constituindo o valor de “peso inicial”. Os recipientes foram, então, levados à estufa a 105 °C e após 24 horas, pesadas, gerando “peso final” (BRASIL, 2009). O teor de água tem seu resultado em porcentagem e foi calculado por:

$$\text{Teor de água} = \frac{100 (P - p)}{P - t}$$

Onde:

P= peso inicial;

p= peso final;

t= tara.

### 3.1.2. Teste de germinação (GE)

O teste de germinação foi realizado com quatro repetições de cinquenta sementes de quinoa de cada lote. As sementes foram distribuídas em papel germinação, do tipo germitest, previamente umedecidos com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa e adicionadas a caixa de plástico transparente (11,0×11,0×3,0 cm). As caixas foram armazenadas em câmara de germinação do tipo B.O.D, regulada à 25 °C. As avaliações das sementes germinadas foram feitas diariamente por 6 dias e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

### 3.1.3. Emergência de plântulas em casa de vegetação (EM)

Para a realização do teste de emergência de plântulas utilizaram-se quatro repetições de cinquenta sementes de quinoa de cada lote. As sementes foram cultivadas em bandejas de polietileno com substrato comercial, que foram acondicionadas na casa de vegetação da Universidade Estadual de Santa Cruz. A irrigação das plântulas foi efetuada diariamente de acordo com a capacidade de retenção do próprio substrato. As avaliações foram realizadas diariamente por 10 dias, contabilizando a formação de plântulas emergidas. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas.

### 3.1.4. Índice de velocidade de germinação (IVG)

O teste foi efetuado em conjunto com o teste de germinação. Para a avaliação dos índices realizou-se a contagem diária do número de sementes germinadas. Os índices foram calculados pela metodologia de Maguire (1962):

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \frac{G_n}{N_n}$$

Onde:

G1, G2, ..., Gn = número de sementes germinadas por dia;

N1, N2, ..., Nn = dias de cada contagem.

## **3.2. Estudo 1 - Teste de compostos voláteis liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa**

### **3.2.1. Tratamentos aplicados nas sementes de quinoa**

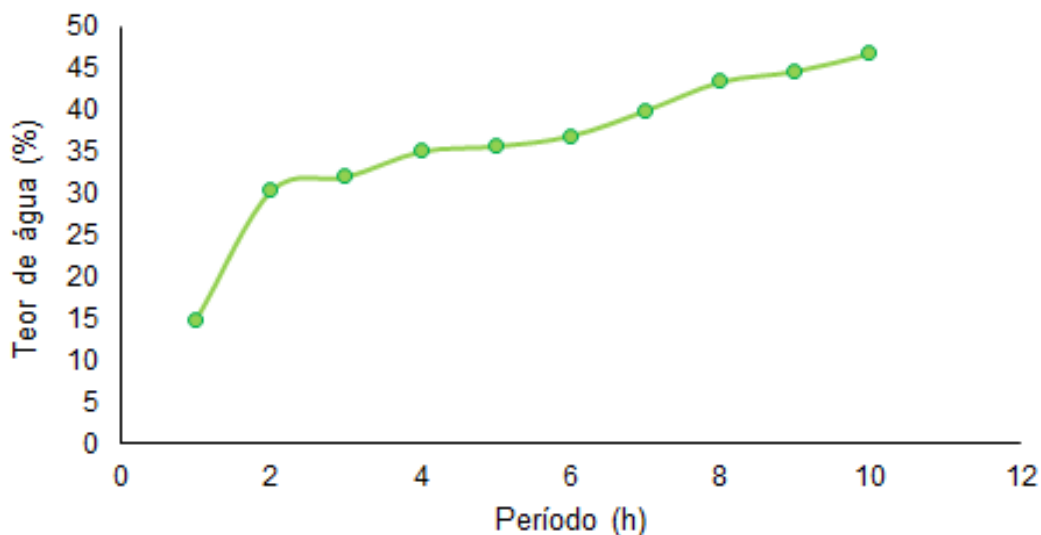
Antes da realização do teste de compostos liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa, foi necessário efetuar a caracterização da curva de embebição das sementes de quinoa. A curva permitiu definir os três períodos, ao longo do processo de embebição, que correspondem aos diferentes níveis de teor de água, de acordo com o padrão trifásico de embebição das sementes (MARCOS-FILHO, 2015).

Para a realização da curva de embebição se utilizaram quatro repetições de cinquenta sementes de quinoa apenas do lote A. Estas sementes foram pesadas em balança de precisão (com quatro casas decimais) e distribuídas sob papel germinação, do tipo germitest, previamente umedecidos com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa. E adicionadas em caixas de plástico transparente (11,0×11,0×3,0 cm), que foram armazenadas em câmara de germinação do tipo B.O.D, regulada à 25 °C. Ao longo do processo de germinação foram realizadas as pesagens das sementes na balança de precisão, até que a metade das sementes apresentassem a liberação da raiz primária.

A partir da curva de embebição das sementes de quinoa do lote A (Figura 3) foram estabelecidos que os períodos de 30 minutos, 2 horas e 8 horas a 25 °C, após o início da embebição, proporcionavam os três teores de água ao longo do processo germinativo.



**Figura 3** - Curva de embebição de sementes de quinoa do lote A, apresentando seu padrão trifásico e os graus de umidade do início e fim da determinação.



Após a determinação dos períodos de embebição das sementes de quinoa do lote A, foi estabelecido a metodologia para a coleta dos compostos voláteis liberados pelas sementes. Para a realização das coletas, os lotes A e B foram submetidos aos períodos de embebição estabelecidos, considerado cada um como tratamento.

Cada tratamento foi composto por cinco repetições de 0,6 g de sementes (aproximadamente 200 sementes). E submetidos a análise do teor de água pela metodologia já descrita.

Na hora da coleta, foi adicionado uma testemunha a cada teste. A testemunha foi composta por um frasco sem sementes.

### **3.2.2. Coleta de voláteis liberados pelas sementes de quinoa do Lote A e B**

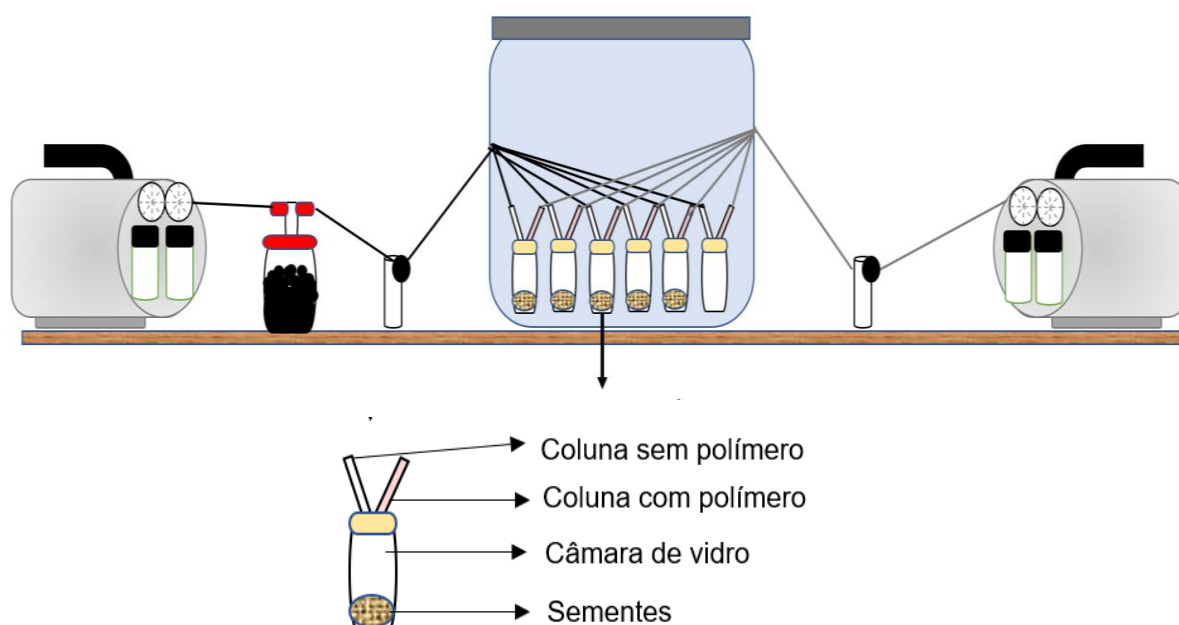
Para a coleta dos voláteis utilizou-se o método de aeração (Figura 4). As sementes de cada tratamento foram adicionadas em câmaras de vidro (11 cm x 3 cm) e ligadas ao sistema. O sistema de aeração foi composto por um conjunto de duas bombas que produziam o fluxo de ar de entrada de 3 L.min<sup>-1</sup> e saída de 2 L.min<sup>-1</sup> contínuo e filtrado por carvão ativado, ligado diretamente à câmara de germinação.

O fluxo de ar contínuo dentro do sistema permitiu que os compostos liberados fossem carregados das sementes para o polímero adsorvente (HayeSep-Q), que estava localizado em colunas de vidro conectadas às câmaras de vidro.

O sistema da câmara de germinação foi desenvolvido especificamente para realização deste projeto, de forma a possibilitar a coleta de voláteis ao longo do

processo de germinação das sementes. O controle de temperatura dentro da câmara de germinação era realizado a 40 °C por meio de conjunto de placas e termostato. Esta câmara permitiu efetuar a análise de um tratamento inteiro por vez.

