

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA
CAMPUS ARARAQUARA – ARARAQUARA, SP

Desenvolvimento de método alternativo para clarificação do caldo de cana
utilizando compostos naturais: avaliação antioxidante e pró-oxidativa

FILIPPE OLIVEIRA GRANERO

Araraquara
2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA
CAMPUS ARARAQUARA – ARARAQUARA, SP

FILIPPE OLIVEIRA GRANERO

Desenvolvimento de método alternativo para clarificação do caldo de cana
utilizando compostos naturais: avaliação antioxidante e pró-oxidativa

Dissertação apresentada ao Instituto
de Química, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Regildo Márcio
Gonçalves da Silva.

Araraquara
2022

G756d Granero, Filipe Oliveira
Desenvolvimento de método alternativo para
clarificação do caldo de cana utilizando compostos
naturais : avaliação antioxidante e pró-oxidativa / Filipe
Oliveira Granero. -- Araraquara, 2022
57 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual
Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara
Orientador: Regildo Márcio Gonçalves da Silva

1. Açúcar. 2. Flavonoides. 3. Extratos vegetais. 4.
Indústria açucareira. 5. Polifenóis. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca
do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Desenvolvimento de método alternativo para clarificação do caldo de cana utilizando compostos naturais: avaliação antioxidante e pró-oxidativa"

AUTOR: FILIPE OLIVEIRA GRANERO

ORIENTADOR: REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras de Assis - UNESP - Assis



Prof. Dr. GUILHERME WOLFF BUENO (Participação Virtual)
Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira – FCAVR – Registro – UNESP
Laboratório de Bioeconomia e Inovação da UNESP/ Centro de Aquicultura da Unesp Jaboticabal - CAUNESP



Prof.^a Dr.^a PATRICIA SOARES SANTIAGO (Participação Virtual)
Universidade Estadual Paulista - UNESP - Registro

Araraquara, 03 de junho de 2022

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Filipe Oliveira Granero

Nome em citações bibliográficas: GRANERO, F. O.; GRANERO, FILIPE OLIVEIRA; GRANERO, FILIPE O.; FILIPE OLIVEIRA, GRANERO.

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara.

Rua Professor Francisco Degni, nº 55, Quitandinha
14800-900 - Araraquara, SP - Brasil

URL da Homepage: <http://www.iq.unesp.br>

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências e Letras de Assis.

Avenida Dom Antonio, 2100, Vila Universitária
19806-900 - Assis, SP - Brasil

URL da Homepage: <http://www.assis.unesp.br>

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2020- 2022

Mestrado em andamento em Biotecnologia (Conceito CAPES 6).

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Título: Desenvolvimento de método alternativo para clarificação do caldo de cana utilizando extratos de fontes naturais: avaliação antioxidante e pró-oxidativa.

Orientador: Regildo Márcio Gonçalves da Silva.

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.

2015-2019

Graduação em Engenharia Biotecnológica.

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Título: Avaliação do potencial antioxidante de compostos fenólicos obtidos em frutos e sementes de *Spondias purpurea* L..

Orientador: Regildo Márcio Gonçalves da Silva.

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.

2011-2013

Ensino Médio (2º grau).

Serviço Social da Indústria - Diretório Regional São Paulo, SESI/SP, Brasil.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2021-2021

Boas Práticas de Laboratório. (Carga horária: 35h).

Congressos e Cursos Digitais LTDA, CONGRESSE.ME, Brasil.

2021 - 2021

Fundamentos de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). (Carga horária: 3h).

Congressos e Cursos Digitais LTDA, CONGRESSE.ME, Brasil.

2020 - 2021

Curso de Yellow Belt - Lean Seis Sigma. (Carga horária: 20h).

CAE Treinamentos, CAE, Brasil.

2020 - 2020

Curso de White Belt - Lean Seis Sigma. (Carga horária: 10h).

CAE Treinamentos, CAE, Brasil.

2019 - 2019

Tecnologia da Produção de Cerveja. (Carga horária: 4h).

Universidade Estadual Paulista, UNESP, Brasil.

2019 - 2019

Excel Avançado. (Carga horária: 40h).

Universidade de Brasília, UnB, Brasil.

2019-2019

Excel Intermediário. (Carga horária: 40h).

Universidade de Brasília, UnB, Brasil.

2019 - 2019

Impressão 3D. (Carga horária: 4h).

Universidade Estadual Paulista, UNESP, Brasil.

2019 - 2019

Introdução ao Excel. (Carga horária: 40h).

Universidade de Brasília, UnB, Brasil.

2017 - 2017

Técnicas em Biologia Molecular. (Carga horária: 7h).

Núcleo de Aprimoramento Científico, NAC, Brasil.

2015 - 2015

II Curso Teórico-Prático sobre Células-Tronco e Terapia Celular. (Carga horária: 12h).

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2007 - 2013

Inglês.

CNA Inglês Definitivo, CNA, Brasil.

2010 - 2011

Informática. (Carga horária: 172h).

MicroWay Cursos e Treinamentos Profissionalizantes, MW, Brasil.

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil

Vínculo institucional

2020-2022

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Mestrado, Regime: Dedicação exclusiva.

Vínculo institucional

2017-2019

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

ERIKA COSENDEY TOLEDO DE MELLO, PEIXOTO; FERNANDO RAIMUNDO, SILVA; AMANDA, FIGUEIREDO; **FILIPPE OLIVEIRA, GRANERO**; CÉLIA CRISTINA MALAGUTI, FIGUEIREDO; LUCIANA PEREIRA, SILVA; REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA, SILVA. Efficacy and Safety of *Curcuma longa* L: Relevant Results for Cancer Treatment. Journal of Horticultural Science and Research, v. 5, p. 175-183, 2022. (<https://doi.org/10.36959/745/413>)

FIGUEIREDO, C. C. M.; GOMES, A. C.; **GRANERO, F. O.**; BRONZEL JUNIOR, J. L.; SILVA, L. P.; XIMENES, V. F.; SILVA, R. M. G.. Antiglycation and antioxidant activities of the crude extract and saponin fraction of *Tribulus terrestris* before and after microcapsule release. Journal of Integrative Medicine, v. 20, n. 2, p. 153-162, 2022. (<https://doi.org/10.1016/j.joim.2021.12.003>)

LOURENCAO, A.; MECINA, G. F.; CORDEIRO-ARAUJO, M. K.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; CHIA, M. A.; BRONZEL JUNIOR, J. L.; **GRANERO, F. O.**; SILVA, L. P.; SILVA, R. M. G.. Characterization of allelochemicals from *Pistia stratiotes* extracts and their effects on the growth and physiology of *Microcystis aeruginosa*. Environmental Science and Pollution Research, v. 28, p. 57248-57259, 2021. (<https://doi.org/10.1007/s11356-021-14658-z>)

FIGUEIREDO, C. C. M.; GOMES, A. C.; **GRANERO, F. O.**; BRONZEL JUNIOR, J. L.; SILVA, L. P.; RUIZ, A. L. T. G.; SILVA, R. M. G.. Antiglycation and antitumoral activity of *Tribulus terrestris* dry extract. Avicenna Journal of Phytomedicine, v. 11, n. 3, p. 224-237, 2021. (<https://dx.doi.org/10.22038/ajp.2020.16957>)

SILVA, R. M. G.; FIGUEIREDO, C. C. M.; GOMES, A. C.; FERREIRA, P. C.; **GRANERO, F. O.**; SANTIAGO, P. S.; SILVA, L. P.. Evaluation of the antigenotoxic and antioxidant activity induced by *Croton antisiphiliticus*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 92 (suppl. 2), e20190047, 2020. (<https://doi.org/10.1590/0001-3765202020190047>)

Artigos aceitos para publicação

MARTINS, G. R.; BRONZEL JUNIOR, J. L.; **GRANERO, F. O.**; FIGUEIREDO, C. C. M.; SILVA, L. P.; SILVA, R. M. G.. Phytoconstituents, antioxidant and antiglycation activity of *Chrysophyllum cainito* L., *Hancornia speciosa* Gomes and *Plinia glomerata* Berg. fruits.. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2021. (Aceito para publicação)

Trabalhos publicados em anais de eventos científicos

GRANERO, F. O.; FIGUEIREDO, C. C. M.; VISONÁ, L. S.; SILVA, L. P.; SILVA, R. M. G.. Avaliação de atividade antioxidante de extratos de frutos de *S. purpurea* L. (Seriguela). In: I Congresso Online Nacional de Cosmetologia (CONAC), 2021. Anais do I Congresso Online Nacional de Cosmetologia (CONAC), 2021. v. 10541.

GRANERO, F. O.; FIGUEIREDO, C. C. M.; VISONÁ, L. S.; SILVA, R. M. G.. Avaliação da atividade antiglicante de extratos de frutos de *Spondias purpurea* L.. In: II Congresso Online Nacional de Ciências Farmacêuticas (CONCIFARMA), 2021. Anais do II Congresso Online Nacional de Ciências Farmacêuticas (CONCIFARMA), 2021. v. 13784.

GRANERO, FILIPE OLIVEIRA; FIGUEIREDO, CELIA CRISTINA MALAGUTI; VISONÁ, LUCAS DA SILVA; SILVA, REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA. Determinação do conteúdo de compostos fenólicos de extratos de frutos de *Spondias purpurea*. In: II Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas Online, 2021. Anais do II Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas On-line, 2021. v. 2. (<https://doi.org/10.51189/rema/1246>)

VISIONÁ, LUCAS DA SILVA; LEITE, BIANCA DE ARRUDA; **GRANERO, FILIPE OLIVEIRA;** BERTÃO, MÔNICA ROSA; SILVA, REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA. Obtenção de explantes de sementes e plântulas de *Glycine max* com compostos bioativos e avaliação do potencial antioxidante. In: I Congresso de Engenharia de Biotecnologia, 2021. Anais do I Congresso de Engenharia de Biotecnologia, 2021. v. 2. (<https://doi.org/10.51189/rema/1349>)

GRANERO, F. O.; GOMES, A. C.; FIGUEIREDO, C. C. M.; SILVA, L. P.; SILVA, R. M. G.. Potencial antioxidante e antiglicante de folhas de *S. purpurea* L. (Seriguela). In: Congresso Internacional Online de Biocosméticos e Fitoprodutos (BIOFITO), 2020. Anais do Congresso Internacional Online de Biocosméticos e Fitoprodutos (BIOFITO), 2020. v. 2739.

GRANERO, F. O.; LEITE, B. A.; VISONÁ, L. S.; BERTAO, M. R.; SILVA, R. M. G.. Potencial antioxidante e determinação de fenóis e flavonoides totais de extratos de sementes de *Glycine max* (soja). In: Congresso Brasileiro Online de Ciências Agrárias (CONCIAGRO), 2020. Anais do Congresso Brasileiro Online de Ciências Agrárias (CONCIAGRO), 2020. v. 6691.

GRANERO, F. O.; SILVA, R. M. G.. Potencial antiglicante e antioxidante de extratos de sementes e polpa de frutos de *Spondias purpurea* L.. In: XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP - 1ª Fase, 2019, Assis, SP. Anais do XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP - 1ª Fase. São Paulo, SP: UNESP, 2019.

GRANERO, F. O.; SILVA, R. M. G.. Potencial antiglicante e antioxidante de extratos de frutos de *S. purpurea* L.. In: III Workshop do Departamento de Biotecnologia: inovações biotecnológicas aplicadas à agroindústria e meio-ambiente, 2019, Assis, SP. Anais do III Workshop do Departamento de Biotecnologia: inovações biotecnológicas aplicadas à agroindústria e meio-ambiente. Assis, SP: UNESP, 2019. v. 32376. p. 51.

VISONÁ, L. S.; LEITE, B. A.; **GRANERO, F. O.**; BERTAO, M. R.; SILVA, R. M. G.. Glycine max como fonte de biocompostos com potencial antioxidante e antiglicante. In: III Workshop do Departamento de Biotecnologia: Inovações biotecnológicas aplicadas à agroindústria e meio ambiente, 2019, Assis. Anais do III Workshop do Departamento de Biotecnologia: Inovações biotecnológicas aplicadas à agroindústria e meio ambiente. Assis, SP: UNESP, 2019. v. 32445. p. 44.

VISONÁ, L. S.; LEITE, B. A.; **GRANERO, F. O.**; BERTAO, M. R.; SILVA, R. M. G.. Glycine max como fonte de biocompostos com potencial antioxidante e antiglicante. In: XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP - 1ª Fase, 2019, Assis, SP. Anais do XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP - 1ª Fase. São Paulo, SP: UNESP, 2019.

GRANERO, F. O.; LEITE, B. A.; BERTAO, M. R.; SILVA, R. M. G.. Potencial antioxidante do embrião das sementes e hipocótilo das plântulas de *Glycine max* (soja) para obtenção de compostos ativos em cultura de células. In: XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2018, São Paulo, SP. Anais 2018 - XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2018. v. 02.018. p. 82-82.

GRANERO, F. O.; DELBONE, V. R.; SILVA, L. P.; SILVA, R. M. G.. Fitotoxicidade do néctar de *Sphatodea campanulata* sobre a germinação de *Lactuca sativa* e *Zea mays*. In: XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2018, São Paulo, SP. Anais 2018 - XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2018. v. 02.035. p. 99-99.

GRANERO, F. O.; SILVA, R. M. G. ; LEITE, B. A. ; BERTAO, M. R. . Potencial antioxidante de partes vegetais de *Glycine max* para obtenção de compostos ativos em cultura de células. In: XXX Congresso de Iniciação Científica da UNESP - 1ª Fase, 2018, Assis, SP. Anais do XXX Congresso de Iniciação Científica da UNESP - 1ª Fase. São Paulo, SP: UNESP, 2018.

GRANERO, F. O.; MARTINS, G. R.; BRONZEL JUNIOR, J. L.; MECINA, G. F.; SILVA, R. M. G.. Unconventional wild edible fruits with antioxidant and antiglycation potential. In: 6th Brazilian Conference on Natural Products and 32nd Annual Meeting on Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology, 2017, Vitória, ES. Proceedings of Brazilian Conference on Natural Products and Annual Meeting on Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology. Campinas, SP: Galoá, 2017. v. 77385.

