



Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Programa Interunidades



Mestrado

Engenharia Civil e Ambiental

GEANE GARCIA CHALES

**EFEITO DOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO NO USO DA SEMENTE DE
MORINGA OLEIFERA COMO COAGULANTE PRIMÁRIO**

São José dos Campos
2022



GEANE GARCIA CHALES

**EFEITO DOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO NO USO DA SEMENTE DE
MORINGA OLEIFERA COMO COAGULANTE PRIMÁRIO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Área de Concentração Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Gonçalves dos Reis

São José dos Campos
2022



Chales, Geane Garcia.

Efeito dos métodos de extração no uso da semente de *Moringa oleifera* como coagulante primário / Geane Garcia Chales, 2022
89 f. : il.

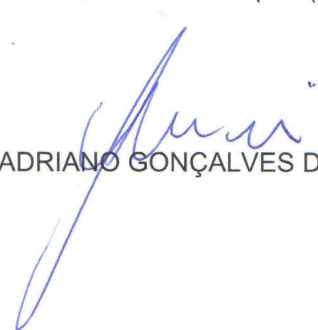
Orientador: Adriano Gonçalves dos Reis.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista (Unesp). Faculdade de Engenharia, Bauru, 2022

1. *Moringa oleifera*. 2. Citotoxicidade. 3. Carga orgânica. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia. II. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE GEANE GARCIA CHALES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL, DA FACULDADE DE ENGENHARIA - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 12 dias do mês de julho do ano de 2022, às 09:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de GEANE GARCIA CHALES, intitulada **Efeito dos métodos de extração no uso da semente de Moringa oleifera como coagulante primário**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. ADRIANO GONÇALVES DOS REIS (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Engenharia Ambiental / Instituto de Ciência e Tecnologia Campus de São José dos Campos UNESP, Prof. Dr. ANDRÉ LUIZ DE OLIVEIRA (Participação Virtual) do(a) Departamento de Engenharia Civil / Universidade Federal de Uberlândia, Prof. Dr. RODRIGO BRAGA MORUZZI (Participação Virtual) do(a) Departamento de Planejamento Territorial e Geoprocessamento - DEPLAN / Instituto de Geociências e Ciências Exatas (IGCE) de Rio Claro – UNESP. Após a exposição pela mestrande e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Prof. Dr. ADRIANO GONÇALVES DOS REIS

Dedico esta pesquisa ao meu Deus, zeloso e detentor de todo o conhecimento.

Dedico aos meus pais Odair Cezar Garcia (*in memorian*) e Silvia Regina Fagundes Garcia, e à minha irmã Geovana Fagundes Garcia Oliveira. Palavras não poderiam mensurar meu amor e gratidão por existirem.

Dedico ao meu marido Rodrigo Chales, não só esta pesquisa, mas, também, toda a minha vida.

Dedico ao meu orientador, Prof. Dr. Adriano Gonçalves dos Reis, pela amizade, dedicação, apoio, compreensão e orientação ímpar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a cada pessoa que contribuiu, direta ou indiretamente, para que esta pesquisa se tornasse possível.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Adriano Gonçalves dos Reis, por sempre estar disposto a orientar com paciência e dedicação. O senhor tem o dom genuíno de ensinar. Obrigada por todo o bem que me fez até aqui.

Agradeço à Unesp, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental, campus Bauru/SP, por permitir iniciar minha carreira acadêmica com o mestrado.

Ao Departamento de Engenharia Ambiental do ICT/São José dos Campos, por permitir realizar a parte experimental da minha pesquisa. À técnica Vanessa Rodrigues Pereira, do laboratório de Saneamento/Hidráulica pelo prestativo auxílio. Ao laboratório de Genoma, em especial à Prof^a. Dr^a. Cristiane Yumi Koga-Ito e Dr^a Noala Vicensoto Moreira Milhan pelo auxílio na pesquisa.

À Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Pereira Antunes, do Departamento de Engenharia Ambiental do ICTS/Unesp, campus Sorocaba/SP, pelo auxílio nas análises laboratoriais de carbono orgânico total.

À Beatriz Siqueira Tihameri, pelas caronas, risadas e auxílio na pesquisa.

À Anton Paar, em especial ao André Polloni, pela realização dos ensaios de potencial zeta.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pelo fomento e concessão de bolsa de mestrado. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 [número de concessão 88887.595682/2020-00].

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar o efeito da forma de uso da semente de *M. oleifera* como coagulante primário, preparado após etapas primária (farinha), pré-tratamento secundário (extração do óleo da farinha) e secundária (extração das proteínas catiônicas em meio aquoso e salino), na qualidade da água tratada em termos de remoção de turbidez, efeito no pH, condutividade elétrica, potencial zeta, carbono orgânico residual e citotoxicidade. Foi utilizada água de poço ajustada com caulim para obtenção de uma água sintética com valores médios de turbidez de 200,8 unT e pH de 7,10. Foram preparados seis tipos de coagulantes à base de *M. oleifera*: farinha da semente (F-SMO), farinha delipidada (FD-SMO), extrato aquoso da farinha (EAF-SMO), extrato aquoso da farinha delipidada (EAFD-SMO), extrato salino da farinha (ESF-SMO) e extrato salino da farinha delipidada (ESFD-SMO), além do coagulante sulfato de alumínio (SA), para comparação. Os ensaios foram realizados em *jar test*. Para todas as formas de extração estudadas das sementes de *M. oleifera* o pH se manteve estável, ao contrário do SA que reduziu o pH. Além disso, a adição das diferentes formas de extração da semente de *M. oleifera* aumentou o potencial zeta da suspensão, característica de coagulação por adsorção e neutralização de cargas. Os extratos aquosos EAF-SMO e EAFD-SMO e as farinhas F-SMO e FD-SMO apresentaram valores semelhantes de remoção de turbidez (em média 74%) e não apresentaram aumento da condutividade. Os extratos salinos ESF-SMO e ESFD-SMO apresentaram as maiores remoções de turbidez após sedimentação (em média 90%), mas ainda inferiores ao SA (98%). A presença do sal (NaCl 1M) nos extratos salinos contribuiu para o aumento da condutividade elétrica e da citotoxicidade, sendo mais expressiva nas maiores dosagens. Os coagulantes à base de *M. oleifera* aumentaram a carga orgânica residual (COT) da água de tratamento e a delipidação, ao contrário do esperado, não contribuiu para a redução deste parâmetro. Assim, a delipidação não trouxe variação significativa na remoção de turbidez frente aos tratamentos sem delipidação, além de ter sido uma etapa importante para reduzir a citotoxicidade da água tratada, demonstrando ser uma etapa importante no processamento de coagulantes derivados de sementes de *M. oleifera*, além de gerar um subproduto com valor agregado.

Palavras-Chave: *Moringa oleifera*; citotoxicidade; carga orgânica

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of the use of *M. oleifera* seed as a primary coagulant, prepared after primary (flour), secondary pre-treatment (delipidation from flour) and secondary (extraction of cationic proteins in aqueous and saline medium), on the quality of the treated water in terms of turbidity removal, effect on pH, electrical conductivity, zeta potential, residual organic carbon and cytotoxicity. Well water adjusted with kaolin was used to obtain a synthetic water with average turbidity values of 200.8 unT and pH of 7.10. Six types of coagulants based on *M. oleifera* were prepared: seed flour (F-SMO), delipidated flour (FD-SMO), aqueous extract of flour (EAF-SMO), aqueous extract of delipidated flour (EAFD-SMO), saline extract of flour (ESF-SMO) and saline extract of delipidated flour (ESFD-SMO), in addition to the coagulant aluminum sulfate (SA), for comparison. The tests were performed in jar test. For all forms of extraction studied from *M. oleifera* seeds, the pH remained stable, unlike the SA that reduced the pH. Furthermore, the addition of different ways of extracting the *M. oleifera* seed increased the zeta potential of the suspension, a characteristic of coagulation by adsorption and charge neutralization. The aqueous extracts EAF-SMO and EAFD-SMO and the flours F-SMO and FD-SMO showed similar values of turbidity removal (on average 74%) and did not show an increase in conductivity. The saline extracts ESF-SMO and ESFD-SMO showed the highest turbidity removals after sedimentation (on average 90%), but still lower than SA (98%). The presence of salt (NaCl 1M) in the saline extracts contributed to the increase in electrical conductivity and cytotoxicity, being more expressive at higher doses. *M. oleifera*-based coagulants increased the residual organic load (TOC) of the treatment water and the delipidation, contrary to expectations, did not contribute to the reduction of this parameter. However, delipidation did not bring significant variation in turbidity removal compared to treatments without delipidation, in addition to being an important step to reduce the cytotoxicity of treated water, proving to be an important step in the processing of coagulants derived from *M. oleifera* seeds, in addition to generating a by-product with added value.

Key words: *Moringa oleifera*; cytotoxicity; organic load

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Desenho esquemático das etapas do tratamento de água em ciclo completo para abastecimento público.	19
Figura 2: Representação da dupla camada elétrica da partícula coloidal.	20
Figura 3: Aumento do potencial zeta (mV) versus aumento da dosagem de <i>M. oleifera</i> (mg/L) e remoção de turbidez (%).	22
Figura 4: Variação da mobilidade eletroforética em função da mudança de pH.	23
Figura 5: Diagrama de solubilidade do sulfato de alumínio	25
Figura 6: Etapas do mecanismo de adsorção e neutralização de cargas.	26
Figura 7: Efeito da dosagem dos coagulantes sulfato de alumínio (SA) e <i>M. oleifera</i> (MO) no consumo da alcalinidade (a) e pH (b).	27
Figura 8: Remoção de turbidez (%) em função da variação da dosagem de <i>M. oleifera</i> (mg/L) e da turbidez inicial (unT).	28
Figura 9: Etapas de preparação para uso da semente de <i>M. oleifera</i> como coagulante.	29
Figura 10: Variação da concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) em função das dosagens do coagulante à base de <i>M. oleifera</i> e do tempo de extração.	34
Figura 11: Fluxograma das etapas desenvolvidas neste trabalho.	38
Figura 12: Fluxograma das etapas de preparação do coagulante a partir da semente de <i>M. oleifera</i>	39
Figura 13: Ilustração das etapas de descascamento e seleção das sementes de <i>M. oleifera</i> , sendo a) sementes de <i>M. oleifera</i> com casca e b) sementes de <i>M. oleifera</i> descascadas e selecionadas, c) sementes de <i>M. oleifera</i> descascadas e descartadas e d) casca das sementes de <i>M. oleifera</i>	40
Figura 14: Ilustração da etapa de trituração das sementes de <i>M. oleifera</i> , sendo a) semente de <i>M. oleifera</i> no liquidificador para trituração e b) semente de <i>M. oleifera</i> após ser triturada, formando uma farinha.	41
Figura 15: Ilustração das etapas de peneiramento das sementes de <i>M. oleifera</i> , sendo a) farinha da semente de <i>M. oleifera</i> sobre a peneira com malha de 30 mesh (600 µm) e b) farinha da semente de <i>M. oleifera</i> após ser peneirada.	41
Figura 16: Extrator Soxhlet e componentes pertencentes, sendo a) Soxhlet com a manta aquecedora e condensador acoplados; b) Cartucho com a farinha da semente de <i>M. oleifera</i> (F-SMO) e c) óleo extraído da farinha da semente de <i>M. oleifera</i> (F-SMO) juntamente com o solvente utilizado.	43
Figura 17: Fluxograma envolvendo as etapas de extração aquosa da proteína da semente de <i>M. oleifera</i>	46
Figura 18: Fluxograma envolvendo as etapas de extração da proteína da semente de <i>M. oleifera</i>	47

Figura 19: <i>Jar test</i> de 6 jarros com filtro de areia acoplado da marca PoliControl modelo FlocControl III utilizado nos ensaios deste trabalho.	49
Figura 20: Distribuição do potencial zeta das partículas presentes na água sintética em estudo....	55
Figura 21: Óleo extraído da semente de <i>M. oleifera</i> com (a) solvente etanol e (b) com solvente hexano.	57
Figura 22: Remoção de turbidez após sedimentação usando EAFD _{et} -SMO e EAFD _{hex} -SMO.....	59
Figura 23: Aumento da condutividade elétrica pelo uso do coagulante ESF-SMO à 0,5 % (m/m).	60
Figura 24: Comparação (a) da remoção de turbidez após a sedimentação e (b) da condutividade elétrica com extrato salino ESF-SMO a 0,5% e a 5%.....	61
Figura 25: Remoção de turbidez após sedimentação para os diferentes extratos da semente de <i>M. oleifera</i> e para o sulfato de alumínio, sendo a) 0 a 60 mg/L e b) com ênfase na região de 0 a 20 mg/L.	62
Figura 26: Remoção de turbidez após sedimentação com solução salina NaCl 1M (ES)	63
Figura 27: Remoção de turbidez após sedimentação e filtração granular rápida para os diferentes extratos da semente de <i>M. oleifera</i> e do sulfato de alumínio.	65
Figura 28: Potencial zeta para os diferentes extratos da semente de <i>M. oleifera</i>	67
Figura 29: Variação do pH após adição dos diferentes extratos da semente de <i>M. oleifera</i> e do sulfato de alumínio.....	68
Figura 30: Variação na condutividade elétrica após adição dos diferentes extratos da semente de <i>M. oleifera</i> e do sulfato de alumínio.....	70
Figura 31: Variação na condutividade elétrica após adição dos diferentes extratos da semente de <i>M. oleifera</i> (ESF-SMO e ESFD-SMO) e de apenas a solução salina (ES)	71
Figura 32: Carbono orgânico total (COT) da água de poço em função da dosagem dos diferentes extratos à base de <i>M. oleifera</i> e sulfato de alumínio, na dosagem ideal e 10 vezes maiores.	73
Figura 33: Viabilidade (% com relação ao grupo controle) da linhagem celular <i>VERO</i> após exposição aos diferentes extratos da semente de <i>M. oleifera</i> e sulfato de alumínio nas dosagens ideais e dosagens 10 vezes maiores.	76

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Publicações sobre diferentes técnicas aplicáveis na etapa primária de extração.....	29
Tabela 2: Publicações sobre diferentes técnicas aplicáveis na etapa secundária de extração.	30
Tabela 3: Publicações sobre diferentes técnicas aplicáveis na etapa de pré-tratamento secundário de extração.	32
Tabela 4: Publicações sobre diferentes técnicas aplicáveis na etapa terciária de extração.	33
Tabela 5: Formas de uso do coagulante da semente de <i>M. oleifera</i> e sulfato de alumínio.	48
Tabela 6: Condições dos ensaios de jar test.	49
Tabela 7: Classificação do nível de citotoxicidade com base em (SLETTEN; DAHL, 1999).	52
Tabela 8: Descrição das metodologias, equipamentos e normativas seguidos para parâmetros analisados para caracterização da água.	53
Tabela 9: Caracterização da água bruta utilizada neste estudo.	54
Tabela 10: Caracterização da água sintética utilizada nos ensaios de <i>jar test</i>	54
Tabela 11: Rendimento do preparo da farinha da semente de <i>M. oleifera</i> (F-SMO).....	56
Tabela 12: Rendimento da delipidação da farinha da semente de <i>M. oleifera</i>	56
Tabela 13: Melhores condições de remoção de turbidez (média) após sedimentação para todos os extratos da semente de <i>M. oleifera</i> e para o sulfato de alumínio.	72

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
μL	Microlitro
μm	Micrômetro
μ	Viscosidade
Al	Alumínio
Al(OH) ₃	Hidróxido de alumínio
Al ₂ (SO ₄) ₃ ·18H ₂ O	Sulfato de alumínio hidratado
Al ³⁺	Íon trivalente de alumínio
ANOVA	Análises de variância
Cl ⁻	Cloreto
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
cm	Centímetro
cm/min	Centímetros por minuto
CO ₂	Dióxido de carbono
COD	Carbono orgânico dissolvido
COT	Carbono orgânico total
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DMEM	Eagle modificado por Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfóxido
EAF-SMO	Extrato aquoso da farinha da semente de <i>M. oleifera</i>
EAFD-SMO	Extrato aquoso da farinha delipidada da semente de <i>M. oleifera</i>
ESF-SMO	Extrato salino da farinha da semente de <i>M. oleifera</i>
ESFD-SMO	Extrato salino da farinha delipidada da semente de <i>M. oleifera</i>
<i>et</i>	Etanol
ES	Extrato salino
ETA	Estação de tratamento de água
ETE	Estação de tratamento de efluente
F-SMO	Farinha da semente de <i>M. oleifera</i>

FD-SMO	Farinha delipidada da semente de <i>M. oleifera</i>
HCl	Ácido clorídrico
hex	Hexano
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
ICT	Instituto de Ciência e Tecnologia
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
kDa	Quilodalton
m	Metro
M	Molar
ME	Mobilidade eletroforética
mg/L	Miligrama por litro
min	minuto
mm	milímetro
MO	<i>Moringa oleifera</i>
mS/cm	Milisiemens por centímetro
MTT	brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium]
mV	Milivolts
Na ⁺	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetro
PAC	Policloreto de alumínio
pH	Potencial Hidrogeniônico
PZ	Potencial zeta
rpm	Rotações por minuto
s	Segundo
SBF	Soro bovino fetal
SA	Sulfato de alumínio
unT	Unidade nefelométrica de turbidez
V	volts
v	volume

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS.....	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1 Tratamento de Água para Abastecimento Público	19
3.2 Coagulação.....	19
3.3 Força de Van Der Waals.....	21
3.4 Potencial Zeta	21
3.5 Influência do pH na coagulação.....	23
3.6 Sulfato de Alumínio.....	23
3.7 Mecanismos de Coagulação.....	24
3.8 <i>Moringa oleifera</i>.....	25
3.8.1 Componentes ativos de coagulação da semente de <i>Moringa oleifera</i>	25
3.8.2 Mecanismos de coagulação da semente de <i>Moringa oleifera</i>	26
3.8.3 Efeitos no pH.....	26
3.8.4 Remoção de Turbidez.....	27
3.8.5 Métodos de uso da Semente da <i>Moringa oleifera</i> como coagulante.....	28
3.8.6 Uso da Semente da <i>Moringa oleifera</i> e o efeito no carbono orgânico residual.....	33
3.8.7 Uso da Semente da <i>Moringa oleifera</i> e o efeito na citotoxicidade.....	36
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1 Água de Estudo.....	38
4.2 Preparação do Coagulante Natural da Semente de <i>Moringa oleifera</i>	39
4.2.1 Secagem da Semente de <i>M. oleifera</i>	39
4.2.2 Descascamento e seleção da semente de <i>M. oleifera</i>	40
4.2.3 Trituração da Semente de <i>M. oleifera</i> descascada.....	40
4.2.4 Peneiramento da Farinha da Semente de <i>M. oleifera</i>	41
4.2.5 Delipidação da Farinha da Semente de <i>M. oleifera</i> (Pré-tratamento Secundário)	42
4.2.6 Extração Aquosa da Farinha da Semente de <i>M. oleifera</i>	44

4.2.7 Extração Salina da Farinha da Semente de <i>M. oleifera</i>	46
4.3 Preparação do Extrato Salino - ES	48
4.4 Preparação do Coagulante Sulfato de Alumínio	48
4.5 Formas de Uso do Coagulante da Semente de <i>Moringa oleifera</i> e Sulfato de Alumínio	48
4.6 Ensaio de <i>jar test</i>	49
4.7 Ensaio de carbono orgânico total	50
4.8 Análise citotoxicológica	51
4.9 Técnicas de Caracterização Físico-químicas	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1 Caracterização da Água Bruta e da Água Sintética	54
5.2 Rendimentos	56
5.2.1 Rendimento da Preparação da Farinha (F-SMO)	56
5.2.2 Rendimento e Qualidade da Extração do Óleo da Semente de <i>M. oleifera</i>	56
5.3 Comparação da Eficiência de Remoção de Turbidez do EAFD_{hex}-SMO e EAFD_{et}-SMO	59
5.4 Extrato Salino: Efeito na Condutividade Elétrica	60
5.5 Comparação de Remoção de Turbidez	62
5.6 Resultados de Potencial Zeta	66
5.7 Efeito no pH	68
5.8 Efeito na Condutividade Elétrica	69
5.9. Condições Ideais de Dosagem dos Coagulantes para Remoção de Turbidez	72
5.10. Carbono orgânico residual com o uso da semente de <i>M. oleifera</i> e do sulfato de alumínio	72
5.11. Citotoxicidade com o uso da semente de <i>M. oleifera</i> e do sulfato de alumínio	76
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	80
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

1. INTRODUÇÃO

Coagulantes naturais extraídos de fontes naturais, como *Cocos nucifera*, *Cactus*, *Tanino* e *Moringa oleifera*, apresentam vantagens frente aos coagulantes sintéticos à base de ferro e alumínio devido características de biodegradabilidade, baixa toxicidade e baixa produção de lodo tanto no tratamento de águas de abastecimento como residuárias (CHOUDHARY; NEOGI, 2017; MAGALHÃES et al., 2021; YAMAGUCHI et al., 2021). As sementes de *M. oleifera* vêm se destacando, em particular, por ser fonte de proteínas catiônicas que possuem função coagulante. Nativa da Índia e adaptada em outros países de clima tropical, é considerada uma árvore de médio porte e é usada para diversos fins medicinais e farmacêuticos devido às suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, além do uso industrial, na nutrição e na fabricação de cosméticos (MAGALHÃES et al., 2021) (YAMAGUCHI et al., 2021).

