

Notas Científicas

Extrato de sementes de moringa como flocculante de caldo de cana-de-açúcar

Gustavo Henrique Gravatim Costa⁽¹⁾, Cristhyane Millena de Freitas⁽¹⁾, Franciele Quintino Mendes⁽¹⁾ e Márcia Justino Rossini Mutton⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/nº, CEP 14884-900 Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: ghg_costa@hotmail.com, cristhyanemille@hotmail.com, fran_bha@hotmail.com, marcia.mutton@gmail.com

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar agentes extrativos para proteínas das sementes de moringa (*Moringa oleifera*) e a ação coagulante desse extrato proteico sobre o caldo de cana para produção de açúcar, que utiliza polieletrólitos de acrilamida. Os extratores foram água deionizada, solução de KCl e MgCl₂, a 0,1, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 mol L⁻¹. Os extratos proteicos foram utilizados, em 11 doses, na sedimentação do caldo de cana. As soluções de 0,1 mol L⁻¹ de MgCl₂ e 1,0 mol L⁻¹ de KCl são mais eficazes na extração. A de KCl 1,0 mol L⁻¹, a 500 mg L⁻¹, resulta em caldo clarificado de melhores características químico-tecnológicas.

Termos para indexação: *Moringa oleifera*, acrilamida, bioenergia, calagem simples, polieletrólito sintético.

Extract of moringa seeds as sugarcane juice flocculant

Abstract – The objective of this work was to evaluate extractive agents for proteins of moringa (*Moringa oleifera*) seeds, and the coagulant effect of this protein extract on sugarcane juice for sugar production, which uses acrylamide polyelectrolytes. The extractors were deionized water, and KCl and MgCl₂ solution at 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mol L⁻¹. The protein extracts were used for sedimentation of sugarcane juice in 11 doses. The solutions of 0.1 mol L⁻¹ MgCl₂ and 1.0 mol L⁻¹ KCl were the most effective in protein extraction. The KCl 1.0 mol L⁻¹ dose, at 500 mg L⁻¹, results in clarified juice with better chemical-technological characteristics.

Index terms: *Moringa oleifera*, acrylamide, bioenergy, simple liming, synthetic polyelectrolyte.

Introdução

A *Moringa oleifera* Lamarck é uma planta pertencente à família Moringaceae, que se caracteriza pela facilidade de propagação e adaptação a uma ampla faixa de solos, além de ser tolerante a climas secos. Atualmente, vem sendo cultivada em vários países em virtude da presença de proteínas do grupo 2S-Albumina nas sementes, que apresentam características coagulantes, utilizadas no tratamento de água para consumo humano (Freire et al., 2015; Ullah et al., 2015).

Essa característica é interessante para o setor sucroalcooleiro, uma vez que este também necessita de uma etapa de tratamento químico do caldo, o qual visa à remoção de impurezas, pelos processos de coagulação e precipitação. Nesses processos, são

utilizados polieletrólitos sintéticos à base de acrilamida, que, apesar de auxiliarem a floculação de impurezas presentes no caldo, podem ser carcinogênicos (OMS, 2002).

Há indicação de que a moringa também favorece a ação de coagulação sobre o caldo de cana. A utilização de extrato de folhas de moringa como auxiliar de sedimentação, embora não tenha aumentado a velocidade de sedimentação, favoreceu a remoção de compostos fenólicos do caldo extraído. Entretanto, não há relatos referentes à ação das proteínas presentes nas sementes da planta.

Nas sementes da moringa há quatro proteínas principais, Mo-CBP₃-1, Mo-CBP₃-2, Mo-CBP₃-3 e Mo-CBP₃-4; entretanto, todas são isoformas da proteína 2S-Albumina (Freire et al., 2015). Apresentam peso molecular inferior a 14kDa, ponto isoelétrico de 10-11,

resistência térmica de 100°C, carregada positivamente, e duas cadeias α -helicoidais proteoliticamente processadas e estabilizadas por quatro pontes de dissulfeto (Ullah et al., 2015). Contudo, a eficácia do extrato de sementes como agente coagulante está relacionada diretamente com a solução extrativa utilizada, uma vez que esta determinará a quantidade de proteína extraída da semente (Madrona et al., 2011).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar o melhor agente extrativo de proteínas das sementes de moringa, e a ação coagulante desse extrato sobre o caldo de cana para produção de açúcar.