**Figura 4** - Sistema de aeração de sementes, composto de duas bombas, carvão ativado, dois fluxômetros e câmara de germinação (fluxo no sentido horário).



Após 6 h de aeração de cada tratamento, os voláteis retidos no polímero foram eluídos por meio da lavagem com o solvente hexano preparado com padrão interno nonanol (concentração: 36  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). As lavagens foram efetuadas duas vezes em quantidade de 200  $\mu\text{L}$ , compondo o extrato de 400  $\mu\text{L}$ , por amostra. Cada extrato foi armazenado em vial de 2 mL, previamente identificados e armazenados no freezer a -20 °C.

### 3.2.3. Análises químicas dos extratos obtidos da aeração das sementes do lote A e B

Para efetuar a análise química foi retirado a quantidade de 1  $\mu\text{L}$  de 3 extratos de cada tratamento. Cada extrato foi analisado por cromatografia gasosa com a utilização de um cromatógrafo a gás com Detector de Ionização de Chama (CG-DIC) (Shimadzu) com a coluna capilar VA-5 (Shimadzu). O CG foi operado em modo splitless (200 °C), com temperatura inicial de 35 °C por 5 minutos, aumentando a 8

°C.min<sup>-1</sup> até alcançar 200 °C e permanecendo a esta temperatura por 10 minutos. Sendo utilizado o hélio como o gás de arraste.

### 3.3. Estudo 2 - Teste de etanol analisado por etilômetro

Nos testes de etanol por etilômetro foram estudados três fatores separadamente (Tabela 1): a água, as sementes e os períodos entre as leituras. Sendo importante ressaltar que para estabelecer os níveis de água e de sementes foram utilizados apenas as sementes de quinoa do lote A, de modo a utilizar o lote de melhor vigor como base para os demais estudos.

A metodologia dos testes de etanol por etilômetro, de modo geral, utiliza uma quantidade específica de sementes e de água, que são adicionadas a frascos de vidro, do tipo penicilina (30 mL). Os frascos são vedados com tampa emborrachada e lacres metálicos com o auxílio de alicate recrave, e incubados a 40 °C em câmara mangensulf. Posteriormente, são efetuadas as leituras de liberação de etanol, com etilômetro modificado Drager Alcotest® 6810 ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (Figura 5) em períodos pré-estabelecidos. Cada um dos estudos foi executado em delineamento experimental inteiramente casualizado.

**Tabela 1** - Testes de etanol aplicados e seus respectivos atributos de lote, massa, nível de água, número de repetições e períodos de leitura.

	<b>Teste 1</b>	<b>Teste 2</b>	<b>Teste 3</b>
	Estabelecimento do nível de água	Estabelecimento da massa de sementes	Verificação de água e massa
<b>Lote</b>	A	A	A e B
<b>Massa</b>	0,3 g	0,15; 0,3; 0,45; 0,6 g	Análise anterior
<b>Água</b>	1,5; 2; 2,5; 3; 3,5x	Análise anterior	Análise anterior
<b>Repetições</b>	6	6	6
<b>Leituras</b>	2, 4, 12, 16 e 24 h	2, 4, 12, 16 e 24 h	2, 4, 6, 8 e 10 h

**Figura 5 - Etilômetro modificado Dräger Alcotest® 6810.**



### **3.3.1. Estudo do nível de água ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa**

O teste de etanol por etilômetro foi aplicado apenas ao lote A. O critério de massa de sementes foi fixado em 0,3 gramas para todas as análises deste estudo. Os tratamentos apresentaram os níveis de água de 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5x a massa da amostra, com seis repetições cada. As leituras com etilômetro foram efetuadas em 2, 4, 12, 16 e 24 horas após adicionadas aos frascos.

### **3.3.2. Estudo da quantidade de massa de sementes ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa**

O teste de etanol por etilômetro foi realizado apenas com o lote A. A quantidade de água utilizada foi fixada por meio do resultado da análise anterior (3.3.1). Os tratamentos foram constituídos pelas massas de 0,15 g; 0,3 g; 0,45 g; 0,6 g, com seis repetições cada. As leituras com etilômetro foram efetuadas em 2, 4, 12, 16 e 24 horas.

### **3.3.3. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa**

O teste de etanol por etilômetro foi aplicado nos lotes de sementes A e B. Os atributos de água e massa de sementes foram estabelecidos nas análises 3.3.1 e 3.3.2. As leituras com etilômetro foram reduzidas para as 2, 4, 6, 8 e 10 horas após

adicionadas aos frascos, devido a observação que as sementes produziam plântulas a partir de 18 horas sendo capazes de absorver e reagir ao meio por folhas e raízes.

### **3.4. Estudo 3 - Teste de etanol por etilômetro com embebições prévias**

As análises de etanol e compostos voláteis apresentam metodologias distintas, principalmente em relação à água que se torna fundamental para ambas as liberações. Por este motivo, foi realizado este estudo para avaliar como as análises de etanol, por etilômetro, se expressam quando submetidas a embebições prévias ao invés de ao longo das leituras.

Deste modo, antes de adicionar as sementes aos frascos de vidro (tipo penicilina de 30 mL), estas foram divididas e submetidas aos tempos de embebição. Posteriormente foram adicionadas sem água aos frascos de penicilina, vedados e armazenados no sistema de câmara de germinação (40 °C). O ensaio foi aplicado em delineamento inteiramente casualizado.

#### **3.4.1. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias**

O teste de etanol analisado por etilômetro foi aplicado nos lotes A e B. Os tempos de embebição foram de 30 minutos, 2 horas e 8 horas a 25 °C, com base no padrão trifásico de embebição de sementes e a curva de embebição das sementes de quinoa (Figura 2). A quantidade de água utilizada foi de 2,5x a massa da amostra.

Para cada um destes períodos, definiu-se a submissão de cinco repetições de 0,6 g de sementes de cada lote. As leituras com etilômetro foram efetuadas nos períodos de 2, 4, 6, 8 e 10 horas. Em conjunto com as embebições foram realizadas a determinação do teor de água das sementes.

#### **3.4.2. Estudo dos diferentes níveis de água no teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias**

O teste de etanol foi aplicado apenas no Lote A. Os tratamentos foram denominados de “0”, “2,5” e “5”, cada um com quatro repetições. A quantidade de sementes e o nível de água iniciais foram semelhantes ao do teste anterior (3.4.1), porém com o tempo de embebição de apenas 30 minutos.

Após esse período, cada tratamento obteve uma metodologia específica antes de serem adicionados aos frascos de vidro do tipo penicilina. O tratamento "0" foi retirado toda a água, o tratamento "2,5" permaneceu com a quantidade de água inicial e o tratamento "5" adicionou o dobro de água de acordo com a massa das sementes. As leituras foram efetuadas a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 e 18 horas após adicionadas aos frascos, com o etilômetro modificado.

### **3.5. Procedimentos estatísticos**

#### **3.5.1. Determinação da qualidade fisiológica dos lotes A e B**

Os dados dos testes fisiológicos das sementes foram testados quanto à normalidade, homocedasticidade e após por análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Teste Tukey ( $p < 0,05$ ) por meio do programa estatístico R.

#### **3.5.2. Estudo 1 - Teste de compostos voláteis liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa**

Os resultados dos compostos voláteis foram obtidos em cromatogramas. A partir da utilização do programa GCSolution realizou a comparação dos cromatogramas e os cálculos de concentração.

#### **3.5.3. Estudo 2 - Teste de etanol analisado por etilômetro**

Nos estudos de nível de água e a quantidade de massa foram realizadas análise de regressão polinomial para cada um dos períodos de análises. Para o estudo de verificação dos fatores de nível de água e a quantidade de massa foi submetido à análise de variância e comparação de médias, utilizando o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) por meio do programa estatístico R.

#### **3.5.4. Estudo 3 - Teste de etanol por etilômetro com embebições prévias**

Neste estudo foram realizadas análise de regressão polinomial para cada um dos períodos de análises.

## 4. RESULTADOS

### 4.1.Determinação da qualidade fisiológica dos lotes A e B

Entre os lotes A e B houve a diferença de três pontos percentuais no teor de água, sendo o lote A o que apresentou a maior porcentagem de água com 27% enquanto o lote B apresentou 24% (Tabela 2).

Nos testes de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) houve diferença significativa entre os lotes, sendo o lote A definido como mais vigoroso por obter os maiores valores de germinação e IVG. O lote B apresentou menor germinação e IVG, conseqüentemente, o menor vigor (Tabela 2). Porém os dois lotes não apresentaram diferenças significativas entre si no teste de emergência de plântulas em casa de vegetação.

**Tabela 2-** Teor de água (TA), germinação (GE), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência de plântulas em casa de vegetação (E) e dos lotes A e B de sementes quinoa.