Vários estudos têm mostrado a eficácia do uso da semente de *M. oleifera* como coagulante (NONFODJI et al., 2020; VEGA ANDRADE et al., 2021; ZAID et al., 2019), contudo, não há uma padronização dos métodos e condições de uso da semente como coagulante, tendo em vista que há diferentes técnicas aplicáveis em cada etapa envolvida na sua preparação (YAMAGUCHI et al., 2021). As etapas de preparação da semente de *M. oleifera* normalmente consistem das etapas primária (preparação da farinha), pré-tratamento secundário (extração do óleo), secundária (extração das proteínas catiônicas) e terciária (purificação das proteínas). A partir de qualquer uma destas etapas de preparação a semente pode ser utilizada como coagulante, podendo com isso resultar em diferentes propriedades na água tratada. A etapa terciária dificilmente é aplicada por envolver altos custos e complexidade operacional (YAMAGUCHI et al., 2021).

Além disso, os usos da semente apresentados na literatura foram aplicados em diferentes tipos de água (águas sintéticas, rios, efluentes sanitários, efluentes industriais, etc) e condições de operação, dificultando a comparação entre os métodos (ABDUL HAMID et al., 2016; GARCIA-FAYOS et al., 2016; NONFODJI et al., 2020; SANTOS et al., 2016; VARKEY, 2020; VEGA ANDRADE et al., 2021).

Uma das limitações do uso da semente de *M. oleifera* é o aumento da carga orgânica residual devido ao alto teor de compostos orgânicos da semente advindos da sua composição rica em lipídios, carboidratos, fosfatos e nitratos. Sendo assim, o uso do extrato bruto pode resultar no aumento da carga orgânica residual na água a ser tratada (KANSAL; KUMARI, 2014; NDABIGENGESERE; SUBBA NARASIAH, 1998).

A avaliação da citotoxicidade também é importante no uso de extratos vegetais como coagulantes para garantir a segurança ambiental e para a saúde humana e animal no tratamento de águas, especialmente as de abastecimento (DE BARROS et al., 2021; VEGA ANDRADE et al., 2021). A identificação do melhor método de extração das sementes de *M. oleifera* e sua relação com a citotoxicidade é essencial para o melhor desenvolvimento e aplicação do coagulante (LANDÁZURI et al., 2020). Poucos estudos são encontrados na literatura comparando as diferentes formas de uso da semente de *M. oleifera* em relação à citotoxicidade na água tratada.

Sendo assim, faz-se necessário um estudo, utilizando condições padronizadas de operação, para avaliação dos diferentes métodos de uso da semente de *M. oleifera* como coagulante no tratamento da água.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve por objetivo geral avaliar o efeito da forma de uso da semente de *M. oleifera* como coagulante primário, preparado após etapas primária (farinha), pré-tratamento secundário (extração do óleo da farinha) e secundária (extração das proteínas catiônicas em meio aquoso e salino), na qualidade da água tratada em termos de remoção de turbidez, efeito no pH, condutividade elétrica, potencial zeta, carbono orgânico residual e citotoxicidade.

Como objetivos específicos incluem-se:

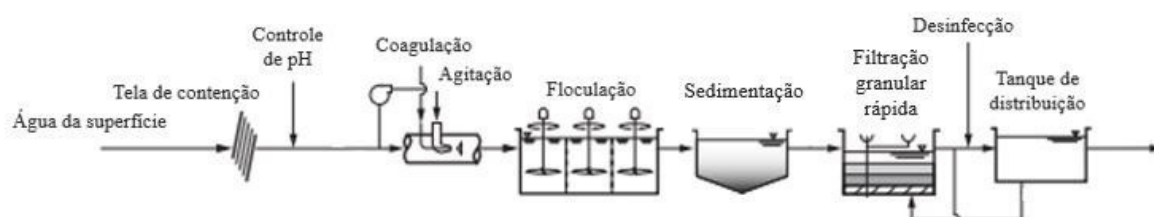
- Avaliar se a extração prévia do óleo da semente de *M. oleifera*, conforme sugerido pela literatura, é capaz de minimizar o carbono orgânico residual na água tratada;
- Determinar se todas as formas estudadas de uso da semente de *M. oleifera* são capazes de aumentar o potencial zeta da suspensão em função da dosagem aplicada;
- Avaliar a citotoxicidade da água após utilização dos coagulantes à base da semente de *M. oleifera* considerando as diferentes formas de extração.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Tratamento de Água para Abastecimento Público

O tratamento de água para abastecimento público é composto por um conjunto de operações unitárias que irão exercer funções específicas em cada etapa do tratamento. A Figura 1 apresenta as etapas do tratamento de água em ciclo completo.

Figura 1: Desenho esquemático das etapas do tratamento de água em ciclo completo para abastecimento público.



Fonte: Adaptado de CRITTENDEN *et al.* (2012)

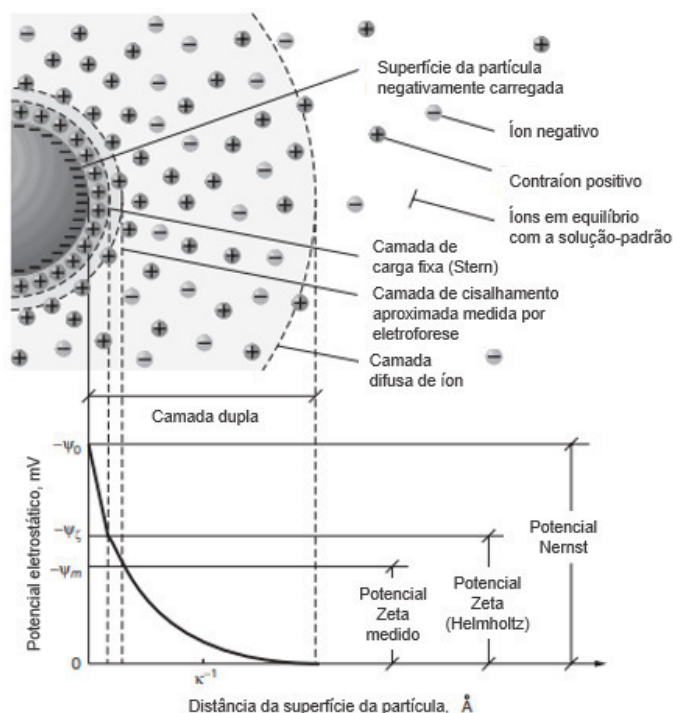
O tratamento de água via ciclo completo é composto pelas etapas de captação da água bruta, controle prévio de pH, coagulação, floculação, sedimentação ou flotação, filtração granular rápida, desinfecção e, por fim, distribuição da água tratada para o consumidor final (CRITTENDEN *et al.*, 2012). As etapas aplicadas deverão estar consoantes às necessidades de tratamento, considerando as características físico-químicas da água bruta captada, de forma a atender aos padrões de potabilidade descritos na Portaria N° 888/21 (BRASIL, 2021).

3.2 Coagulação

A coagulação é uma operação unitária aplicada ao tratamento de águas de abastecimento e residuárias para a remoção das impurezas em suspensão e em estado coloidal, melhorando aspectos de turbidez e cor aparente. Por se tratar uma etapa que envolve uma combinação de meios físicos e químicos, a coagulação também é conhecida como uma operação unitária físico-química. Esta é a primeira etapa, e essencial, nas estações de tratamento de água, pois permitirá a desestabilização das partículas coloidais e em suspensão para que as demais etapas ocorram de forma eficaz (CRITTENDEN *et al.*, 2012).

As impurezas da água bruta normalmente são constituídas por coloides, que possuem carga predominante negativa na superfície e, com isso, forma-se uma dupla camada eletrostática, sendo uma composta por cátions (contra-íons), denominada ‘camada fixa’ ou de “Stern”, e uma camada difusa, que se estende até à eletroneutralidade. A Figura 2 traz uma representação da dupla camada elétrica de uma partícula coloidal.

Figura 2: Representação da dupla camada elétrica da partícula coloidal.



Fonte: Adaptado de CRITTENDEN *et al.*, 2012

A carga negativa na superfície do coloide faz com que a força de repulsão seja dominante sobre a força de atração entre as partículas. Além disso, os coloides possuem baixa densidade e tamanho para sedimentar por gravidade. Desse modo, para que a sedimentação ocorra de forma eficaz, faz-se necessário o uso de coagulantes para desestabilizar as partículas, permitindo que as forças de atração sobressaiam sobre a repulsão, e ocorra a formação dos flocos, que posteriormente sedimentarão por gravidade ou serão removidos por filtração granular (DAYARATHNE et al., 2021; GANDIWA et al., 2020).

3.3 Força de Van Der Waals

As forças de *van der Waals* são forças intermoleculares que exercem importante função nas operações unitárias de coagulação e floculação. Naturalmente os coloides tendem a permanecer estáveis em função do equilíbrio eletrostático entre as cargas negativas e as forças atrativas, predominando a repulsão eletrostática. Para que a coagulação seja considerada efetiva, é esperado que as forças atrativas sejam mais fortes que as forças de repulsão, favorecendo a redução da distância coloidal, levando à floculação (DAYARATHNE et al., 2021).

3.4 Potencial Zeta

O potencial zeta (PZ) é uma medida relacionada à atração ou repulsão entre partículas, afetando a estabilidade. Esta medida é mensurada por meio da eletroforese, que é uma técnica que expõe uma solução contendo partículas carregadas em um campo elétrico entre dois eletrodos, onde os coloides com carga positiva se movem em direção ao eletrodo negativo, a uma dada velocidade, e vice-versa. A relação entre a velocidade a qual as partículas se movem em direção aos polos e o potencial elétrico aplicado é denominada mobilidade eletroforética (ME), que pode ser calculada pela Equação 1 (HENDRICKS, 2011).

$$ME = \frac{v}{\left(\frac{\delta V}{\delta x}\right)}$$

(1)

onde,

ME – mobilidade eletroforética (µm/s/V/cm);

v – velocidade da partícula no campo elétrico (cm/s);

δV – Voltagem aplicada no campo elétrico (V);

δx – distância entre os eletrodos (m).

Então, com base na mobilidade eletroforética, é calculado o potencial zeta, pela equação de Helmholtz–Smoluchowski (Equação 2).

$$\zeta = \frac{4\pi\mu}{D} \cdot ME$$

(2)

Onde,

ζ = potencial zeta (mV);

μ - viscosidade do meio (N s/m²);

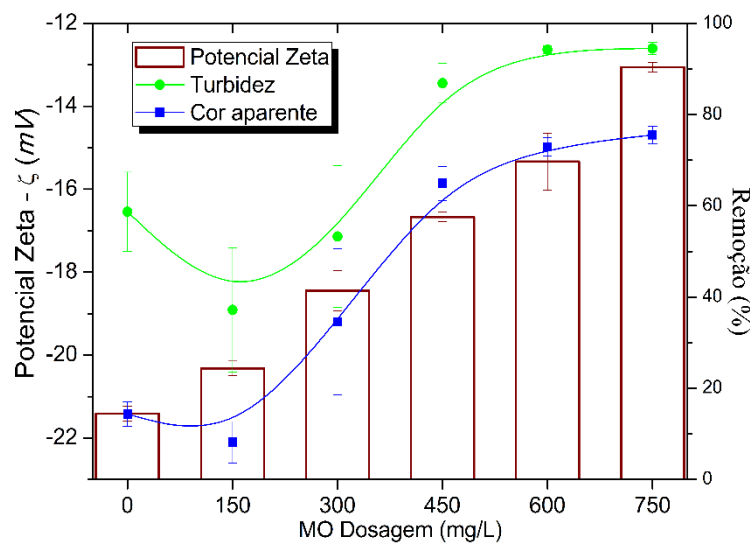
D – constante dielétrica (adimensional);

ME – mobilidade eletroforética (μm/s/V/cm);

O coagulante permite diminuir a repulsão eletrostática, aumentando o potencial zeta que, tendendo a valores neutros, favorecerá a formação de flocos. Em contrapartida, o aumento excessivo da dosagem do coagulante pode converter o PZ para valores excessivamente positivos, levando à reestabilização dos coloides e ao aumento da turbidez, prejudicando a separação sólido-líquido (BECKER et al., 2018).

A Figura 3, reportada por Vega Andrade *et al.* (2021), mostra o efeito do aumento da dosagem de coagulante (MO - *M. oleifera*) no potencial zeta do meio. O aumento da dosagem proporcionou o aumento do PZ e da remoção de turbidez. Isso se deve à neutralização das partículas negativas do meio (efluente após tratamento preliminar por gradeamento e desarenador e tratamento secundário por lodos ativados) pela carga positiva das proteínas catiônicas provenientes da extração aquosa da semente de *M. oleifera*.

Figura 3: Aumento do potencial zeta (mV) versus aumento da dosagem de *M. oleifera* (mg/L) e remoção de turbidez (%).

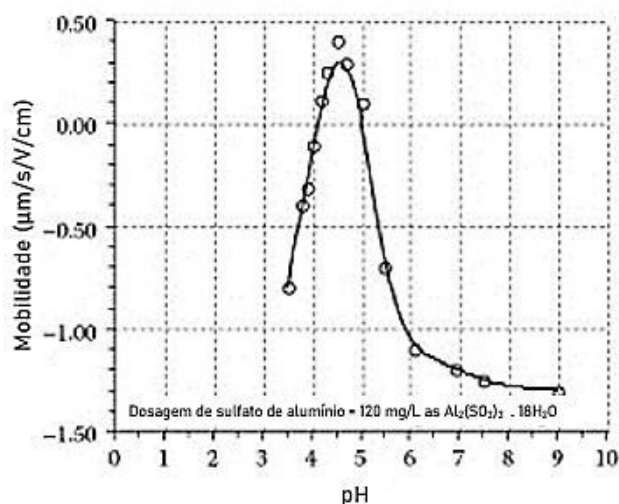


Fonte: Vega Andrade *et al.* (2021).

3.5 Influência do pH na coagulação

O pH também é um fator que exerce importante influência no PZ e, consequentemente, na eficiência de coagulação. A Figura 4 mostra a variação da mobilidade eletroforética em função do pH, para dosagem ótima de 120 mg/L de sulfato de alumínio. Observa-se que, à medida em que o pH do meio aumenta, a mobilidade eletroforética aumenta, com a faixa de 4-5 apresentando os melhores resultados. Essa variação pode ser atribuída ao ponto isoelétrico do coagulante, que representa o pH no qual a carga nula predomina sobre as partículas coloidais (HENDRICKS, 2011).

Figura 4: Variação da mobilidade eletroforética em função da mudança de pH.



Fonte: Adaptado de Hendricks (2011)

3.6 Sulfato de Alumínio

Os coagulantes podem ser sintéticos ou naturais. Os sintéticos são comumente usados em grandes sistemas de tratamento e referem-se aos sais metálicos, normalmente de alumínio ou ferro, e são exemplos o uso do cloreto férrico, cloreto de polialumínio (PAC) e do sulfato de alumínio (SENEDA; GARCIA; DOS REIS, 2021).

O sulfato de alumínio é um dos coagulantes mais utilizados na coagulação em estações de tratamento de água (ETA) por apresentar boa eficiência, fácil manuseio e baixo

custo, boa formação de flocos, além de ser frequentemente usado com padrão de comparação em estudos de novos coagulantes (SENEDA; GARCIA; DOS REIS, 2021).

No entanto, os coagulantes sintéticos podem trazer alguns malefícios à saúde. Por exemplo, coagulantes à base de alumínio podem estar relacionados à patologias ligadas a neurotoxicidade e ao desenvolvimento de doenças de Alzheimer (BANKS et al., 2006; WU et al., 2012), assim como os coagulantes à base de ferro, que podem resultar, se não manejados em conformidade com as doses corretas, em gosto metálico, odor e corrosão das tubulações. Ademais, podem apresentar outras desvantagens, como geração de grandes quantidades de lodo não biodegradável, necessidade de ajuste prévio de pH da mistura, além de outros fatores negativos ao meio ambiente (GANDIWA et al., 2020).

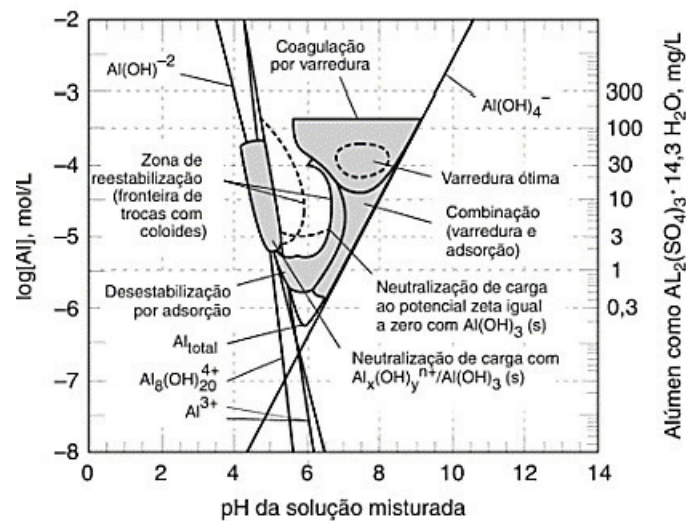
Os efeitos potencialmente negativos apresentados justificam o crescente interesse no desenvolvimento de coagulantes naturais extraídos de plantas. As principais vantagens apresentadas na literatura são a biodegradabilidade, a baixa toxicidade e a baixa produção de lodo que, conseqüentemente, reflete no impacto ambiental, que é significativamente reduzido (NHARINGO; ZIVURAWA; GUYO, 2015; YAMAGUCHI et al., 2021).

3.7 Mecanismos de Coagulação

A coagulação é o resultado da ação de diferentes mecanismos, sendo eles: compressão da dupla camada elétrica, adsorção e neutralização de carga, varredura e adsorção e formação de pontes. Quando um coagulante à base de alumínio é adicionado na água ocorrem reações, como a dissociação, formando íons trivalentes (Al^{3+}), que reagem e produzem uma variedade de espécies mononucleares e polinucleares. As espécies formadas por essa interação são dependentes das características da água, como temperatura, concentração de alumínio e pH, sendo este fator decisivo na solubilidade do coagulante. Os íons positivos formados pela dissociação na água são capazes de neutralizar a carga negativa das impurezas coloidais, resultando na aglutinação e formação de flocos (CRITTENDEN et al., 2012).

A Figura 5 apresenta o diagrama de solubilidade do sulfato de alumínio em função da variação do valor de pH e da dosagem aplicada, que determinam o mecanismo predominante de coagulação.

Figura 5: Diagrama de solubilidade do sulfato de alumínio



Fonte: Adaptado de (METCALF; EDDY, 2016).

3.8 *Moringa oleifera*

Originária da Índia, a *M. oleifera* é uma árvore perene tropical de rápido crescimento e possui aplicabilidade na medicina, desde os usos tradicionais até o uso pela indústria farmacêutica, devido à produção de compostos anti-inflamatórios, antipiréticos, diuréticos, anti-hipertensivos e antioxidantes (AL DAYEL; EL SHERIF, 2021; LIU *et al.*, 2018).

A semente da *M. oleifera* tem se destacado por apresentar resultados satisfatórios e similares aos coagulantes sintéticos, motivando o seu uso como coagulante em sistemas de tratamento de água de abastecimento e residuárias (VALVERDE *et al.*, 2018; VEGA ANDRADE *et al.*, 2021; VUNAIN *et al.*, 2019).

3.8.1 Componentes ativos de coagulação da semente de *Moringa oleifera*

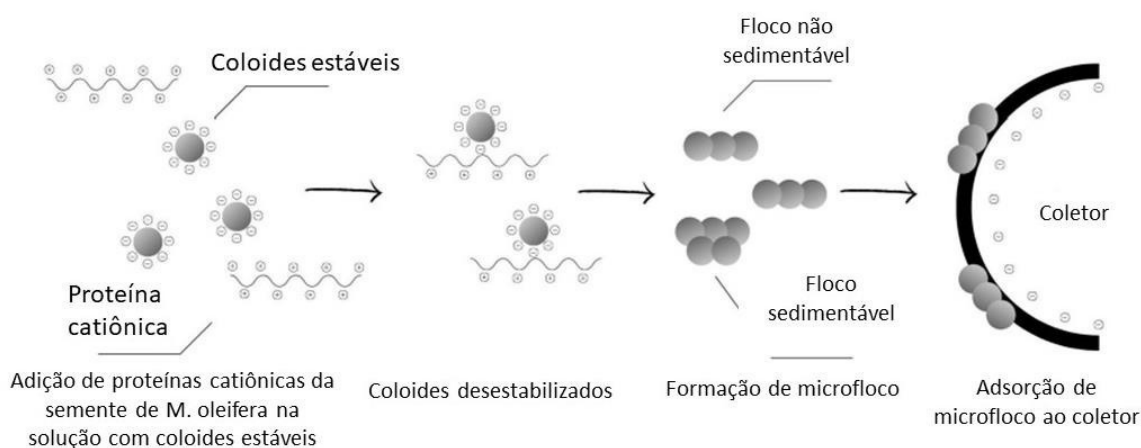
Os componentes ativos, chamados de proteínas catiônicas, conferem a capacidade coagulante à semente. Ainda é incerta a natureza específica do componente coagulante, por isso, essa capacidade é atribuída a compostos solúveis catiônicos (BAPTISTA *et al.*, 2015, 2017). Baptista *et al.* (2017) investigaram o fracionamento de proteínas a partir de sementes de *M. oleifera*. Foram identificadas seis proteínas com características semelhantes (potencial zeta e pH), sendo a globulina I e II e a albumina os principais componentes proteicos, com 53% (m/m) e 44% (m/m), respectivamente.