A coleta de sementes foi realizada em plantas adultas, com vagens secas, cultivadas no Horto Florestal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/Unesp), Campus de Jaboticabal, SP. As sementes coletadas foram colocadas em estufa a 55°C por 12 horas e, a seguir, descascadas e maceradas.

Para a extração, as sementes trituradas foram imersas em água deionizada (EA) e em soluções de KCl (EK) e MgCl₂ (EM) nas concentrações 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mol L⁻¹, na proporção de 1 g de semente para 100 mL de solução. A mistura ficou em agitação por 10 minutos, seguida de filtração a vácuo, na qual se utilizou papel de filtro qualitativo para retenção das partículas grosseiras insolúveis (Okuda et al., 2001). Esse ensaio foi realizado em triplicata. Os extratos foram caracterizados quanto ao teor de proteínas (Hartree, 1972), com prévia diálise em membrana MWCO 5 kDa (Sigma-Aldrich Chemicals). Os extratos EA, EK e EM, que apresentaram os maiores teores proteicos, foram utilizados para os testes de floculação.

Os extratos de EK, EM e EA foram aplicados diretamente em provetas de 1 L, em um sistema de temperatura controlado por lâmpadas (Philips 40 W e 60 W intercaladas), a 75°C, simulando um decantador industrial. A seguir, adicionou-se caldo de cana com Brix ajustado a 16°, caleado até pH 7,0 (Ca(OH)₂ 6°Bé) e aquecido até fervura. O material permaneceu em repouso por 40 minutos. Nessa etapa, 11 doses de cada extrato foram testadas: 0, 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.300, 1.600 e 2.000 mgL⁻¹, com 4 repetições cada uma. Após o tempo de retenção de 40 minutos, o caldo clarificado (sobrenadante) foi sifonado e submetido às análises químico-tecnológicas de velocidade de sedimentação, volume de lodo, %turbidez removida, %fenol removido, %ácidos

removidos, Brix e Pol (Manual..., 2005). Também foi realizada a determinação da atividade coagulante para cada dose utilizada (Okuda et al., 2001).

Os ensaios para os extratos EA, EK e EM foram repetidos três vezes, no delineamento experimental inteiramente casualizado, com 11 tratamentos (doses) e 5 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, tendo as médias sido comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O uso de soluções salinas apresentou maior eficiência para extração de proteínas, em relação ao método que utiliza apenas água destilada (Tabela 1). Isso é decorrente do aumento da solubilidade dessas biomoléculas em virtude do aumento da força iônica da solução (Okuda et al., 2001). A quantidade de proteínas extraídas está diretamente relacionada à molaridade da solução extrativa, e para o EK, os maiores valores foram obtidos quando se utilizou solução 1 mol L⁻¹, diferentemente do EM, cuja concentração de 0,1 mol L⁻¹ promoveu as maiores extrações, o que também foi observado por Okuda et al. (2001) e Madrona et al. (2010).

O caldo de cana, coletado em unidade agroindustrial da região de Jaboticabal, SP, foi caracterizado quanto às variáveis necessárias para o processamento. A cana-de-açúcar deve apresentar Pol superior a 14%, pureza superior a 85%, acidez total inferior a 0,8 g L⁻¹ H₂SO₄, pH entre 5,0 e 5,3, além de valores de Brix elevados (Ripoli & Ripoli, 2009). O caldo utilizado neste trabalho apresentava as condições ideais, com

Tabela 1. Teor médio de proteínas dos extratos de sementes de moringa obtidos por solução de KCl e MgCl₂ nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mol L⁻¹(¹).

Concentrações (mol L ⁻¹)	KCl	MgCl ₂
	----- (mg L ⁻¹ proteína) -----	
0,1	465B	2.522A
0,5	1.205A	1.571B
1,0	1.258A	1.802B
1,5	864AB	830C
2,0	731AB	542C
Teste F	6,55**	28,74**
DMS	565	643
CV	28,62	20,27
Água destilada	689 mg L ⁻¹	

(¹)Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. **Significativo a 1% de probabilidade. DMS, desvio mínimo significativo; CV, coeficiente de variação.