GRANERO, F. O.; MARTINS, G. R.; SILVA, L. P.; SILVA, R. M. G.. Atividade antiglicante e antioxidante de frutos comestíveis não convencionais para utilização na indústria de alimentos. In: XXIX Congresso de Iniciação Científica da UNESP - 1ª Fase, 2017, Assis, SP. Anais do XXIX Congresso de Iniciação Científica da UNESP - 1ª Fase. São Paulo, SP: UNESP, 2017.

Apresentação de trabalho e/ou palestra

GRANERO, F. O.; FIGUEIREDO, C. C. M.; VISONÁ, L. S.; SILVA, R. M. G.. Determinação do conteúdo de compostos fenólicos de extratos de frutos de *Spondias purpurea*. 2021.

VISONÁ, L. S.; LEITE, B. A.; **GRANERO, F. O.**; BERTAO, M. R.; SILVA, R. M. G.. Obtenção de explantes de sementes e plântulas de *Glycine max* com compostos bioativos e avaliação do potencial antioxidante. 2021.

GRANERO, F. O.; SILVA, R. M. G.. Potencial antiglicante e antioxidante de extratos de sementes e polpa de frutos de *Spondias purpurea* L.. 2019.

GRANERO, F. O.; SILVA, R. M. G.. Potencial antiglicante e antioxidante de extratos de frutos de *S. purpurea* L.. 2019.

VISONÁ, L. S.; LEITE, B. A.; **GRANERO, F. O.**; BERTAO, M. R.; SILVA, R. M. G.. Glycine max como fonte de biocompostos com potencial antioxidante e antiglicante. 2019.

GRANERO, F. O.; LEITE, B. A. ; BERTAO, M. R. ; SILVA, R. M. G. . Potencial antioxidante de partes vegetais de Glycine max para obtenção de compostos ativos em cultura de células. 2018.

GRANERO, F. O.; LEITE, B. A.; BERTAO, M. R.; SILVA, R. M. G.. Determination of antioxidant compounds in embryos and seedlings of soybean. 2018.

GRANERO, F. O.; LEITE, B. A.; BERTAO, M. R.; SILVA, R. M. G.. Potencial antioxidante do embrião das sementes e hipocótilo das plântulas de *Glycine max* (soja) para obtenção de compostos ativos em cultura de células. 2018.

GRANERO, F. O.; MARTINS, G. R. ; SILVA, L. P. ; SILVA, R. M. G. . Atividade antiglicante e antioxidante de frutos comestíveis não convencionais para utilização na indústria de alimentos. 2017.

GRANERO, F. O.; MARTINS, G. R. ; BRONZEL JUNIOR, J. L. ; MECINA, G. F. ; SILVA, R. M. G. . Unconventional wild edible fruits with antioxidant and antiglycation potential. 2017.

PARTICIPAÇÃO EM BANCAS

SILVA, R. M. G.; FIGUEIREDO, C. C. M.; **GRANERO, F. O.**. Participação em banca de Felipe Fernandes Canos. Atividade antioxidante e microencapsulação do extrato enriquecidos em antocianinas do fruto (casca e polpa) de *Chrysophyllum cainito* L.. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Biotecnológica) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

I Curso de Verão de Bioinformática e Biologia Sintética. 2022.

IV Workshop de Biotecnologia – Engenheiros Biotecnológicos: Quem somos e para onde vamos. 2022.

8th Redealgas Workshop: Applied Biotechnology to Health and Sustainability. 2021.

II Workshop IEAMar/Unesp – BRASIL MARINHO. 2021.

IV Semana de Biotecnologia USP. 2021.

I Congresso de Engenharia de Biotecnologia (CONEB). 2021.

II Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas On-line (CONBRACIB). 2021.

Congresso Online Nacional de Cosmetologia (CONAC). 2021.

II Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (CDNB). 2021.

II Congresso Online Nacional de Ciências Farmacêuticas (CONCIFARMA). 2021.

III Congresso Online Nacional de Química (CONDEQUI). 2021.

I Congresso Brasileiro de Bioquímica Industrial (CONBIOQI). 2021.

Congresso Brasileiro Online de Ciências Agrárias (CONCIAGRO). 2020.

III Semana de Biotecnologia USP. 2020

II Semana de Engenharia de Alimentos (SEAlim). 2020.

II Simpósio de Empreendedorismos e Inovação em Biotecnologia (SEI-BIOTEC). 2020.

II Congresso Internacional Online das Engenharias (II CONNEG.ON). 2020.

1º Congresso On-line de Atualização e Sensibilização em Biossegurança (ConBios). 2020.

I BiotecFarma. 2020.

Semana de Engenharia Química UNESP online (SEQ UNESP online). 2020

Web Conferência de Análises Instrumentais (WEBCONAI). 2020.

XV Virtual Symposium of Biosciences and Biotechnology Applied to Pharmacy - 20 Years of Contribution to Sciences and Society. 2020

Congresso Internacional Online de Biocosméticos e Fitoprodutos (BIOFITO). 2020.

I Simpósio Internacional em Ciência e Tecnologia de Alimentos - V Seminário em Inovação e Tecnologia na Área de Alimentos. 2020.

I Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas On-line (CONBRACIB). 2020.

I Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (CDNB). 2020.

I Congresso Online Nacional de Ciências Farmacêuticas (CONCIFARMA). 2020.

II Congresso Online Nacional de Química (II CONDEQUI). 2020.

I Encontro da Engenharia Biotecnológica sobre saúde mental na universidade. 2019.

III Workshop do Departamento de Biotecnologia: inovações biotecnológicas aplicadas à agroindústria e meio-ambiente. 2019.

Palestra da Raízen: Produção de Etanol e Açúcar. 2019. (Outra).

XXXI Congresso de Iniciação Científica (CIC) da UNESP - 1ª Fase. 2019.

7th Brazilian Biotechnology Congress (BBC) and 2nd Biotechnology Ibero-American Congress (BIAC). 2018.

II Workshop do Departamento de Biotecnologia. 2018.

XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil (SPMB). 2018.

XXX Congresso de Iniciação Científica (CIC) da UNESP - 1ª Fase. 2018.

6th Brazilian Conference on Natural Products (BCNP) and 32nd Annual Meeting on Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology (RESEM). 2017.

I Workshop do Departamento de Biotecnologia "Inovações para a saúde, indústria e meio ambiente". 2017.

XXIX Congresso de Iniciação Científica (CIC) da UNESP - 1ª Fase. 2017.

Falando Nisso com Danone. 2016.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais, Miriam e Ronan, que fizeram de tudo para que eu tivesse o melhor e pudesse trilhar o meu caminho com o seu apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo presente da vida e pela saúde durante este momento de pandemia.

Ao meus pais, Miriam e Ronan, pelo amor, pelo carinho e pelo apoio que sempre me deram para seguir meus sonhos e alcançar meus objetivos. Agradeço por todo esforço e batalha que tiveram que enfrentar para que eu sempre tivesse o melhor e pudesse ser quem sou hoje. A minha irmã, Amanda, pelo carinho, por sempre me ouvir e compartilhar todas as alegrias e tristezas. Me sinto abençoado por ter esta família e poder viver tantos momentos bons.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, por acreditar em mim sempre. Agradeço pelo apoio, orientação, direcionamento e paciência durante a minha vida acadêmica, além da amizade e parceria que construímos. Agradeço a nossa equipe de trabalho do Laboratório de Fitoterápicos e Produtos Naturais – FITOLAB. Obrigado pelo auxílio e apoio. Agradeço aos alunos de iniciação científica, Felipe e Gabriel, que tive a oportunidade de transmitir um pouco do meu conhecimento e que me auxiliaram em algumas etapas do projeto.

Aos meus amigos, pela amizade, pelo carinho, pelo apoio. Obrigado por serem minha segunda família e por sempre estarem presentes mesmo distantes.

Agradeço ao CNPq pelo apoio por meio da bolsa de mestrado referente ao processo nº 131812/2020-3.

Por fim, agradeço ao Instituto de Química de Araraquara e a Faculdade de Ciências e Letras de Assis. O primeiro por permitir que eu pudesse continuar a minha carreira acadêmica por meio do programa de pós-graduação em Biotecnologia e o segundo por fornecer o espaço para que eu pudesse desenvolver a pesquisa.

RESUMO

A cana-de-açúcar é a principal fonte para a produção do açúcar branco e etanol sendo o Brasil o maior produtor do mundo. Recorrentemente o açúcar produzido é clarificado utilizando vários processos, dentre eles o processo de sulfitação, sendo o mais impactante para o ambiente e para a população. Por este método ser questionado por normas de segurança alimentar, qualidade do produto, perdas de sacarose durante o processamento, e por questões ambientais, os pesquisadores vem se empenhando cada vez mais em estudos a partir de fontes naturais como plantas e vegetais. Diante disso, o trabalho enfoca no processo de clarificação do caldo de cana de açúcar a partir da utilização de semente de *Moringa oleifera* (moringa) e da cutícula e medula foliar de *Cereus peruvianus* (cacto-vela). A clarificação foi avaliada por meio do teste fitoquímico para a determinação de polifenóis e flavonoides, e por meio das análises de atividade antioxidante e pró-oxidativa do caldo. O potencial clarificante do extrato vegetal demonstrou a possibilidade de utilização no processo da indústria sucroalcooleira a fim de reduzir os impactos negativos da sulfitação ao ambiente e à saúde humana.

Palavras Chave: Açúcar, Extratos vegetais, Flavonoides, Indústria açucareira, Polifenóis.

ABSTRACT

Sugarcane is the main source for the production of white sugar and ethanol, and Brazil is the largest producer in the world. Sugar is clarified using several processes, among them the sulphitation, which is the most harmful for the environment and population. Thus, it has been questioned by its food safety, product quality, sucrose losses during processing, and environmental impact. Considering that, researchers have been increasingly searching for new techniques to avoid these problems and it has been found clarification properties in extracts from natural sources. Therefore, the work focuses on the clarification process of sugarcane juice using *Moringa oleifera* (moringa) seed and *Cereus peruvianus* (cacto-vela) cuticle and pith. The clarification was evaluated through the phytochemical test for the determination of polyphenols and flavonoids, and through the analysis of antioxidant and pro-oxidative activity of the clarified juice. The clarifying potential of the plant extract demonstrated the possibility of using it in the sugar-alcohol industry process in order to reduce the negative impacts of sulfitation on the environment and human health.

Keywords: Flavonoids, Plant extracts, Polyphenols, Sugar, Sugar industry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1 - Fluxograma do método alternativo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar utilizando extratos de fontes naturais.....31

CAPÍTULO II

Figura 2 - Caldo de cana-de-açúcar recém-extraído (A) e caldo com ajuste de pH (B).....44

Figura 3 - Caldo de cana com extrato de *M. oleifera* nas concentrações de 1000 µg/mL (A) a 85°C e 1000 µg/mL (B) e 200 µg/mL (C) a 80°C.....44

Figura 4 – Na figura, A e B, os caldos após o processo de clarificação. Da esquerda para a direita nas duas imagens, o caldo puro seguido de três caldos clarificados em diferentes concentrações de extrato de *M. oleifera* e temperaturas de aquecimento.....45

Figura 5 - Diluição dos caldos (A), determinação de polifenóis (B), determinação de flavonoides (C) e avaliação antioxidante por meio do teste de DPPH (D). Nas imagens, da esquerda para a direita, caldo puro e caldos clarificados.....47

Figura 6 - Avaliação da atividade pró-oxidativa dos extratos de *Moringa oleifera* e *Cereus peruvianus*. Onde, A: BSA; B: BSA + CuSO₄; C: BSA + CuSO₄ + H₂O₂; 1: Cutícula de *C. peruvianus* a 5 mg/mL; 2: Medula foliar de *C. peruvianus* a 5 mg/mL; 3: *M. oleifera* a 5 mg/mL; 4: Cutícula de *C. peruvianus* a 10 mg/mL; 5: *M. oleifera* a 10 mg/mL; 6: Medula foliar de *C. peruvianus* a 10 mg/mL.....51

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Características dos caldos de cana-de-açúcar utilizados.....	44
Tabela 2 - Determinação dos parâmetros do caldo clarificado.....	45
Tabela 3 - Correlação entre os parâmetros do caldo clarificado.....	46
Tabela 4 - Percentual de clarificação, determinação de polifenóis e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de DPPH.....	47
Tabela 5 - Percentual de clarificação, determinação de polifenóis e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de DPPH.....	48
Tabela 6 - Percentual de clarificação, determinação de polifenóis e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de DPPH.....	48
Tabela 7 - Percentual de clarificação, determinação de polifenóis e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de DPPH.....	49
Tabela 8 - Percentual de clarificação e determinação de polifenóis e flavonoides.....	50
Tabela 9 - Avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de DPPH e FRAP.....	50

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

BSA	Albumina Sérica Bovina
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAG	Equivalente de ácido gálico
ER	Equivalente de rutina
ET	Equivalente de trolox
FRAP	Poder antioxidante de redução de ferro
ICUMSA	Comissão Internacional para Métodos Uniformes de Análise de Açúcar
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MRE	Mobilidade Relativa em Eletroforese
SDS-PAGE	Dodecil Sulfato de Sódio - Eletroforese em Gel de Poliacrilamida
TEMED	Tetramethylethylenediamine
TPTZ	2,4,6-Tris(2-Pyridyl)-S-Triazine

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	20
2. OBJETIVOS	22
3. REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO I	26
1. INVENÇÃO	28
1.1 Campo da invenção	28
1.2 Estado da técnica	28
1.3 Breve descrição da invenção	29
1.4 Descrição detalhada da invenção	30
1.5 Principais resultados obtidos com a aplicação da invenção	31
1.6 Reinvidicações	32
2. REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO II	35
1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAL E MÉTODOS	38
2.1 Obtenção do caldo de cana-de-açúcar	38
2.2 Obtenção dos agentes clarificantes	38
2.2.1 Obtenção do pó da semente de <i>M. oleifera</i>	38
2.2.2 Obtenção de cutícula e medula foliar de <i>C. peruvianus</i>	39
2.3 Obtenção das soluções estoque dos agentes clarificantes	39
2.3.1 Preparo de solução estoque de <i>M. oleifera</i> e <i>C. peruvianus</i>	39
2.4 Tratamento do caldo de cana com <i>M. oleifera</i> e <i>C. peruvianus</i>	40
2.5 Avaliação da clarificação do caldo após tratamento	40
2.5.1 Avaliação da sedimentação do caldo	40
2.5.2 Determinação dos índices de cor ICUMSA	40
2.5.3 Determinação de polifenóis e flavonoides totais	40
2.5.4 Avaliação da atividade antioxidante	41
2.5.4.1 Sequestro do radical livre DPPH	41
2.5.4.2 Redução do íon ferro (FRAP)	42
2.6 Avaliação da atividade oxidativa	42
2.6.1 Preparo das amostras	42
2.6.2 Preparo do gel de eletroforese unidimensional (SDS-PAGE)	42
2.7 Análises estatísticas do tratamento	43
3. RESULTADOS	43
4. DISCUSSÃO	51
5. CONCLUSÃO	52