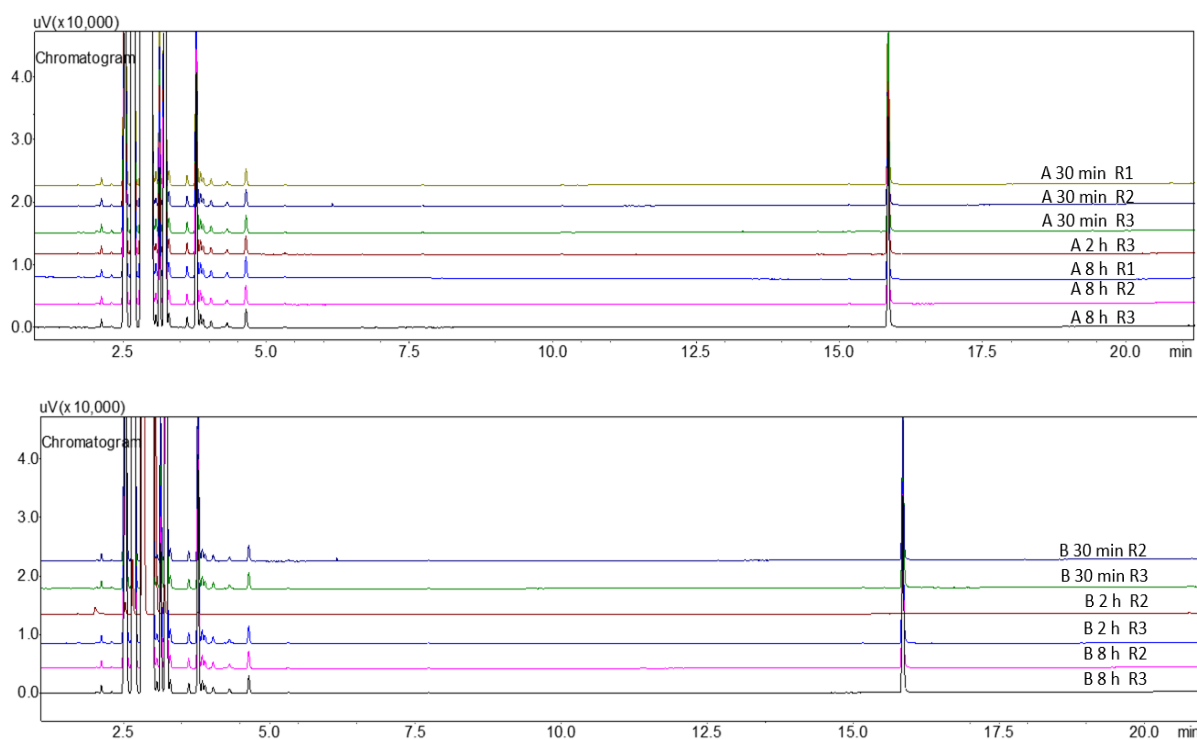
<b>Lote</b>	<b>TA (%)</b>	<b>GE (%)</b>	<b>IVG</b>	<b>E (%)</b>
<b>A</b>	27	90 a	47,4 a	25 a
<b>B</b>	24	71 b	42,0 b	30 a
<b>CV (%)</b>	-	8,4	6,2	65,6

<sup>1</sup> Médias que seguem as mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo Teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2. Estudos 1 - Teste de compostos voláteis liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa

A análise constatou os compostos voláteis liberados pelas sementes, além do padrão interno, em todos os períodos de embebição dos lotes A e B (Figura 6). Porém houve a perda de 5 das 18 unidades amostrais analisadas.

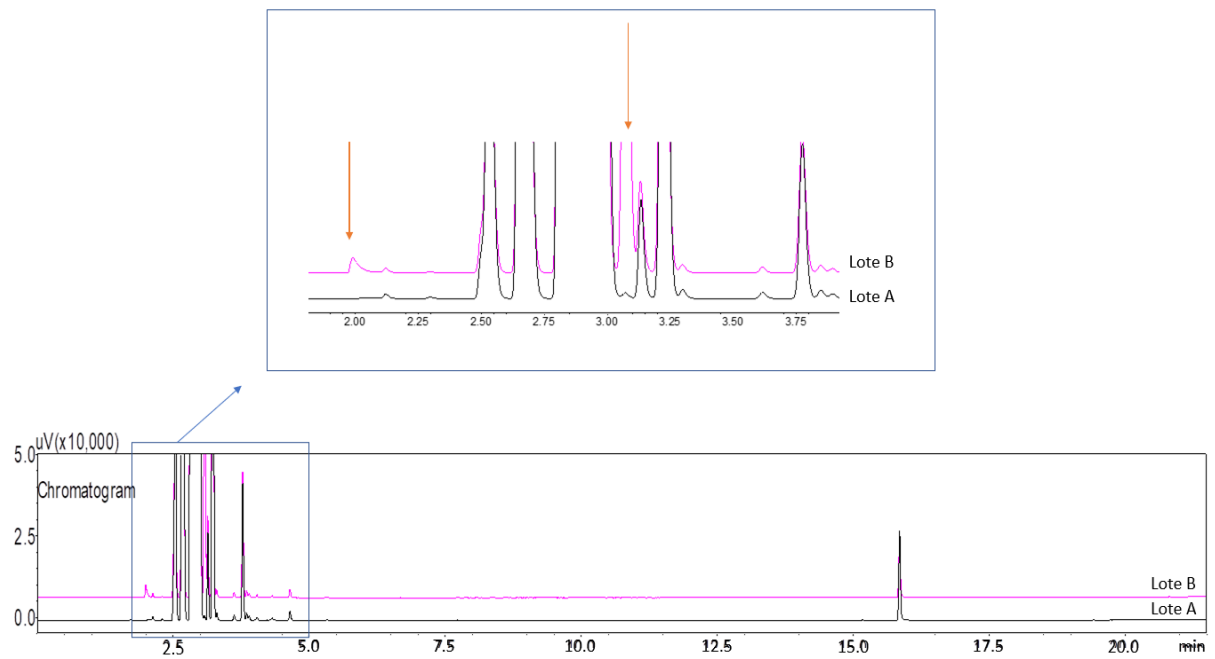
**Figura 6** - Comparação entre todos os extratos obtidos dos lotes de sementes de quinoa A e B, submetidos às embebição por 30 min, 2 h e 8 h em água.



Entre os lotes A e B foram verificados dois compostos, denominados inicialmente de “x” e “y”. O composto “x” apresenta-se nos dois lotes estudados. Entretanto, o composto “y” foi encontrado apenas no lote B com 2 horas de embebição em água (Figura 7).

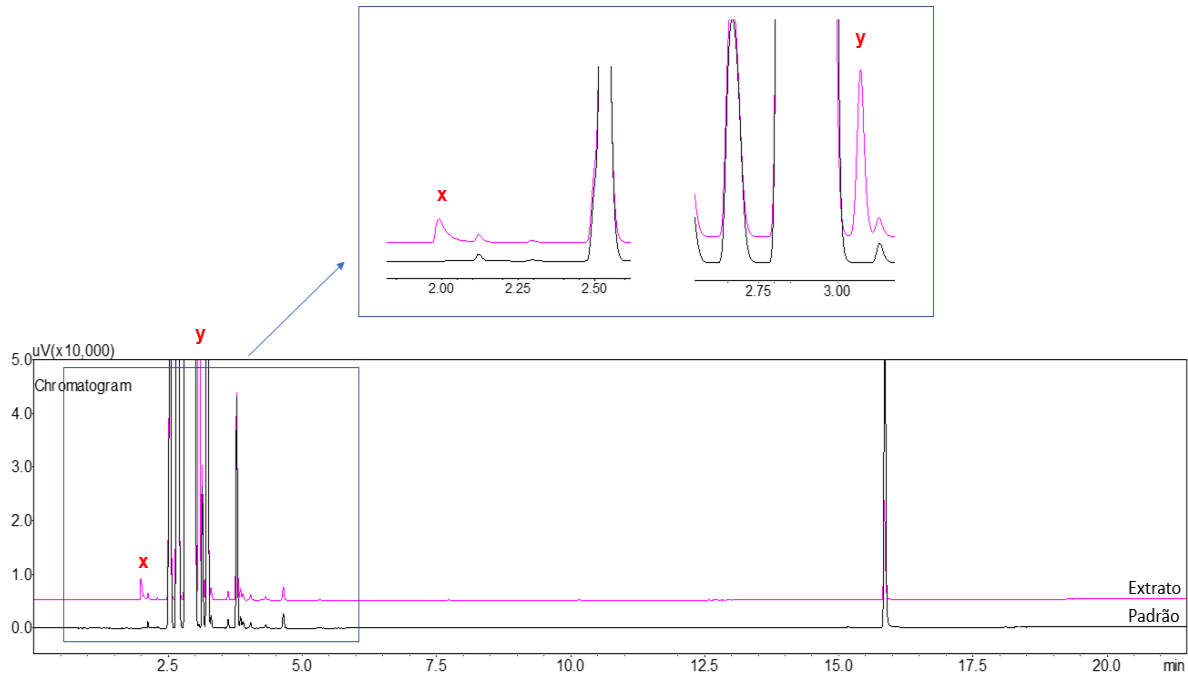


**Figura 7** - Comparação entre os cromatogramas dos lotes de sementes de quinoa A e B em relação ao número de compostos liberados.



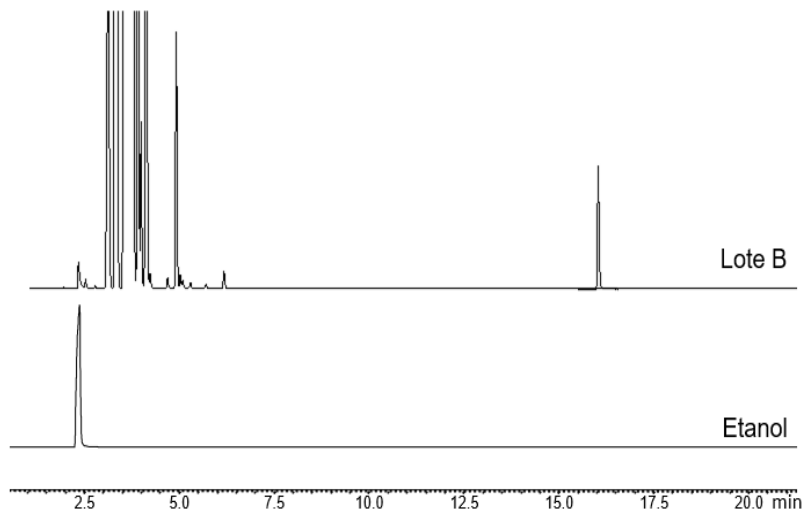
Verificou-se que os compostos “x” e “y” não foram liberados pelo hexano com padrão interno utilizado, quando se compara os cromatogramas obtidos pelos lotes e o padrão. Assim, os dois compostos são referentes especificamente das sementes de quinoa submetidas aos períodos de embebições (Figura 8).