Brix de 23,3%, Pol 19,5%, pureza 85%, acidez total 0,78 g L⁻¹ H₂SO₄, pH 5,0, turbidez 843NTU e compostos fenólicos totais de 510 mg L⁻¹.

O extrato EK 1 mol L⁻¹ foi aplicado, então, em diferentes doses no tratamento do caldo de cana. A adição de diferentes concentrações do extrato não alterou os teores de açúcares presentes no caldo clarificado (Brix, Pol, e pureza) em comparação ao caldo original. Esse comportamento era desejado, uma vez que remoções de açúcares resultam em menor quantidade de sacarose cristalizada e, conseqüentemente, menores rendimentos industriais e retorno econômico à indústria.

Concentrações superiores a 250 mg L⁻¹ resultaram em pH do caldo clarificado menor, o que é indesejado para a fabricação de açúcar, uma vez que, em baixo pH, a sacarose pode sofrer degradação ácida, hidrolisando-se em moléculas de glicose e frutose, que não são cristalizadas ao final do processo, diminuindo os rendimentos industriais (Rein, 2012).

Assim como o pH, podem-se verificar diferenças na velocidade de sedimentação, volume de lodo formado e atividade coagulante (Figura 1 A). As doses de 500 e 1.000 mg L⁻¹ resultaram em maiores velocidades de sedimentação em relação às demais, com efeito mais pronunciado na primeira concentração. Houve, ainda, evidente redução desse parâmetro nas doses superiores a 1.000 mg L⁻¹. Provavelmente, em elevadas concentrações, as cargas iônicas livres das proteínas adicionadas induzem estas a se repelirem, reduzindo significativamente a velocidade com que as partículas se precipitam. Nessa situação, há aumento considerável do lodo formado no fundo do decantador, provavelmente resultante da sua não compactação em virtude da ação das forças iônicas dos precipitados. Esses valores são confirmados pela atividade coagulante, que indicou a dose de 500 mg L⁻¹ como a que promoveu caldo de menor turbidez.

O caldo clarificado apresentou 50 e 60% a menos de ácidos e compostos fenólicos totais, respectivamente, em relação ao original, para todas as dosagens utilizadas. Assim, a remoção desses compostos seria resultante do processo de calagem simples e não dos auxiliares de sedimentação empregados.

As mesmas concentrações utilizadas para o EK 1 mol L⁻¹ foram utilizadas para o EM 0,1 mol L⁻¹. Assim como para o EK, o uso de diferentes doses de EM como floculante do caldo de cana promoveu a