6. REFERÊNCIAS	53
Considerações finais	57

1. INTRODUÇÃO GERAL

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2020), a cana-de-açúcar é uma das principais e crescentes culturas da economia brasileira. O país é considerado o primeiro do mundo na produção de açúcar e etanol e vem conquistando cada vez mais o mercado externo no ramo alimentício e energético (BERNARDI et al., 2015; MAPA, 2022). A estimativa é de que o Brasil deve colher 595 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra 2022/2023, podendo produzir 40,3 milhões de toneladas de açúcar e 24,8 bilhões de litros de etanol, além de gerar energia limpa, decorrente do processo da indústria sucroalcooleira (MAPA, 2022)

O caldo de cana é submetido a diversas etapas e operações unitárias para obtenção do açúcar e do álcool. O processo na indústria sucroalcooleira tem como escopo a extração e concentração da sacarose da cana-de-açúcar, e pode produzir diferentes tipos de açúcar, como o mascavo, demerara, VHP (very high polarization), cristal e refinado, resultando em um produto detentor de qualidade. Este atributo está diretamente relacionado com a variedade da cana-de-açúcar e a etapa de clarificação, sendo que a falta de um tratamento eficaz se traduz em um açúcar de menor qualidade (ENGENHO NOVO, 2008; MORILLA, 2015). A cor do produto indica o tipo de açúcar e é determinado em função da unidade de cor estabelecido pelo ICUMSA (International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis: Comissão Internacional para Métodos Uniformes de Análise de Açúcar) em que quanto mais baixa a unidade, mais claro ou mais branco é o açúcar gerado. Sendo assim, a clarificação de alguns tipos de açúcares visa a obtenção de um caldo livre de impurezas, isto é, substâncias pigmentosas que em sua maioria são compostos fenólicos (PATON e DUONG, 1992), principalmente polifenóis, fenilpropanóides e flavonóides (WILLIAMS et al., 1973; SMITH e PATON, 1985).

Com o avanço da biotecnologia, variedades de cana-de-açúcar mais produtivas tem aprimorado o processo; contudo, as técnicas de clarificação empregadas atualmente não dispõem de modificações substanciais nos últimos anos. Apesar de diferentes estudos proporem novas técnicas como a bicarbonatação (ARAÚJO, 2007), carbonatação (HAMERSKI et al., 2011), filtração tangencial (ARMOA, 2012), ozonização e peroxidação (ARAÚJO, 2007), e uso de elétrons acelerados (LIMA, 2012), a sulfitação é a técnica mais utilizada. Esta tem sido questionada por entidades responsáveis pela segurança alimentar e ambiental, por produzir subprodutos tóxicos,

cancerígenos e poluentes, que podem provocar a destruição da camada de ozônio e liberar resíduos de enxofre prejudiciais à saúde do homem e dos animais e causar danos ambientais, além de apresentar perdas de sacarose durante o processo e diminuir a qualidade do produto (SILVA et al., 2008; ZHANG et al., 2021). Estudos recentes têm demonstrado a possibilidade de se desenvolver e implantar métodos mais eficazes e seguros para a clarificação e produção de açúcar. Para tanto, diferentes pesquisas têm direcionado e validado a utilização de produtos obtidos a partir de fontes naturais (VAZ et al., 2010). Uma fonte natural que vem sendo estudada é a *Moringa oleifera*, onde já foi comprovada sua ação ativa para remoção de compostos inorgânicos do açúcar VHP (COSTA et al., 2015), outra fonte candidata a fornecer compostos ativos passíveis de serem incorporados ao processo de clarificação do caldo de cana é o *Cereus peruvianus*, um cacto que demonstrou possuir em sua cutícula caulinar compostos eficientes para eliminar cerca de 95% da cor e turbidez do extrato de estévia (FERNANDES et al., 2001).

O estresse oxidativo ocorre devido a um desequilíbrio entre os fatores pró-oxidantes e antioxidantes e é considerada uma consequência da produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO), ou uma redução nas defesas antioxidantes do organismo (FINKEL e HOLBROOK, 2000). Os extratos de plantas e flavonoides e suas propriedades biológicas têm sido alvo intensamente de pesquisas in vitro e em sistemas ex vivo e in vivo de mamíferos. As referências bibliográficas expõem que estes compostos e extratos podem agir como anti- ou pró-oxidantes influenciando o sistema redox celular e/ou modulando vias de sinalização (WILLIAMS et al., 2004). As plantas podem apresentar fenóis que atuam como antioxidantes naturais em forma livre e ligada (ROBBINS, 2003). A forma ligada pode se dar com vários compostos presentes nas plantas através de ligações de éter, éster e acetato (ZADERNOWSKI et al., 2009) e em consequência, os antioxidantes têm sido uma parte essencial da tecnologia de preservação e dos cuidados da saúde contemporânea. A exploração e utilização de antioxidantes de origem vegetal tais como: frutas e vegetais vem sendo estudadas arduamente mesmo embora possam apresentar uma potencial toxicidade de alguns antioxidantes sintéticos (POPA et al., 2008).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem por objetivo desenvolver um método alternativo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar no processo de produção sucroalcooleira por meio da utilização de extratos de sementes de *Moringa oleifera* e de cutícula e medula foliar de *Cereus peruvianus*. Objetiva também determinar o conteúdo de polifenóis e flavonoides presentes no caldo (clarificado e não-clarificado), além de avaliar a atividade antioxidante e pró-oxidativa do caldo clarificado.

3. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F. A. D. Processo de clarificação do caldo de cana pelo método da bicarbonatação. **Revista Ciência & Tecnologia**, Ano 1, n.1, p. 1-6, Jul.-Dez. 2007.
- ARMOA, M. H. Clarificação de caldo de cana-de-açúcar por filtração tangencial em membrana compósita titânia/sílica. **Ciência & Tecnologia**, Jaboticabal, v. único, n. 1, p. 1-12, Jan. 2012.
- BERNARDI, R.; PARAÍSO, P. R.; JORGE, L. M. M. Modelagem matemática da cinética de clarificação do caldo de cana mediante ozonização em reator batelada. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 10., 2014, Florianópolis. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. São Paulo: Blucher, Fev. 2015, v. 1, n. 2, p. 11853-11860. Disponível em: <https://www.doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-0933-22337-173261>. Acesso em: 12 fev. 2020. Sigla do evento: COBEQ.
- COSTA, G. H. G.; MASSON, I. S.; FREITA, L. A.; ROVIERO, J. P.; MUTTON, M. J. R. Reflexos da clarificação do caldo de cana com moringa sobre compostos inorgânicos do açúcar VHP. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 154-159, Fev. 2015. DOI: 10.1590/1807-1929/agriambi.v19n2p154-159
- ENGENHO NOVO. **Clarificação de xarope por flotação**. Rio de Janeiro: TecEN Comercial, 2008.
- FERNANDES, L. M.; PEREIRA, N. C.; MENDES, E. S.; LIMA, O. C. M.; COSTA, S. C. Clarificação do extrato aquoso de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni utilizando o cacto, *Cereus peruvianus*. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 23, n. 6, p. 1369-1374, Maio 2001. DOI: 10.4025/actascitechnol.v23i0.2766
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, p. 239-247, Nov. 2000. DOI: 10.1038/35041687
- HAMERSKI, F.; AQUINO, A. D.; NDIAYE, P. M. Clarificação do caldo de cana-de-açúcar por carbonatação – ensaios preliminares. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 33, n. 3, p. 337-341, Jul. 2011. DOI: 10.4025/actascitechnol.v33i3.7914
- LIMA, R. B. **Processo de clarificação de caldo de cana-de-açúcar aplicando elétrons acelerados**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012. DOI: 10.11606/D.85.2012.tde-16012013-143923

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Aumenta a produtividade de canaviais brasileiros e diminui área ocupada pela cana.** Brasília, DF: MAPA, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/aumenta-a-produtividade-dos-canaviais-brasileiros-e-diminui-area-ocupada-pelo-cultivo-de-cana>. Acesso em: 12 maio 2020.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Papel da cana-de-açúcar como fator ambiental, gerador de renda e empregos é destaque em abertura de safra.** Brasília, DF: MAPA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/papel-da-cana-de-acucar-como-fator-ambiental-gerador-de-renda-e-empregos>. Acesso em: 13 maio 2022.

MORILLA, C. H. G. **Viabilidade econômico-financeira da substituição do dióxido de enxofre pelo peróxido de hidrogênio na cadeia produtiva do açúcar.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015. DOI: 10.11606/D.11.2015.tde-12052015-170319

PATON, N. H.; DUONG, M. Sugar cane phenolics and first expressed juice colour. Part III. Role of Chlorogenic acid and flavonoids in enzymic browning of cane juice. **International Sugar Journal**, v. 94, n. 1124, p. 170–176, 1992.

POPA, V. I.; DUMITRU, M.; VOLF, I.; ANGHEL, N. Lignin and polyphenols as allelochemicals. **Industrial Crops and Products**, v. 27, n. 2, p. 144–149, Mar. 2008. DOI: 10.1016/j.indcrop.2007.07.019

ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2866–2887, May 2003. DOI: 10.1021/jf026182t

SILVA, R. B.; WOLQUIND, C. S.; SILVA, F. S.; PORTO, A. G.; SILVA, F. T. C. Aplicação da produção mais limpa no processo de clarificação do caldo de cana para produção de açúcar. **Revista GEPROS – Gestão da Produção, Operações e Sistemas**, ano 4, n. 1, p. 59-71, Jan.-Mar. 2008. DOI: 10.15675/gepros.v1i1.735

SMITH, P.; PATON, N. H. Sugarcane flavonoids. **Sugar Technology Review**, v. 12, p. 117-142, 1985.

VAZ, L. G. L.; KLEN, M. R. F.; VEIT, M. T.; SILVA, E. A.; BARBIERO, T. A.; BERGAMASCO, R. Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p. 45-54, 2010. DOI: 10.1590/S0100-46702010000400006

WILLIAMS, C. A.; HARBONE, J. B.; CLIFFORD, H. T. Negatively charged flavones and tricin as chemosystematic markers in the palmae. **Phytochemistry**, v. 12, n. 10, p. 2417-2430, Oct. 1973. DOI: 10.1016/0031-9422(73)80449-2

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. E.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, n. 7, p. 838-849, Apr. 2004. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.001

ZADERNOWSKI, R.; CZAPLICKI, S.; NACZK, M. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 685-689, Feb. 2009. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.06.030

ZHANG, H.; LUO, J.; LIU, L.; CHEN, X.; WAN, Y. Green production of sugar by membrane technology: How far is it from industrialization? **Green Chemical engineering**, v. 2, n. 1, p. 27-43, Mar. 2021. DOI: 10.1016/j.gce.2020.11.006

CAPÍTULO I

PATENTE DE INVENÇÃO DE PROCESSO DE CLARIFICAÇÃO DE CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR UTILIZANDO EXTRATOS DE FONTES NATURAIS

Filipe Oliveira Granero¹, Regildo Márcio Gonçalves da Silva^{1,2}

¹Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, SP, Brasil.

²Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Assis, SP, Brasil.

RESUMO

Proposta de um método alternativo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar que utiliza extratos de fontes naturais com potencial clarificante descrito na literatura. É descrito o preparo dos extratos de semente de *M. oleífera* e cutícula e medula foliar de *C. peruvianus*, e os parâmetros para adição dos mesmos ao processo de clarificação, que se referem mais especificamente ao pH e temperatura, valores próximos ao utilizado na indústria, e a concentração de extrato no caldo. A invenção se aplica ao processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar e pode ser utilizado na operação da indústria a fim de reduzir ou eliminar a etapa de sulfitação, diminuindo assim a utilização de produtos químicos nocivos ao ambiente e a saúde humana, e garantindo a qualidade do produto final. Este processo poderá ser licenciado e aplicado na indústria sucroalcooleira, visando uma produção mais verde, expandindo o conceito de empresa eco-friendly à indústria.

Palavras-chave: Açúcar, Extratos vegetais, Flavonoides, Indústria açucareira, Polifenóis.

ABSTRACT

Proposal of an alternative method for clarification of sugarcane juice that uses extracts from natural sources with clarifying potential described in the literature. The preparation of extracts of *M. oleifera* seed and *C. peruvianus* cuticle and pith is described, as well as the parameters for their addition to the clarification process, which refer more specifically to pH and temperature, values close to those used in the industry, and the concentration of extract in the sugarcane juice. The invention applies to the sugarcane juice clarification process and can be used in the industrial operation in order to reduce or eliminate the sulphitation step, thus reducing the use of chemicals harmful to the environment and human health, and ensuring the quality of the final product. This process can be licensed and applied in the sugar and ethanol industry, aiming at a greener production, expanding the concept of an eco-friendly company to the industry.

Keywords: Flavonoids, Plant extracts, Polyphenols, Sugar, Sugar industry.

1. INVENÇÃO

A presente invenção se refere a um método alternativo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar utilizando extratos de fontes naturais.

1.1 Campo da invenção

A presente inovação se refere ao processo de clarificação na indústria sucroalcooleira, esta que é uma etapa chave na produção do açúcar responsável por remover impurezas e substâncias pigmentosas do caldo de cana a fim de diminuir cor e turbidez (YU et al., 2013; SILVA et al., 2015).