**Figura 8** - Comparação entre os cromatogramas do lote B de sementes de quinoa, submetidos a 2 h de embebição em água, com o padrão interno de nonanol.



O composto “y” ainda está em processo de identificação. O composto “x” foi identificado como etanol por meio da comparação do extrato do lote B com o padrão do etanol (Figura 9).

**Figura 9** - Comparação entre os cromatogramas do lote B de sementes de quinoa e o do etanol.



Após a identificação do composto etanol, foi efetuado o cálculo de concentração tanto do etanol quanto do composto “y” por meio do padrão interno do nonanol (que apresenta a concentração conhecida de  $36 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Realizando o cálculo

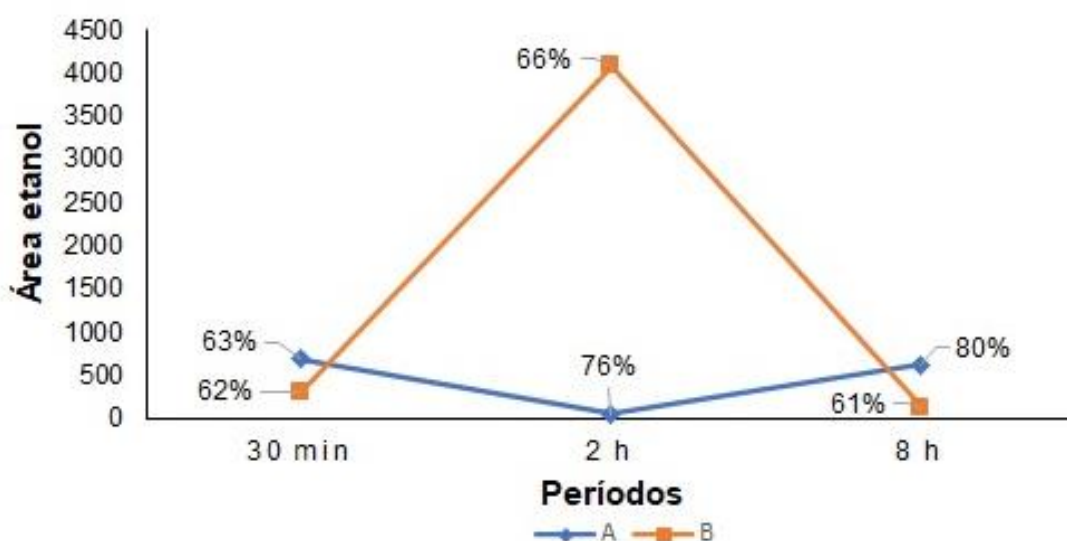
de quantificação de cada um dos tratamentos (Tabela 3). O composto "y" apresentou a concentração de  $37 \mu\text{g.L}^{-1}$  apenas no lote B com 2 h de embebição em água.

**Tabela 3** - Liberação média de etanol (em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos lotes de sementes de quinoa A e B submetidos a embebição por 30 min, 2 h e 8 h em água.

Lote	30 min	2 h	8 h
	----- $\mu\text{g.L}^{-1}$ -----		
<b>A</b>	0,60	0,03	0,53
<b>B</b>	0,30	3,27	0,13

Os lotes A e B apresentaram variação na liberação de etanol entre os diferentes períodos de embebição aplicados. Porém essa variação está diretamente relacionada aos teores de água dos lotes, sendo que quanto maior o teor de água, maiores as liberações de etanol (Figura 10). Essa relação permite avaliar melhor o comportamento dos lotes e relacioná-lo com as suas características.

**Figura 10** - Liberação média de etanol (em área) nos lotes de sementes de quinoa A e B submetidos a embebição por 30 min, 2 h e 8 h em água. Contendo seus respectivos graus de umidade.



O lote A obteve rápida absorção de água de 27% para 63%, produzindo a maior quantidade de etanol no primeiro período analisado. Seguido de constância no aumento da água no segundo período, porém obtendo a menor produção de etanol.

Até alcançar o pico de 80% de teor de água, que proporcionou a maior liberação de etanol no terceiro período de embebição.

O lote B apresentou o teor de água de 1 ponto percentual a menos que o lote A, conseqüentemente, proporcionando a menor liberação de etanol no primeiro período analisado. Entretanto, alcançou o pico de 66% de teor de água no segundo período, gerando a maior quantidade de etanol liberada em todas as análises. Seguindo de queda tanto no etanol quanto no teor de água, no terceiro período de embebição.

De modo geral os dois lotes obtiveram resultados próximos de etanol nos horários de 30 min e 8 h de embebição, não possibilitando a diferenciação dos lotes. Porém, o período de 2 h de embebição foi suficiente para classificar os lotes em relação ao vigor.

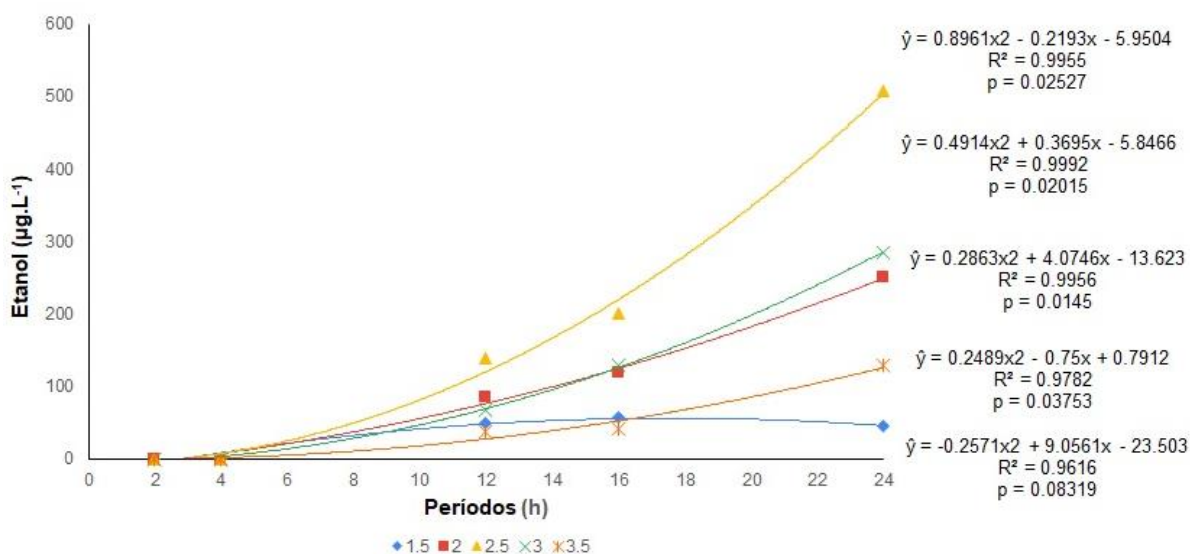
### **4.3. Estudo 2 - Teste de etanol analisado por etilômetro**

#### **4.3.1. Estudo do nível de água ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa**

Na análise de etanol para estabelecer o nível de água (Figura 11), não houve produção de etanol nas primeiras duas horas para todos os tratamentos. Ao contrário dos demais períodos, que proporcionaram resultados contínuos.

No geral, os valores extremos de níveis de água não resultaram nas maiores produções de etanol. Sendo o valor intermediário de 2,5x a massa da amostra, o responsável por produzir os melhores resultados, sendo definido como o nível ideal para o teste de etanol.

**Figura 11** - Teste de etanol para estabelecimento do nível de água em sementes de quinoa do lote A, submetidas aos níveis de água de 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5x a massa da amostra. Analisadas por etilômetro em 2, 4, 12, 16 e 24 horas após adicionadas aos frascos.