Dentre as principais características, as proteínas catiônicas possuem ponto isoelétrico entre 10 e 11 e peso molecular que varia entre 6,5 a 37 kDa (DEZFOOLI *et al.*, 2016; NDABIGENGESERE; NARASIAH; TALBOT, 1995; NONFODJI *et al.*, 2020).

3.8.2 Mecanismos de coagulação da semente de *Moringa oleifera*

O principal mecanismo de desestabilização das partículas atribuído à semente de *M. oleifera* é o de adsorção e neutralização de cargas, ilustrado na Figura 6 (NDABIGENGESERE; NARASIAH; TALBOT, 1995; VILLASEÑOR-BASULTO *et al.*, 2018). A desestabilização ocorre pela adsorção das proteínas catiônicas oriundas da semente de *M. oleifera* e neutralização das cargas negativas dos coloides, que atenuam a repulsão eletrostática, levando à formação de flocos. Tendo em vista que os flocos formados pelo mecanismo de coagulação atuante são pequenos, a adição de uma etapa de filtração granular (ilustrado como “coletor” na Figura 6) pode aumentar a eficiência de remoção de turbidez, uma vez que as cargas negativas das partículas estarão desestabilizadas pelas proteínas catiônicas da semente de *Moringa oleifera* e ficarão retidas por forças de atração ao coletor.

Figura 6: Etapas do mecanismo de adsorção e neutralização de cargas.



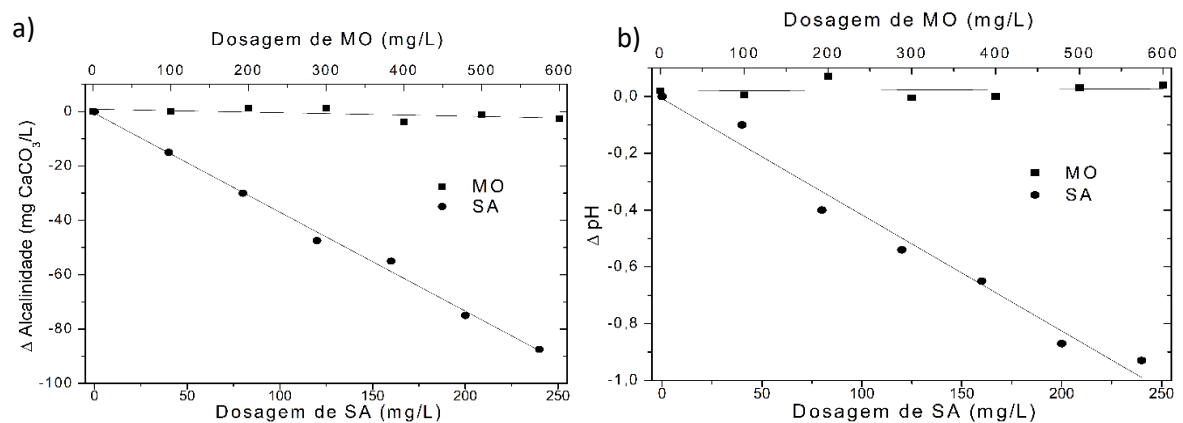
Fonte: Adaptado de Vega Andrade *et al.* 2021.

3.8.3 Efeitos no pH

Diferente dos coagulantes sintéticos à base de sais metálicos, a *M. oleifera* não consome alcalinidade, sendo assim, não altera significativamente o pH da solução, sendo

esta uma das grandes vantagens de seu uso como coagulante (Figura 7) (ANDRADE *et al.*, 2021; VILLASEÑOR-BASULTO *et al.*, 2018; YAMAGUCHI *et al.*, 2021).

Figura 7: Efeito da dosagem dos coagulantes sulfato de alumínio (SA) e *M. oleifera* (MO) no consumo da alcalinidade (a) e pH (b).

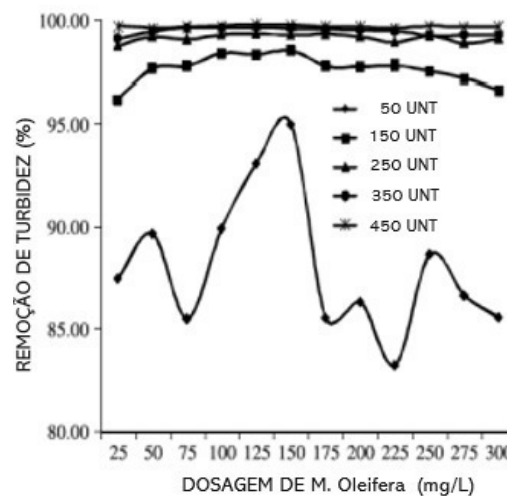


Fonte: Vega *et al.* (2021)

3.8.4 Remoção de Turbidez

Nkurunziza et al (2009) observaram que a remoção de turbidez é influenciada pela turbidez inicial. O estudo foi realizado usando extrato salino a 3% (m/v) (em solução NaCl 1M) em diferentes dosagens (25 mg/L até 300 mg/L) para remoção da turbidez de água de rio em diferentes valores de turbidez iniciais (50 unT até 450 unT). O experimento foi realizado em jar test sob as mesmas condições de operação (mistura rápida 100 rpm por 2 minutos; mistura lenta 15 rpm por 20 minutos e sedimentação por 60 minutos). A Figura 8 mostra a remoção de turbidez em função da variação da dosagem do coagulante à base de *M. oleifera* e da turbidez inicial.

Figura 8: Remoção de turbidez (%) em função da variação da dosagem de *M. oleifera* (mg/L) e da turbidez inicial (unT).



Fonte: Adaptado de Nkurunziza et al (2009).

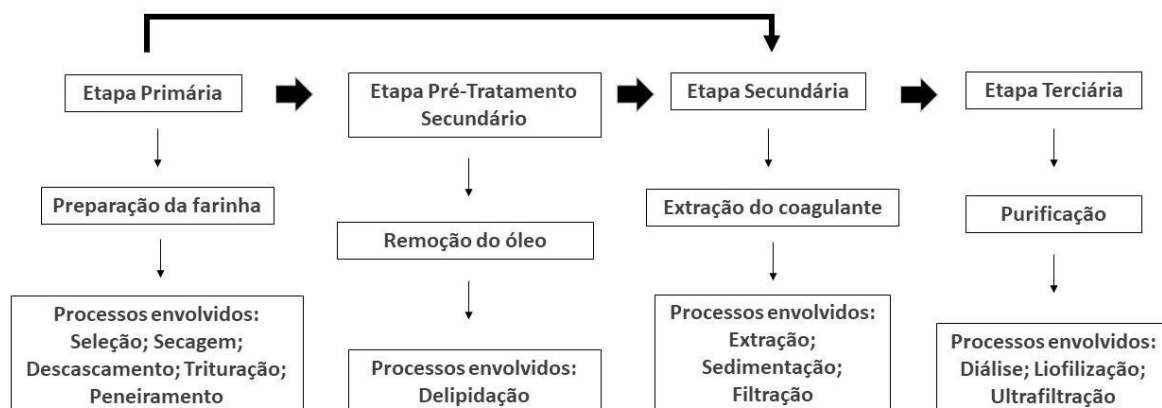
Os melhores resultados de remoção de turbidez foram observados para valores mais elevados de turbidez inicial, devido a maior disponibilidade de partículas para adsorção e neutralização das cargas negativas pelas proteínas catiônicas da semente de *M. oleifera*, formando flocos com tamanho e peso suficiente para sedimentar (NKURUNZIZA et al., 2009).

Em contrapartida, Ribeiro, Vega Andrade e Reis (2019) mostraram ser possível o uso do coagulante à base de *M. oleifera* para o tratamento de águas com baixa turbidez (25 unT) com a utilização da filtração granular rápida. A adição do coagulante aumentou o potencial zeta para valores positivos, neutralizando a carga negativa das partículas em suspensão. Dessa forma, quando adicionado o filtro granular rápido após a coagulação, as partículas ficam retidas por forças de atração, por já estarem desestabilizadas, resultando, nesse caso, em 98% de remoção de turbidez.

3.8.5 Métodos de uso da Semente da *Moringa oleifera* como coagulante

As etapas de preparação da semente de *M. oleifera* para uso como coagulante são normalmente classificadas em primária, pré-tratamento secundário, secundária e terciária (Fig. 9)(AHMAD et al., 2022; YAMAGUCHI et al., 2021). A partir de qualquer uma destas etapas de preparação a semente pode ser utilizada como coagulante, podendo com isso resultar em diferentes propriedades na água tratada.

Figura 9: Etapas de preparação para uso da semente de *M. oleifera* como coagulante.



Fonte: elaborado pela autora (Adaptado de AHMAD et al., 2022)

Na etapa primária, que consiste na preparação da farinha, observam-se técnicas semelhantes, como a sequência de descascamento, escolha das sementes sãs, secagem, processamento e peneiramento.

A Tabela 1 apresenta artigos publicados sobre o uso da semente de *M. oleifera* como coagulante natural para mostrar as variações das técnicas aplicadas na etapa primária.

Tabela 1: Publicações sobre diferentes técnicas aplicáveis na etapa primária de extração.

Referência	Etapa Primária					Água de estudo	Resultados
	Secagem	Descascamento	Seleção	Processamento	Peneiramento		
(SILVA et al., 2021)	Estufa de recirculação de ar a 60°C por 10 min	Sim (Não Especificado)	---	Liquidificador industrial por 3 min	425 mm/μm	Água residual	Remoção de Turbidez: 93%
(ZAID; GHAZALI, 2019)	Temperatura ambiente por 1 dia / 40°C por 10 min após a moagem	Sim (Não Especificado)	---	Pulverização em moedor doméstico	Malha 2 mm	Água bruta de rio	Turbidez < 5 UNT
(VARKEY, 2020)	---	Sim (Não Especificado)	---	Triturador Elétrico	Peneira 0,8 mm	Água bruta de rio	Remoção de Turbidez: 92,07%

Fonte: elaborado pela autora

Vunain *et al.* (2019) estudaram a etapa primária de extração, que consiste na preparação da farinha, destacando-se a adoção das etapas de descascamento, de moagem em

moinho e posterior peneiramento com malha de 150 µm e secagem em estufa a 105°C por trinta minutos. Já Zaid *et al.* (2019) adotaram uma sequência diferente, incluindo o descascamento da semente, a secagem em temperatura ambiente por um dia, moagem em moedor doméstico, peneiramento em malha 2 mm e posterior secagem em estufa a 40°C por dez minutos para reduzir o teor de umidade. Nota-se, pelos exemplos citados acima, que há distintas formas de preparo da farinha, na etapa primária. Os equipamentos, sequências e tempo de operação envolvidos variam, sendo este um fator potencialmente influenciador na dinâmica do experimento e na eficiência final.

A Tabela 2 apresenta artigos publicados sobre o uso da semente de *M. oleifera* como coagulante natural para mostrar as variações das técnicas aplicadas na etapa secundária.

Tabela 2: Publicações sobre diferentes técnicas aplicáveis na etapa secundária de extração.

Referência	Etapa Secundária					Água de estudo	Resultados
	Solvente	Farinha	Agitação	Sedimentação	Filtração		
(VEGA ANDRADE et al., 2021)	100 g de Água deionizada	5 g da farinha bruta	Agitador magnético por 15 min	15 min	---	Água residuária secundária	Remoção de turbidez: 92 ± 5%
(JUNG et al., 2018)	100 ml de Água destilada	5 g da farinha bruta	Agitador magnético 1-120 min	---	Filtro de Nylon (10 µm) e membrana 0,45 µm	Água residuária com adição de caulim	Remoção de turbidez: 90 a 95%
(RIBEIRO; ANDRADE ; REIS, 2019)	100 g de Água deionizada	1 g da farinha bruta	Agitador magnético por 15 min	15 min	---	Água de poço com adição de caulim	Remoção de turbidez: 98%

Fonte: elaborado pela autora

Na etapa secundária, que consiste na extração da proteína catiônica coagulante, há diferentes técnicas aplicáveis (BAPTISTA et al., 2015; BOULAADJOUL et al., 2018; SKAF et al., 2021). Uma quantidade da farinha é adicionada a uma quantidade de solvente de extração (m/m ou m/v), que pode ser solução aquosa (água destilada ou água da torneira) ou salina. No uso da solução salina, os solventes mais comumente usados são o de cloreto de sódio (NaCl) ou cloreto de potássio (KCl) (ABDUL HAMID et al., 2016; FEIHRMANN et al., 2017). Como via mais econômica e pela sua facilidade de aplicação em comunidades rurais e de baixa renda, além do baixo custo de operação e mão-de-obra reduzida, a extração aquosa é a alternativa mais comumente aplicada (YAMAGUCHI et al., 2021). Porém, os melhores resultados de remoção de turbidez são obtidos com a extração em meio salino por

apresentar maior quantidade de proteínas solúveis devido ao aumento da força iônica trazida pela dissociação do sal (VILLASEÑOR-BASULTO et al., 2018). Boulaadjoul *et al.* (2018) extraíram a proteína coagulante da semente de *M. oleifera* em solução salina de cloreto de sódio (NaCl) 1M, em 5 g da farinha previamente preparada, para reduzir a turbidez do efluente de fábrica de papel. Como resultado, obtiveram 96,02% de remoção da turbidez. Na mesma linha de pesquisa, De Paula *et al.* (2018) usaram solução aquosa (água destilada) da farinha a 5% (m/v) para remoção de turbidez de águas residuárias. Dentre as etapas envolvidas, houve a agitação a 100 rpm por trinta minutos e posteriormente mantidos sob refrigeração por 24h a 4°C.

Destaca-se pela Tabela 2 que a quantidade e o solvente de extração diferem dentre a bibliografia levantada, assim como o tempo e aplicação da sedimentação, quantidade de farinha bruta, equipamento e tempo de agitação e uso de filtros diversos.

Com o objetivo de purificar as proteínas catiônicas, é muito comum se fazer um pré-tratamento antes de se fazer a extração secundária em si. Este pré-tratamento secundário consiste na extração do óleo (delipidação) da semente de *M. oleifera* (AHMAD *et al.*, 2021). As sementes de *M. oleifera* contêm de 30-40% (m/m) de óleo (GARCIA-FAYOS et al., 2016; LEONE et al., 2016; OLADIPO; BETIKU, 2019), e a delipidação é uma técnica que tem sido estudada para avaliar eficiência da coagulação, bem como dar um melhor aproveitamento para o óleo da semente.

Dentre as técnicas de delipidação, o extrator Soxhlet se destaca por apresentar metodologia simples e de fácil manuseio, além de obter alta eficiência na extração do óleo, em comparação com outros métodos (LEMES, 2018). Esta técnica depende da temperatura – relacionada à temperatura de ebulição do solvente – tempo de extração (definidos como “ciclos”) e tipo de solvente (OLADIPO; BETIKU, 2019). Os melhores resultados associados à essa técnica podem estar relacionados ao contato direto da farinha da semente com o solvente (como hexano ou etanol) em cada ciclo, levando a uma maior extração do óleo (GARCIA-FAYOS et al., 2016). Nessa técnica, o óleo pode ainda ser recuperado e reaproveitado para procedimentos industrial e alimentar (SANTOS et al., 2016).

Santos *et al.* (2016) prepararam o extrato de *M. oleifera* em solução salina após a extração do óleo usando hexano e etanol como solventes para fins de comparação e o hexano apresentou resultados sutilmente melhores na remoção de cor aparente (hexano 53% e etanol 49%), turbidez (hexano 77% e etanol 74%) e carbono orgânico dissolvido (hexano 37% e etanol 22%).

Garcia-Fayos *et al.* (2016) compararam a eficiência de dois métodos de delipidação: batelada e Soxhlet, usando três tipos de solventes: hexano, etanol e acetona. Em concordância com Lemes (2018), os melhores resultados de extração foram obtidos via Soxhlet e com o solvente hexano (37% m/m de remoção de óleo).

A Tabela 3 apresenta uma relação de pesquisas sobre o uso da semente de *M. oleifera* como coagulante natural para mostrar as variações das técnicas aplicadas na etapa de pré-tratamento secundário.

Tabela 3: Publicações sobre diferentes técnicas aplicáveis na etapa de pré-tratamento secundário de extração.

Referência	Extração com Pré-tratamento secundário – Delipidação					
	Extrator	Solvente	Ciclos / hora	Temperatura	Água de estudo	Resultados
Magalhães <i>et al.</i> 2021	Soxhlet	n-hexano	Não informado	70°C até massa constante	Água sintética	Remoção de turbidez: 82,43 ± 0,70%
Nonfodji <i>et al.</i> 2020	Soxhlet	n-hexano	2 horas	Não informado	Água residual e água sintética ajustada com caulim	Remoção de turbidez: 64%, para pH=7.37
Oladipo e Betiku 2019	Soxhlet	Acetato de etila, etanol e n- hexano	Não informado	Ponto de ebulição de cada solvente	---	Rendimento da extração do óleo - Hexano: 41,72 ± 0,45%, Etanol: 8,24 ± 0,00
Garcia-Fayos <i>et al.</i> 2016	Batelada e Soxhlet	Etanol, hexano e Acetona	20 ciclos e 6 horas	Não informado	Água sintética com adição de caulim	Rendimento da extração do óleo - Hexano: 34,37%, Etanol: 31,99%

Fonte: elaborado pela autora

Nota-se pela Tabela 3 que há possibilidade do uso de diferentes solventes de extração para a técnica Soxhlet, assim como a adoção de variados ciclos/horas de extração e temperatura de ebulição.

Com o objetivo de atenuar os efeitos indesejáveis do uso da semente de *M. oleifera* como coagulante, tais como aumento do carbono orgânico residual e toxicidade na água tratada, muitos estudos têm sido realizados para purificação avançada das proteínas, incluindo técnicas como ultrafiltração, liofilização e diálise. Estes métodos de purificação são caracterizados como etapa terciária de extração e envolvem custos e etapas adicionais complexas, que podem tornar inviável para aplicação em larga escala, ficando assim, restritos para fins de pesquisa (YAMAGUCHI *et al.*, 2021). Esta etapa é normalmente usada

para obter um coagulante mais concentrado podendo, também, diminuir a quantidade de matéria orgânica (BAPTISTA *et al.*, 2015).

A Tabela 4 apresenta uma relação de pesquisas sobre o uso da semente de *M. oleifera* como coagulante natural para mostrar as variações das técnicas aplicadas na etapa terciária.

Tabela 4: Publicações sobre diferentes técnicas aplicáveis na etapa terciária de extração.

Referência	Extração secundária	Etapa Terciária		Água de estudo	Resultados
		Método	Equipamento		
(NDABIGENGES ERE; SUBBA NARASIAH, 1998)	Extração aquosa (Água de torneira)	Diálise	Tubos de diálise	Água da torneira com adição de caulim	Remoção de Turbidez: 90,4%
(BAPTISTA <i>et al.</i> , 2015)	Extração Salina (NaCl) e Aquosa (Água destilada)	Ultrafiltração (UF)	Módulo de fluxo tangencial a 1 bar; Membrana de fibra oca	Água bruta de rio	Remoção de Turbidez: Extração aquosa: 51,48%; Extração salina: 88,76%
(NDABIGENGES ERE; SUBBA NARASIAH, 1998)	Extração aquosa (Água de torneira)	Liofilização	Liofilizador Labconco (modelo 4.5)	Água da torneira com adição de caulim	Remoção de Turbidez: 90,4%
(NDABIGENGES ERE; NARASIAH; TALBOT, 1995)	Extração aquosa (Água – Não Especificado)	Precipitação	Solução saturada de 80-100% de Sulfato de amônio	Água da torneira com adição de caulim	Remoção de Turbidez: 90,4%

Fonte: elaborado pela autora

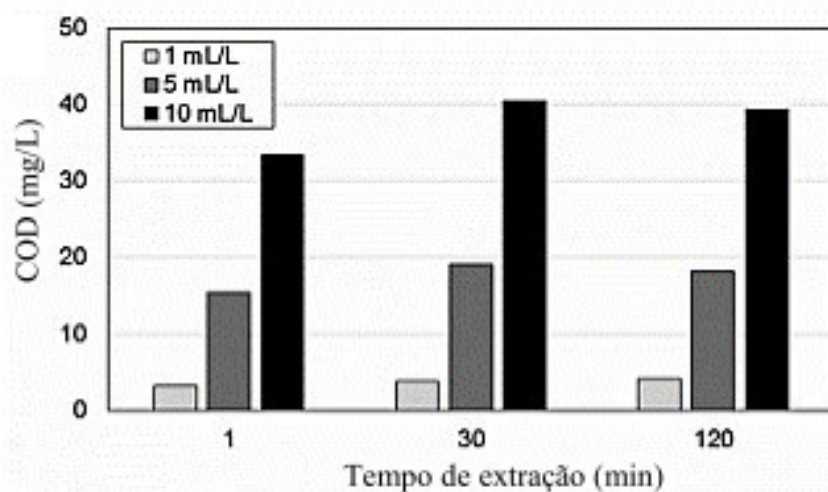
3.8.6 Uso da Semente da *Moringa oleifera* e o efeito no carbono orgânico residual

O carbono orgânico total (COT) é uma medida direta de compostos orgânicos presentes em uma solução, expressa em mg de carbono por litro de solução, e é comumente usada para a avaliação da qualidade da água. A técnica mais comum para se determinar a presença de matéria orgânica em amostras líquidas é a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), que é uma medida indireta de compostos orgânicos, medidos pelo consumo de oxigênio proveniente da degradação da matéria orgânica por processos biológicos, também expressa em mg/L. A determinação é feita pelo método analítico de bancada (DBO_{5,20}) e é mais comumente empregado para águas com alto valor de matéria orgânica. A depender da fonte da água a ser analisada, como águas de abastecimento, esperando-se valores muito baixos de COT (0,1 até 50 mg/L), a técnica de DBO é ineficiente para mensurar a

concentração de carbono na amostra devido ao limite de detecção (acima de 50 mg/L). Por isso, a técnica para quantificação de matéria orgânica mais adequada é o COT, por permitir a leitura de valores mais baixos. Sua determinação é feita por meio da conversão dos compostos orgânicos em dióxido de carbono (CO₂), excluindo primeiramente os compostos inorgânicos presentes (CRITTENDEN et al., 2012).