De forma geral, o processo de produção do açúcar a partir do caldo de cana consiste na extração, clarificação (passando pelos processos de sulfitação, caleagem, aquecimento, decantação e filtração), evaporação, cristalização e podem ter ainda o refinamento do açúcar (YU et al., 2013). Contudo, o processo de sulfitação tem sido questionado por entidades de segurança alimentar e ambiental e, apesar de fornecer o açúcar branco esperado e ter um custo menor na produção, apresenta perdas e alguns problemas no processo (SILVA et al., 2015)

Considerando isso, novas técnicas têm sido pesquisadas, porém o custo e a complexidade têm impedido a aplicação no processo de produção na indústria sucroalcooleira (KOCHERGIN et al., 2010). Entretanto, estudos recentes têm direcionado e validado a capacidade clarificante de extratos de origem vegetal e a possibilidade de utilização dos mesmos em processos de clarificação (VAZ et al., 2010). Portanto, o método de clarificação utilizando extratos de fontes naturais (semente de *Moringa oleifera* e cutícula e medula foliar de *Cereus peruvianus*) é proposto como alternativa à sulfitação.

1.2 Estado da técnica

As patentes concedidas nos Estados Unidos da América: US1094436 - “*Process of purifying and clarifying raw sugar-cane juice*”, US2610932 “*Clarification of sugar cane juice*”, US3808050 “*Clarification and treatment of sugar juice*” e US2009/0126720 A1 “*Sugar cane juice clarification process*” descrevem o processo de clarificação do caldo de cana por meio do método mais convencional, utilizando parâmetros (pH e temperatura) estabelecidos, e ainda acrescentando cal hidratado ao caldo. Da mesma forma, a presente invenção tem como proposta aplicar os parâmetros (pH, temperatura de aquecimento, tempo de decantação e método de

filtração) utilizados na indústria com a inovação do acréscimo dos extratos vegetais de *M. oleífera* e *C. peruvianus* ao caldo.

Atualmente, não há relatos na literatura acerca da utilização de *C. peruvianus* na clarificação de caldo de cana, e, apesar de haver trabalhos quem utilizam as sementes de *M. oleífera* para a realização deste processo, os procedimentos descritos diferem em alguns aspectos. Gallio (2019) e Teixeira et al. (2021), na etapa de preparo dos extratos, utilizaram sementes trituradas sem a separação dos lipídeos e os extratos do agente clarificante foram preparados em solução salina e aquosa. Considerando isso, a presente proposta difere dos estudos citados utilizando esta espécie na clarificação do caldo de cana. Além de extrair os lipídeos presentes na semente de *M. oleífera*, que podem ser utilizados para a produção de biodiesel, evita-se a utilização de soluções salinas que podem, assim como na sulfitação, produzir resíduos e subprodutos da clarificação.

Logo, a invenção fornece uma alternativa nova relacionada a sulfitação e as perdas no processo de produção do açúcar, além de fornecer uma técnica com possibilidade de aplicação, de forma total ou complementar, ao método convencional de clarificação do caldo de cana, possibilitando à indústria o escalonamento e produção com pouca ou sem a utilização de produtos químicos no processamento e obtenção do produto final utilizado principalmente para a alimentação humana.

1.3 Breve descrição da invenção

A metodologia do estudo foi estruturada de acordo com método convencional de produção da indústria sucroalcooleira de modo a tornar a invenção mais próxima ao processo, sem grandes alterações nas etapas de produção. Visto que não há relatos na literatura ou patentes concedidas sobre a mesma técnica e aplicação das espécies vegetais no processo produtivo, os parâmetros da indústria (pH, temperatura, decantação e filtração) e concentração dos extratos (determinada a partir de resultados preliminares) foram utilizadas para alcançar as melhores interações do caldo com os extratos vegetais e validar o processo proposto pela invenção.

O método alternativo de clarificação do caldo de cana utilizando extratos de fontes naturais compreende etapas de preparo dos extratos vegetais, extração do caldo de cana, adição de cal hidratada e extratos, aquecimento, decantação e filtração. De forma mais específica, o processo foi dividido em duas etapas: etapa de preparo dos extratos vegetais e etapa de clarificação.

1.4 Descrição detalhada da invenção

De acordo com as especificações da invenção, o processo de clarificação utilizando extratos vegetais como agente clarificante compreende as etapas de obtenção dos extratos e o processo de clarificação.

Etapas 1: Preparo dos extratos vegetais

Os frutos de *Moringa oleifera* foram coletados e as sementes foram separadas e passaram por um processo de secagem a 40°C em estufa de ar forçado. Posteriormente, as sementes foram desengorduradas (extração de lipídeos) em aparelho extrator de óleo tipo Soxhlet, resultando em uma torta (massa) desengordurada das sementes que foi seca na mesma estufa para a obtenção de um pó.

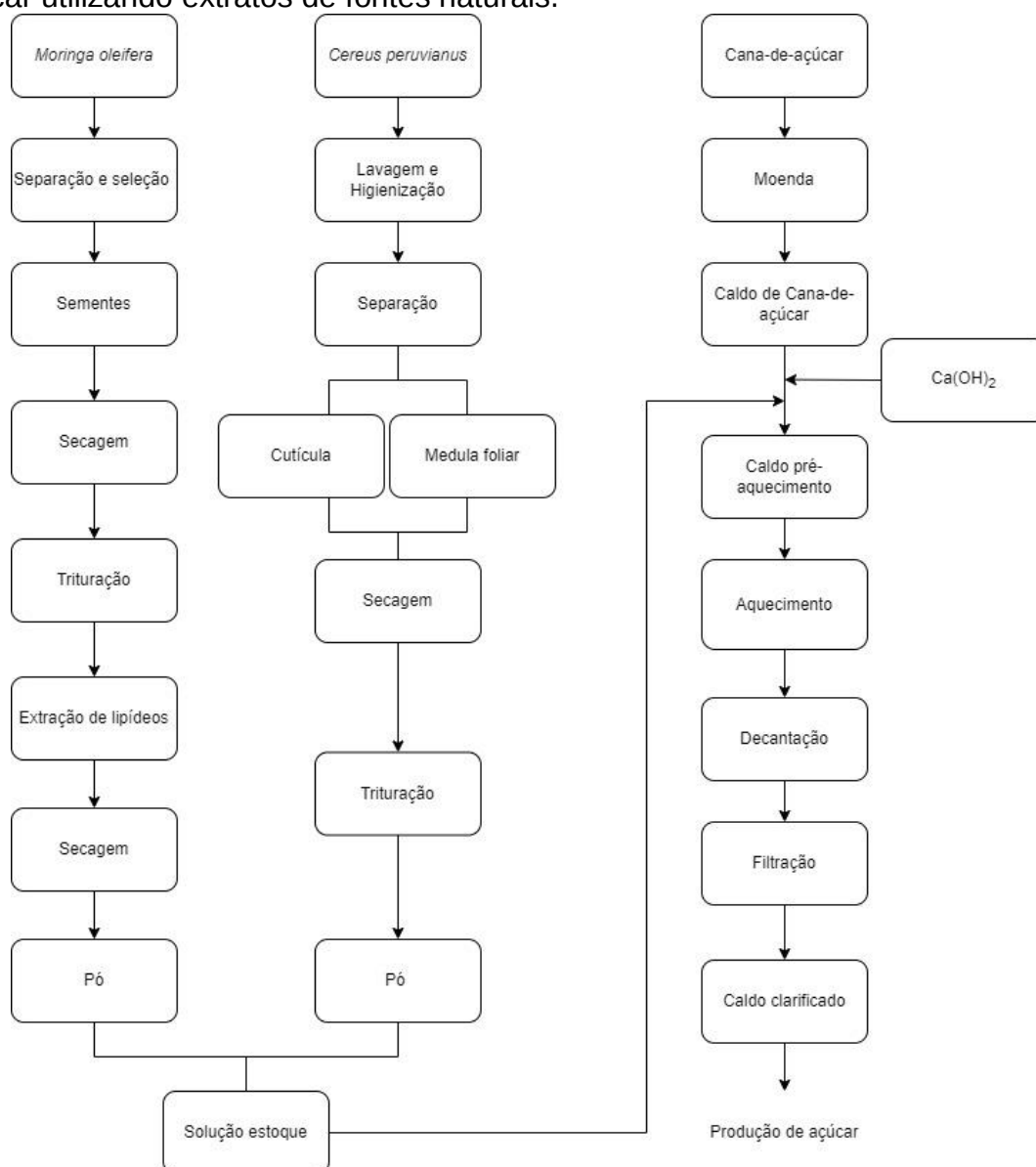
O cacto *Cereus peruvianus* foi coletado e a folha foi cortada em pedaços menores para facilitar o manuseio e separação das secções. Posteriormente, a folha foi higienizada e a cutícula e a medula foliar foram separadas. As duas partes (cutícula e medula foliar) foram então levadas à estufa de ar forçado (40°C) para secagem e posteriormente foram trituradas em um moinho de facas para obtenção de um pó.

Os pós da semente de *M. oleifera* e cutícula e medula foliar de *C. peruvianus* foram utilizados para foram pesados e diluídos em água destilada. Esta solução foi armazenada por um período de, no máximo, 72 horas em temperatura de refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$), sendo priorizada a utilização da mesma logo após o preparo.

Etapas 2: Clarificação

O tratamento do caldo de cana foi realizado de acordo com o processo da indústria sucroalcooleira. Durante esta etapa, a cana-de-açúcar foi moída para extração do caldo. Foi adicionado cal hidratada ao caldo até que fosse atingido o pH entre 6,8 e 7,2 e, em seguida, o extrato vegetal foi adicionado na concentração que variou entre 400 e 1200 μg extrato/mL caldo, sendo preferencialmente entre 800 e 1000 μg extrato/mL caldo. O caldo foi então aquecido a temperatura de 80°C a 110°C por 25-35 min com agitação de 30 a 50 rpm, sendo que a faixa de temperatura entre 95°C e 105°C mais adequada. Posteriormente, o caldo foi mantido em repouso por 30 a 90 min, sendo mais preferível um tempo de repouso de aproximadamente 50 a 70 min para decantação dos sedimentos e seguidamente foi filtrado para a obtenção do caldo clarificado que seguiria para a produção de açúcar (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma do método alternativo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar utilizando extratos de fontes naturais.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

1.5 Principais resultados obtidos com a aplicação da invenção

No processo de clarificação proposto pela presente invenção, o pH do caldo de cana-de-açúcar foi ajustado com hidróxido de cálcio para pH entre 6,8 e 7,2, e foi adicionado ao caldo a solução com o agente clarificante (extrato vegetal) na concentração entre 800 e 1000 µg extrato/mL caldo, preferencialmente. O caldo foi aquecido aproximadamente à temperatura entre 95 e 105°C por 25-35 min com agitação entre 30 e 50 rpm. Por fim, a decantação foi realizada por um tempo entre 50 e 70 min, seguido de filtração para a obtenção do caldo clarificado.

A aplicação da invenção proposta demonstrou a possibilidade de utilização dos extratos vegetais no processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar. A invenção se enquadra em Technology Readiness Level (TRL) 4, uma vez que se colocou em prática a prova de conceito, utilizando os parâmetros definidos na proposta para a validação da aplicação por meio de investigação laboratorial.

A clarificação foi avaliada a partir dos índices de cor ICUMSA e demonstrou diminuição na presença de substâncias pigmentosas (polifenóis e flavonoides) com a adição das soluções com os agentes clarificantes (extratos vegetais) ao caldo, proporcionando uma clarificação maior que 55% seguindo os parâmetros definidos na presente proposta de inovação. Somado a isso, sem o processo de sulfitação, a produção foi beneficiada pela não-utilização de produtos químicos nocivos ao ambiente e à saúde humana e animal.

1.6 Reinvidicações

1. Composição do agente clarificante caracterizado por conter sementes desengorduradas de *M. oleifera* em base aquosa.
2. Composição do agente clarificante, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela presença de pós de sementes de *M. oleifera* que foram obtidos a partir de etapas sequenciais, as quais compreendem:
 - a. Separação das sementes;
 - b. Secagem das sementes;
 - c. Trituração;
 - d. Extração de lipídeos;
 - e. Secagem das sementes trituradas e desengorduradas.
3. Composição dos agentes clarificantes caracterizado por conter cutícula ou medula foliar de *C. peruvianus* em base aquosa.
4. Composição dos agentes clarificantes, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pela presença de pós de cutícula ou medula foliar de *C. peruvianus* que foram obtidos a partir de etapas sequenciais, as quais compreendem:
 - a. Separação das partes vegetais (cutícula e medula foliar);
 - b. Secagem;
 - c. Trituração.

5. Processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar caracterizado pela utilização de agentes clarificantes de fontes naturais (sementes de *M. oleifera* ou cutícula de *C. peruvianus* ou medula foliar de *C. peruvianus*) e que compreende etapas de ajuste de pH, adição do agente clarificante, aquecimento, decantação e filtração.
6. Processo de clarificação de caldo de cana-de-açúcar, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado por compreender as seguintes etapas:
 - a. Ajuste do pH com hidróxido de cálcio até atingir pH de 6,8 a 7,2;
 - b. Adição dos agentes clarificantes de fontes naturais na concentração que pode variar de 800 a 1200 µg/mL caldo;
 - c. Aquecimento do caldo preferencialmente na temperatura de 95°C a 105°C por 25 a 35 minutos e em velocidade de rotação de 30 a 50 rpm;
 - d. Decantação com tempo de duração entre 50 e 70 minutos;
 - e. Filtração do caldo.
7. Processo de produção eco-friendly caracterizado pela utilização dos lipídeos extraídos, utilização de soluções aquosas dos agentes clarificantes, valorização das espécies e desenvolvimento de atividades sustentáveis.
8. Processo de produção eco-friendly, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pela utilização dos lipídeos extraídos para a produção de biodiesel, favorecendo a própria indústria sucroalcooleira, ou direcionados para aplicação em outras indústrias.
9. Processo de produção eco-friendly, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pela utilização de soluções aquosas dos agentes clarificantes, diminuindo os resíduos e subprodutos tóxicos gerados pela indústria sucroalcooleira.
10. Processo de produção eco-friendly, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pela valorização das espécies, uma vez que, além de fornecer os extratos para as soluções clarificantes na produção do açúcar na indústria sucroalcooleira, podem prover outras partes vegetais para uso alimentar e/ou medicinal.
11. Processo de produção eco-friendly, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo desenvolvimento de atividades de plantio e preservação das espécies, promovendo a produção sustentável e destacando a importância da biodiversidade brasileira.