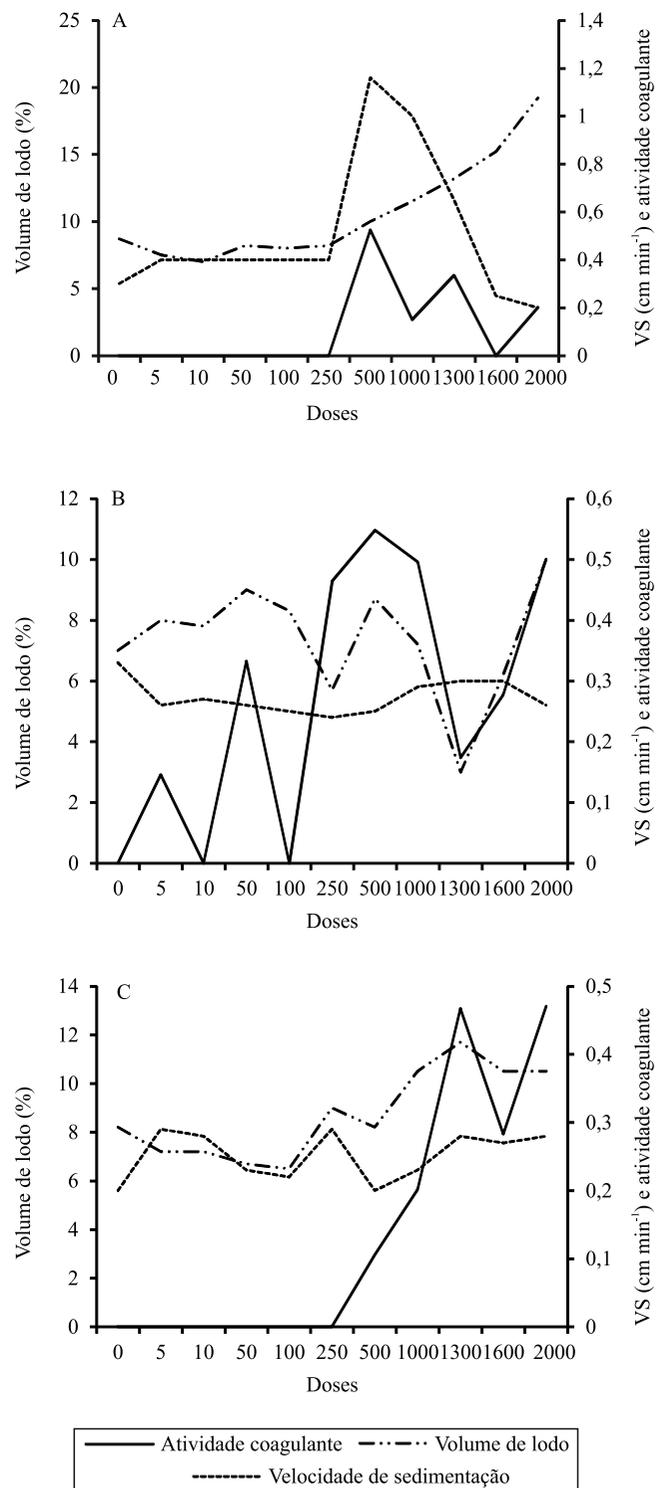


Figura 1. Velocidade de sedimentação (VS), volume de lodo formado e atividade coagulante na clarificação do caldo de cana-de-açúcar, utilizando-se 11 diferentes doses dos extratos proteicos de moringa, obtidos pelas soluções: A, EK (KCl 1 mol L⁻¹); B, EM (MgCl₂ 0,1 mol L⁻¹); C, EA (água deionizada).

manutenção dos teores de açúcar, o pH foi da ordem de 6,1, e houve 60% de remoção de ácidos no caldo clarificado em relação ao caldo original. No entanto, todas as concentrações do extrato promoveram velocidade de sedimentação da ordem de 0,3 cm min⁻¹ (Figura 1 B), diferentemente do observado quando se utilizou EK.

As doses entre 250 e 1.000 mg L⁻¹ resultaram nas maiores atividades coagulantes do extrato, tendo promovido menor turbidez do caldo, uma vez que esses parâmetros são diretamente relacionados. Nessas condições, os valores obtidos foram similares aos determinados para o EK (0,5). Considerando-se o volume de lodo, pode-se verificar que, de modo geral, os valores foram da ordem de 8% do volume do decantador. Esses resultados são inferiores aos obtidos por Costa et al. (2014), que determinaram volume de lodo em até 40% do decantador. Os resultados são promissores, pois lodos mais compactados facilitam o processo de separação do caldo clarificado, assim como são rapidamente filtrados nos filtros-rotativos, diminuindo o desgaste dos equipamentos e otimizando o processo industrial (Rein, 2012). A dose de 250 mg L⁻¹ resultou nas maiores remoções de fenóis (70%).

A eficácia do EA como floculante do caldo de cana também foi verificada (Figura 1 C). Assim como determinado para os extratos salinos, não houve redução dos teores de açúcares presentes, o pH foi da ordem de 6,1 e houve 50% da remoção de ácidos orgânicos. A remoção de fenóis foi da ordem de 30% em relação ao caldo original.

Índices de 0,5 de atividade coagulante foram alcançados quando utilizada a dose de 1.300 mg L⁻¹ desse extrato. Nessas condições, o volume de lodo foi ligeiramente maior em relação aos demais. Considerando-se a velocidade de sedimentação, foram obtidos valores similares aos determinados no EM 0,1 mol L⁻¹, da ordem de 0,3 cm min⁻¹.