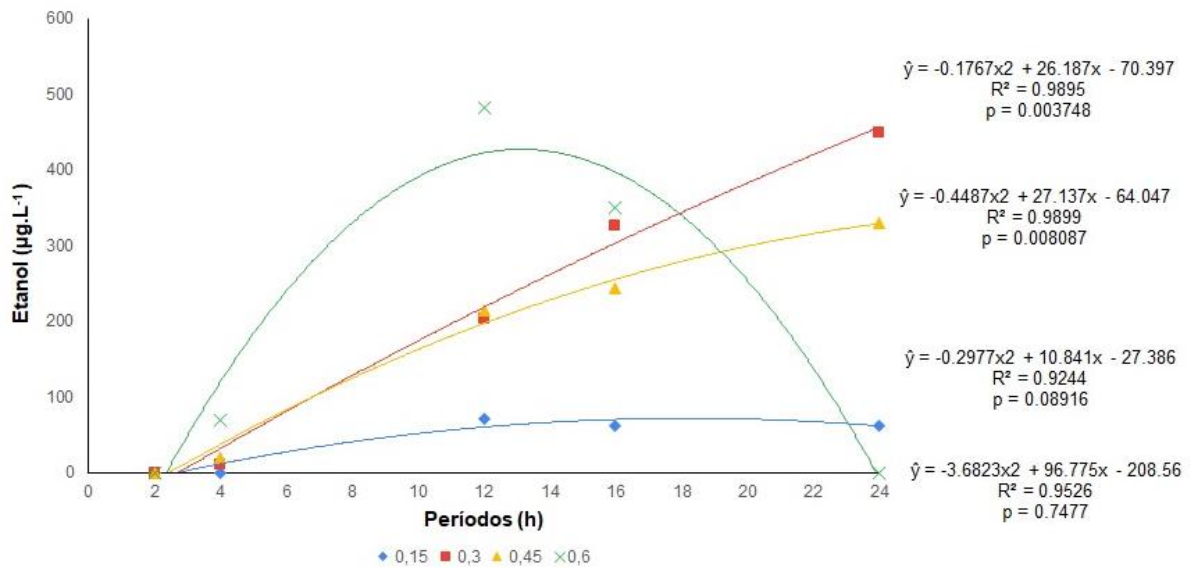


#### 4.3.2. Estudo da quantidade de massa de sementes ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa

O teste de etanol para determinação da massa de sementes (Figura 12), não houve a produção de etanol nas primeiras duas horas em todas as massas estudadas, semelhante ao encontrado no teste anterior.

A massa de 0,15 g obteve a menor produção de etanol em todos os períodos estudados. Enquanto as massas intermediárias de 0,3 e 0,45 g obtiveram os resultados crescentes ao longo dos períodos, sendo que a massa de 0,3 g que proporcionou as melhores quantidades de liberação de etanol. Diferentemente da massa de 0,6 g que obteve as maiores produções ao longo das 12 horas iniciais, seguida de queda nas leituras restantes do teste.

**Figura 12** - Teste de etanol para estabelecimento da massa de sementes de quinoa do lote A, realizada com as massas de 0,15 g; 0,3 g; 0,45 g e 0,6 g. Analisados por etilômetro as 2, 4, 12, 16 e 24 horas após adicionadas aos frascos.



#### 4.3.3. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa

No teste de etanol de verificação utilizou-se os valores de água (nível de água de 2,5x a massa da amostra do teste 4.3.1) e massa de sementes (0,3 e 0,6 g do teste 4.3.2) determinados nas avaliações anteriores (Tabela 4).

Assim como nas análises anteriores, não houve a liberação de etanol nas 2 primeiras horas de teste. Nos demais horários houve as liberações constantes de etanol, porém sem diferença significativa entre os dois lotes nos testes com 0,3 e 0,6 g.

**Tabela 4-** Teste de etanol para verificação de água e massa nos lotes de sementes de quinoa A e B, realizada com o volume de água de 2,5x a massas de 0,3 e 0,6 g. Analisados por etilômetro as 2, 4, 6, 8 e 10 horas após adicionadas aos frascos.

Tratamento	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
	----- $\mu\text{g.L}^{-1}$ -----				
<b>Lote A 0.3</b>	0 a	3 a	27 a	75 a	97 a
<b>Lote B 0.3</b>	0 a	20 a	15 a	38 a	48 a
<b>Lote A 0.6</b>	0 a	15 a	40 a	187 a	192 a
<b>Lote B 0.6</b>	0 a	48 a	72 a	290 a	307 a

<sup>1</sup> Médias que seguem as mesmas letras nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4. Estudo 3 - Teste de etanol por etilômetro com embebições prévias

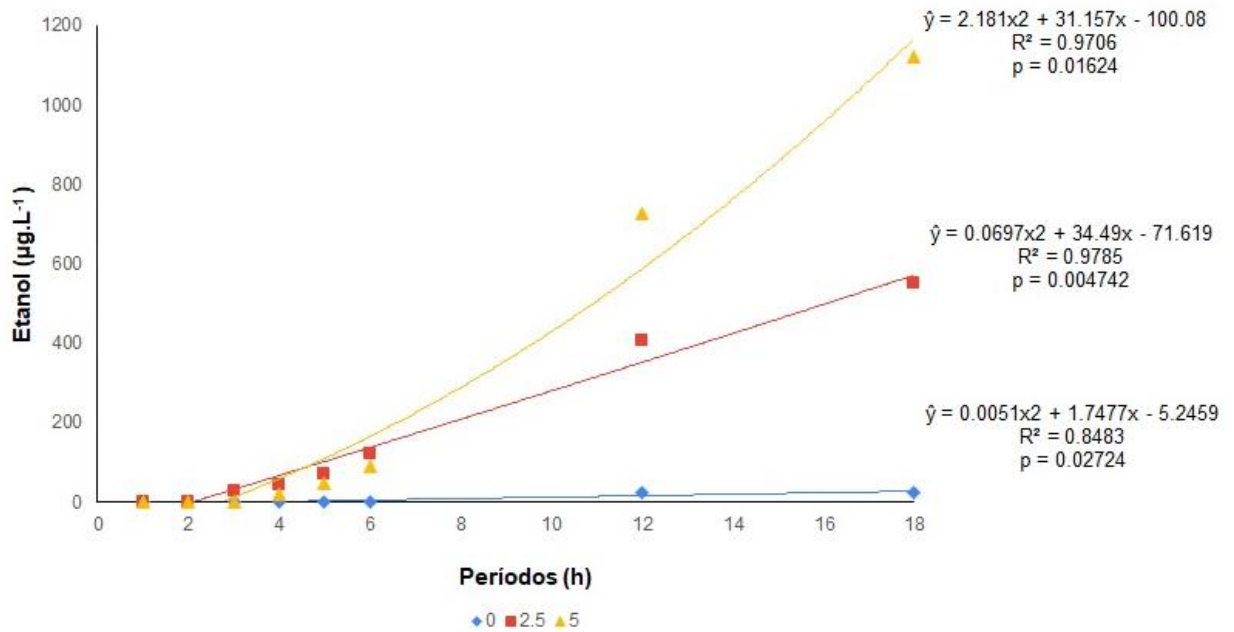
##### 4.4.1. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias

No primeiro teste de etanol de verificação de água e massa, todos os tratamentos obtiveram resultados nulos ( $0,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), mesmo com as sementes apresentando o teor de água acima de 38%.

##### 4.4.2. Estudo dos diferentes níveis de água no teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias

Para tentar compreender os resultados anteriores, foi efetuado o estudo dos níveis de água (Figura 13). Neste teste, não houve liberação nas 2 horas iniciais de análise. Entretanto, nos demais períodos houve produções contínuas, sendo que quanto maior o nível de água, maiores foram as produções de etanol. Diferentemente do tratamento sem água in situ, no qual gerou produção basicamente inexpressiva.

**Figura 13-** Teste de etanol pela metodologia de compostos voláteis em sementes de quinoa lote A, subdividida em três e submetidas a embebição prévia com o volume de água de 2,5x a massa de 0,6 g. O “0” foi retirado toda água, o “2,5” permaneceu com a quantidade de água inicial e o “5” adicionou o dobro de água. Analisados por etilômetro em 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 e 18 h após adicionadas aos frascos.





## **5. DISCUSSÃO**

### **5.1. Determinação da qualidade fisiológica dos lotes**

A uniformidade no teor de água dos lotes A e B é ideal para a realização dos demais testes, permitindo a padronização e a confiabilidade nos resultados. Os valores próximos de teor de água se tornam imprescindíveis, uma vez que, este fator influencia diretamente as atividades metabólicas e o processo deteriorativo das sementes (ORNELLAS et al., 2022).

No teste de germinação houve diferenciação dos lotes, sendo o lote A o que apresentou o melhor potencial germinativo e a viabilidade quando comparado ao lote B. Porém pelo fato de o teste ser realizado em ambiente com condições controladas, não representando as condições de campo (SANTOS et al., 2009), pode haver a superestimativa do real potencial fisiológico das sementes (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA-NETO, 1999). Assim, se torna necessário complementar com as análises de vigor.

Associado ao resultado de germinação, o teste de índice de velocidade de germinação (IVG), mostrou que o lote B exibe o vigor inferior ao lote A, resultante do processo de deterioração. O IVG é um teste de vigor de sementes baseado no desempenho das plântulas, amplamente utilizado e eficiente por permitir detectar diferenças entre lotes (NAKAGAWA, 1999). Neste teste estabelece-se que os lotes mais vigorosos são aqueles que obtêm maior velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962).

Os resultados do teste de emergência de plântulas, por mais que seja proveniente de um teste de vigor usualmente utilizado, não refletiu as diferenças encontradas pelos testes de germinação e no IVG. Este acontecimento pode estar relacionado ao fato de o quesito 'vigor' ser composto por um conjunto de características que determinam a sua atividade e o desempenho de lotes de sementes, sobre ampla variação de condições (ISTA, 2019).

O conjunto dessas características engloba diversos fatores como o nível de sensibilidade a estresses, a velocidade de germinação e a atividade enzimática, com isso a depender do teste utilizado e de seu aspecto analisado, o resultado obtido pode apresentar baixa sensibilidade para a separação de lotes e pouco se relacionar com o real vigor das sementes, principalmente em sementes de tamanho reduzido que apresentam características fisiológicas e bioquímicas distintas das sementes de maiores (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA-NETO, 1999). Estes pontos corroboram com estudos de teste de emergência em sementes de canola (ÁVILA et al., 2005) no qual o teste não foi sensível para diferenciar os lotes.