2. REFERÊNCIAS

- DIONISI, F. A. R.; CALABRESE, R. J. **Sugar cane juice clarification process**. Depositante: Fabio Alessio Romano Dionisi. Procurador: E.I. du Pont de Nemours and Company. US2009/0126720 A1. Depósito: 3 Sept. 2008. Concessão: 21 May 2009.
- EAKIN, K. H. **Clarification of sugar cane juice**. Depositante: Keith H. Eakin. US2610932. Depósito: 27 July 1950. Concessão: 16 Sept. 1952.
- GALLIO, L. T. **Avaliação de coagulantes alternativos no processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar processado**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2019.
- GORDON, R. E. **Process of purifying and clarifying raw sugar-cane juice**. Depositante: Robert E. Gordon. US1094436. Depósito: 31 Mar. 1913. Concessão: 28 Apr. 1914.
- KOCHERGIN, V.; GAUDET, C.; ROBERT, M. A juice clarifier with turbulence reduction devices: results of first industrial trials. **International Sugar Journal**, v. 83, p. 315-325, May 2011.
- PALEY, L. A. **Clarification and treatment of sugar juice**. Depositante: Lewis A. Paley. US3808050. Depósito: 1 July 1965. Concessão: 30 Apr. 1974.
- SILVA, W. S.; SARTORI, J. A. S.; AGUIAR, C. L. Combination Effect of Ozone and Heat Treatment for the Color Reduction in Sugarcane Juice. **Chemical and Process Engineering Research**, v. 35, p. 75-84, 2015.
- TEIXEIRA, V.; PARRA, S. C. M.; SILVA, A. F.; COSTA, G. H. G.; FREITA, L. A.; FREITA, C. M.; MUTTON, M. J. R. Moringa seed extract with a potential similar flocculant activity to a synthetic polymer during sugarcane clarification. **Biomass Conversion and Biorefinery**, July 2021. DOI: 10.1007/s13399-021-01694-5
- VAZ, L. G. L.; KLEN, M. R. F.; VEIT, M. T.; SILVA, E. A.; BARBIERO, T. A.; BERGAMASCO, R. Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p. 45-54, 2010. DOI: 10.1590/S0100-46702010000400006
- YU, X.; YE, J.; HU, J.; LIAO, X.; GAO, J. Fractal Behavior in the clarification process of cane sugar production. **Mathematical problems in Engineering**, v. 2013, n. 868313, p. 1-9, Nov. 2013. DOI: 10.1155/2013/868313

CAPÍTULO II

MÉTODO ALTERNATIVO DE CLARIFICAÇÃO DE CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR UTILIZANDO EXTRATOS DE FONTES NATURAIS

Filipe Oliveira Granero¹, Regildo Márcio Gonçalves da Silva^{1,2}

¹Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, SP, Brasil.

²Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Assis, SP, Brasil.

RESUMO

A cana-de-açúcar é a principal fonte para a produção do açúcar branco e etanol sendo o Brasil o maior produtor do mundo. Recorrentemente o açúcar produzido é clarificado utilizando vários processos, dentre eles o processo de sulfitação, sendo o mais impactante para o ambiente e para a população. Por este método ser questionado por normas de segurança alimentar, qualidade do produto, perdas de sacarose durante o processamento, e por questões ambientais, os pesquisadores vem se empenhando cada vez mais em estudos a partir de fontes naturais como plantas e vegetais. Diante disso, o trabalho enfoca no processo de clarificação do caldo de cana de açúcar a partir da utilização de semente de *Moringa oleifera* (moringa) e da cutícula e medula foliar de *Cereus peruvianus* (cacto-vela). A clarificação foi avaliada por meio do teste fitoquímico para a determinação de polifenóis e flavonoides, e por meio das análises de atividade antioxidante e pró-oxidativa do caldo. Os resultados demonstraram a clarificação de aproximadamente 60% utilizando os extratos na concentração de 1000 µg extrato/mL caldo e aquecimento a 100°C, reduzindo o conteúdo de polifenóis e flavonoides e aumentando a atividade antioxidante do caldo clarificado, além de não demonstrar atividade pró-oxidativa em concentração dez vezes maior. O potencial clarificante do extrato vegetal demonstrou a possibilidade de utilização no processo da indústria sucroalcooleira a fim de reduzir os impactos negativos da sulfitação ao ambiente e à saúde humana.

Palavras Chave: Açúcar, Extratos vegetais, Flavonoides, Indústria açucareira, Polifenóis.

ABSTRACT

Sugarcane is the main source for the production of white sugar and ethanol, and Brazil is the largest producer in the world. Sugar is clarified using several processes, among them the sulphitation, which is the most harmful for the environment and population. Thus, it has been questioned by its food safety, product quality, sucrose losses during processing, and environmental impact. Considering that, researchers have been increasingly searching for new techniques to avoid these problems and it has been found clarification properties in extracts from natural sources. Therefore, the work focuses on the clarification process of sugarcane juice using *Moringa oleifera* (moringa) seed and *Cereus peruvianus* (cacto-vela) cuticle and pith. The clarification was evaluated through the phytochemical test for the determination of polyphenols and flavonoids, and through the analysis of antioxidant and pro-oxidative activity of the clarified juice. The results demonstrated the clarification of approximately 60% using the extracts at a concentration of 1000 µg extract/mL juice and heating at 100°C, reducing the content of polyphenols and flavonoids and increasing the antioxidant activity of the clarified juice, in addition to not demonstrating pro-oxidative oxidative at a ten times greater concentration. The clarifying potential of the plant extract demonstrated the possibility of using it in the sugar-alcohol industry process in order to reduce the negative impacts of sulfitation on the environment and human health.

Keywords: Flavonoids, Plant extracts, Polyphenols, Sugar, Sugar industry.

1. INTRODUÇÃO

O açúcar a partir de cana-de-açúcar representa a maior parte da produção mundial, sendo um dos produtos mais consumidos na dieta alimentar (CHOW, 2017). A estimativa é de que o Brasil, na safra de 2022/2023, produza mais de 40 milhões de toneladas do produto, atendendo o mercado interno e externo de forma significativa (MAPA, 2022)

De forma geral, o processo de produção do açúcar na indústria sucroalcooleira consiste em cinco etapas: moenda da cana para extração do caldo; adição de cal hidratada; clarificação; evaporação e cristalização. O processo depende da cana-de-açúcar, para fornecer um caldo de cana de qualidade, e da etapa de clarificação, operação importante para obtenção do açúcar (KUMAR e CHAND, 2015; MENG et al., 2021). A técnica mais convencional de clarificação faz o uso de anidrido sulfuroso (SO_2) para gerar um açúcar mais branco; contudo, este método, conhecido como sulfitação, tem sido questionado quanto à segurança alimentar e ambiental, que consequentemente impõe desafios a indústria sucroalcooleira para busca de alternativas ao uso do químico (VU et al., 2020). Considerando isso, diferentes pesquisas têm direcionado e validado a utilização de produtos obtidos a partir de fontes naturais (VAZ et al., 2010). *Moringa oleifera* e *Cereus peruvianus* são fontes naturais que têm se destacado por apresentarem atividade clarificante e coagulante no tratamento de efluentes industriais (FERNANDES et al., 2001; AHMED e MOHAMMED, 2018).

A *Moringa oleifera* é uma espécie que pertence à família *Moringaceae* e é rica em uma variedade fitoquímicos presentes principalmente nas folhas e sementes. É uma planta que tem apresentado resultados importantes na clarificação de água e efluente industrial, atuando como um coagulante natural (AHMED e MOHAMMED, 2018; NAYANA e ADI, 2019). Além disso, a *M. oleifera* é facilmente cultivada e seus compostos conferem a espécie propriedades nutricionais, pela presença abundante de vitaminais e minerais, e medicinais, pela presença de compostos antioxidantes e fitoesteróis (GOPALAKRISHNAN et al., 2016). Adicionalmente, o óleo extraído da semente de *M. oleifera* pode ser utilizado na indústria alimentícia e na produção de biodiesel (NIJU et al., 2019).

O cacto *Cereus peruvianus* é uma espécie de *Cactaceae* nativa da América latina e, apesar de ter baixo conteúdo de proteínas e vitaminas, é usado na alimentação de animais e pessoas em período de seca, principalmente na região

nordeste do Brasil, onde as condições climáticas adversas impedem o cultivo de algumas culturas (OLIVEIRA et al., 2001). É uma espécie de interesse econômico, farmacológico e industrial. Além de produzir frutos que atendem à demanda alimentar, o extrato apresenta a capacidade de redução de colesterol total e LDL (low-density lipoprotein), o que diminui o risco de doenças cardiovasculares, e a goma do cacto pode ser utilizada na indústria de cosméticos e como flocculante para tratamento de efluentes industriais e clarificação de água (TANAKA et al., 2010; JACOMINI et al., 2015)

O uso de recursos naturais e fontes renováveis tem ganhado destaque cada vez maior pela preocupação com a sustentabilidade e processos de produção verde (ALMEIDA et al., 2014). Logo, o uso de espécies de plantas no processo de clarificação expande o conceito de produção eco-friendly, sendo que, com a diminuição do uso de produtos químicos no processo de sulfitação, o produto final é um açúcar de melhor qualidade, bem como os subprodutos do processo, como a torta resultante dos sedimentos separados no processo de clarificação que é direcionada para melhoramento e nutrição de solo para a agricultura (SPERANÇA et al., 2021). Outro aspecto significativo é o da valorização das espécies e da comunidade local, levando a diversas atividades econômicas como as atividades ambientais, sociais, educacionais e políticas acerca da preservação de plantas que podem ser utilizadas em processos industriais e que geram uma combinação de sustentabilidade, comprometimento da comunidade, qualidade de vida e produção verde (SANTOS e SANTOS, 2020).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do caldo de cana-de-açúcar

O caldo de cana-de-açúcar foi obtido do comércio popular da cidade de Assis. Ao caldo recém-extraído foi adicionado hidróxido de cálcio para o ajuste do pH (para $\text{pH } 7 \pm 0,2$) e este foi utilizado para a avaliação de clarificação.

2.2 Obtenção dos agentes clarificantes

2.2.1 Obtenção do pó da semente de *M. oleifera*

As sementes de *M. oleifera* foram coletadas de três espécimes cultivadas no Campus da Faculdade de Ciências e Letras de Assis (UNESP-Assis) de forma a não causar impacto aos indivíduos. Após a coleta e seleção prévia das sementes, os

revestimentos e as laterais das mesmas foram removidos manualmente para obtenção dos núcleos, sendo que os de boa qualidade (globulares e rígidos) foram selecionados e, posteriormente, processados em triturador de facas para a obtenção de um pó fino de granulometria de 0,84 mm (ARANTES et al., 2012).

O óleo presente no pó obtido dos núcleos das sementes foi extraído com o solvente n-hexano na proporção de 1:10 (m/v) utilizando o equipamento extrator de óleo do tipo Soxhlet. A extração foi realizada por aproximadamente 8 horas. Após este processamento o resíduo do pó das sementes (torta desengordurada) foi seco em estufa de ar forçado à 40°C por 24 horas ou até a obtenção de massa constante (SANTANA, 2009).

2.2.2 Obtenção de cutícula e medula foliar de *C. peruvianus*

As folhas de *C. peruvianus* foram coletas de duas espécimes cultivadas no Campus da Faculdade de Ciências e Letras de Assis (UNESP-Assis) de forma a não causar impacto aos indivíduos. Após a coleta e seleção prévia, as folhas foram devidamente lavadas e a extração da região cortical da folha foi realizada com auxílio de uma descortçadora manual separando a cutícula da medula foliar. As duas partes (cutícula e medula foliar) foram secas em estufa de ar forçado a temperatura média de 40°C até obter peso constante. Logo após, os tecidos vegetais secos foram triturados em moinho de facas para obtenção do pó, sendo que a cutícula foi passada por peneira até obtenção de granulometria de 0,59 mm e para a medula foliar até obtenção de granulometria de 0,84 mm (SOUZA et al., 2016).

2.3 Obtenção das soluções estoque dos agentes clarificantes

2.3.1 Preparo de solução estoque de *M. oleifera* e *C. peruvianus*

A solução estoque foi preparada a partir do pó das sementes de *M. oleifera* ou pó da cutícula ou medula foliar de *C. peruvianus*. O pó foi pesado e diluído em água destilada em quantidade relativa a concentração de 20 mg/mL (m/v), seguido da homogeneização da solução para a extração de ingredientes ativos. Esta solução foi armazenada por um período de, no máximo, 72 horas em temperatura de refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$), sendo priorizada a utilização experimental da mesma logo após o preparo.

2.4 Tratamento do caldo de cana com *M. oleifera* e *C. peruvianus*

Para o tratamento do caldo de cana, o líquido teve o pH ajustado para pH 7 que foi posteriormente distribuído em béqueres. A solução estoque de cada extrato (semente de *M. oleifera* e cutícula e medula foliar de *C. peruvianus*) foi adicionada ao caldo com volume suficiente para que a concentração em cada tratamento tenha entre 200 e 1200 µg de amostra/mL de caldo (determinada para ensaios preliminares). Os béqueres foram colocados em agitadores térmicos e o caldo foi agitado a 30 rpm e aquecido a temperaturas que variaram de 80 a 100°C por 35 minutos. Logo após, o caldo foi mantido em repouso por 1 hora em temperatura ambiente para a decantação dos sedimentos. Ao final do período o caldo foi filtrado em papel de filtro (18,5 cm de diâmetro e 14 µm de porosidade) para efetiva separação dos sedimentos (CTC, 2005).

2.5 Avaliação da clarificação do caldo após tratamento

2.5.1 Avaliação da sedimentação do caldo

Foi avaliada a sedimentação das partículas e o volume de precipitado formado durante o período de decantação. Os sedimentos foram congelados e em seguida liofilizados para cálculo de formação de sedimentos associado ao volume de caldo e a concentração de solução estoque utilizada.