Apesar da boa eficiência na remoção de turbidez evidenciada na literatura, uma das limitações no uso da semente de *M. oleifera* como coagulante é o aumento da carga orgânica proveniente da composição natural da semente, como lipídeos, carboidratos e proteínas (CAMACHO et al., 2017; NDABIGENGESERE; SUBBA NARASIAH, 1998; VEGA ANDRADE et al., 2021). Isto foi relatado por Jung et al (2018), com o uso do extrato aquoso da semente de *M. oleifera* a 5% (m/v) para o tratamento de água sintética preparada com caulim, ilustrado pela Figura 10.

Figura 10: Variação da concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) em função das dosagens do coagulante à base de *M. oleifera* e do tempo de extração



Fonte: Adaptado de Jung et al. (2018).

Observa-se, pela Figura 10, que a concentração de COD não variou em função do tempo de extração, mas sim da dosagem do coagulante, fato este observado para todos os tempos de extração propostos. O método de extração escolhido (extração aquosa), é o mais comum por ser simples para aplicação e reprodução, porém, não há a adição da etapa de purificação da proteína catiônica. Sendo assim, além do desprendimento das proteínas catiônicas, outras proteínas e compostos orgânicos que não são de interesse da coagulação são liberados na água, levando ao aumento da carga orgânica. A presença desses compostos

é indesejada no tratamento de água pois pode levar ao crescimento de microorganismos indesejados e também pode formar subprodutos como resultado da desinfecção, como trihalometanos (BAPTISTA et al., 2015, 2017; NDABIGENGESERE; SUBBA NARASIAH, 1998; SANTOS et al., 2016; TAIWO; ADENIKE; ADERONKE, 2020).

Para minimizar os efeitos negativos do uso do coagulante à base de *M. oleifera*, etapas terciárias de purificação, como diálise, ultrafiltração, troca iônica, eluição e precipitação são aplicadas para obter um extrato mais puro e com menor concentração de compostos não desejáveis à coagulação (BAPTISTA et al., 2015, 2017; CHOUDHARY; NEOGI, 2017; NONFODJI et al., 2020; SÁNCHEZ-MARTÍN; GHEBREMICHAEL; BELTRÁN-HEREDIA, 2010).

Sánchez-Martín et al. 2010, purificaram a proteína da semente de *M. oleifera* em duas etapas de eluição: a primeira etapa consistiu na eluição em solução NaCl 0,6 M, e a segunda etapa na composição da eluição em solução NaCl 0,3 M e, em seguida, em solução NaCl 0,6 M. O autor associa a primeira eluição com a remoção de proteínas que possivelmente não levam a uma maior capacidade de coagulação e a segunda eluição à obtenção de uma proteína mais purificada. Ao adicionar a etapa de purificação, removem-se as proteínas indesejáveis, e também material orgânico da semente, refletindo na concentração de COD na água tratada (SÁNCHEZ-MARTÍN; GHEBREMICHAEL; BELTRÁN-HEREDIA, 2010)

Porém, a aplicação da etapa terciária incorre em custos adicionais e exigem maior conhecimento e domínio técnico, tornando o uso do coagulante menos atrativo para aplicação em zonas rurais e países em desenvolvimento (ANG; MOHAMMAD, 2020; KATALO et al., 2018).

Alguns autores discutem a extração do óleo da semente de *M. oleifera* como uma recomendação para purificar a proteína coagulante, reduzir a carga orgânica residual (ALI et al., 2010; GARCIA-FAYOS et al., 2016; SANTOS et al., 2016; YAMAGUCHI et al., 2021), atenuando os possíveis efeitos negativos como aumento de cor, turbidez e proliferação de micro-organismos, permitindo obter um coagulante mais seguro. A presença de óleo juntamente com outros compostos orgânicos pode aumentar o teor de matéria orgânica na água tratada (NDABIGENGESERE; SUBBA NARASIAH, 1998) e a delipidação pode diminuir a concentração dos compostos indesejáveis à coagulação, como os lipídeos, já que, em média, 30% a 40% (m/m) da semente de *M. oleifera* é composta por óleo, sendo este composto por mais de 70% (m/m) de ácidos graxo monoinsaturado (GARCIA-FAYOS et al., 2016; LEONE et al., 2016; OLADIPO; BETIKU, 2019). Porém,

encontra-se na literatura somente hipóteses que levantam a ideia de que a retirada do óleo pode reduzir a carga orgânica presente na semente de *M. oleifera*, e não foi encontrada comprovação experimental de sua eficácia.

3.8.7 Uso da Semente da *Moringa oleifera* e o efeito na citotoxicidade

A análise de citotoxicidade, que é a capacidade de um agente químico ou natural causar danos às células vivas, é essencial no uso de extratos vegetais como coagulantes para garantir a segurança ambiental e também a saúde humana e animal após o tratamento de águas, especialmente as de abastecimento (DE BARROS et al., 2021; VEGA ANDRADE et al., 2021). Dessa forma, a identificação do melhor método de extração das sementes de *M. oleifera* e sua relação com a citotoxicidade é essencial para o melhor desenvolvimento e aplicação do coagulante (LANDÁZURI et al., 2020).

O uso de linhagens celulares pode ser usado para determinação da citotoxicidade pela fácil manipulação e reprodutibilidade além da sensibilidade a produtos naturais ou sintéticos (BIANCHI et al., 2015). De acordo com a ISO 10993-5/2009, a viabilidade celular pode ser analisada in vitro, em culturas celulares obtidas de tecidos isolados de animais e humanos, sendo a seleção das células dependente do efeito biológico esperado (VERGOLYAS, 2019).

O método colorimétrico MTT (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium]) é um dos mais utilizados devido à sua sensibilidade na detecção de produtos potencialmente citotóxicos por meio da avaliação da atividade metabólica celular (C. MAIYO; MOODLEY; SINGH, 2015). As células saudáveis e metabolicamente ativas convertem o sal metiltetrazólico (MTT), de cor amarela e solúvel em água, em cristais de formazan, de coloração roxa e insolúvel, por meio da atividade metabólica celular de enzimas desidrogenase (GARCÍA-BELTRÁN et al., 2020). Somente células metabolicamente ativas serão capazes de converter o MTT, indicando maior atividade metabólica e, portanto, maior viabilidade celular. Em contrapartida, a menor viabilidade indica maior sensibilidade das células à ação de um determinado produto (VERGOLYAS, 2019).

O uso da semente de *M. oleifera* como coagulante pode apresentar certo nível de toxicidade, (FREITAS et al., 2016; PÉREZ-PÉREZ et al., 2020). Vega Andrade *et al.* (2021) avaliou o uso do coagulante via extração aquosa das sementes no tratamento de efluente terciário, em comparação com o sulfato de alumínio. Os dois coagulantes apresentaram baixa

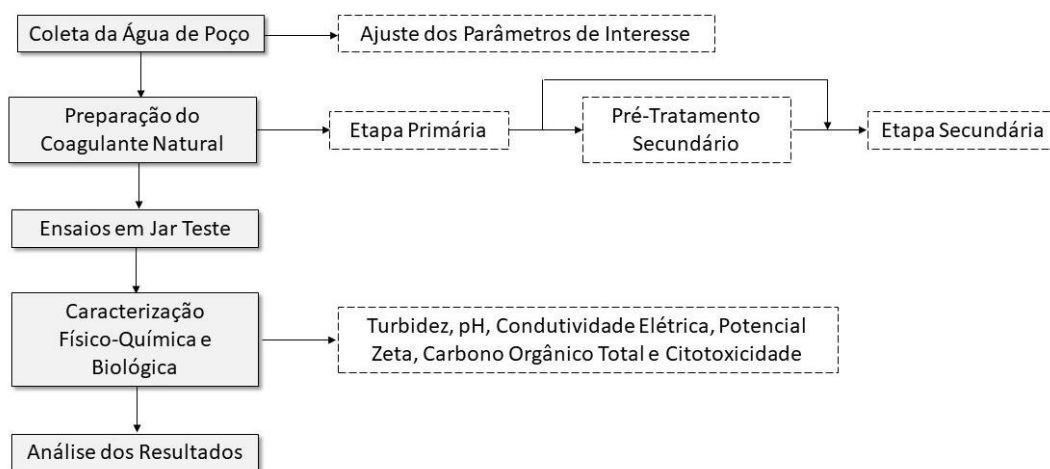
citotoxicidade, mesmo para as maiores dosagens (coagulante à base de *M. oleifera* - 30 mg/L até 750 mg/L), com viabilidade celular em torno de 66% para a *M. oleifera* (dosagem de 600 mg/L), frente a 63% do sulfato de alumínio (dosagem de 200 mg/L). Porém, a literatura ainda é escassa em relação à avaliação de citotoxicidade considerando as etapas primária, pré-tratamento secundário e secundária de preparação e uso da semente de *M. oleifera* como coagulante.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Todo o experimento foi realizado no Departamento de Engenharia Ambiental do Instituto de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista (Unesp), campus de São José dos Campos - SP.

As etapas desenvolvidas nesta pesquisa estão apresentadas na Figura 11, e serão descritas nos próximos itens.

Figura 11: Fluxograma das etapas desenvolvidas neste trabalho.



Fonte: elaborado pela autora

4.1 Água de Estudo

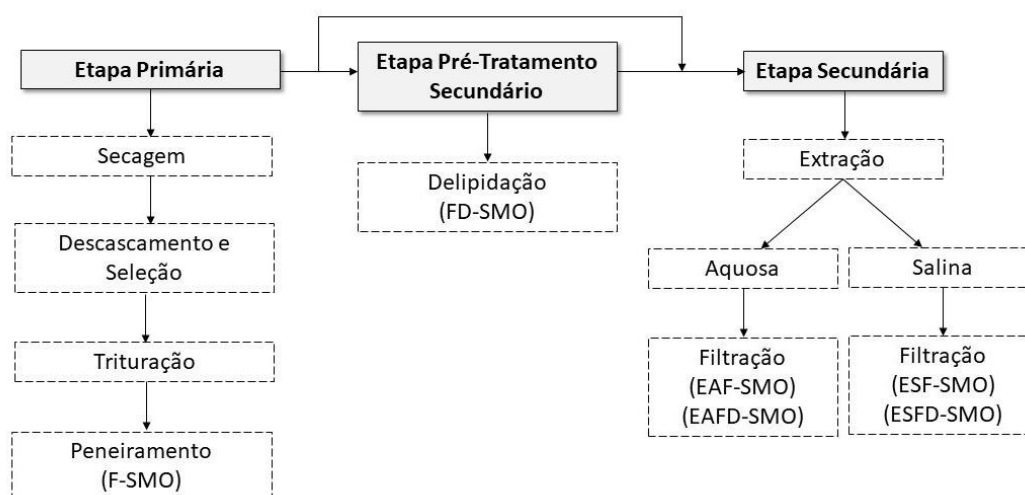
Foi utilizada água de poço localizado no Parque Tecnológico do São José dos Campos, a qual foi coletada em tambores de 50L e a turbidez ajustada adicionando-se suspensão mãe de caulim (LabSynth), na concentração de 50 g/L de sólidos totais, para obtenção de uma água sintética padrão com turbidez de 200 ± 10 unT. A turbidez padrão escolhida foi de 200 ± 10 unT pois representa uma água de alta turbidez, normalmente estudada por outros autores (GARCIA-FAYOS *et al.*, 2016; MOHAMED *et al.*, 2015) para remoção via coagulação, floculação e sedimentação com o uso da semente de *M. oleifera* como coagulante primário. O valor de pH da água sintética foi ajustado para $7,0 \pm 0,2$, com a adição, quando necessário, de HCl 0,1M (Dinâmica – 37%) ou NaOH 0,1M (Neon – mín. 99,67%). A água sintética não foi estocada, sendo preparada e utilizada em até 24h.

4.2 Preparação do Coagulante Natural da Semente de *Moringa oleifera*

As sementes de *M. oleifera*, cultivadas na cidade de Araçatuba - SP (20°56'19.72"S, 50°40'6.17"O), foram adquiridas da empresa Arbocenter por meio de duas compras realizadas em momentos distintos (junho/2021 e setembro/2021), sendo as sementes pertencentes ao mesmo lote (Lote: 00016-21).

A Figura 12 apresenta o fluxograma das etapas para a preparação e extração do coagulante, dividindo-se em: etapa primária, etapa de pré-tratamento secundário e etapa secundária.

Figura 12: Fluxograma das etapas de preparação do coagulante a partir da semente de *M. oleifera*.



Fonte: elaborado pela autora

Neste trabalho foram estudadas as etapas primária, pré-tratamento secundário, e secundária de preparação do coagulante com base na semente de *M. oleifera*. Não foi incluída uma etapa terciária de estudo por envolver processos complexos e de alto custo, que atualmente inviabilizam o uso da semente como coagulante (YAMAGUCHI *et al.*, 2021).

4.2.1 Secagem da Semente de *M. oleifera*

As sementes foram inicialmente secas em estufa a 40°C por duas horas, período esse suficiente para obter massa constante e para reduzir o teor de umidade, pois a farinha da semente tem grande afinidade para atrair umidade. A secagem é uma etapa preliminar

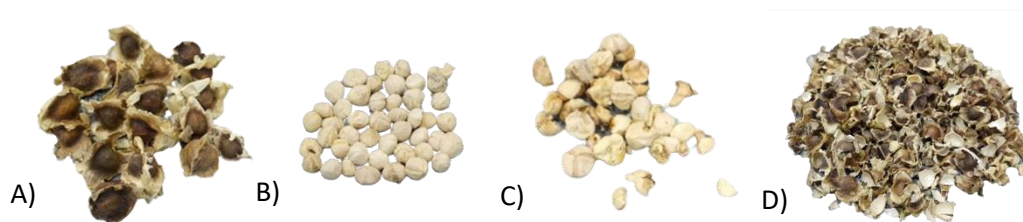
importante para obter uma farinha fina e seca, que será mais bem aproveitada na etapa de extração da proteína (KATAYON *et al.*, 2006a). A temperatura de secagem não pode exceder 60 °C pois acima desta temperatura pode causar danos à proteína catiônica (ABDUL HAMID *et al.*, 2016). As sementes secas foram estocadas a temperatura ambiente em um dessecador até o uso.

4.2.2 Descascamento e seleção da semente de *M. oleifera*

As sementes secas foram descascadas manualmente e escolhidas as que apresentaram boa qualidade (não estragado, velho, infectado com doenças, amarronzado ou seco depois de aberta) para posterior trituração (KATAYON *et al.*, 2006b). As cascas obtidas pela etapa de descascamento foram armazenadas para posterior utilização em estudos para uso como adsorvente (LOPES; ROLEDO; REIS, 2022).

A Figura 13 ilustra as etapas de descascamento e seleção das sementes.

Figura 13: Ilustração das etapas de descascamento e seleção das sementes de *M. oleifera*, sendo a) sementes de *M. oleifera* com casca e b) sementes de *M. oleifera* descascadas e selecionadas, c) sementes de *M. oleifera* descascadas e descartadas e d) casca das sementes de *M. oleifera*.



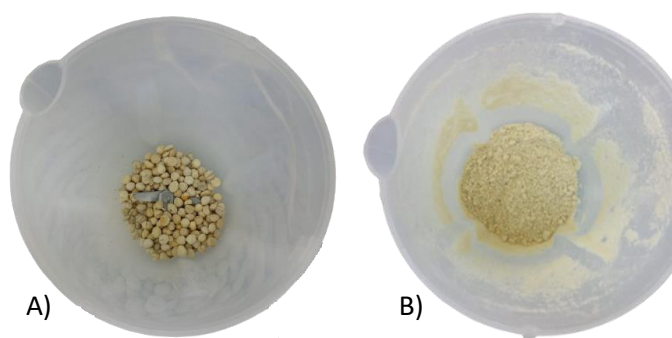
Fonte: elaborado pela autora.

4.2.3 Trituração da Semente de *M. oleifera* descascada

As sementes descascadas secas e selecionadas foram trituradas com o auxílio de um liquidificador doméstico, conforme Figura 14 (HOA; HUE, 2018; SANTOS *et al.*, 2018; VALVERDE *et al.*, 2018). A trituração é realizada para facilitar a etapa de extração, tanto

das proteínas catiônicas quanto dos lipídeos, pois aumenta a área de contato com o solvente (ARANTES; RIBEIRO; PATERNIANI, 2012).

Figura 14: Ilustração da etapa de trituração das sementes de *M. oleifera*, sendo a a) semente de *M. oleifera* no liquidificador para trituração e b) semente de *M. oleifera* após ser triturada, formando uma farinha.



Fonte: elaborado pela autora.

4.2.4 Peneiramento da Farinha da Semente de *M. oleifera*

A farinha obtida foi passada em peneira com malha de 30 mesh (600 μm), ilustrada na Figura 15, para limitação do tamanho das partículas, descartando o resíduo contido na peneira (ABDUL HAMID et al., 2016; GARCIA-FAYOS et al., 2016).

Figura 15: Ilustração das etapas de peneiramento das sementes de *M. oleifera*, sendo a) farinha da semente de *M. oleifera* sobre a peneira com malha de 30 mesh (600 μm) e b) farinha da semente de *M. oleifera* após ser peneirada.



Fonte: elaborado pela autora.

Arantes, Ribeiro e Paterniani (2012) avaliaram o uso da etapa de peneiramento em relação à remoção de turbidez e notou-se que esta foi etapa importante para garantir a distribuição igualitária da granulometria e aumentar a superfície de contato entre as partículas da farinha com o solvente. Dessa forma, a remoção de turbidez foi maior quando usada a farinha peneirada.

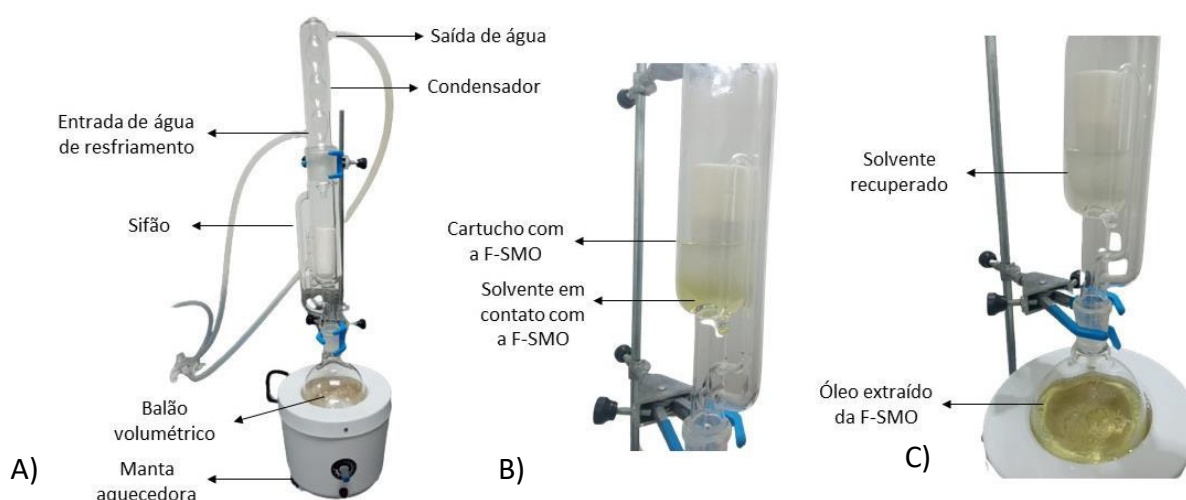
A farinha peneirada foi estocada em um frasco fechado, identificado e mantido à 4°C para evitar deterioração das proteínas catiônicas. De acordo com Katayon et. al. (2006), a farinha da semente de *M. oleifera* pode ser estocada nestas condições por um período de até 10 meses sem perda significativa de sua eficiência de coagulação.

A farinha, doravante chamada de F-SMO (Farinha da Semente de *M. oleifera*), foi a base das próximas etapas de extração das proteínas catiônicas, e também foi testada como coagulante com uso direto.

4.2.5 Delipidação da Farinha da Semente de *M. oleifera* (Pré-tratamento Secundário)

Parte da farinha F-SMO preparada foi feita a delipidada, que consiste na extração do óleo da semente. Foi utilizado o extrator *Soxhlet* por meio da imersão da amostra (F-SMO) em um solvente para tratamento sucessivo em sifonagem e condensação do solvente aquecido em balão acoplado ao aparelho. Esta metodologia é simples e de fácil manuseio, além de obter uma maior extração de óleo (GARCIA-FAYOS et al., 2016; LEMES, 2018). A Figura 16 ilustra o extrator *Soxhlet*.