Atrelado a esses dados complementam-se que o lote B exibiu alteração da cor de seu tegumento (Figura 1). Esta resposta contribui na distinção dos lotes pois é um indicativo visual da ocorrência do processo deteriorativo, proveniente da oxidação de fenóis, que interferem negativamente no processo germinativo das sementes (AMADOR; BARBEDO, 2015).

## **5.2. Estudos 1 - Teste de compostos voláteis liberados por sementes analisadas por cromatografia gasosa**

A liberação de compostos voláteis pelos dois lotes de sementes, indica que mesmo o lote A não tenha sido submetido a nenhum tipo de estresse (como o lote B), este apresenta algum grau de deterioração. Este ponto é amplamente firmado na literatura que confirma que todas as sementes, a partir do ponto de maturação fisiológica, se tornam sujeitas ao processo deteriorativo, que se apresenta contínuo, inevitável e irreversível (DELOUCHE, 1973).

A identificação do composto etanol nos dois lotes, indica que existem danos as membranas celulares e perda se sua integridade (BUCKLEY; HUANG, 2011). Incluindo as membranas mitocondriais, que levam os processos de fermentação e, conseqüentemente, a redução da energia produzida (TAIZ et al., 2017; XIN et al., 2014).

Esse comportamento de danos em membranas e a relação com a liberação de etanol pode ser observado nos dois lotes ao longo dos períodos de embebição e os seus teores de água obtidos. O lote A expressou aumento contínuo do teor de água ao longo do tempo, indicando que suas membranas celulares apresentaram menos danos e conseguiu obter boa organização ao longo do processo de absorção de água. Provavelmente, ocorreu situação similar nas membranas mitocondriais, no qual

obtiveram baixos danos, não necessitando de vias fermentativas para obter energia e gerando baixos níveis de etanol.

Diferentemente do lote A, o lote B manifestou aumento no teor de água apenas nos dois primeiros períodos, seguido de queda drástica no terceiro período de embebição. Essa variação no teor de água mostra que as suas membranas celulares apresentaram altos níveis de danos, não obtendo boa organização, nem integridade ao longo da absorção de água, acarretando perdas no último período. Conseqüentemente, suas membranas mitocondriais provavelmente foram também muito afetadas, necessitando de processos fermentativos em maiores escalas para obtenção de energia e produzindo altos níveis de etanol. Vale destacar que o etanol, assim como outros compostos orgânicos voláteis liberados pelas sementes, quando produzido em altas quantidades como neste teste gera efeito tóxico para as mesmas, se mostrando tanto uma causa quanto efeito do processo de deterioração (AKIMOTO et al., 2004).

Os danos às membranas mitocondriais, a maior taxa de processos fermentativos e as altas liberações de etanol no lote B também estão diretamente relacionadas com o seu baixo desempenho na germinação e IVG. Uma vez que a fermentação alcoólica se apresenta como um processo que produz menor quantidade de energia (CAVALCANTE et al., 2023), quando comparada com o processo de fosforilação oxidativa. Essa redução de energia disponível para a realização dos processos essenciais das sementes se torna indispensável, porém suficiente apenas para a sobrevivência e a continuidade do processo germinativo (CAVALCANTE et al., 2017), com a redução da velocidade de germinação, decorrente da baixa disponibilidade de energia (MARCOS-FILHO, 2015).

Atrelado ao resultado dos teores de água e etanol, os maiores valores de água geraram as maiores liberações de etanol, mostrando a importância do conteúdo de água para realização do teste. Tal resultado é semelhante ao encontrado nas culturas da alface, do cominho e da *E. vesicaria* (MIRA et al., 2016), nos quais as sementes deterioradas absorveram mais água que sementes vigorosas.

Em relação ao composto “y”, por se apresentar apenas no lote B pode ser um outro indicativo do processo deteriorativo avançado das sementes, a ser analisado posteriormente. Hipotetiza-se que este composto pode estar relacionado com a peroxidação lipídica, devido ao fato de as sementes de quinoa conterem altas

concentrações de lipídeos (TANG et al., 2015) e por se apresentar como a principal fonte de liberação de compostos voláteis nas sementes (MIRA et al., 2010).

Este último fato está diretamente relacionado ao processo deteriorativo das sementes pois a partir do momento que se começam as degradações dos lipídios e se inicia a produção de espécies reativas de oxigênio (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019), estas substâncias se convertem e geram novos produtos intermediários, que juntos se transformam e liberam diversos compostos voláteis como os ácidos, os aldeídos, os álcoois e as cetonas (MARCOS-FILHO, 2015).

Na cultura da alfaca, foram encontrados 32 compostos voláteis, dentre eles o metano, o etanol e o pentano (MIRA et al., 2010). Em sementes de ervilha e do carvalho europeu foram obtidas respectivamente 24 e 15 compostos, sendo que nas duas espécies também houve a presença de etanol (COLVILLE et al., 2012). Porém, essa variação na quantidade de compostos está ligada a características específicas, uma vez que as liberações de voláteis por sementes apresentam-se geralmente baixas e dependente de diversos fatores como a espécie estudada, o manejo empregado e as condições do armazenamento (SCHWEMBER; BRADFORD, 2005). Além daquelas observadas neste trabalho como a umidade inicial e o nível de deterioração.

De modo geral a análise de compostos voláteis por cromatografia em sementes com 2 h de embebição foi eficiente para avaliar o vigor em sementes de quinoa, corroborando com os testes de germinação e IVG, devido à maior liberação de etanol e do composto “y” nas sementes de baixo vigor.

Assim, por mais que os resultados só possam ser relacionados a cultura estudada, a quinoa se apresenta como espécie modelo, que pode servir de base para os estudos de liberação de compostos voláteis em sementes de outras culturas. Para promover informações valiosas sobre a fisiologia das sementes, elucidando o processo de deterioração, em que todas as sementes estão sujeitas, e encaminhando para práticas de manejo apropriadas ou até mesmo na concepção de novas metodologias a serem empregadas em todo o ciclo de produção das sementes.

### **5.3. Estudo 2 - Teste de etanol analisado por etilômetro**

#### **5.3.1. Estudo do nível de água ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa**

A partir da absorção de água pelas sementes ocorre a reativação metabólica, a intensificação respiratória e a liberação de compostos voláteis, incluindo o etanol (MARCOS-FILHO, 2015). Assim, os níveis de água de 1 e 1,5x a massa da amostra de sementes, foram suficientes para proporcionar a reativação do sistema, porém houve baixas quantidades de etanol liberado.

Diferentemente, o valor intermediário de água de 2,5x a massa da amostra de sementes obteve os maiores valores de liberação de etanol. Esse aspecto, deu-se provavelmente ao alto teor de água das sementes, associado à quantidade de água adicionada à análise, que juntas foram suficientes para reativação metabólica e também dos processos fermentativos. Tal resultado corrobora com os estudos na cultura do arroz vermelho (BARBOSA et.al., 2021) e do vinhático (OLIVEIRA et.al., 2022).

Os níveis de água de 3 e 3,5x a massa da amostra de sementes, mesmo sendo os mais altos, geraram liberações de etanol em valores intermediários. Ao contrário, do que era esperado, visto que as maiores quantidades de água se relacionam aos maiores níveis de etanol (MIRA et.al., 2016), justamente pelo fato da água ser um dos fatores responsáveis pela aceleração do processo deteriorativo e além de proporcionar a hipóxia de modo mais rápido, o que ativaria a rota energética fermentativa.

#### **5.3.2. Estudo da quantidade de massa de sementes ideal para o teste de etanol para sementes de quinoa**

Neste estudo, obteve-se que a massa ideal para realização do teste de etanol na cultura da quinoa foi de 0,3 g (aproximadamente 100 sementes), pois proporcionou a produção de etanol capaz de ser quantificado e os resultados se relacionam aos testes de vigor aplicados. O fato de a menor quantidade de massa ser definida com ideal e necessária para obter resultados significativos, auxilia a minimizar os custos de realização do teste para os produtores e analistas.

Um ponto importante a se destacar neste estudo foi o desempenho da massa de 0,6 g. Nas primeiras 12 horas de análise, este tratamento proporcionou as maiores

produções quando comparado com os demais tratamentos, porém seguida de uma queda abrupta nas 12 horas seguintes. Esta queda é resultante das altas quantidades de etanol que o tratamento liberou nas últimas análises, que ultrapassou o limite máximo do equipamento. Sendo relevante destacar que o próprio etilômetro informa o ocorrido. A faixa de medição encontrada neste trabalho foi de 10 a 2.190  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Este dado corrobora com o obtido em estudos com o mesmo modelo de etilômetro, que apresentou a faixa de 10 a 2.500  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (KODDE et al., 2012). Portanto, as análises finais da massa de 0,6 g foram superiores a 2.190  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , sendo maiores que qualquer dado coletado neste teste. Por este motivo, esta também foi mantida para análise de verificação.

Esta questão sobre os limites de análise do equipamento também se relaciona com a falta de produção de etanol nas primeiras duas horas dos três testes de etanol efetuados, sendo o oposto do obtido nas análises de compostos voláteis. Tal discordância pode ser resultante da sensibilidade do etilômetro que expressa os resultados na proporção de 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , que conseqüentemente afeta negativamente as primeiras horas de análise. Que por não haver valores intermediários de 0 a 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e a liberação de etanol ser baixa nas primeiras horas do teste, os resultados conseqüentemente podem ser aqueles expressos como nulos (0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) pelo etilômetro.