2.5.2 Determinação dos índices de cor ICUMSA

A determinação do índice de cor das amostras foi realizada conforme o método da comissão internacional para unificação dos métodos de análise açucareira (METTLER TOLEDO, 2018) ajustada para amostras líquidas. Para tanto, as amostras foram diluídas em água destilada, o pH das amostras foi conferido e, se necessário, ajustado para o pH $7 \pm 0,2$, e em seguida foi determinada a absorbância em espectrofotômetro a 420 nm. A cor foi determinada a partir da seguinte fórmula: **ICUMSA_(420 nm) = [(1000×A)/(b×c)]**, onde, **A** é a absorbância da amostra lida; **b** é o comprimento da cela de absorção (em cm); e **c** é a concentração da amostra (em g/mL), calculada em função da concentração de sacarose (°Brix) e densidade do caldo clarificado (em kg/m³), conforme a equação: **c = (°Brix × densidade)/100000**.

2.5.3 Determinação de polifenóis e flavonoides totais

O método utilizado para a determinação de conteúdo de polifenóis totais foi o de *Folin-Ciocalteu*, utilizando ácido gálico como padrão. A cada 50 µL de amostra

(caldo) foram adicionados 2,5 mL de água destilada e 250 µL do reagente de *Folin-Ciocalteu* (molibdato, tungstato e ácido fosfórico). Após 3 min, foi adicionado 700 µL de 10% Na₂CO₃ e 1,5 mL de água destilada. A mistura foi armazenada por 1 hora em temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 765 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis. Todos os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em µg equivalente de ácido gálico (EAG) por mL de caldo clarificado.

Para a determinação de conteúdo de flavonoides totais o método descrito por Zhishen et al. (1999) foi utilizado, baseado na complexação dos flavonoides com AlCl₃, ocorrendo o deslocamento das bandas de absorção para maiores comprimentos de onda. A cada 250 µL de amostra foram adicionados 1 mL de água destilada e 125 µL de 5% NaNO₂. Após 6 minutos, 125 µL de 10% AlCl₃, 750 µL de 1M NaOH e 250 µL de água destilada foram adicionadas. A mistura foi armazenada por 15 minutos em temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 510 nm. Todos os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em µg equivalente de rutina (ER) por mL de caldo clarificado.

2.5.4 Avaliação da atividade antioxidante

2.5.4.1 Sequestro do radical livre DPPH·

A atividade antioxidante dos caldos clarificados foi determinada pela capacidade doadora de H⁺ para o radical DPPH· (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (MANIAN et al., 2008). Os experimentos foram realizados em triplicata, utilizando a solução de 1 mL de tampão acetato (100 mM; pH 5,5), 1,25 mL de etanol P.A., 250 µL de solução de DPPH· (250 µM) e 50 µL de amostra. O DPPH apresenta máxima absorbância a 517 nm, que decresce na presença de moléculas doadoras de H⁺, indicado pela mudança da coloração roxa para amarelo. As amostras reagiram com o radical DPPH por um período de 30 minutos na ausência de luz e em seguida a absorbância foi medida a 517 nm (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). O cálculo da atividade antioxidante foi realizado de acordo com a fórmula: Atividade antioxidante (%) = $[(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}}] \times 100$; onde A_{amostra} é a absorbância das amostras após 30 minutos e A_{controle} é absorbância do controle.

2.5.4.2 Redução do íon ferro (FRAP)

Para a determinação da atividade antioxidante por meio da redução do íon ferro (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power) será utilizada a metodologia descrita por Kukić et al. (2008), com algumas modificações. Esta se baseia na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzir, em meio ácido (pH 3,6), o complexo Fe^{3+} /tripiridiltiazina (TPTZ), para formar Fe^{2+} , de intensa cor azul e absorção máxima a 593 nm. O reagente FRAP será preparado no momento da análise, por meio da mistura de 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 2,5 mL de solução TPTZ (10 mM TPTZ em 40 mM HCl) e 2,5 mL de FeCl_3 (20 mM) em solução aquosa. Uma alíquota de 100 μL da solução de caldo será adicionado a 3 mL do reagente FRAP e incubado a 37°C em banho-maria por 30 minutos. As absorbâncias serão medidas após esse tempo e o espectrofotômetro será zerado com a solução FRAP. A curva de calibração será obtida com sulfato ferroso (100-2000 μM), e os resultados serão expressos em μM equivalente de Trolox (ET).

2.6 Avaliação da atividade oxidativa

2.6.1 Preparo das amostras

Mobilidade relativa em eletroforese (MRE) será desenvolvida de acordo com Hsieh et al. (2005). Albumina de soro bovino - BSA (2 mg/mL) será diluída em tampão fosfato a 10 mM (pH 7,4). Já o sistema de oxidação $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$ constitui em uma solução de 50 mM de H_2O_2 e 1 mg/mL de CuSO_4 . Os testes serão montados com controle negativo contendo 1mL da solução de BSA e 1mL de tampão fosfato, controle positivo com 1mL de BSA, 0,5 mL da solução $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$ e 0,5 mL de tampão fosfato e os tratamentos com 1mL de BSA, 0,5 mL da solução $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$ e 0,5 mL das amostras de extratos de sementes de *M. oleifera* e de cutícula de *C. peruvianus* sendo incubados a 37°C durante 48 horas. A eletroforese de BSA será realizada utilizando gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).

2.6.2 Preparo do gel de eletroforese unidimensional (SDS-PAGE)

As amostras de extratos de sementes de *M. oleifera* e de cutícula e mucilagem de *C. peruvianus* serão analisadas por eletroforese unidimensional em gel de poliacrilamida (KOCHA et al., 1997). Os géis de poliacrilamida nas concentrações de 12% (22,2% acrilamida/0,6 bis-acrilamida; 1 M Tris-HCl pH 8,8; água destilada; SDS 10%; persulfato de amônio 10%; TEMED) serão montados em placas do sistema de

eletroforese K33-10V (KASVI, Brasil) de dimensões 10 × 10 cm. As amostras juntamente com o tampão de amostra (1 M Tris-HCl pH; SDS 4%; Glicerol 20% ; B-mercaptoetanol 5%; Azul de bromofenol 0,2%) serão submetidos a 95°C por 5 minutos e posteriormente aplicadas ao gel de poliacrilamida contendo SDS (SDS-PAGE). A proteína BSA será eletroforéticamente separada utilizando uma corrente de 200 mA e voltagem de 100 V. Após a corrida, os géis serão corados com solução de coomassie (Coomassie brilliant blue R-250 dissolvido em metanol 50% e ácido acético 10%) e mantidos em ácido acético 7% até a digitalização das imagens. Adicionalmente, para melhor visualização do perfil eletroforético de algumas amostras, será realizada a coloração por nitrato de prata.

2.7 Análises estatísticas do tratamento

Os dados foram randomizados em blocos casualizados e avaliados pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$) e Correlação de Pearson ($p < 0,05$). Para determinar a diferença estatística entre as médias foi utilizado o software BioEstat versão 5.0. Todos os resultados foram expressos como média das triplicatas e expressos como a média $\pm$ desvio padrão.

3. RESULTADOS

Estudos preliminares demonstraram que o agente clarificante apresentou resultados promissores na clarificação do caldo de cana. O processo foi realizado de acordo com parâmetros de pH, concentração de extrato e temperatura definidos na com as adequações e propostas da invenção descrita neste trabalho. Sendo assim, o pH do caldo de cana foi ajustado para pH 7, a concentração do extrato variou de 200 a 1200 $\mu\text{g/mL}$ e o caldo foi aquecido por 35 min com temperatura variando de 80 a 100°C. Estes parâmetros foram estabelecidos a fim de observar a interação do extrato com o caldo nas diferentes concentrações e temperaturas, utilizando inicialmente o extrato de semente de *M. oleifera* para a padronização do processo e validação da invenção proposta.

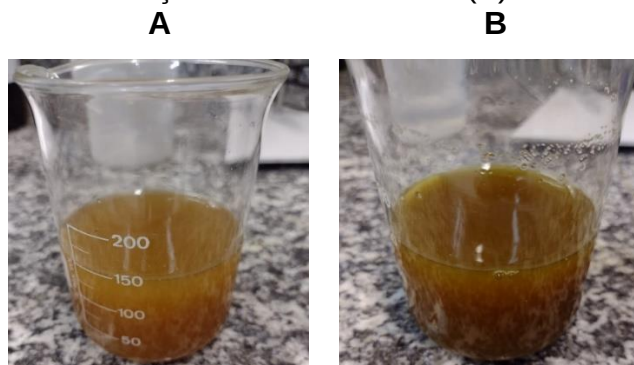
Os caldos de cana obtidos no comércio popular apresentaram heterogeneidade e as características e variações dos caldos utilizados para avaliação da clarificação estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características dos caldos de cana-de-açúcar utilizados.

	Características do caldo (min - máx)
pH	4,31 - 5,16
°BRIX	18 - 24,3
ICUMSA	5103,01 - 8057,56

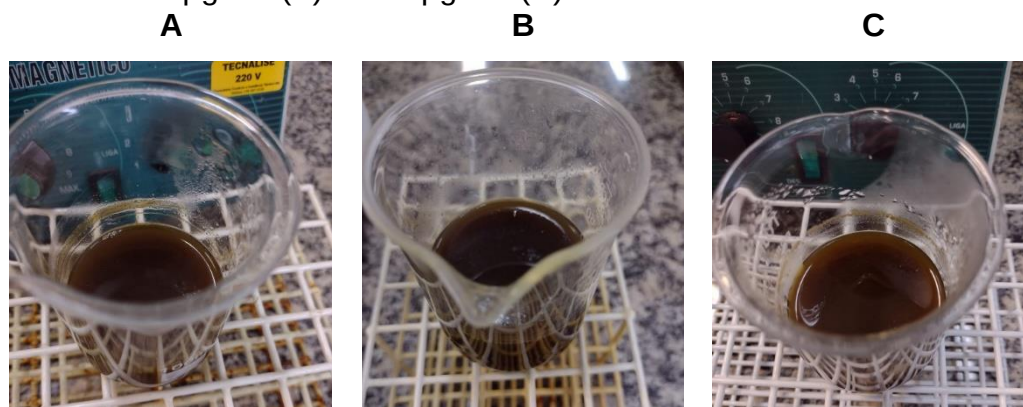
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

O caldo de cana obtido a partir da moenda da cana-de-açúcar foi utilizado logo em seguida para o processo de clarificação (Figura 2A). A cal hidratada (hidróxido de cálcio) foi adicionada ao caldo até o ajuste do pH para pH 7, onde é possível observar a formação de sedimentos já nos primeiros momentos após o ajuste do pH (Figura 2B).

Figura 2 - Caldo de cana-de-açúcar recém-extraído (A) e caldo com ajuste de pH (B).

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

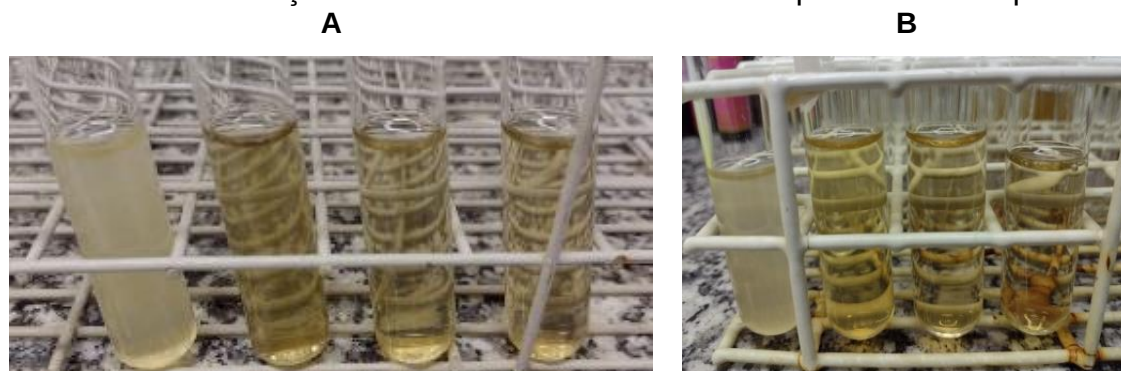
O extrato é adicionado ao caldo com o pH ajustado que é colocado para aquecimento e, ao final, é possível visualizar um escurecimento do caldo proveniente das impurezas e sedimentos dispersos no caldo (Figura 3).

Figura 3 - Caldo de cana com extrato de *M. oleifera* nas concentrações de 1000 µg/mL (A) a 85°C e 1000 µg/mL (B) e 200 µg/mL (C) a 80°C.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Os caldos passaram pelo processo de decantação, filtração e os caldos clarificados foram diluídos em água destilada para melhor visualização dos resultados (Figura 4).

Figura 4 – Na figura, A e B, os caldos após o processo de clarificação. Da esquerda para a direita nas duas imagens, o caldo puro seguido de três caldos clarificados em diferentes concentrações de extrato de *M. oleifera* e temperaturas de aquecimento.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

É visível a diminuição na turbidez entre o caldo puro, que apresenta coloração opaca, e os caldos clarificados, que apresentam coloração translúcida. Esta observação corrobora com os resultados apresentados na Tabela 2 que demonstra que os caldos clarificados com extrato de semente de *M. oleifera* apresentaram valores inferiores do índice ICUMSA em comparação ao caldo puro, logo, apresentaram maiores percentuais de clarificação.

Tabela 2 - Determinação dos parâmetros do caldo clarificado.

Concentração (µg/mL)	Temperatura (°C)	Clarificação ¹	Sedimentos ²
0	100	47,19	0,454
200	80	18,33	0,436
400	85	51,32	0,594
800	90	56,45	0,758
1000	80	37,74	0,596
1000	85	29,70	0,504
1000	90	54,34	0,220
1000	100	59,55	0,222
1200	100	55,92	0,662

¹: Média percentual de clarificação pelo índice ICUMSA em comparação ao caldo puro;

²: mg de sedimentos/mL de caldo clarificado. **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

Os resultados mostraram que a atividade clarificante do extrato de semente de *M. oleifera* foi melhor e mais consistente nas concentrações e temperaturas maiores, sendo que a partir de 400 µg/mL e 85°C a clarificação foi superior a 50%. A clarificação

demonstrou que o melhor resultado (59,55%) foi encontrado na concentração de 1000 µg/mL e 100°C; contudo, a 90°C e na mesma concentração o resultado foi de 54,34% clarificação.