Figura 16: Extrator *Sohxlet* e componentes pertencentes, sendo a) *Sohxlet* com a manta aquecedora e condensador acoplados; b) Cartucho com a farinha da semente de *M. oleifera* (F-SMO) e c) óleo extraído da farinha da semente de *M. oleifera* (F-SMO) juntamente com o solvente utilizado.



Fonte: elaborado pela autora.

Inicialmente foi utilizado o solvente de extração etanol absoluto (LS Chemicals – mín. 99,7%). Para isso, o balão de 500 mL com as “pedras de ebulição” de 3 mm de diâmetro, previamente secos na estufa à 105 °C, foi acoplado ao *Soxhlet* com o cartucho contendo a F-SMO e adicionado o volume do solvente etanol para uma relação sólido/solvente de 0,05 (OLADIPO; BETIKU, 2019). O volume do solvente no extrator correspondeu a, pelo menos, 1,5 vezes o volume do sifão. O etanol foi aquecido até a temperatura de ebulição do solvente (78,37 °C) e iniciada a delipidação para 20 ciclos (3 horas), sendo a duração média de cada ciclo de 9 minutos.

Foi avaliada a eficiência de remoção dos lipídeos pesando a farinha (F-SMO) antes da delipidação, bem como os lipídeos extraídos, por meio da Equação 3.

$$\text{Eficiência de remoção do óleo} = \frac{\text{massa de óleo extraído (mg)}}{\text{massa de F-SMO utilizada (mg)}} \times 100$$

(3)

Para isso, o balão com as “pedras de ebulição” e o óleo extraído permaneceram na manta de aquecimento até evaporação completa e recuperação do etanol. Posteriormente, o óleo extraído foi levado à estufa para secagem à 105 °C por 1 hora.

A farinha delipidada foi seca à 40 °C até massa constante (em média 1h 46min) e, depois de totalmente seco, foi triturado com almofariz e pistilo para desfazer quaisquer “grumos” formados e passada novamente na peneira de 600 mesh, sem que ficasse nada retido.

Então a farinha foi estocada em um frasco fechado, identificado e mantido refrigerado à 4 °C para evitar deterioração das proteínas catiônicas. A F-SMO após delipidação com etanol foi a base das próximas etapas de extração, e também foi testada como coagulante com uso direto, doravante chamado de FD_{et}-SMO (Farinha delipidada com etanol da semente de *M. oleifera*).

Posteriormente, também foi testada a delipidação usando solvente hexano (Êxodo científica – min. 95%), seguindo condições semelhantes às adotadas para a extração com etanol. Esta comparação se mostrou necessária ao longo das análises devido a algumas características observadas durante o procedimento de extração, na textura final da farinha delipidada com etanol (FD_{et}-SMO), nos resultados de rendimento da extração do óleo e remoção de turbidez da água de estudo.

O hexano foi aquecido até a temperatura de ebulição do solvente (69 °C) e iniciada a delipidação para 20 ciclos (3 horas), sendo a duração média de cada ciclo de 9 minutos.

Também foi avaliada a eficiência de remoção dos lipídeos por meio da equação (3), seguindo a mesma metodologia adotada para extração com etanol.

A farinha delipidada com hexano foi seca à 40 °C até massa constante (em média 54 min) e, depois de totalmente seco, foi triturado com almofariz e pistilo para desfazer quaisquer “grumos” formados e passada novamente na peneira de 600 mesh, sem que ficasse nada retido.

Então, a farinha foi estocada em um frasco fechado, identificado e mantido refrigerado à 4 °C para evitar deterioração das proteínas catiônicas. A F-SMO após delipidação com hexano foi a base das próximas etapas de extração, e também será testada como coagulante com uso direto, doravante chamado de FD_{hex}-SMO (Farinha delipidada com hexano da semente de *M. oleifera*).

4.2.6 Extração Aquosa da Farinha da Semente de *M. oleifera*

A extração aquosa da proteína coagulante foi realizada tanto na farinha delipidada (FD_{et}-SMO e FD_{hex}-SMO) quanto na sem delipidação (F-SMO), e esteve apoiada na metodologia de Skaf *et al.* (2021). A preparação da solução estoque foi feita a 0,5% (m/m),

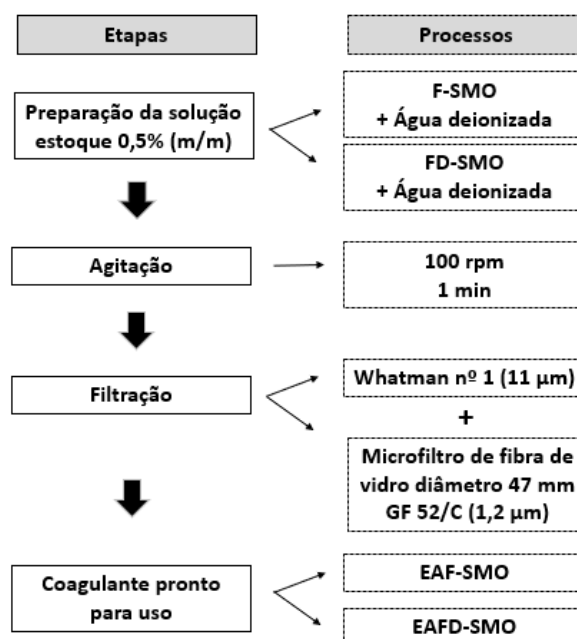
com a adição da farinha da semente previamente preparada a água deionizada, com agitação a 100 rpm. Jung *et al.* (2018) avaliaram os efeitos da velocidade de rotação na extração da proteína coagulante da semente de *M. oleifera* para remoção de turbidez, variando a rotação por minuto (rpm) em 100, 200, 400, 600 e 800. A velocidade de rotação não afetou a remoção de turbidez, e deste modo, para otimizar o consumo de energia, foi adotada a velocidade de 100 rpm para a extração.

O tempo de extração adotado foi de 1 minuto. Jung *et al.* (2018) observaram a concentração da proteína decaindo com o aumento do tempo de extração, consequentemente, diminuindo a eficiência de remoção de turbidez. Dessa forma, sugerem um curto tempo, de 1 minuto, para uma condição de extração eficiente. Skaf *et al.* (2021) também avaliaram os resultados da relação entre o tempo de extração e o potencial zeta (PZ), o qual diminui com o aumento do tempo de extração influenciando na eficiência de coagulação. Para o tempo de 1 a 30 minutos, a concentração da proteína aumentou rapidamente nos primeiros 5 minutos e estabilizou entre 15 e 30 minutos.

Após a extração, foi feita a filtração imediata em papel filtro Whatman nº 1 (11 µm) e em filtração a vácuo, com microfiltro de fibra de vidro diâmetro 47 mm GF 52/C (1,2 µm), para obtenção do extrato com menor resíduo em suspensão (DEZFOOLI *et al.*, 2016).

A Figura 17 mostra o fluxograma das etapas de extração aquosa da proteína da semente de *M. oleifera*.

Figura 17: Fluxograma envolvendo as etapas de extração aquosa da proteína da semente de *M. oleifera*.



Fonte: elaborado pela autora.

O filtrado do extrato aquoso foi então chamado de EAF-SMO (Extrato aquoso da farinha da semente de *M. oleifera*), EAFD_{et}-SMO (Extrato aquoso da farinha delipidada com etanol da semente de *M. oleifera*) e EAFD_{hex}-SMO (Extrato aquoso da farinha delipidada com hexano da semente de *M. oleifera*).

O filtrado aquoso foi utilizado no mesmo dia de sua preparação para evitar deterioração das proteínas catiônicas. De acordo com Katayon *et al.* (2004), o extrato aquoso da farinha da semente de *M. oleifera* pode ser estocado na temperatura ambiente por um período de até 3 dias sem perda significativa de sua eficiência de coagulação.

4.2.7 Extração Salina da Farinha da Semente de *M. oleifera*

A extração salina da proteína coagulante foi realizada tanto na farinha delipidada com etanol (FD_{et}-SMO) e farinha delipidada com hexano (FD_{hex}-SMO) quanto na sem delipidação (F-SMO), e também esteve baseada na metodologia de Skaf *et al.* (2021). Foi preparada solução estoque a 0,5% (m/m), com a adição da farinha da semente previamente preparada à solução NaCl 1M (Êxodo Científica – mín. 99%). Para as extrações salinas foi

avaliado também a preparação de solução a 5,0% (m/m) para minimizar os efeitos negativos de aumento de condutividade elétrica.

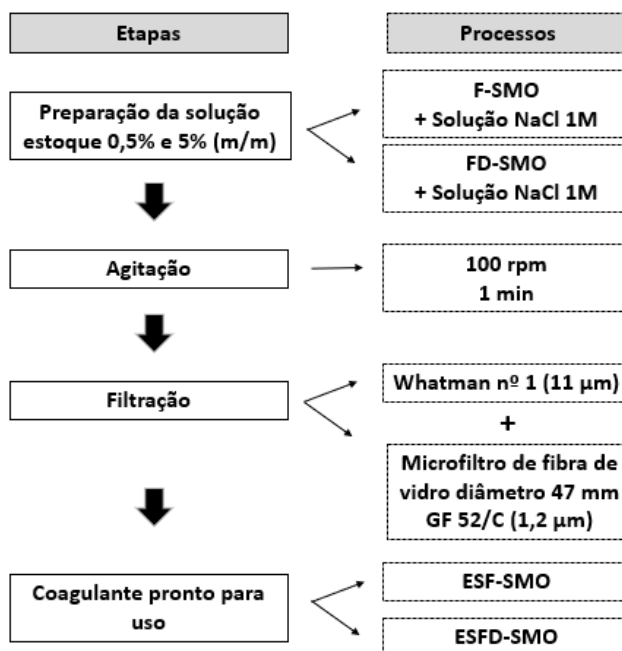
A extração em meio salino aumenta a força iônica da proteína, favorecendo seu desprendimento e maior grau de solubilidade, podendo proporcionar maior concentração de proteína, fenômeno conhecido como *salting-in* (NOOR et al., 2015; VILLASEÑOR-BASULTO et al., 2018).

Foram adotadas as mesmas condições da extração aquosa (1 min a 100 rpm), seguido de filtração imediata em papel filtro Whatman nº 1 (11 µm) e em filtração a vácuo, com microfiltro de fibra de vidro diâmetro 47 mm GF 52/C (1,2 µm).

O filtrado do extrato salino foi então chamado de ESF-SMO (Extrato salino da farinha da semente de *M. oleifera*), ESFD_{et}-SMO (Extrato salino da farinha delipidada com etanol da semente de *M. oleifera*) e ESFD_{hex}-SMO (Extrato salino da farinha delipidada com hexano da semente de *M. oleifera*). O filtrado salino também foi utilizado no mesmo dia de sua preparação para evitar deterioração das proteínas catiônicas (KATAYON et al., 2004).

A Figura 18 mostra o fluxograma das etapas de extração salina da proteína da semente de *M. oleifera*.

Figura 18: Fluxograma envolvendo as etapas de extração da proteína da semente de *M. oleifera*



Fonte: elaborado pela autora.

4.3 Preparação do Extrato Salino - ES

Foi preparada solução salina com a adição de NaCl (Êxodo Científica – mín. 99%) à água deionizada na molaridade 1M (doravante chamado de ES – Extrato salino) para comparar os efeitos de aumento de condutividade elétrica e de remoção de turbidez dos extratos salinos da farinha da semente de *M. oleifera*.

4.4 Preparação do Coagulante Sulfato de Alumínio

O coagulante para comparação com a semente de *M. oleifera* foi o sulfato de alumínio isento de ferro $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ (Labysinth, 98,0 – 102,0%), e foi preparada solução a 0,5% (m/m).

4.5 Formas de Uso do Coagulante da Semente de *Moringa oleifera* e Sulfato de Alumínio

A Tabela 5 apresenta um resumo das diferentes formas de uso do coagulante à base de *M. oleifera* e sulfato de alumínio e, também, as siglas correspondentes.

Tabela 5: Formas de uso do coagulante da semente de *M. oleifera* e sulfato de alumínio.

Sigla	Forma do coagulante
F-SMO	Farinha da semente de <i>M. oleifera</i>
FD-SMO*	Farinha delipidada da semente de <i>M. oleifera</i>
EAF-SMO	Extrato aquoso da farinha da semente de <i>M. oleifera</i>
EAFD-SMO*	Extrato aquoso da farinha delipidada da semente de <i>M. oleifera</i>
ESF-SMO	Extrato salino da farinha da semente de <i>M. oleifera</i>
ESFD-SMO*	Extrato salino da farinha delipidada da semente de <i>M. oleifera</i>
SA	Sulfato de alumínio

Fonte: elaborado pela autora.

*Após a definição do solvente de extração do óleo da semente de *M. oleifera* ser o hexano, a farinha delipidada foi chamada de FD-SMO para os tratamentos correspondentes, sem necessidade de especificar o solvente.

4.6 Ensaios de *jar test*

Foram realizados ensaios com *Jar test* da marca PoliControl modelo FlocControl III de 6 jarros, com filtro de areia acoplado (Figura 19). Na filtração granular rápida foi utilizada areia com diâmetro médio efetivo de 0,59 mm, e foi adotado um tempo total de 10 minutos para o amadurecimento dos filtros. Os ensaios foram realizados em temperatura ambiente ($23,0 \pm 0,4$ °C).

Figura 19: *Jar test* de 6 jarros com filtro de areia acoplado da marca PoliControl modelo FlocControl III utilizado nos ensaios deste trabalho.



Fonte: elaborado pela autora.

As etapas de tratamento foram coagulação, floculação, sedimentação e filtração granular rápida, e as condições de ensaio são apresentadas na Tabela 6. Foram retiradas amostras após a sedimentação e após a filtração granular rápida.

Tabela 6: Condições dos ensaios de *jar test*.

Gradiente de mistura rápida (G_{mr})	1000 s^{-1}
Tempo de mistura rápida (T_{mr})	20 s
Gradiente de escalonado médio de floculação (G_f)	$60-40-20 \text{ s}^{-1}$
Tempo de floculação (T_f)	5-5-10 min
Velocidade de sedimentação (v_s)	$0,12 \text{ cm.min}^{-1}$ (1 h sedimentação)
Taxa de filtração (t_{fil})	$91 \text{ m}^3.\text{m}^{-2}.\text{d}^{-1}$

Fonte: elaborado pela autora

Os testes foram realizados na faixa de dosagem de 0 (controle – água turva sem coagulante) a 60 mg/L de coagulantes derivados de sementes de *M. oleifera* ou de sulfato de alumínio. A concentração do coagulante foi calculada considerando a quantidade de farinha da semente adicionada para preparação do extrato ou a quantidade da farinha da semente adicionada diretamente na água de tratamento. Trata-se de um método simples de mensuração da concentração de dosagens aplicadas de coagulantes derivados de sementes de *M. oleifera*, amplamente aplicado na literatura por sua fácil reprodutibilidade em áreas rurais de países em desenvolvimento (GARCIA-FAYOS et al., 2016; VEGA ANDRADE et al., 2021). Outra forma de mensurar as dosagens seria medir a concentração de proteínas presentes nos extratos, mas isso dificultaria a reprodutibilidade em países em desenvolvimento, além de alguns estudos questionarem a eficácia da mensuração da concentração de proteínas no extrato como forma de medir dosagens, pois para uma mesma concentração de proteínas, a variação do potencial zeta da suspensão pode variar consideravelmente, devido à extração de proteínas não catiônicas em função do tempo de extração (SKAF et al., 2021).

O pH não foi ajustado durante os ensaios, podendo variar de acordo com o tipo e a dosagem do coagulante adicionado.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Para a comparação dos resultados foi empregado o método estatístico de comparação múltipla de *Tukey* e o teste ANOVA fator único com adoção de 5% como nível de significância.

4.7 Ensaio de carbono orgânico total

Foram realizados ensaios de carbono orgânico total (COT) para avaliar a carga orgânica residual do uso do coagulante à base de *M. oleifera* nos diferentes métodos de extração.

Para isso, as amostras foram preparadas em *jar test* utilizando água de poço e coagulante natural para os seis tratamentos propostos. Foram avaliadas as dosagens ideais (aquelas que apresentaram melhor remoção de turbidez) e, para que pudesse ficar mais evidente o efeito do coagulante no carbono orgânico residual da água de estudo e para ser possível avaliar estatisticamente, também foi preparada dosagem 10 vezes a ideal.

As amostras foram coletadas após a coagulação, floculação e sedimentação e filtradas em filtro Whatman nº 1 (11 µm) para retirar impurezas, de modo a evitar o entupimento do tubo de combustão no momento da análise pelo equipamento.

Para remover quaisquer frações de matéria inorgânica presente na amostra, foi feita a acidificação, baixando o valor do pH para menor que 2, com H₂SO₄ (Nox Lab Solutions – 95-97%), e etapa esta chamada de purga. A purga se faz necessária para que as frações de carbono inorgânico não entrem em combustão juntamente com a fração de carbono orgânico, resultando em uma medida superestimada e infiel ao parâmetro desejado. Na purga os carbonatos e bicarbonatos são transformados em ácido carbônico e decompostos na presença de CO₂, com a agitação da amostra. Por isso, o procedimento prévio de acidificação é importante (BISUTTI; HILKE; RAESSLER, 2004; CLEMENTINO; NETO; ALENCAR, 2008).

As amostras foram acondicionadas em tubos de polipropileno (tipo Falcon) de 15 mL em temperatura 4°C até o momento da análise. A preservação evita perdas que comprometam a validade e integridade dos resultados obtidos em laboratório (ÁGUAS; AMBIENTE; PAULO, 2011).

4.8 Análise citotóxica

Células da linhagem *VERO*, originária de rim de macaco *Cercopithecus aethiops*, foram utilizadas nesse estudo. Essas células são utilizadas em pesquisas no setor farmacêutico (AYDINA; KORKMA, 2019), no estudo de doenças infecciosas em humanos (SAKUMA, 2018) e também tem sido empregadas para avaliação toxicológica em amostras de água (BIANCHI et al., 2015) e de esgoto (MECHA, 2017; VEGA ANDRADE et al., 2021).

As células foram cultivadas em meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementado com 10% de SBF (Soro Bovino Fetal), penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100 µg/mL), e mantidas em estufa à 37°C e 5% CO₂ até atingirem a confluência desejável, sendo acompanhado por microscopia. Para o cultivo foram utilizados frascos para cultura celular de 250 mL e 75 cm². O meio de cultura foi trocado a cada dois dias e o desenvolvimento das células foi avaliado por microscopia de fase invertida.

Para avaliação da citotoxicidade foram plaqueadas 8x10³ células por poço (placas de 96 poços). Após 24 horas em estufa à temperatura de 37°C e atmosfera úmida contendo 5%

de CO₂, o meio antigo foi removido, as células foram lavadas com PBS (solução salina tamponada com fosfato), e então foram expostas aos extratos, em diferentes concentrações. Para tal, foi adicionado 100 µL de cada extrato estudado, sendo eles o F-SMO, FD-SMO, EAF-SMO, EAFD-SMO, ESF-SMO, ESFD-SMO e SA, tanto nas dosagens ideais (remoção de turbidez) quanto em dosagens 10 vezes maiores. Os extratos foram previamente filtrados (membrana PES - polietersulfona - 0,22 µm estéril). Foram inseridos 100 µL de cada extrato, juntamente com 100 µL do meio de cultura, em cada poço. No grupo controle, as células foram expostas à 100 µL de água destilada e a mesma quantidade de meio. Após 24 horas, o conteúdo dos poços foi removido, e foi acrescentado o reagente MTT (3-(4,5 dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil-tetrazólio; Sigma) que permaneceu em contato com as células por 60 minutos. Posteriormente, o reagente foi retirado dos poços, aos quais foi adicionado DMSO (Dimethyl Sulfoxide; Sigma-Aldrich), e as placas foram mantidas sob agitação por 10 minutos. A leitura da densidade óptica resultante da solução foi mensurada em espectrofotômetro à 570 nm. Os dados de absorbância foram normalizados pelo grupo controle (=100%) e submetidos à análise estatística pelo teste mais apropriado (kruskal wallis, $p \leq 0,05$), no programa Graphpad Prism, versão 7 (GraphPad Software, Inc, La Jolla, CA, EUA). Os testes foram realizados em sextuplicata, em dois experimentos independentes (n=12).

A análise citotóxica foi realizada com base na ISO 10993-5/2009 e classificada de acordo com Sletten e Dahl (1999) conforme Tabela 7.

Tabela 7: Classificação do nível de citotoxicidade com base em (SLETTEN; DAHL, 1999).

Viabilidade celular	Citotoxicidade
> 90%	nula
90 - 60%	baixa
59 - 30%	moderada
29 - 0%	severa

4.9 Técnicas de Caracterização Físico-químicas

Os parâmetros foram avaliados de acordo com as metodologias recomendados no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017), e são apresentados na Tabela 8 com seus respectivos equipamentos.

Tabela 8: Descrição das metodologias, equipamentos e normativas seguidos para parâmetros analisados para caracterização da água.