### **5.3.3. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa**

Neste estudo de verificação de água e massa de sementes, utilizou-se os parâmetros de nível de água de 2,5x as massas de 0,3 e 0,6 g. Para ambas as massas, o teste de etanol não foi suficiente para distinguir os lotes A e B, diferentemente do encontrado nos testes de germinação, IVG e compostos voláteis. Nas culturas de berinjela e do alho-poró a análise de etanol por etilômetro também não foi suficiente para detectar diferenças de vigor entre os lotes de sementes (KUCUKHUSEYIN et al., 2021).

De modo geral, este resultado pode ser decorrente da temperatura utilizada. Os estudos anteriores utilizaram a temperatura de 40 °C, sendo suficiente para diferenciar os lotes nas culturas do melão (ORNELLAS et al., 2019) e do arroz vermelho (BARBOSA et al., 2021). Porém a utilização de 40 °C neste trabalho não foi suficiente para distinguir os lotes assim como o ocorrido em estudos de etanol na

cultura do milho, no qual o uso de 70 °C proporcionou o maior estímulo na produção de etanol, além de melhor precisão dos resultados e a capacidade de diferenciar os lotes em menos de 2 horas (ONWIMOL et al., 2019). Esse aumento da temperatura melhor se relaciona ao fato de que a temperatura aplicada estar mais próxima do ponto de ebulição do etanol, que é de aproximadamente 78 °C (SOUZA et al., 2021).

O teste de etanol por etilômetro não foi eficiente para classificar os lotes de sementes de quinoa, não obtendo relação com os demais testes aplicados.

#### **5.4. Estudo 3 - Teste de etanol por etilômetro com embebições prévias**

##### **5.4.1. Estudo da verificação dos fatores de água e massa de sementes para estabelecimento do teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias**

Na verificação de água e massa, os níveis obtidos nas determinações do teor de água pelos lotes ao longo dos períodos estão acima de 38%. Cumprindo a premissa necessária para distinguir lotes por análises de compostos voláteis, como etanol, estabelecida a 30% de teor de água (KUCUKHUSEYIN et al., 2021).

Diante do exposto, os resultados nulos exibidos não se tornam resultantes do teor de água das sementes. Atrelado, tem-se o fato de que nas mesmas condições de teste, houve os resultados na análise de compostos voláteis. Com tudo, se torna possível que estes resultados sejam provenientes do próprio etilômetro utilizado.

A literatura confirma que os etilômetros eletrônicos no geral são sistemas que mensuram a quantidade de álcool etílico hidratado (mistura de etanol com água) por meio da medida da capacitância elétrica, principalmente pela particularidade da água do que a do próprio etanol (CAVALCANTI, 2017). Desta forma, para realização da avaliação de etanol por etilômetro não se torna viável apenas a utilização da água da própria semente. Necessita da presença de água líquida in situ para que ocorra o carregamento do etanol para o sensor, por meio da evaporação do álcool etílico hidratado.

##### **5.4.2. Estudo dos diferentes níveis de água no teste de etanol para sementes de quinoa submetidas a embebições prévias**

A questão da presença de água in situ para a realização do teste de etanol pode ser justificada com os resultados obtidos neste estudo de verificação dos níveis

de água, que constatou que a falta de água in situ durante as análises gerou resultados praticamente nulos quando comparados aos tratamentos com presença de água.

Deste modo, as análises de etanol por etilômetro só podem ser efetuadas com água in situ, diferentemente do comportamento obtido por cromatografia que não requer presença de água para efetuar a análise e distinção de lotes.



## **6. CONCLUSÕES**

A análise de compostos voláteis por cromatografia em sementes de quinoa embebidas em água por 2 h é uma metodologia que pode ser considerada eficiente para distinguir lotes de sementes de quinoa, com base na liberação de etanol no lote de menor vigor.

O teste de etanol por etilômetro, utilizando os parâmetros de nível de água 2,5× a massa de semente em conjunto com as massas de 0,3 g e 0,6 g, não foi eficiente para classificar os lotes de sementes de quinoa, não obtendo relação com os demais testes aplicados.

## 7. REFERÊNCIAS

AHMADZAI, H. Trends in quinoa adoption in marginal areas: an assessment of economic viability and policy outlook. **Journal of Agribusiness and Rural Development**, v.57, n.3, p.235-247, 2020.

AHMED, I. A. M.; JUHAIMI, F. A.; ÖZCAN, M. M. Insights into the nutritional value and bioactive properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*): past, present and future prospective. **Institute of Journal Food Science Technology**, v.56, n.8, p.3726-3741, 2021. doi:10.1111/ijfs.15011.

AKIMOTO, T.; CHO, S. Y.; YOSHIDA, H.; FURUTA, H.; ESASHI, Y. Involvement of acetaldehyde in seed deterioration of some recalcitrant woody species through the acceleration of aerobic respiration. **Plant and Cell Physiology**, v.45, n.2, p.201-210, 2004.

AMADOR, T. S.; BARBEDO, C. J. Germination inhibits the growth of new roots and seedlings in *Eugenia unifora* and *Eugenia brasiliensis*. **Journal of Seed Science**, v.37, n.3, p.241-247, 2015.

AMISTÁ, M. J. M.; TAVANO, O. L. Influência da germinação e do processamento térmico na digestibilidade protéica e atividade de inibição de tripsina de grãos de quinoa. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.16, n.1, p.52-58, 2013.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. D. L.; SCAPIM, C. A.; MARTORELLI, D. T.; ALBRECHT, L. P. Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.1, p.62-70, 2005.

BAKHTAVAR, M. A.; AFZAL, I. Climate smart Dry Chain Technology for safe storage of quinoa seeds. **Scientific Reports**, v.10, n.1, p.1-12, 2020. doi:10.1038/s41598-020-69190-w.

BAALBAKI, R. Z.; ELIAS, S.; MARCOS-FILHO, J.; McDONALD, M. B. **Seed vigor testing handbook**. AOSA, p.346, 2009.

BARBOSA, R. M.; JESUS, M. A.; PEREIRA, R. A.; JUNIOR, G. A. G. Electrical conductivity and ethanol release to assess red rice seed vigor. **Revista Caatinga**, v.34, n.4, p.791-798, 2021. doi:10.1590/1983-21252021v34n406rc.

BAZILE, D.; JACOBSEN, S. E.; VERNIAU, A. The Global Expansion of Quinoa: Trends and Limits. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n.1, p.622, 2016. doi:10.3389/fpls.2016.00622.

BENAMAR, A.; TALLON, C.; MACHEREL, D. Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated ageing. **Seed Science Research**, v.13, n.1, p.35-45, 2003. doi:10.1079/SSR2002122.

BIONDI, S.; ANTOGNONI, F.; MARINCICH, L.; LIANZA, M.; TEJOS, R.; RUIZ, K. B. The polyamine “multiverse” and stress mitigation in crops: A case study with seed priming in quinoa. **Scientia Horticulturae**, v.304, n.15, p.111292, 2022.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise**

**de sementes.** Secretaria de Defesa Agropecuária – Mapa/ACS. p.395, 2009.

BUCKLEY, W.; HUANG, J. An ethanol-based seed vigour assay for canola. **Seed Science and Technology**, v.39, n.2, p.510-526, 2011. doi:10.15258/sst.2011.39.2.22.

BUCKLEY, W. T.; HUANG, J.; MONREAL, M. A. Ethanol emission seed vigour test for canola: minimal effects from variations in incubation conditions, sample size and seed moisture content. **Seed Science and Technology**, v.41, n.2, p.270-280, 2013. doi:10.15258/sst.2013.41.2.09.

CAVALCANTE, J. A.; GADOTTI, G. I.; TERNUS, R. M.; XAVIER, F. M.; SILVA, R. N. O.; EBERHARDT, P. E. R.; MARTINS, A. B. N.; HORNKE, N. F.; MAZON, A. S.; TUNES, L. V. M. Evaluation of ethanol preconditioning as a rapid seed vigour and viability test. **Australian Journal of Crop Science**, v.13, n.7, p.1045-1052, 2019. doi:10.21475/ajcs.19.13.07.p1148.

CAVALCANTE, J. A.; GADOTTI, G. I.; PINHEIRO, R. D. M.; SILVA, R. N. O. D.; OLIVEIRA, F. K. D.; MORAES, D. M. D. Vigor and anaerobic metabolism of soybean seeds evaluated by ethanol test. **Journal of Seed Science**, v.45, n.1, p.1-12, 2023. doi:e202345007.

CAVALCANTE, J. A.; TERNUS, R. M.; ALMEIDA, T. L.; REOLON, F.; ARAÚJO, A. S.; GADOTTI, G. I.; MORAES, D. M. Ethanol vigor test to assess physiological quality of annual ryegrass seeds. **Revista Espacios**, v.38, n.47, p.1-9, 2017.

CAVALCANTI, V. Y. S. L. Estudo teórico de um sensor capacitivo helicoidal aplicado ao analisador de mistura etanol-água. **Tese.** Doutorado em Engenharia Mecânica. Universidade Federal da Paraíba. 104 f. 2017.

COLVILLE, L.; BRADLEY, E. L.; LLYOD, A. S.; PRITCHARD, H. W.; CASTLE, L.; KRANNER, I. Volatile fingerprints of seeds of four species indicate the involvement of alcoholic fermentation, lipid peroxidation, and Maillard reactions in seed deterioration during ageing and desiccation stress. **Journal of Experimental Botany**, v.63, n.18, p.6519-6530, 2012. doi:10.1093/jxb/err3163.