Na Tabela 3 estão apresentados os valores de correlação entre os parâmetros de concentração de extrato, temperatura, clarificação e formação de sedimentos no processo de clarificação.

Tabela 3 - Correlação entre os parâmetros do caldo clarificado.

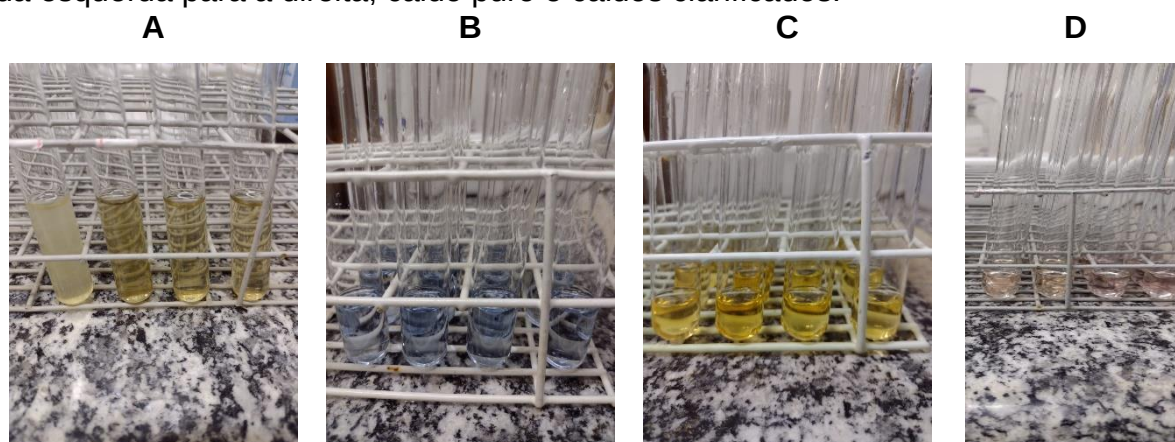
	Conc X Clar	Conc X Sed	Temp X Clar	Temp X Sed	Clar X Sed
r	0,353	0,404	0,705	-0,424	-0,039
p	0,352	0,281	0,034	0,256	0,921

Resultados determinados pela correlação de Pearson ($p < 0,05$). Onde, Conc: Concentração do extrato, Clar: Percentual de clarificação, Temp: Temperatura e Sed: Formação de sedimentos. **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

Entretanto, os resultados demonstraram uma correlação significativa e diretamente proporcional apenas entre a temperatura e a clarificação. Apesar de apresentar resultado diretamente proporcional, não foi encontrada correlação significativa entre a concentração e clarificação e entre a concentração e formação de sedimentos. Similarmente, a temperatura e formação de sedimentos não apresentaram correlação significativa, porém apresentaram uma correlação inversamente proporcional. Adicionalmente, a clarificação e formação de sedimentos não demonstraram correlação, o que pode ser justificado pela diferença dos caldos utilizados para cada bateria de análises de clarificação, associado principalmente aos fatores de maturação e qualidade da cana de açúcar, eficiência da moenda e presença de impurezas.

A diluição das amostras (Figura 5A) demonstra clarificação evidente dos caldos clarificados com o extrato em comparação ao caldo puro. Na determinação dos polifenóis (5B) e flavonoides (Figura 5C) é possível observar que todas as amostras reagiram e apresentaram estes compostos. Da mesma forma, é possível observar que todas as amostras reagiram e apresentaram resultados na avaliação antioxidante pelo teste de DPPH (Figura 5D).

Figura 5 - Diluição dos caldos (A), determinação de polifenóis (B), determinação de flavonoides (C) e avaliação antioxidante por meio do teste de DPPH (D). Nas imagens, da esquerda para a direita, caldo puro e caldos clarificados.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Diferentemente dos resultados observados para a clarificação, as avaliações fitoquímica e antioxidante quase não demonstraram visível diferença entre os tratamentos. Contudo, a Tabela 4 demonstra que os caldos clarificados com extrato de *M. oleifera* a 1000 µg/mL e 85°C e 80°C apresentaram a maior atividade antioxidante e os menores valores de polifenóis e flavonoides, o que pode justificar os resultados de clarificação, já que a presença destes compostos está relacionada com maior turbidez do caldo.

Tabela 4 – Percentual de clarificação, determinação de polifenóis e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de DPPH.

Amostras	Clarificação ¹	Polifenóis ²	Flavonoides ³	DPPH ⁴
Caldo A	-	305,49a±4,29	258,64a±12,43	-
Caldo B	4,53	304,75a±3,07	285,71a±12,14	-
1000 µg/mL	29,70	302,97a±6,21	247,31a±23,49	53,80a±0,88
1000 µg/mL	37,74	293,34a±2,31	247,77a±14,03	53,95a±1,14
200 µg/mL	18,33	326,01b±1,39	281,24a±22,89	51,32a±1,44

¹: Percentual de clarificação pelo índice ICUMSA em comparação ao caldo puro; ²: µg equivalente de ácido gálico por mL de caldo; ³: µg equivalente de rutina por mL de caldo; ⁴: Percentual de atividade antioxidante. Onde, Caldo A: Caldo puro; Caldo B: caldo puro filtrado; 1000 µg/mL: Caldo clarificado com extrato de *M. oleifera* a 1000 µg/mL e 85°C e 80 °C; 200 µg/mL: caldo clarificado com extrato de *M. oleifera* a 200 µg/mL e 80°C. Valores expressos em média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05). **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

O caldo aquecido a 100°C sem o extrato de *M. oleifera*, a 90°C com 800 µg/mL de extrato e a 85°C com 400 µg/mL para avaliar a atividade em diferentes concentrações. A Tabela 5 apresenta os resultados de clarificação e evidencia o

potencial clarificante do extrato demonstrando um percentual superior a 50%. Com relação a determinação de polifenóis e flavonoides, e atividade antioxidante, os resultados demonstram que o caldo sem extrato aumentou o conteúdo de polifenóis e flavonoides, enquanto os caldos clarificados com o extrato apresentaram menor conteúdo destes compostos, o que pode justificar o maior percentual de clarificação.

Tabela 5 - Percentual de clarificação, determinação de polifenóis e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de DPPH.

Amostras	Clarificação ¹	Polifenóis ²	Flavonoides ³	DPPH ⁴
Caldo puro	-	56,01a±1,40	74,16a±4,46	50,89a±2,35
Sem extrato	47,19	67,12b±0,42	82,36b±1,39	57,73b±0,34
Extrato (800 µg/mL)	56,45	52,57a±1,52	57,96c±0,73	46,24c±1,01
Extrato (400 µg/mL)	51,32	50,79ac±1,59	54,16c±0,86	45,69c±1,02

¹: Percentual de clarificação pelo índice ICUMSA em comparação ao caldo puro; ²: µg equivalente de ácido gálico por mL de caldo; ³: µg equivalente de rutina por mL de caldo; ⁴: Percentual de atividade antioxidante. Sendo que, Sem extrato foi aquecido a 100°C, Extrato (800 µg/mL) a 90°C e Extrato (400 µg/mL) a 85°C. Valores expressos em média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05). **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

O processo de clarificação foi realizado com outras temperaturas e concentrações do agente clarificante. O caldo foi aquecido a 100°C com extrato de *M. oleifera* a 1200 µg/mL e a 90°C com 1000 µg/mL de extrato em duplicata. A Tabela 6 apresenta os resultados de clarificação e evidencia o potencial clarificante do extrato em concentrações maiores, demonstrando um percentual superior a 55%. Com relação a determinação de polifenóis e flavonoides, e atividade antioxidante, os resultados demonstra que o caldo com concentração mais alta (1200 µg/mL) aumentou o conteúdo de polifenóis e flavonoides, enquanto os caldos clarificados com o extrato a 1000 µg/mL apresentaram menor conteúdo destes compostos, o que pode justificar o maior percentual de clarificação.

Tabela 6 - Percentual de clarificação, determinação de polifenóis e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de DPPH.

Amostras	Clarificação ¹	Polifenóis ²	Flavonoides ³	DPPH ⁴
Caldo puro	-	50,12a±2,75	64,96a±0,93	50,23a±1,17
Extrato (1200 µg/mL)	55,92	82,01b±0,87	106,96b±0,71	77,73b±0,22
Extrato (1000 µg/mL)	65,53	47,90a±0,27	50,06c±1,02	58,18c±1,64
Extrato (1000 µg/mL)	66,39	46,46a±1,64	45,06d±1,70	60,28c±1,01

¹: Percentual de clarificação pelo índice ICUMSA em comparação ao caldo puro; ²: µg equivalente de ácido gálico por mL de caldo; ³: µg equivalente de rutina por mL de caldo; ⁴: Percentual de atividade antioxidante. Sendo que, Extrato (1200 µg/mL) foi aquecido a 100°C e Extrato (1000 µg/mL) a 90°C. Valores expressos em

média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$). **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

Observando os melhores resultados encontrados com a clarificação do caldo de cana com o extrato de *M. oleifera*, a clarificação foi definida e realizada com o pH 7 do caldo, a concentração de 1000 µg extrato/mL caldo e temperatura de 100°C com agitação lenta por 35 minutos. A Tabela 7 apresenta os resultados de clarificação e demonstra que todos os extratos apresentaram potencial clarificante na concentração de 1000 µg/mL com percentual superior a 59%. Com relação aos resultados de determinação de polifenóis e flavonoides, e atividade antioxidante, os caldos clarificados com os extratos de *C. peruvianus* e *M. oleifera* na concentração de 1000 µg/mL reduziram o conteúdo de polifenóis e flavonoides totais, o que pode justificar o alto percentual de clarificação. Além disso, os caldos clarificados apresentaram atividade antioxidante maior que 71%.

Tabela 7 - Percentual de clarificação, determinação de polifenóis e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante pelo teste de DPPH.

Amostras	Clarificação ¹	Polifenóis ²	Flavonoides ³	DPPH ⁴
Caldo puro	-	54,01a±0,57	67,96a±1,44	45,95a±3,78
<i>C. peruvianus</i> (cutícula)	59,39	51,46a±1,13	57,76a±0,75	72,66b±0,81
<i>C. peruvianus</i> (medula)	65,68	46,90a±1,19	50,06a±1,02	72,18b±0,22
<i>M. oleifera</i> (semente)	59,55	46,68a±1,29	47,56ab±1,21	71,54b±0,90

¹: Percentual de clarificação pelo índice ICUMSA em comparação ao caldo puro; ²: µg equivalente de ácido gálico por mL de caldo; ³: µg equivalente de rutina por mL de caldo; ⁴: Percentual de atividade antioxidante. Todos os caldos clarificados com cada agente clarificante a 1000 µg/mL e 100°C. Valores expressos em média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Com o intuito de confirmar os resultados encontrados nas temperaturas de 100°C, a clarificação dos caldos de cana foi realizada com extratos na concentração de 1000 µg/mL a 90°C. A Tabela 8 apresenta os resultados de clarificação e demonstra que todos os extratos apresentaram clarificação na concentração de 1000 µg/mL muito inferior aos resultados encontrados com o aquecimento do caldo a 100°C. Com relação aos resultados de determinação fitoquímica, os resultados demonstram que houve um aumento significativo no conteúdo de polifenóis e flavonoides, o que pode justificar a diminuição do percentual de clarificação, possivelmente associado a temperatura utilizado no tratamento do caldo.

Tabela 8 – Percentual de clarificação e determinação de polifenóis e flavonoides.

Amostras	Clarificação ¹	Polifenóis ²	Flavonoides ³
Caldo puro	-	30,57a±0,72	28,56a±1,71
<i>C. peruvianus</i> (cutícula)	10,74	46,68b±0,31	42,16b±2,92
<i>C. peruvianus</i> (medula)	18,98	41,68bc±1,50	47,61b±1,65
<i>M. oleifera</i> (semente)	31,10	37,57bcd±0,82	34,46a±0,62

¹: Percentual de clarificação pelo índice ICUMSA em comparação ao caldo puro; ²: µg equivalente de ácido gálico por mL de caldo; ³: µg equivalente de rutina por mL de caldo. Todos os caldos clarificados com cada agente clarificante a 1000 µg/mL e 90°C. Valores expressos em média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05). **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

A Tabela 9 demonstra que todos os caldos clarificados com os extratos de *C. peruvianus* e *M. oleifera* na concentração de 1000 µg/mL apresentaram atividade antioxidante pelo método DPPH e confirmada pelo método FRAP, sendo que os resultados foram proporcionais entre si, confirmando a capacidade de redução do caldo clarificado.

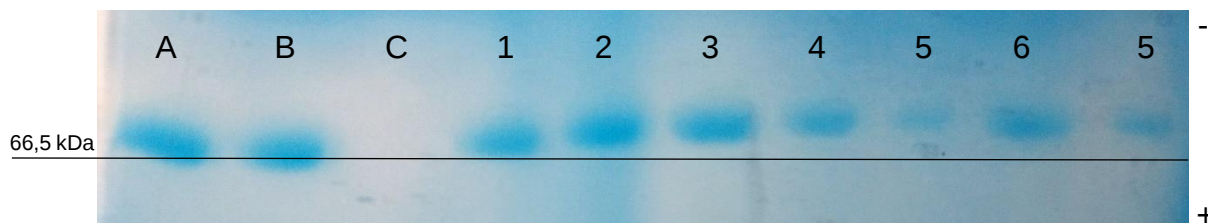
Tabela 9 - Avaliação da atividade antioxidante pelo teste de DPPH e FRAP.

Amostras	DPPH ¹	FRAP ²
Caldo puro	28,85a±2,40	431,09a±1,36
<i>C. peruvianus</i> (cutícula)	54,33b±0,00	899,73b±5,45
<i>C. peruvianus</i> (medula)	45,43b±1,20	675,64bc±3,18
<i>M. oleifera</i> (semente)	39,90ab±2,88	569,73bcd±2,73

¹: percentual de atividade antioxidante; ⁴: µM equivalente de Trolox. Todos os caldos clarificados com cada agente clarificante a 1000 µg/mL. Valores expressos em média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05). **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

A avaliação da atividade pró-oxidativa dos extratos de sementes de *M. oleifera* e cutícula e medula foliar de *C. peruvianus* na Figura 6 mostra que não houve oxidação completa da proteína BSA, sendo que as amostras com os extratos mostraram bandas similares com a banda com BSA (Figura 6A). Ainda que as bandas da amostra 5 apresentaram maior oxidação, a proteína não foi oxidada pelo extrato a 10 mg/mL.