Parâmetro	Metodologia / Equipamento	Normativa
Valor de pH e temperatura	4500-H ⁺ B / pHmetro Tecnofon mPA 210	APHA, 2017
Turbidez	2130B / nefelômetro Policontrol AP2000	
condutividade elétrica	2510B / Condutivímetro Tecnofon mCA150	
Alcalinidade	2320B / pHmetro Tecnofon mPA 210	
Potencial Zeta e Tamanho de partícula	NA / Zetâmetro Anton Paar – Litesizer 500	
Carbono orgânico Total	5310B / Analisador TOC Analytik Jena multi N/C 3100	

Fonte: elaborado pela autora

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da Água Bruta e da Água Sintética

A Tabela 9 apresenta os valores obtidos na caracterização da água de poço do Parque Tecnológico de São José dos Campos (água bruta).

Tabela 9: Caracterização da água bruta utilizada neste estudo.

Turbidez (unT)	pH	Cond. elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Alcalinidade Total (mg CaCO_3/l)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
$1,46 \pm 0,70$	$6,63 \pm 0,18$	$48,3 \pm 4,2$	$24,67 \pm 2,51$	$23,0 \pm 0,4$

Fonte: elaborado pela autora.

Diante dos resultados apresentados na Tabela 8, observa-se que a água bruta apresentou baixa variação dos parâmetros analisados. Como esperado, a baixa turbidez se dá em razão da origem da água, bem como a baixa condutividade elétrica, que evidencia a reduzida presença de íons dissolvidos (RIBEIRO; ANDRADE; REIS, 2019; SENEDA; GARCIA; DOS REIS, 2021). O baixo valor de alcalinidade pode ter um efeito direto na variação do valor de pH quando o coagulante for adicionado.

A Tabela 10 apresenta a caracterização da água sintética, feita após a adição do caulim na água bruta e ajuste de pH.

Tabela 10: Caracterização da água sintética utilizada nos ensaios de *jar test*.

Turbidez (unT)	pH	Cond. elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Alcalinidade Total (mg CaCO_3/l)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
$200,8 \pm 9,3$	$7,10 \pm 0,12$	$49,1 \pm 4,4$	$25,50 \pm 3,06$	$23,0 \pm 0,4$

Fonte: elaborado pela autora.

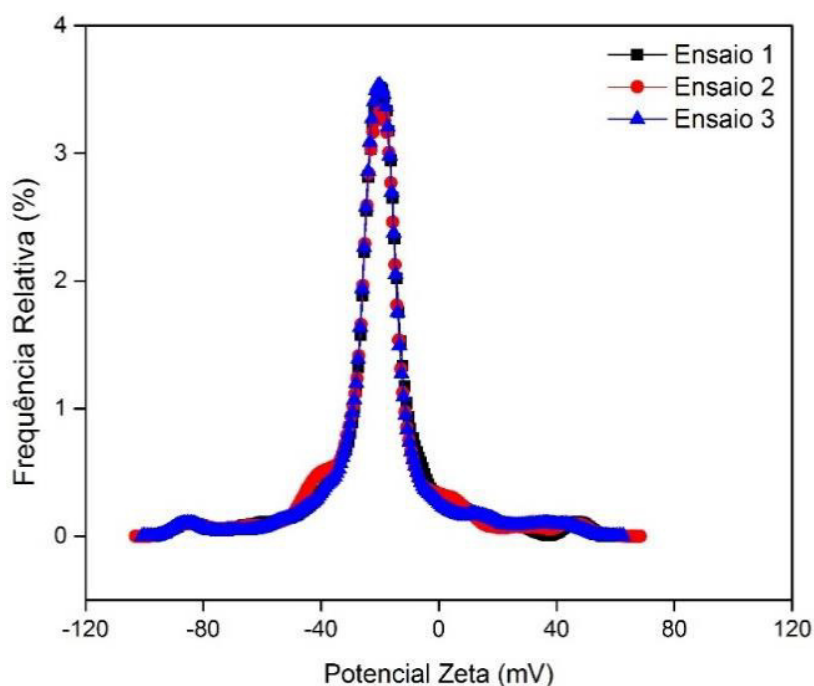
De acordo com a Tabela 10, devido à adição do caulim, a turbidez foi padronizada para $200,8 \pm 9,3$ unT. O valor médio de pH subiu de 6,63 na água bruta (Tabela 8) para 7,10 na água sintética (Tabela 9) devido ajuste com NaOH 0,1M. Este ajuste de pH ocasionou um leve incremento da condutividade elétrica (de 48,3 para 49,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$) e na alcalinidade total (de 24,67 para 25,50 mg CaCO_3/l), devido dissociação desta base forte. Mesmo assim, tanto

a condutividade elétrica quanto a alcalinidade ainda estão baixas. A temperatura média da água de 23,0 °C refere-se à temperatura na qual os ensaios de *jar test* foram realizados.

A análise de tamanho de partícula da água sintética, realizada por DLS (Dynamic Light Scattering), apresentou um resultado médio de diâmetro hidrodinâmico de $4,44 \pm 0,50 \mu\text{m}$.

A distribuição do potencial zeta das partículas presentes na água sintética é apresentada na Figura 20. O potencial zeta médio encontrado é de $-21,62 \pm 0,29 \text{ mV}$.

Figura 20: Distribuição do potencial zeta das partículas presentes na água sintética em estudo.



Fonte: elaborado pela autora.

As partículas presentes na água sintética possuem, portanto, dimensões microscópicas (diâmetro hidrodinâmico de $4,44 \pm 0,50 \mu\text{m}$), com carga negativa em sua superfície (potencial zeta de $-21,62 \pm 0,29 \text{ mV}$). Sendo assim, a remoção destas partículas via sedimentação e/ou filtração granular rápida dependem de uma prévia desestabilização destas partículas por intermédio de adição coagulantes.

5.2 Rendimentos

5.2.1 Rendimento da Preparação da Farinha (F-SMO)

A Tabela 11 descreve o rendimento médio do preparo da farinha da semente de *M. oleifera* (F-SMO), correspondente à etapa primária de preparação do coagulante natural.

Tabela 11: Rendimento do preparo da farinha da semente de *M. oleifera* (F-SMO).

Etapas de preparação da farinha	Rendimento (%)
Sementes com casca após a secagem	98
Sementes sem casca e em boas condições	64
Farinha peneirada (F-SMO)	56

Fonte: elaborado pela autora.

O rendimento médio geral da etapa primária de preparação de farinha foi de 56%, ou seja, para cada 100 g de semente de *M. oleifera* com casca são obtidos 56 g de farinha pronta para uso (F-SMO). Esta diferença refere-se principalmente à casca que é removida, mas também ao descarte das sementes rejeitadas, remoção da umidade e perdas no manuseio da farinha (material preso ao liquidificador e utensílios).

5.2.2 Rendimento e Qualidade da Extração do Óleo da Semente de *M. oleifera*

A Tabela 12 descreve rendimento do óleo extraído após a delipidação da farinha da semente de *M. oleifera* (conforme Eq. 1) utilizando os dois solventes: etanol e hexano. Esta etapa refere-se ao pré-tratamento secundário do coagulante natural.

Tabela 12: Rendimento da delipidação da farinha da semente de *M. oleifera*.

Solvente	Rendimento (%)
Etanol	34,7 ± 5,6
Hexano	38,4 ± 0,2

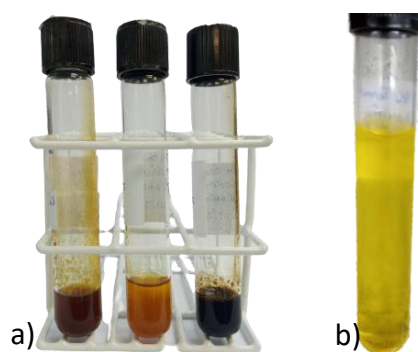
Fonte: elaborado pela autora.

De acordo com os resultados apresentados, observa-se que a delipidação com o solvente hexano proporcionou maior rendimento na extração do óleo e menor desvio padrão.

Oladipo e Betiku (2019) obtiveram rendimento superior para hexano, $41,72 \pm 0,45\%$, e inferior para etanol $8,24 \pm 0,00$, sendo isto atribuído às diferenças nas propriedades físicas da semente de acordo com a mudança de solvente. Semelhante, Garcya-Fayos *et al.* (2016) também obtiveram maior rendimento na extração via Soxhlet com hexano (34,37%), frente à extração com etanol (31,99%). Por outro lado, Vilaseca, López-Grimau e Gutiérrez Bouzán (2014) apresentaram resultados de rendimento superior para etanol $36.1\% \pm 1.83$ e inferiores para hexano $24.6\% \pm 2.19\%$ (VILASECA; LÓPEZ-GRIMAU; GUTIÉRREZ-BOUZÁN, 2014).

A Figura 21 mostra uma imagem do óleo resultante da delipidação com solvente etanol (a) e com solvente hexano (b).

Figura 21: Óleo extraído da semente de *M. oleifera* com (a) solvente etanol e (b) com solvente hexano.



Fonte: elaborado pela autora.

O óleo extraído com o solvente hexano apresentou uma coloração amarelada (Fig. 21b), e em todas as extrações realizadas a coloração se manteve constante. Por outro lado, o óleo extraído com o solvente etanol apresentou uma coloração marrom, e em 3 extrações diferentes foram encontradas diferentes tonalidades (Fig. 21a). Comportamento semelhante foi observado por Oladipo e Betiku (2019), que compararam três solventes utilizando o aparelho Soxhlet, a saber: acetato de etila, etanol e hexano. Segundo os autores, as propriedades físico-químicas das amostras sofrem alterações de acordo com os solventes usados e a cor escura resultante do solvente etanol foi atribuída a produtos da reação de *Maillard*, que ocorre durante o processamento térmico, resultando em interações entre as proteínas e carboidratos que podem conferir odor, sabor e cor escura à medida em que são

aquecidos. Também foi atribuída à presença de pigmentos de tocoferol (vitamina E) (SHIBAO; BASTOS, 2011).

Outro fator de qualidade do óleo levado em consideração é o índice de acidez, que é um parâmetro que indica a ocorrência de hidrólise e oxidação nos óleos vegetais, correspondendo a quantidade em mg de base (hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio) necessária para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 1g de óleos ou gorduras vegetais (CAMACHO et al., 2018). Na caracterização de óleos brutos e refinados para fins alimentícios, a ANVISA (2005) adota o índice de acidez para óleos prensados a frio e não refinados com valor máximo de 4,0 mg KOH/g⁻¹, visando avaliar a potencialidade de aproveitamento. Oladipo e Betiku (2019) avaliaram o índice de acidez da delipidação com diferentes solventes e, para a delipidação com etanol, obteve-se valores acima do limite máximo permitido pela legislação, sendo 8.25 ± 0.01 mg KOH/g. Já para a delipidação com hexano, o valor obtido foi de 2.88 ± 0.07 mg KOH/g. O autor atribui ao etanol a extração de alguma matéria corante com algum nível de insaturação, e à característica de melhor solubilidade do ácido graxo livre em solventes polares (hexano) do que apolares (etanol).

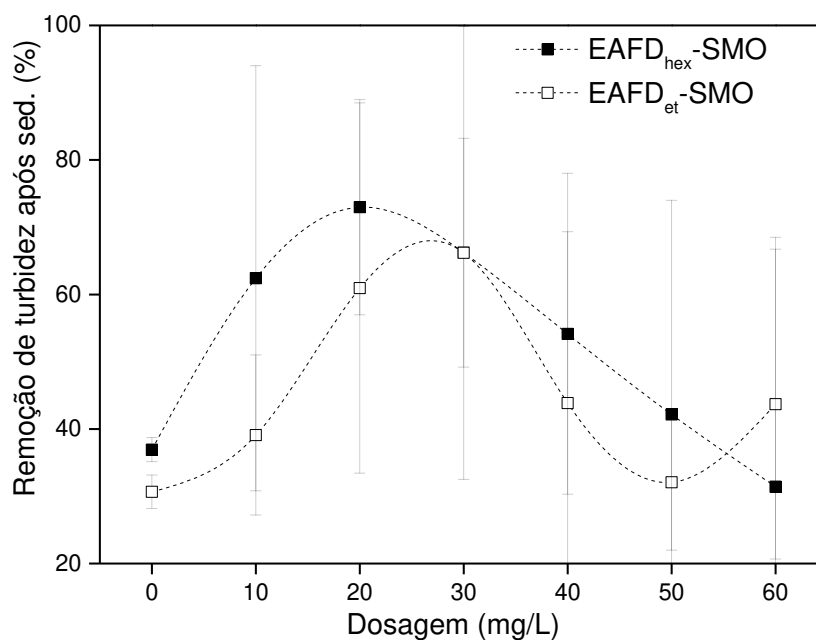
Portanto, em termos de quantidade e qualidade do óleo extraído, o solvente hexano apresentou vantagem competitiva frente ao solvente etanol.

Além da quantidade e da qualidade do óleo, foi feita também uma avaliação da etapa de extração do óleo em si. Durante a etapa de delipidação em *Soxhlet* com o solvente etanol eram percebidos picos de ebulição, mesmo com a alteração para temperaturas mais baixas na manta de aquecimento, além de ocasionar o escurecimento do balão volumétrico. Além disso, a textura da farinha delipidada com etanol, mesmo após a secagem em estufa para total evaporação do solvente, era mais grossa e com formação de grumos. Por outro lado, a extração com hexano não apresentava estes picos de ebulição, não escureceu o balão volumétrico, e a farinha resultante apresentou um aspecto mais “fino” e com textura “aveludada”. Portanto, da mesma forma que a quantidade e qualidade do óleo extraído com o solvente hexano foi melhor quando comparado com o solvente etanol, o mesmo foi observado em relação ao controle de processo de extração do óleo. O uso do solvente etanol tornou o controle de processo mais dificultado, e com uma farinha com mais grumos. No próximo tópico será avaliada a eficiência de remoção de turbidez com os diferentes métodos de extração, para que se possa tomar uma decisão sobre qual solvente será utilizado nas próximas etapas deste trabalho.

5.3 Comparação da Eficiência de Remoção de Turbidez do EAFD_{hex}-SMO e EAFD_{et}-SMO

A Figura 22 mostra a comparação de eficiência de remoção de turbidez após sedimentação quando usado extrato aquoso da farinha delipidada com etanol (EAFD_{et}-SMO) e com hexano (EAFD_{hex}-SMO).

Figura 22: Remoção de turbidez após sedimentação usando EAFD_{et}-SMO e EAFD_{hex}-SMO.



Fonte: elaborado pela autora.

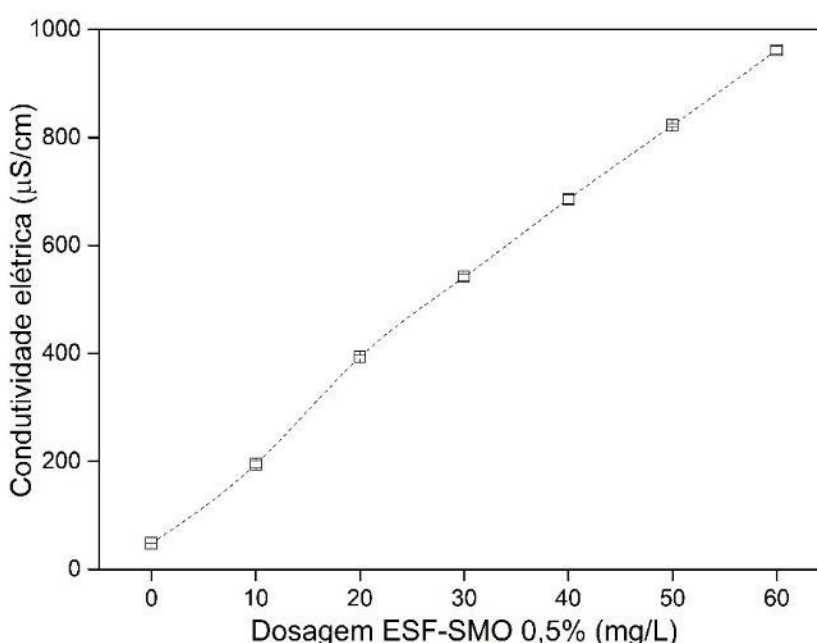
Com base na avaliação feita pelo método estatístico de comparação múltipla de *Tukey* e pelo teste ANOVA fator único com adoção de 5% como nível de significância, todos os resultados de remoção foram estatisticamente iguais (quando comparados na mesma dosagem).

Tendo em vista a melhor eficiência de extração do óleo, melhor controle de processo durante extração do óleo, o maior potencial para posterior uso do óleo extraído devido a melhor qualidade reportada na literatura, e a capacidade de remoção de turbidez ligeiramente superior (apesar de estatisticamente igual), a farinha delipidada com hexano (FD_{hex}-SMO) será utilizada nas próximas etapas deste trabalho. Para simplificação, doravante esta farinha será chamada apenas de FD-SMO.

5.4 Extrato Salino: Efeito na Condutividade Elétrica

Como na extração aquosa, inicialmente as extrações salinas foram realizadas na concentração de 0,5% (m/m.), utilizando como solvente uma solução salina à 1M. Os resultados de condutividade elétrica do ESF-SMO, na faixa de dosagem estudada, apresentaram um aumento muito significativo desta propriedade, conforme apresentando na Figura 23.

Figura 23: Aumento da condutividade elétrica pelo uso do coagulante ESF-SMO à 0,5 % (m/m).



Fonte: elaborado pela autora.

Como pode ser visto pela Figura 23, houve um aumento de até 20 vezes na condutividade elétrica da água na faixa de dosagem estudada para o ESF-SMO à 0,5% (m/m).

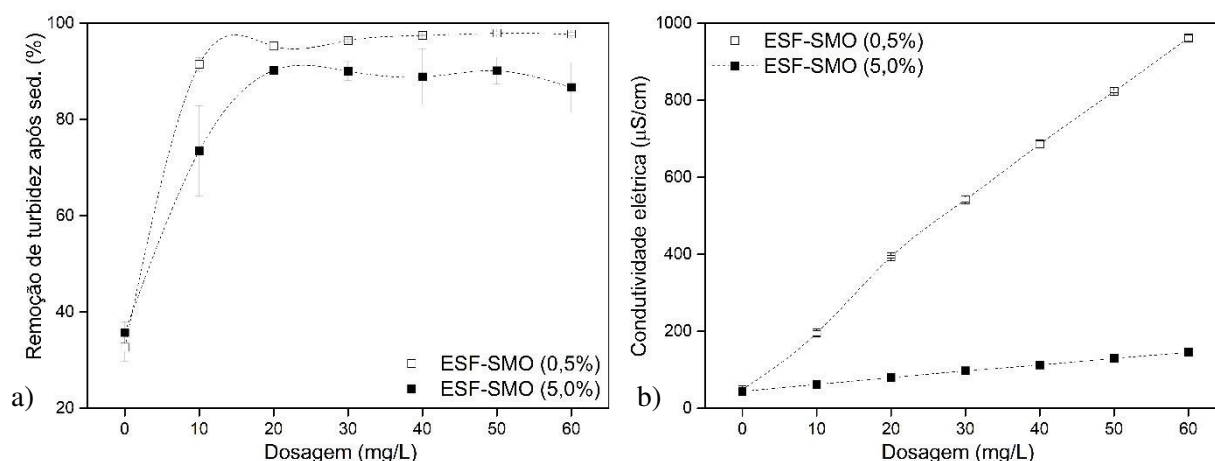
Não existe um consenso na literatura quanto à concentração ideal de solução salina na extração das proteínas catiônicas, apesar de normalmente ser reportado usualmente a utilização de 1M (molaridade da solução salina) (BAPTISTA et al., 2015; MOHAMED NOOR et al., 2020; NONFODJI et al., 2020; SANTOS et al., 2018; VALVERDE et al., 2018) à 1% (m/m) de concentração (extrato) (HENDRAWATI et al., 2016; JUNG et al., 2018; VALVERDE et al., 2018).

A literatura reporta vários estudos que apenas evidenciam os benefícios da eficiência de coagulação com a extração salina, porém, o efeito na condutividade elétrica, seja positivo ou negativo, em geral, é negligenciado (NONFODJI *et al.* 2020; BAPTISTA *et al.* 2015; MADRONA *et al.* 2012; OKUDA *et al.* 1999). Porém, o aumento da condutividade elétrica devido a extração salina traz malefícios, e está diretamente relacionado com o aumento de sólidos dissolvidos. Segundo o ministério da saúde (Portaria GM/MS N° 888), o valor máximo permitido de Cl^- em água para consumo humano é de 250 mg/L, assim como de Na^+ é de 200 mg/L (BRASIL, 2021).

Portanto, para minimizar os efeitos negativos de aumento de condutividade elétrica, foi aaliada a extração a 5% (ao invés de 0,5%) e mantida a solução salina NaCl 1M.

A Figura 24 apresenta comparação da remoção de turbidez após a sedimentação com extrato salino a 0,5% e a 5%.

Figura 24: Comparação (a) da remoção de turbidez após a sedimentação e (b) da condutividade elétrica com extrato salino ESF-SMO a 0,5% e a 5%



Fonte: elaborado pela autora.