DELOUCHE, J.C. **Seed deterioration.** Seed World, v.2, n.4, p.14-15, 1963.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of plant volatiles. **Plant Physiology**, v.135, n.4, p.1893-1902, 2004.

EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration process. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.145, n.1, p.34-42, 2019.

FAO - Food and Agriculture Organization of United Nations. **Launch of the International Year of Quinoa.** Disponível em: <<https://www.fao.org/news/story/pt/item/170254/icode/>>. Acesso em: abril de 2023.

FAO - Food and Agriculture Organization of United Nations. **Crops and livestock products - Quinoa.** Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: dezembro de 2022.

FARNSWORTH, E. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. **Annual review of ecology and systematics**, v.31, n.1, p.107-138, 2000.

GOLLDFARB, M.; QUEIROGA, V. P. Considerações sobre o armazenamento de sementes. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.7, n.3, p.71-74, 2013.

HAJIHASHEMI, S.; SKALICKY, M.; BRESTIC, M.; PAVLA, V. Crosstalk between nitric oxide, hydrogen peroxide and calcium in salt-stressed *Chenopodium quinoa* Willd. At seed germination stage. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.154, n.1, p.657-664, 2020. doi:10.1016/j.plaphy.2020.07.022.

ISTA – International Seed Testing Association. **International Rules for Seed Testing**, v. 2019, n.1, 2019. Disponível em:  
<<https://www.ingentaconnect.com/content/ista/rules/2019/00002019/00000001>>.

KATAKI, P. K.; TAYLOR, A. G. Time course study of ethanol production by corn and soybean to optimize the use of ANA ethanol index as an accurate seed quality test. **Journal of New Seeds**, v.3, n.1, p.1-17, 2001. doi:10.1300/j153v03n01\_01.

KNUTSON, M. D.; HANDELMAN, G. J.; VITERI, F. E. Methods for measuring ethane and pentane in expired air from rats and humans. **Free Radical Biology and Medicine**, v.28, n.4, p.514–519, 2000.

KODDE, J.; BUCKLEY, W. T.; GROOT, C. C.; RETIERE, M.; ZAMORA, A. M. V.; GROOT, S.P.C. A fast ethanol assay to detect seed deterioration. **Seed Science Research**, v.22, n.1, p.55-62, 2012. doi:10.1017/ S0960258511000274.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, p.218, 1999.

KUCUKHUSEYIN, E. B.; MEMIS, N.; GOKDAS, Z.; GROOT, S. P. C.; DEMIRI, I. Ethanol release as an indicator of seed vigour in radish, pepper, watermelon, aubergine, leek and onion seed lots. **Seed Science and Technology**, v.49, n.1. p.1-6, 2021. doi:10.15258/sst.2021.49.1.01.

LOZANO-ISLA, F.; APAZA, J. D.; MUJICA-SANCHEZ, A.; BLASSEVILLANO, R.; HAUSSMANN, B. I.; SCHMID, K. Enhancing quinoa cultivation in the Andean highlands of Peru: a breeding strategy for improved yield and early maturity adaptation to climate change using traditional cultivars. **Euphytica**, v.219, n.2, p.26, 2023.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **CropScience**, v.2, n.2, p.176-77, 1962. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

MARCIN, M.; BEATA P. P. M.; JAYANTHI, N.; COLVILLE, L. Volatile signature indicates viability of dormant orthodox seeds. **Physiologia Plantarum**, v.173, n.3, p.788-804, 2021. doi:10.1111/ppl.13465.

MARCOS-FILHO, J. **Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças**. Informativo ABRATES, v.11, n.3, p.63-75, 2001.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES, p.659, 2015.

MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v.72, n.4, p.363-374, 2015b.

MELINI, V.; MELINI, F. Functional components and anti-nutritional factors in gluten-free grains: a focus on quinoa seeds. **Foods**, v.10, n.2, p.351, 2021. doi: 10.3390/foods10020351.

MIRA, S.; ESTRELLES, E.; GONZÁLEZ-BENITO, M.E.; CORBINEAU, F. Biochemical changes induced in seeds of *Brassicaceae* wild species during ageing. **Acta Physiol Plant**, v.33, n.5, p.1803-1809, 2011.

MIRA, S.; GONZÁLEZ-BENITO, M.; HILL, L. N.; WALTERS, C. Characterization of volatile production during storage of lettuce (*Lactuca sativa*) seed. **Journal of Experimental Botany**, v.61, n.14, p.3915-3924, 2010. doi:10.1093/jxb/erq202.

MIRA, S.; HILL, L. M.; GONZÁLEZ-BENITO, M. E.; IBÁÑEZ, M. A.; WALTERS, C. Volatile emission in dry seeds as a way to probe chemical reactions during initial asymptomatic deterioration. **Journal of Experimental Botany**, v.67, n.6, p.1783-1793, 2016. doi: 10.1093/jxb/erv568.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no crescimento de plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. FUNEP: p.164, 1994.

NASCIMENTO, W. M. **Hortaliças: tecnologia de produção de sementes**. Embrapa Hortaliças, p.316, 2011.

NAVRUZ-VARLI, S.; SANHER, N. Nutritional and health benefits of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Journal of Cereal Science**, v.69, n.1, p.371-376, 2016.

OLIVEIRA, E. D. S.; LIMA, T. M.; CONCEIÇÃO, T. A.; BARBOSA, R. M. Ethanol test as a determinant of physiological of forest species seeds: The case of *Plathymentia reticulata Benth* (Leguminosae-Mimosoideae), a tree of interest for Atlantic Forest restoration. **Journal of Seed Sciences**, v. 44, n.1, p.1-12, e202244036, 2022. doi:10.1590/2317-1545v44262795.

ONWIMOL, D.; RONGSANGCHAICHAREAN, T.; THOBUNLUEPOP, P.; CHAISAN, T.; CHANPRASERT, W. Optimization and sensitivity analysis of fast ethanol assay in maize seeds. **Journal of Seed Science**, v.41, n.1, p.97-107, 2019. doi:10.1590/2317-1545v41n1206316.

ORNELLAS, F. L. S.; SOUZA, A. O.; ARAÚJO, M. N.; BARBOSA, R. M.; DANTAS, B. F. Ethanol test to evaluate the physiological quality of forest seeds. **Journal of Seed Sciences**, v. 44, n.1, p.1-11, 2022. doi: e20224404.

ORNELLAS, F. L. S.; SOUSA, A. O.; PIROVANI, C. P.; ARAÚJO, M. N.; COSTA, D. S.; DANTAS, B. F.; BARBOSA, R. M. Gene expression, biochemical and physiological activities in evaluating melon seed vigor through ethanol release. **Scientia Horticulturae**, v.261, n.1, p.108884, 2019.

doi:10.1016/j.scienta.2019.108884.

PANDO, L. G.; CASTELLANOS, E. A. **Guia de cultivo de la quinua**. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura e Universidad Nacional Agraria La Molina, 2016. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/i5374s/i5374s.pdf>>. Acesso em: abril de 2023.

PATHAN, S.; SIDDIQUI, R. A. Nutritional Composition and Bioactive Components in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Greens: A Review. **Nutrients**, v.14, n.3, p.558, 2022. doi:10.3390/nu14030558.

SANTOS, F. S.; PAULA, R. C.; SABONARO, D. Z.; VALADARES, J. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de diferentes matrizes de *Tabebuia chryso-tricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl. **Scientia Forestalis**, v.37, n.82, p.163-173, 2009.

SCHWEMBER, A. R.; BRADFORD, K. J. Drying rates following priming affect temperature sensitivity of germination and longevity of lettuce seeds. **HortScience**, v.40, n.3, p.778-781, 2005.

SMITH, M. T.; ADAMSON, I. H. Volatile lipid peroxidation breakdown products and viability in lettuce (*Lactuca sativa* L.). **South African Journal of Science**, v.85, n.1, p.63-64, 1989.

SOUZA, A. E. C.; CERQUEIRA, D. A.; SOUSA, N. G.; CARDOSO, C. R. Simulação do processo de destilação extrativa para produção de etanol anidro utilizando etilenoglicol como agente de separação. **Research, Society and Development**, v.10, n.4, p. e45610414228-e45610414228, 2021.

STRENSKE, A.; VASCONCELOS, E. S.; EGEWARTH, V. A.; HERZOG, N. F. M.; MALAVASI, M. M. Responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds stored under different germination temperatures. **Acta Scientiarum**, v.39, n.1, p.83-88, 2017. doi:10.4025/actasciagron.v39i1.30989.

SUMALATHA, G. M.; SOWMYA, H. H.; KOMALA, N.; SAISANTHOSH, K.; UPPAR DS. Advances in seed science and technology. **Journal of Pharmacogn Phytochem**, v.7, n.1, p.3012-3019, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed, 6 ed., p.888, 2017.

TANG, Y.; LI, X.; CHEN, P. X.; ZHANG, B.; HERNANDEZ, M.; ZHANG, H.; MARCONE, M.F.; LIU, R.; TSAO, R. Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. geno-types. **Food Chemistry**, v.174, n.1, p.502-508, 2015.

XIN, X.; TIAN, Q.; YIN, G.; CHEN, X.; ZHANG, J.; NQ, S.; LU, X. Reduced mitochondrial and ascorbate–glutathione activity after artificial ageing in soybean seed. **Journal of Plant Physiology**, v.171, n.2, p.140-147, 2014.