O uso de K⁺ promoveu os melhores índices de sedimentação, em relação ao Mg²⁺ e à não utilização de íons. Esses resultados foram diferentes dos obtidos por Okuda et al. (2001), que verificaram que o extrato preparado com soluções com átomos bivalentes, como Mg²⁺ (MgCl₂), Ca²⁺ (CaCl₂) e Ba²⁺ (BaCl₂), promoveu maior eficácia no tratamento da água. Esse fenômeno pode ser decorrente da característica do caldo de cana, que apresenta impurezas carregadas positivamente (Rein, 2012). Assim, a presença de íons bivalentes no

floculante pode resultar na repulsão dos coloides, em vez da coagulação e posterior sedimentação.

Quanto a isso, pode-se concluir que as maiores extrações de proteínas das sementes de moringa são obtidas quando se utilizam as soluções de MgCl₂ 0,1 mol L⁻¹ e KCl 1 mol L⁻¹. O extrato de KCl 1 mol L⁻¹, na dose de 500 mg L⁻¹, é mais eficiente no processo de clarificação do caldo de cana, que apresenta melhor qualidade química-tecnológica.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa.

Referências

- COSTA, G.H.G.; MASSON, I. dos S.; FREITA, L.A. de; ROVIERO, J.P.; MUTTON, M.J.R. Use of *Moringa oleifera* Lamarck leaf extract as sugarcane juice clarifier: effects on clarified juice and sugar. **Food Science and Technology**, v.34, p.204-209, 2014. DOI: 10.1590/S0101-20612014000100029.
- FREIRE, J.E.C.; VASCONCELOS, I.M.; MORENO, F.B.M.B.; BATISTA, A.B.; LOBO, M.D.P.; PEREIRA, M.L.; LIMA, J.P.M.S.; ALMEIDA, R.V.M.; SOUSA, A.J.S.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O.; OLIVEIRA, J.T.A.; GRANGEIRO, T.B. Mo-CBP3, an antifungal chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, is a member of the 2S albumin family. **PLoS One**, v.10, p.e0119871, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0119871.
- HARTREE, E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v.48, p.422-427, 1972. DOI: 10.1016/0003-2697(72)90094-2.
- MADRONA, G.S. **Extração/purificação do composto ativo da semente da *Moringa oleifera* Lam e sua utilização no tratamento de água para consumo humano**. 2010. 148p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- MADRONA, G.S.; SEOLIN, V.J.; BERGAMASCO, R.; KLEN, M.R.F. The potential of different saline solution on the extraction of the *Moringa oleifera* seed's active component for water treatment. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v.9, p.1-10, 2011. DOI: 10.1515/1542-6580.2511.
- MANUAL de métodos de análises para açúcar. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005.
- OKUDA, T.; BAES, A.U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. Coagulation mechanism of salt solution-extracted active component in *Moringa oleifera* seeds. **Water Research**, v.35, p.830-834, 2001. DOI: 10.1016/S0043-1354(00)00296-7.
- OMS. Organização Mundial da Saúde. **Consecuencias sanitarias de las presencia de acrilamida en los alimentos**. Ginebra: OMS, 2002.
- REIN, P. Ingeniería de la caña de azúcar. Berlin: Verlag Dr. Albert Bartens kg, 2012.

RIPOLI, T.C.C.; RIPOLI, M.L.C. **Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente.** 2ed. ampl. Piracicaba: Ed. dos autores, 2009.

ULLAH, A.; MARIUTTI, R.B.; MASOOD, R.; CARUSO, I.P.; COSTA, G.H.G.; FREITA, C.M. de; SANTOS, C.R.;

ZANPHORLIN, L.M.; MUTTON, M.J.R.; MURAKAMI, M.T.; ARNI, R.K. Crystal structure of mature 2S albumin from *Moringa oleifera* seeds. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.468, p.365-371, 2015. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.10.087.

Recebido em 15 de fevereiro de 2016 e aprovado em 13 de junho de 2016