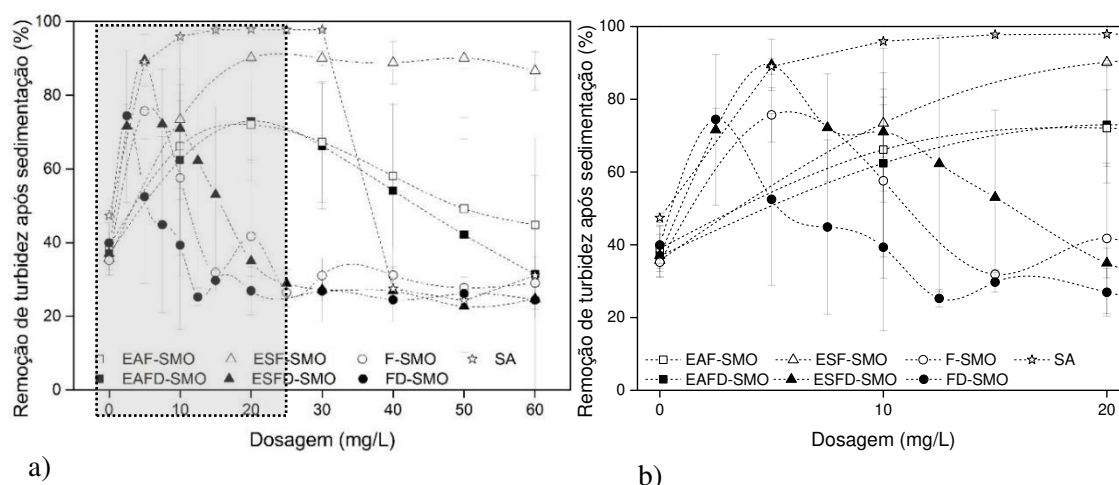
Observa-se na Figura 24a que a extração a 0,5% (m/m) apresentou resultados de remoção de turbidez pouco melhores, mas ainda estatisticamente iguais nas dosagens de 50 e 60 mg/L (teste ANOVA fator único com adoção de 5% como nível de significância) com a extração a 5,0% (m). Por outro lado, efeitos muito significativos no aumento da

condutividade elétrica puderam ser observados quando comparadas as concentrações de extração de 0,5% (m/m) e 5,0% (m/m) (Figura 24b). Como os resultados da extração salina 5,0% (m/m) atingiram resultados próximos e superiores a 90% de remoção de turbidez, com um efeito muito menor na condutividade elétrica (aproximadamente 10 vezes menor), as próximas etapas de comparação foram realizadas com a extração a 5,0% (m/m) para as extrações salinas ESF-SMO e ESFD-SMO, mantendo a concentração salina de 1M.

5.5 Comparação de Remoção de Turbidez

A Figura 25 apresenta a remoção de turbidez após sedimentação para as diferentes formas de extração da semente de *M. oleifera* e do sulfato de alumínio.

Figura 25: Remoção de turbidez após sedimentação para os diferentes extratos da semente de *M. oleifera* e para o sulfato de alumínio, sendo a) 0 a 60 mg/L e b) com ênfase na região de 0 a 20 mg/L.



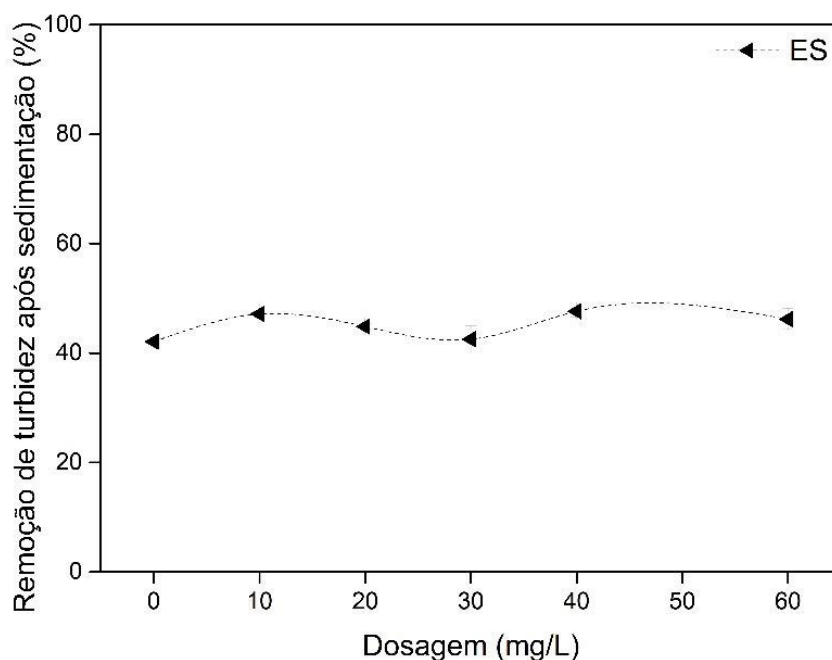
Fonte: elaborado pela autora.

Pela Figura 25 observa-se que, para o coagulante natural, os extratos salinos (ESF-SMO e ESFD-SMO) apresentaram os melhores resultados de remoção de turbidez após sedimentação, atingindo remoções de até 90% (ESF-SMO – 20 mg/l e ESFD-SMO – 5 mg/l). Estes melhores resultados podem estar relacionados com o fenômeno *salting in* que reflete no aumento da solubilidade da proteína no meio aquoso. As proteínas tendem a ser mais solúveis na presença de pequenas concentrações de sais devido ao aumento da força iônica ocasionada pelas cargas provenientes da dissociação do sal, que passam a interagir com as

moléculas de proteína, diminuindo a interação entre elas mesmas e, consequentemente, tornando-as mais solúveis no meio disponível (*salting in*) (OKUDA et al., 1999). Resultados semelhantes foram reportados por Noor *et al.* (2021), que compararam a remoção de turbidez de extrato aquoso e salino (1M) de diferentes sais. As extrações salinas tiveram melhor performance na remoção de turbidez (extrato aquoso – 21%; extratos salinos - NaCl - 65%; KCl - 62%; CaCl_2 – 82% e NH_4Cl - 67%). O autor relaciona esta melhor eficiência à presença do sal, que aumenta a solubilidade das proteínas catiônicas para interagir com os colóides em suspensão, favorecendo a etapa de coagulação.

É importante ressaltar que apenas a solução salina de NaCl 1M (sem a semente de *M. oleifera*) não altera o resultado de remoção de turbidez, ou seja, somente o sal não tem poder coagulante, dentro da dosagem estudada. O NaCl é um eletrólito indiferente e pode atuar como coagulante no mecanismo de compressão da dupla camada, mas para que isto ocorra, dosagens suficientemente elevadas devem ser adicionadas para que a dupla camada se comprima e que os flocos possam ser formados (CRITTENDEN et al., 2012). Foram feitos ensaios em *jar test*, seguindo as mesmas condições propostas para os ensaios com o coagulante à base de *M. oleifera*. Os resultados obtidos com o uso do NaCl 1M como coagulante, dentro da faixa de dosagem estudada, são mostrados na Figura 26.

Figura 26: Remoção de turbidez após sedimentação com solução salina NaCl 1M (ES)



Fonte: elaborado pela autora.

De acordo com o teste estatístico ANOVA, os resultados apresentados na Fig. 26 são estatisticamente iguais, ou seja, apenas a dosagem de NaCl 1M (ES) não alterou a eficiência de remoção de turbidez, comparado à dosagem sem o sal (controle - dosagem 0 mg/L). Pode-se inferir, portanto, que os melhores resultados encontrados com o ESF-SMO e ESFD-SMO estão relacionados com a extração das proteínas catiônicas da semente de *M. oleifera*, sem interferência da solução salina isoladamente.

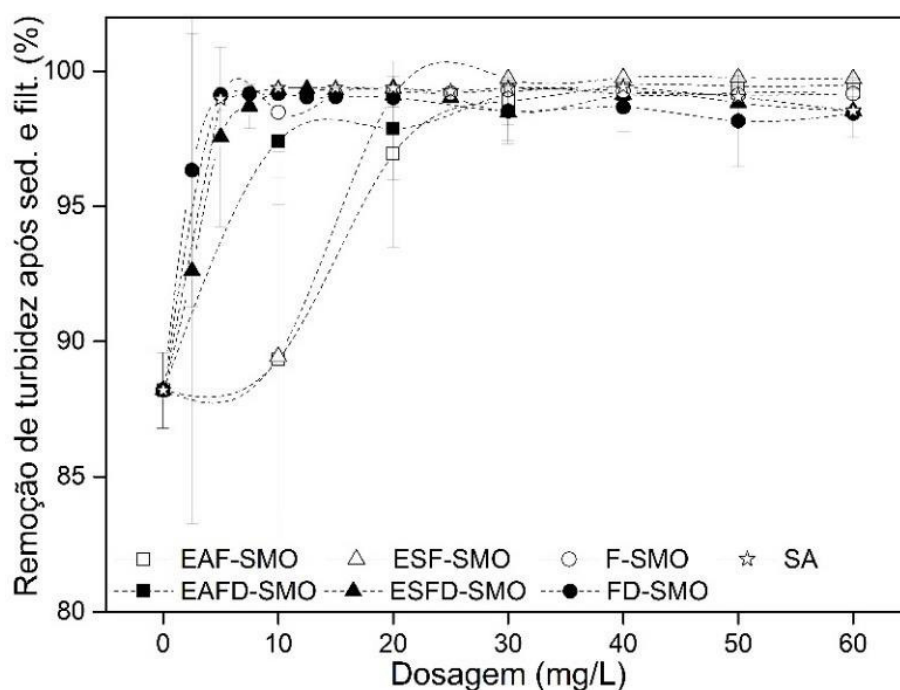
Pela Figura 25 observa-se também que a delipidação não trouxe variação significativa na remoção de turbidez, tanto da farinha, quando dos extratos aquosos e salinos, quando comparados com a mesma forma de extração sem o pré-tratamento secundário de extração do óleo. Para a FD-SMO e o ESFD-SMO houve uma redução significativa na dosagem para se obter remoções semelhantes de turbidez aos tratamentos F-SMO e ESF-SMO, e isto está relacionado, provavelmente, com a maior concentração das proteínas catiônicas na farinha da semente de *M. oleifera* delipidada, visto que o óleo, que corresponde em média neste estudo em 38,4% (m/m) da semente, foi previamente removido. Segundo Magalhães *et al.* (2021), a extração do óleo não afeta as propriedades das proteínas catiônicas da semente de *M. oleifera*, sendo assim, não interfere, nem positiva ou negativamente, na atividade coagulante. O fato de a remoção do óleo da semente antes da extração secundária não alterar a eficiência de remoção de turbidez é positivo, pois traz a possibilidade de um uso mais abrangente da semente, pois o óleo pode ser extraído e usado para diversos fins alimentícios, industriais e farmacêuticos. Zaid *et al.* (2019) atribuem à presença do óleo a diminuição da eficiência de coagulação devido ao aumento da matéria orgânica. Por isto, recomendam a extração do óleo antes de usar a semente de *M. oleifera* no tratamento de águas. Porém, conforme apresentado na Fig. 25, este trabalho não apresentou variação significativa na capacidade de remoção de turbidez com a extração prévia do óleo da semente.

Pela Fig. 25 também é possível observar que tanto o uso direto da farinha (F-SMO e FD-SMO) quanto o extrato aquoso (EAF-SMO e EAFD-SMO) atingiram níveis máximos de remoção de turbidez muito próximos e estatisticamente iguais, ao redor de 73%. Portanto, considerando apenas a capacidade de remoção de turbidez, a etapa adicional de extrair previamente as proteínas em meio aquoso (extração aquosa) não se justifica, visto que a aplicação direta da farinha obteve resultados muito similares de remoção de turbidez.

Já o sulfato de alumínio apresentou remoções de turbidez de até 98% após sedimentação, com redução drástica da eficiência após dosagem de 40 mg/l (Fig 25). Isto está relacionado com a queda do pH ($\text{pH} < 6,0$) a partir desta dosagem, visto que o pH não foi controlado, saindo da região ótima de coagulação por varredura (CRITTENDEN et al., 2012). Estes altos valores de remoção com o uso do SA eram esperados, pois trata-se de um coagulante químico consolidado e com alta taxas de remoção de turbidez. Katalo *et al.* (2018) compararam a eficiência de coagulação e remoção de turbidez da *M. oleifera* e SA, obtendo remoção de turbidez de 86% e 99,7%, respectivamente. O melhor resultado do SA deve-se à produção de flocos maiores e com maior densidade (coagulação por varredura), facilitando a aglutinação e sedimentação para posterior filtração (KATALO et al., 2018).

A Figura 27 apresenta a remoção de turbidez após sedimentação e filtração granular rápida para as diferentes formas de extração da semente de *M. oleifera* e do sulfato de alumínio.

Figura 27: Remoção de turbidez após sedimentação e filtração granular rápida para os diferentes extratos da semente de *M. oleifera* e do sulfato de alumínio.



Fonte: elaborado pela autora.

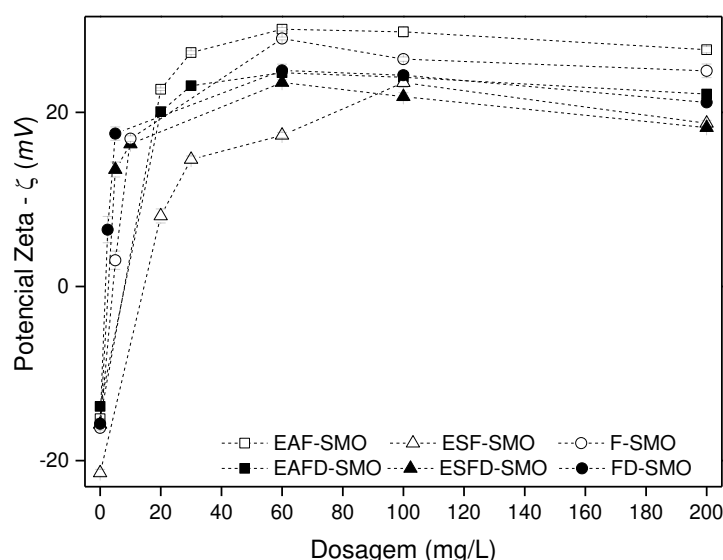
Pela Fig. 27 observa-se que, para todos os coagulantes utilizados, pôde-se perceber uma alta eficiência de remoção de turbidez (superior a 98%) após a filtração granular rápida para as dosagens avaliadas. Mesmo para as condições em que a remoção após sedimentação (Fig. 25) era baixa, após a filtração granular rápida pode ser observada uma alta remoção de turbidez. Isto se deve, provavelmente, ao fato de as partículas estarem desestabilizadas, mas não terem tamanho e densidade suficientes para sedimentarem no tempo estipulado neste trabalho. Estando as partículas desestabilizadas, elas ficam retidas nos grãos de areia por forças de atração intermolecular (CRITTENDEN et al., 2012).

Mesmo para o sulfato de alumínio, onde após sedimentação a remoção de turbidez caiu de uma média de 98% para 27% para dosagens superiores a 40 mg/L (Fig. 25), após a filtração granular rápida a remoção de turbidez manteve-se superior a 99% (Fig. 27) em todas as dosagens estudadas. Dosagens superiores a 40 mg/L reduziram o pH para valores fora da região ótima de varredura, mas, de acordo com o diagrama de solubilidade do sulfato de alumínio (Fig. 6), o mecanismo dominante passa a ser o de adsorção e neutralização de cargas, permitindo que estas partículas desestabilizadas fiquem também retidas nos grãos de areia da etapa de filtração granular rápida, como no caso das condições estudadas do coagulante natural.

5.6 Resultados de Potencial Zeta

A Fig. 28 apresenta o potencial zeta das partículas em suspensão em função das dosagens de coagulante natural nas diferentes formas de extração.

Figura 28: Potencial zeta para os diferentes extratos da semente de *M. oleifera*.



Fonte: elaborado pela autora.

Pela Figura 28 observa-se que, para todas as formas de extração do coagulante natural, o aumento da dosagem do coagulante aumenta o potencial zeta das partículas presentes na suspensão, passando de um valor negativo médio de -16,4 mV (sem coagulantes) para um valor positivo médio de +20,0 mV (200 mg/L), que se estabiliza em dosagens iguais ou superiores a 100 mg/L. Isto comprova que, independente do método de extração, as proteínas catiônicas presentes da *M. oleifera* são capazes de neutralizar a carga negativa da superfície das partículas presentes. E, quando um excesso de carga é adicionado, a carga da partícula passa a ser positiva, reestabilizando a partícula. A reestabilização tem como consequência a piora na eficiência de remoção de turbidez (KANSAL; KUMARI, 2014; KATALO et al., 2018; MOHAMED NOOR et al., 2020; VEGA ANDRADE et al., 2021).

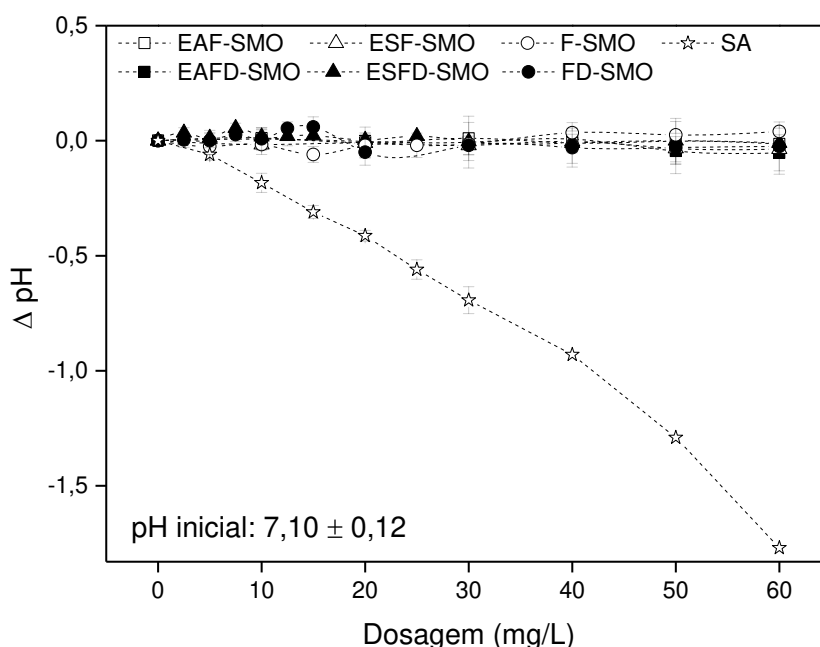
Esta característica de reestabilização das partículas apresentada pelos extratos é típica de coagulação pelo mecanismo de adsorção e neutralização de cargas. Outros autores também apresentam o mecanismo de adsorção e neutralização de cargas como sendo o principal mecanismo de atuação da *M. oleifera*. Conforme apresentado pelo trabalho da Vega Andrade *et al.* (2021), a redução de 92% na turbidez usando a *M. oleifera* foi atribuída ao mecanismo de coagulação citado acima, ocasionando a desestabilização dos colóides para posterior remoção. De igual forma, Ribeiro, Vega Andrade e dos Reis (2019) demonstraram ser este o mecanismo dominante por meio do uso da *M. oleifera* no tratamento de água com baixa turbidez por filtração direta. Outros estudos também convergem com os apresentados

acima (HOA; HUE, 2018; JUNG et al., 2018; NONFODJI et al., 2020; VILLASEÑOR-BASULTO et al., 2018; VUNAIN et al., 2019).

5.7 Efeito no pH

O efeito no pH da adição das diferentes formas de extração do coagulante natural e do coagulante sintético é apresentado na Figura 29.

Figura 29: Variação do pH após adição dos diferentes extratos da semente de *M. oleifera* e do sulfato de alumínio.

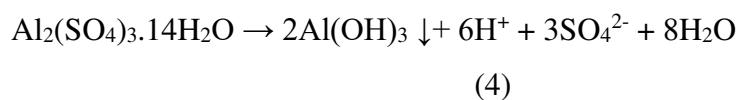


Fonte: elaborado pela autora.

Conforme visualizado na Figura 29 e confirmado via avaliação estatística (Anova), as diferentes formas de extração da semente de *M. oleifera* não apresentaram variação significativa do pH na faixa de dosagem estudada. Esta é uma vantagem competitiva do uso da semente de *M. oleifera* se comparado aos coagulantes sintéticos, pois é um parâmetro importante para melhorar os processos de tratamento e preservar as tubulações contra corrosões ou entupimentos, excluindo a demanda de alcalinizantes para ajuste de pH, dessa forma, diminuindo custos do tratamento. Vários autores reportam essa característica, com diferentes métodos de extração. Hoa e Hue (2018) variaram a dosagem (0-60 mg/L) e os

métodos de extração do coagulante à base de *M. oleifera* observara que o pH se manteve estável (próximo a 7,6). Em concordância, o uso da *M. oleifera* na forma de extrato aquoso, por Vunain *et al.* (2019), no tratamento de águas residuárias, não gerou variação significativa do pH ($6,3 \pm 0,09$) com o aumento da dosagem (0-50 mg/L).

Por outro lado, ainda de acordo com a Figura. 29, o aumento da dosagem de SA causou uma queda considerável no pH da água. Como consequência, nas dosagens superiores a 40 mg/L de SA, a remoção de turbidez após sedimentação caiu drasticamente (Figura 25). Esta queda de pH refere-se à liberação de íons H^+ quando adicionado à água, consumindo alcalinidade e reduzindo o pH do meio (Equação 4) (CRITTENDEN *et al.*, 2012).