Figura 6 - Avaliação da atividade pró-oxidativa dos extratos de *Moringa oleifera* e *Cereus peruvianus*. Onde, A: BSA; B: BSA + CuSO₄; C: BSA + CuSO₄ + H₂O₂; 1: Cutícula de *C. peruvianus* a 5 mg/mL; 2: Medula foliar de *C. peruvianus* a 5 mg/mL; 3: *M. oleifera* a 5 mg/mL; 4: Cutícula de *C. peruvianus* a 10 mg/mL; 5: *M. oleifera* a 10 mg/mL; 6: Medula foliar de *C. peruvianus* a 10 mg/mL.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4. DISCUSSÃO

Os resultados observados neste projeto apresentaram valores de índice ICUMSA similares aos encontrados por Favero et al. (2014) que avaliaram a clarificação do caldo de cana utilizando o método de carbonatação. Entretanto, em comparação ao caldo puro, este estudo observou clarificação superior a 84%, enquanto a clarificação com os agentes clarificantes de origem vegetal apresentou clarificação máxima de 66,39% nas concentrações avaliadas.

Estudos realizados com caldo de cana apresentaram valores de conteúdo de polifenóis e flavonoides totais similares aos obtidos neste projeto. Longvah et al. (2017) observaram conteúdo de polifenóis totais de 52,5 µg EAG/mL e Tarafdar et al. (2019) observaram conteúdo de flavonoides de 46 µg equivalente de quercetina/mL. Da mesma forma, os valores de atividade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH observados por Duarte-Almeida et al. (2006) foram de 42,1% de atividade, o que demonstra similaridade desses resultados de análise do caldo de cana com o presente projeto. O método de clarificação de caldo de cana e o uso de extratos das partes vegetais de *C. peruvianus* e *M. oleifera* foram adotados pela primeira vez, logo, não há dados sobre o conteúdo de polifenóis e flavonoides totais e atividade antioxidante do caldo clarificado com estes extratos na literatura para comparar.

O processo de clarificação utilizando os extratos vegetais demonstrou que a redução de polifenóis e flavonoides no caldo clarificado pode justificar o maior percentual de clarificação pelo índice ICUMSA. Foi possível observar também um aumento significativo na atividade antioxidante do caldo clarificado, em comparação ao caldo puro, nas maiores concentrações avaliadas. Este aumento, mesmo com a diminuição de polifenóis e flavonoides, compostos conhecidos por apresentar

atividade antioxidante, pode estar relacionado ao pH e temperatura utilizados no processo de clarificação, uma vez que estes parâmetros podem promover reações que induzem a liberação e/ou exposição de outros compostos que apresentam potencial antioxidante. Associado a isso, a avaliação da atividade pró-oxidativa mostrou que as amostras não oxidaram a proteína BSA; logo, o possível mecanismo pelo qual a adição do extrato reduz o conteúdo de polifenóis e flavonoides não é a oxidação.

A clarificação utilizando esses extratos pode gerar um produto de melhor qualidade e fornecer subprodutos que não causem impacto ambiental. Além disso, pode levar a valorização, preservação e implantação de plantas em projetos de economia social e ambiental, cujo foco nas comunidades permite o desenvolvimento e melhoramento do processo de clarificação em panorama global.

5. CONCLUSÃO

Estes resultados demonstram atividade promissora dos extratos de *C. peruvianus* (cutícula e medula foliar) e *M. oleífera* (semente) na clarificação do caldo-de-cana mesmo em concentrações baixas. Somado a isso, os extratos reduziram o conteúdo de polifenóis e flavonoides e aumentaram a atividade antioxidante do caldo clarificado. Foi possível identificar que o possível mecanismo pelo qual a adição do extrato reduz o conteúdo fitoquímico não é a oxidação. O potencial clarificante dos extratos vegetais demonstra a possibilidade de aplicação e o benefício da utilização destes na clarificação de caldo-de-cana afim de reduzir os impactos negativos da utilização de produtos químicos no processo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - processo nº 131812/2020-3.

6. REFERÊNCIAS

- AHMED, A. M.; MOHAMMED, K. Optimisation of *Moringa oleifera* pod extract concentration for Surface water clarification. **Bayero Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 11, n. 1, p. 393-396, 2018. DOI: 10.4314/bajopas.v11i1.63S
- ALMEIDA, I. D.; SILVA, J. M. V. B.; LEITE, M. Shifting to green economy: hype or hope for entrepreneurs into medicinal and aromatic plants? *In*: EUROMA - OPERATIONS MANAGEMENT IN AN INNOVATION ECONOMY, 21., 2014, Palermo. **Proceedings of 21st EurOMA - Operations Management in an Innovation Economy**. Palermo: EurOMA, 2014, p. 1-10. DOI: 10.13140/2.1.3266.4321
- ARANTES, C. C.; RIBEIRO, T. A. P.; PATERNIANI, J. E. S. Processamento de sementes de *Moringa oleifera* utilizando-se diferentes equipamentos para obtenção de solução coagulante. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 6, p. 661-666, Jun. 2012. DOI: 10.1590/S1415-43662012000600011
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- CHOW, K. F. A Review of Excessive Sugar Metabolism on Oral and General Health. **The Chinese Journal of Dental Research**, v. 20, n. 4, p. 193-198, 2017. DOI: 10.3290/j.cjdr.a39218
- CTC - CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. Manual de métodos de análises para açúcar. Piracicaba: Laboratório de Análises, 2005. 1 CD-ROM.
- DUARTE-ALMEIDA, J. M.; NOVOA, A. V.; LINARES, A. F.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Antioxidant activity of phenolics compounds from sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) juice. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 61, n. 4, p. 187-192, Dec. 2006. DOI: 10.1007/s11130-006-0032-6
- FERNANDES, L. M.; PEREIRA, N. C.; MENDES, E. S.; LIMA, O. C. M.; COSTA, S. C. Clarificação do extrato aquoso de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni utilizando o cacto, *Cereus peruvianus*. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 23, n. 6, p. 1369-1374, May 2001. DOI: 10.4025/actascitechnol.v23i0.2766
- METTLER TOLEDO. **Determination of sugar solutions color According to ICUMSA™/Application note analytical chemistry**. Zurique: Mettler Toletto, 2018.

- GOPALAKRISHNAN, L.; DORIYA, K.; KUMAR, D. S. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, n. 2, p. 49-56, June 2016. DOI: 10.1016/j.fshw.2016.04.001
- HSIEH, C-. L.; LIN, Y-. C.; KO, W-. S.; PENG, C-. H.; HUANG, C-. N.; PENG, R. Y. Inhibitory effect of some selected nutraceutic herbs on LDL glycation induced by glucose and glyoxal. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, n. 3, p. 357-363, Dec. 2005. DOI: 10.1016/j.jep.2005.06.044
- KOCHA, T.; YAMAGUCHI, M.; OHTAKI, H.; FUKUDA, T.; AOYAGI, T. Hydrogen peroxide-mediated degradation of protein: different oxidation modes of copper- and iron-dependent hydroxyl radicals on the degradation of albumin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 1337, n. 2, p. 319–326, Feb. 1997. DOI: 10.1016/s0167-4838(96)00180-x
- FAVERO, D. M.; HAMERSKI, F.; AQUINO, A. D. Starch and ICUMSA color removal in sugarcane juice clarified by carbonatation. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 36, n. 4, p. 745-751, Sept. 2014. DOI: 10.4025/actascitechnol.v36i4.17660
- JACOMINI, D.; SINZKER, R. C.; MANGOLIN, C. A.; GRANDE, P. A.; NOCCHI, S. R.; NAKAMURA, C. V.; OLIVEIRA, A. J. B.; GONÇALVES, R. A. C. Lipid profile and antiproliferative activity of callus cultures of *Cereus peruvianus* Mill. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 408-414, July 2015. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.02.034
- KUKIĆ, J.; POPOVIĆ, V.; PETROVIĆ, S.; MUCAJI, P.; ĆIRIĆ, A.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 861-868, Mar. 2008. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.09.005
- KUMAR, U.; CHAND, K. Application of Response Surface Method as an Experimental Design to Optimize Clarification Process Parameters for Sugarcane Juice. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 6, n. 2, p. 1-6, Feb. 2015. DOI: 10.4172/2157-7110.1000422
- LONGVAH, T.; ANANTHAN, R.; BHASKARACHARY, K.; VENKALAH, K. **Indian Food Composition Tables**. Hyderabad: National Institute of Nutrition, 2017. 505 p.
- MANIAN, R.; ANUSUYA, N.; SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. **Food Chemistry**, v. 107, n. 3, p. 1000-1007, Apr. 2008. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.09.008

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Papel da cana-de-açúcar como fator ambiental, gerador de renda e empregos é destaque em abertura de safra.** Brasília, DF: MAPA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/papel-da-cana-de-acucar-como-fator-ambiental-gerador-de-renda-e-empregos>. Acesso em: 13 maio 2022.

MENG, Y.; YU, S.; QIU, Z.; ZHANG, J.; WU, J.; YAO, T.; QIN, J. Modeling and optimization of sugarcane juice clarification process. **Journal of Food Engineering**, v. 291, n. 110223, Feb. 2021. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110223

NAYANA, K. S.; ADI, V. K. Clarification of Water using *Moringa oleifera* as a Coagulant. **International Research Journal of Engineering and Technology**, v. 6, n. 7, p. 3076-3083, July 2019.

NIJU, S.; BALAJI, M.; ANUSHYA, C. A comprehensive review on biodiesel production using *Moringa oleifera* oil. **International Journal of Green Energy**, v. 16, n. 9, p. 702-715, May 2019. DOI: 10.1080/15435075.2019.1619565

OLIVEIRA, M. A.; RODRIGUES, C.; REIS, E. M.; NAZAKI, J. Production of fungal protein by solid substrate fermentation of cactus *Cereus peruvianus* and *Opuntia ficus indica*. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 307-310, June 2001. DOI: 10.1590/S0100-40422001000300004

SANTANA, C. R. **Tratamento de água produzida através do processo de flotação utilizando a *Moringa oleifera* Lam como coagulante natural.** 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2009.

SANTOS, E. P.; SANTOS, J. C. O. Use of medicinal plants of Brazilian caatinga in a perspective of solidarity economy. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v. 6, n. 7, p. 36-42, July 2020. DOI: 10.5281/zenodo.3969670

SOUZA, M. T. F.; ALMEIDA, C. A.; AMBROSIO, E.; SANTOS, L. B.; FREITAS, T. K. F. S.; MANHOLER, D. D.; CARVALHO, G. M.; GARCIA, J. C. Extraction and use of *Cereus peruvianus* cactus mucilage in the treatment of textile effluents. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 67, p. 174-183, Oct. 2016. DOI: 10.1016/j.jtice.2016.07.009

SPERANÇA, M. A.; NASCIMENTO, P. A. M.; PEREIRA, F. M. V. Impurity in sugarcane juice as mineral content: A prospect for analysis using energy-dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) and chemometrics. **Microchemical Journal**, v. 164, n. 105951, May 2021. DOI: 10.1016/j.microc.2021.105951

TANAKA, L. Y. A.; OLIVEIRA, A. J. B.; GONÇALVES, J. E.; CIPRIANI, T. R.; SOUZA, L. M.; MARQUES, M. C. A.; WERNER, M. F. P.; BAGGIO, C. H.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M. An arabinogalactan with anti-ulcer protective effects isolated from *Cereus peruvianus*. **Carbohydrate Polymer**, v. 82, n. 3, p. 714-721, Oct. 2010. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.05.043

TARAFDAR, A.; NAIR, S. G.; KAUR, B. P. Identification of microfluidization processing conditions for quality retention of sugarcane juice using genetic algorithm. **Food and Bioprocess Technology**, v. 12, p. 1874-1886, Sept. 2019. DOI: 10.1007/s11947-019-02345-4

VAZ, L. G. L.; KLEN, M. R. F.; VEIT, M. T.; SILVA, E. A.; BARBIERO, T. A.; BERGAMASCO, R. Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. **Eclética Química Journal**, v. 35, n. 4, p. 45-54, 2010. DOI: 10.26850/1678-4618eqj.v35.4.2010.p45-54

VU, T.; LEBLANC, J.; CHOU, C. C. Clarification of sugarcane juice by ultrafiltration membrane: Toward the direct production of refined cane sugar. **Journal of Food Engineering**, v. 264, n. 109682, Jan. 2020. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.07.029

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, Mar. 1999. DOI: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2

Considerações finais

A utilização dos extratos vegetais de *C. peruvianus* e *M. oleifera* no processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar oferece soluções de sustentabilidade à indústria sucroalcooleira. Considerando isso, a produção baseada no avanço da biotecnologia e de conhecimentos científicos somado a utilização de recursos biológicos na produção industrial se enquadra no modelo de bioeconomia.

O potencial clarificante das espécies demonstra a possibilidade de aplicação na indústria sucroalcooleira, diretamente no processo de produção do açúcar e indiretamente no desenvolvimento sustentável. A preservação e o incentivo ao uso de recursos naturais e fontes renováveis demonstra a preocupação com a sustentabilidade, garantindo um modelo de produção mais “verde” à indústria produtora de açúcar e álcool. O processo de produção eco-friendly, com a diminuição do uso de produtos químicos e substituição por produtos naturais, pode gerar subprodutos e resíduos que causem menos ou nenhum dano ao ambiente e à saúde humana, além de garantir um produto final detentor de qualidade. Levando isso em consideração, o conhecimento sobre as espécies e a valorização dessas plantas pode acarretar em propostas de desenvolvimento social, ambiental e econômico, visto que a *M. oleifera* e *C. peruvianus*, além de fornecerem os extratos para as soluções clarificantes destinadas à indústria, provem outras partes vegetais com propriedades nutricionais e medicinais. Portanto, a pesquisa pode fornecer um retorno positivo a médio e longo prazo tanto para a sociedade quanto para a indústria sucroalcooleira.