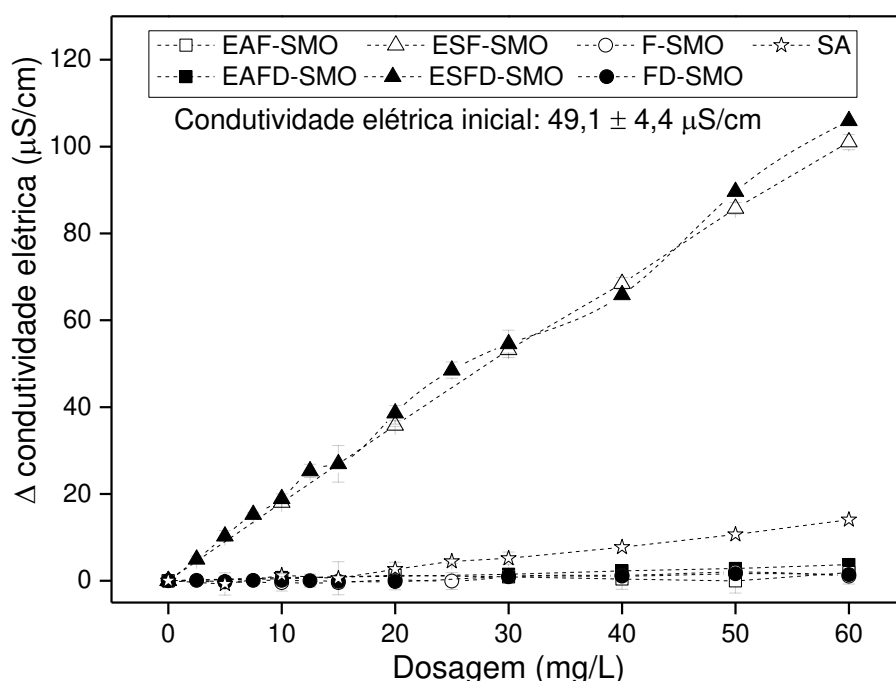


Katalo *et al.* (2018) também não observaram mudança significativa no pH com a variação da dosagem de *M. oleifera* (0-8 mg/L) usando o extrato salino (NaCl 1M). Por outro lado, houve uma queda significativa de pH com quando utilizado o SA (7,3 – 6,3) com o aumento da dosagem (0-10 mg/L). Em concordância, reportado por Vega Andrade *et al.* (2021), o pH permaneceu estável para as diferentes dosagens aplicadas (0-600 mg/L) do extrato aquoso da semente de *M. oleifera*. Já para SA significativa queda no pH ($\Delta pH -0,8$) em consequência do aumento da dosagem (0-250 mg/L).

5.8 Efeito na Condutividade Elétrica

O efeito na condutividade elétrica da adição das diferentes formas de extração do coagulante natural e do coagulante sintético é apresentado na Fig. 30.

Figura 30: Variação na condutividade elétrica após adição dos diferentes extratos da semente de *M. oleifera* e do sulfato de alumínio.



Fonte: elaborado pela autora.

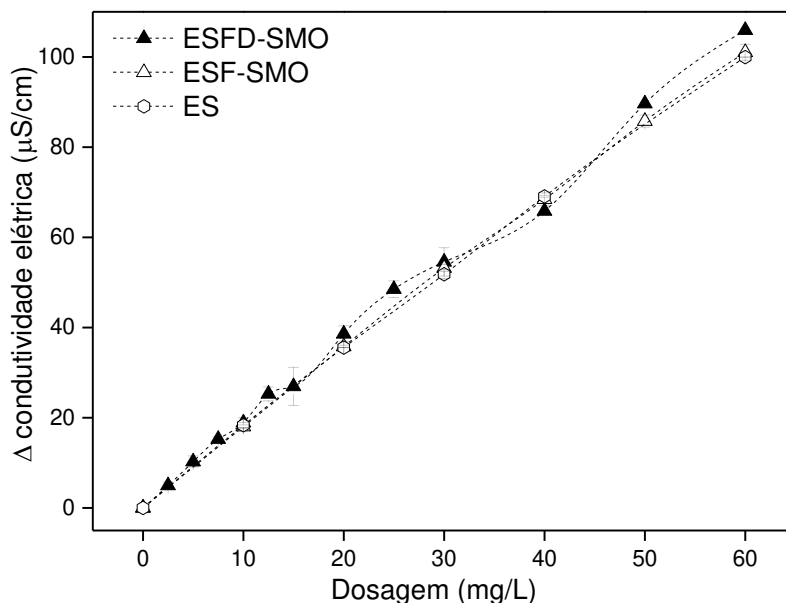
Pela Figura 30, tanto a farinha (F-SMO e FD-SMO) quanto os extratos aquosos (EAF-SMO e EAFD-SMO) não apresentaram variação significativa da condutividade elétrica na faixa de dosagem estudada. Com base na avaliação feita pelo método estatístico de comparação múltipla de *Tukey* e pelo teste ANOVA fator único com adoção de 5% como nível de significância, os resultados para estas formas de uso da semente foram estatisticamente iguais.

Já o SA apresentou um aumento da condutividade elétrica com o aumento da dosagem, que ficou mais significativa a partir da dosagem de 20 mg/L. Conforme citado pela Equação 4, este aumento se dá pela liberação de íons H^+ , no meio aquoso, resultam no aumento de condutividade elétrica (CRITTENDEN et al., 2012).

Já os extratos salinos (ESF-SMO e ESFD-SMO) apresentaram os maiores aumentos de condutividade elétrica com o aumento da dosagem. Conforme já discutido no item 5.4, foi feita uma extração salina à 5% para minimizar os efeitos de condutividade elétrica, mas mesmo assim os extratos salinos ainda apresentaram os maiores incrementos nesta variável.

Na Figura 31, pode-se observar a comparação de condutividade elétrica dos extratos salinos (ESF-SMO E ESFD-SMO) com apenas o extrato salino de NaCl 1M (ES), sem adição da semente de *M. oleifera*.

Figura 31: Variação na condutividade elétrica após adição dos diferentes extratos da semente de *M. oleifera* (ESF-SMO e ESFD-SMO) e de apenas a solução salina (ES)



Fonte: elaborado pela autora.

Conforme apresentado na Fig. 31, o aumento da condutividade elétrica foi estatisticamente igual entre os extratos ES, ESF-SMO e ESFD-SMO (comparação múltipla de *Tukey* e pelo teste ANOVA fator único com adoção de 5% como nível de significância). Portanto, pode se inferir que o aumento da condutividade elétrica está relacionado aos íons Na^+ e Cl^- presentes na solução salina (NaCl 1M).

Um dos benefícios citados na literatura sobre o uso da semente de *M. oleifera* como coagulante, em geral, é não alterar a condutividade elétrica do meio, juntamente com os benefícios de não alterar o pH e obter um lodo biodegradável, além de não apresentar residuais de alumínio, comparado ao uso do SA. Porém, a melhora na eficiência da coagulação dos extratos salinos tem que ser balanceada com o efeito na condutividade elétrica versus dosagem aplicada. Para isso, é necessário que mais estudos sejam feitos para ponderar os efeitos positivos e negativos no tratamento e qualidade final de água e efluentes, assim como os efeitos na saúde.

5.9. Condições Ideais de Dosagem dos Coagulantes para Remoção de Turbidez

A Tabela 13 apresenta um resumo das melhores condições de remoção de turbidez após sedimentação para todos os extratos da semente de *M. oleifera* e para o sulfato de alumínio.

Tabela 13: Melhores condições de remoção de turbidez (média) após sedimentação para todos os extratos da semente de *M. oleifera* e para o sulfato de alumínio.

Coagulante	Dosagem Ideal (mg/L)	Remoção de turbidez após sed. (%)	Δ pH	Δ Cond. elétrica (mS/cm)	Potencial Zeta (mV)
F-SMO	5	75,7	-0,03	-0,3	+3
FD-SMO	2,5	74,5	+0,00	+0,1	+6,5
EAF-SMO	20	72,1	-0,01	+1,3	+22,7
EAFD-SMO	20	73,0	-0,00	+1,1	+20,1
ESF-SMO	20	90,2	-0,01	+35,8	+8,1
ESFD-SMO	5	89,5	+0,01	+10,3	+13,4
SA	20	98,0	-0,41	+2,7	-

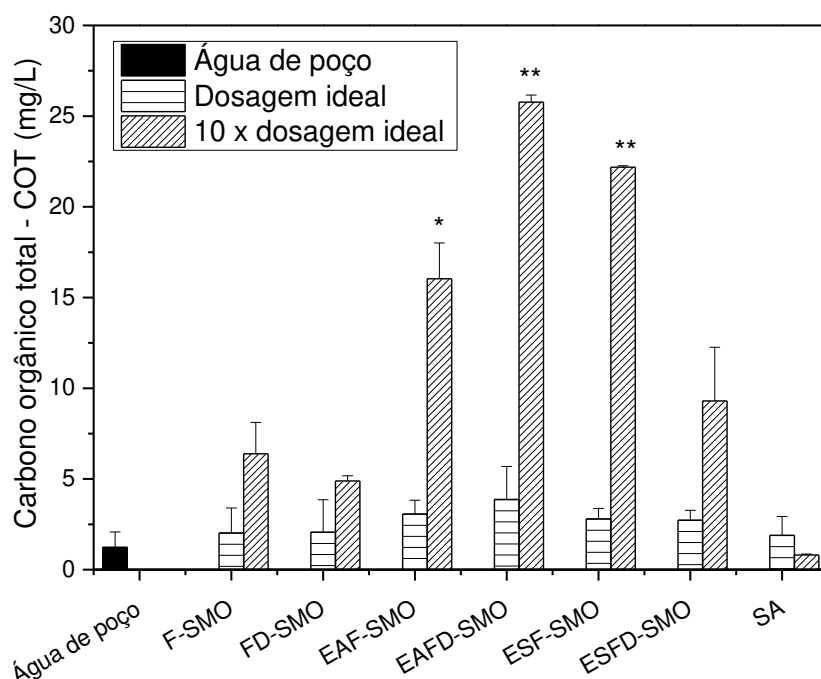
Fonte: elaborado pela autora.

As análises de carbono orgânico total e citotoxicidade são baseadas nas dosagens ideais de cada coagulante, reportadas na Tabela 13.

5.10. Carbono orgânico residual com o uso da semente de *M. oleifera* e do sulfato de alumínio

A Figura 32 apresenta o resultado de COT da água de poço e da água tratada após a sedimentação para todos os extratos da semente de *M. oleifera* e para o sulfato de alumínio na dosagem ideal (de acordo com Tabela 13) e 10 vezes a dosagem ideal.

Figura 32: Carbono orgânico total (COT) da água de poço em função da dosagem dos diferentes extratos à base de *M. oleifera* e sulfato de alumínio, na dosagem ideal e 10 vezes maiores.



Fonte: elaborado pela autora.

Observa-se pela Figura 32 que, nas dosagens ideais, os coagulantes EAFD-SMO, EAF-SMO e ESF-SMO apresentaram os maiores resultados de COT, respectivamente de 3,9 mg/L, 3,1 mg/L e 2,8 mg/L. De qualquer maneira, estatisticamente (teste ANOVA fator único com adoção de 5% como nível de significância), todos os resultados são estatisticamente iguais na dosagem ideal, inclusive em relação à água de poço e o SA.

Ainda de acordo com a Figura 32, o aumento da dosagem (10 vezes ideal) resultou no aumento do COT na água tratada com os coagulantes à base de *M. oleifera*, mas não resultou em alteração estatisticamente significativa na água tratada com o SA. O SA é um coagulante sintético inorgânico e, portanto, não é esperado carbono orgânico residual (CHOW et al., 2009; CRITTENDEN et al., 2012; KATALO et al., 2018; MATILAINEN; VEPSALAINEN; SILLANPAA, 2010; VEGA ANDRADE et al., 2021).

Pela Figura 32 observa-se também que, dentre os coagulantes à base de *M. oleifera*, os que tiveram maior resultado de COT na água tratada nas dosagens 10 vezes a ideal foram EAFD-SMO, ESF-SMO e EAF-SMO, respectivamente de 25,8 mg/L, 22,2 mg/L e 16,0

mg/L. Estatisticamente (teste ANOVA fator único com adoção de 5% como nível de significância) estes três resultados foram diferentes dos demais apresentados, mas o EAFD-SMO e ESF-SMO foram estatisticamente iguais entre si. Observa-se que, da mesma maneira que no tratamento com as dosagens ideais, os mesmos extratos (EAFD-SMO, ESF-SMO e EAF-SMO) apresentaram os maiores resultados de COT residual na água. De acordo com a Tabela 13, para estes extratos de *M. oleifera* foram utilizadas as maiores dosagens de tratamento (20 mg/L). Portanto, o aumento do COT residual está fortemente associado com a dosagem de coagulante à base de *M. oleifera* aplicada. Em concordância, como já mostrado, Jung et al (2018) também associou o aumento da carga orgânica ao aumento da dosagem do coagulante. As sementes podem liberar outros compostos que não possuem a capacidade coagulante, como compostos orgânicos provenientes da presença de lipídios e carboidratos e, também, outras proteínas que não são de interesse da coagulação, contribuindo para o aumento da carga orgânica (ANG; MOHAMMAD, 2020; VARKEY, 2020).

Camacho et al (2017) também contribuem para este argumento, pois o uso do coagulante em três tratamentos (farinha bruta, farinha delipidada por extração pressurizada e farinha delipidada com etanol) e duas dosagens distintas (50 mg/L – 100 mg/L) confirmou a relação entre a dosagem aplicada e o carbono orgânico residual, sendo mais expressivo para a maior dosagem (100 mg/L). Também afirmam que nenhum benefício significativo para a redução da carga orgânica foi observado para os diferentes tratamentos.

Resultados semelhantes são apresentados por Sánchez-Martín et al (2010), que compararam a relação entre a dosagem do coagulante purificado em uma e duas etapas com a variação do carbono orgânico dissolvido, mostrando que o aumento da dosagem para além da ideal (dosagem ideal: 0,5 mg/L) aumentou a carga orgânica da água tratada. Observa-se que a purificação em duas etapas refletiu na menor carga orgânica dissolvida, em comparação ao outro tratamento, pois, segundo o autor, a purificação em uma única etapa remove a maioria dos compostos orgânicos e proteínas sem função coagulante, enquanto a segunda etapa contribui para o isolamento das proteínas de interesse. Mesmo assim, o excesso do coagulante refletiu no aumento da carga orgânica residual.

De igual forma, Vega Andrade et al. 2021 também observou o aumento da DBO (inicial 54 mg/L – final 98 mg/L) em função do uso do extrato aquoso no tratamento terciário.

de efluente sanitário, evidenciando que os compostos orgânicos liberados pela semente podem permanecer na água mesmo após a etapa de coagulação, floculação e sedimentação.

Esperava-se que a extração prévia do óleo pudesse reduzir o COT residual, porém os resultados encontrados não confirmaram esta hipótese. Comparando os extratos aquosos (EAF-SMO e EAFD-SMO), observa-se que a concentração de COT do EAFD-SMO foi maior que do tratamento sem a delipidação, provavelmente devido ao uso da farinha mais concentrada. Conforme já discutido neste estudo, 38,4% da farinha foi constituída por óleo, ou seja, espera-se que a FD-SMO seja mais concentrada, pois os lipídeos foram removidos. Porém, como não houve uma etapa terciária de purificação, a proteína catiônica da semente não foi isolada. Dessa forma, pressupõe-se que, mesmo fazendo uso da farinha mais concentrada, ainda é constituída por compostos indesejáveis, que não possuem efeito coagulante, juntamente com as proteínas catiônicas. A dosagem ideal obtida para os dois tratamentos foi de 20 mg/L, sendo que, provavelmente, o EAFD-SMO adicionou maior quantidade de proteínas (catiônicas ou não) e outros compostos, justificando o aumento da carga orgânica residual perante o outro tratamento.

O mesmo não ocorre para os extratos salinos (ESF-SMO e ESFD-SMO) pois a dosagem ideal diferiu para os dois tratamentos (ESF-SMO 20 mg/L e ESFD-SMO 5 mg/L). Sendo assim, a menor dosagem para o ESFD-SMO resultou na menor carga orgânica residual.

Baptista et al (2017) corroboram com os resultados apresentados, pois avaliou o carbono orgânico dissolvido do extrato aquoso delipidado em duas concentrações e seu efeito na carga orgânica. O extrato aquoso na concentração de 5% (m/v) apresentou concentração de proteína de $7055,70 \pm 72,40$ mg/L e de COD $5938,00 \pm 36,86$ mg/L) em comparação ao extrato a 1%, $1438,48 \pm 5,43$ mg/L e $1288,00 \pm 27,87$ mg/L, respectivamente. Nota-se que o extrato mais concentrado (5%), ou seja, com maior quantidade de farinha, apresentou maior valor de carbono orgânico dissolvido, mostrando que a carga orgânica também foi dependente da farinha. Muito semelhante, Feihrmann et al (2017) observaram 1.294 mg/L de COD no extrato delipidado com hexano na concentração de 1% (m/v). Em contrapartida com os resultados apresentados neste estudo, o autor mostra que a delipidação foi eficaz na remoção do COD na água tratada (inicial 15,40 mg/L – final $8,85 \pm 0,76$ mg/L para dosagem do coagulante 13,78 mg/L). O uso do coagulante desengordurado permitiu obter menor carga orgânica residual, podendo ser mais vantajoso no que diz respeito ao

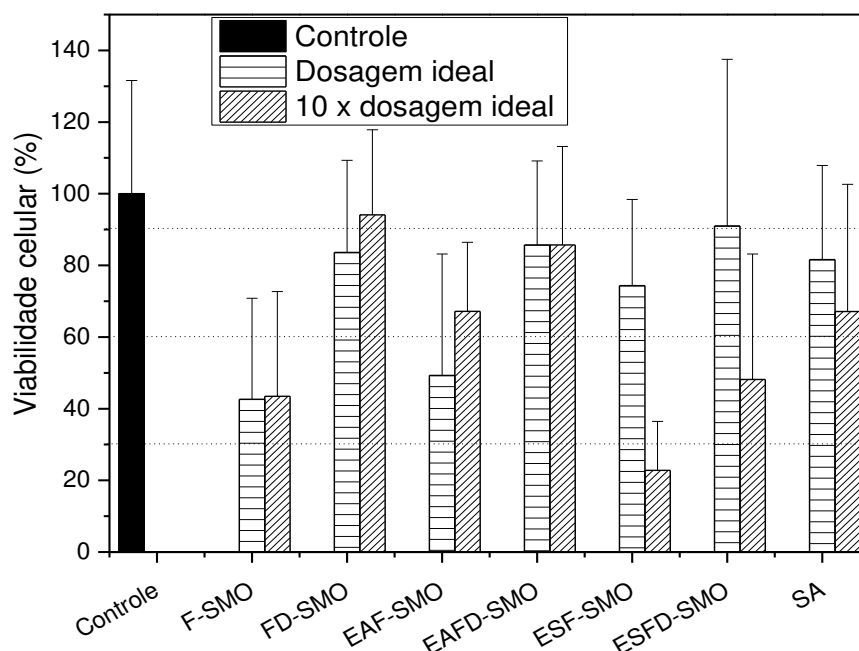
crescimento de micro-organismos indesejáveis e formação de subprodutos da desinfecção. Em consonância, Ali et al (2010) também abordam que a retirada do óleo pode reduzir a carga orgânica e purificar a proteína, levando a melhores resultados, apesar de não ter sido feitos ensaios que comprovem essa teoria (ALI et al., 2010).

Os tratamentos F-SMO e FD-SMO apresentaram menor COT devido à menor dosagem usada. Conforme explicado, a carga orgânica foi dependente da dosagem, portanto, quanto menor a quantidade de farinha adicionada à água de tratamento, menor será a carga orgânica residual.

5.11. Citotoxicidade com o uso da semente de *M. oleifera* e do sulfato de alumínio

Na Figura 33 são apresentados os resultados de viabilidade celular da linhagem *VERO* após exposição às soluções para todos os extratos da semente de *M. oleifera* estudados e para o sulfato de alumínio em água desmineralizada na dosagem ideal (de acordo com Tabela 13) e 10 vezes a dosagem ideal.

Figura 33: Viabilidade (% com relação ao grupo controle) da linhagem celular *VERO* após exposição aos diferentes extratos da semente de *M. oleifera* e sulfato de alumínio nas dosagens ideais e dosagens 10 vezes maiores.



Fonte: elaborado pela autora.

Dos resultados apresentados pela Figura 33, é possível identificar que o SA, tanto na dosagem ideal quanto na 10 vezes a dosagem ideal, apresentou baixa citotoxicidade (vide Tabela 13), respectivamente com 82% e 67% de viabilidade celular. Os valores de baixa citotoxicidade para o SA já eram esperados, visto ser um coagulante com amplo uso nos tratamentos de água de abastecimento e águas residuárias. Vega Andrade et al (2021) reportou valores similares de citotoxicidade com o uso de SA na dosagem de 200 mg/L, com 63% de viabilidade celular, ou seja, baixa citotoxicidade (KLOPPPEL; FLIEDNER; KORDEL, 1997).

De modo geral, observa-se na Figura 33, que os coagulantes a base de *M. oleifera* também apresentaram redução na viabilidade celular quando comparados ao grupo controle. A forma de extração do coagulante e as dosagens aplicadas exerceram uma forte influência na viabilidade celular, podendo ser atribuída à presença de grupos de isocianatos contidos na semente de *M. oleifera* que, de acordo com a literatura, pode ser um dos responsáveis pela toxicidade (C. MAIYO; MOODLEY; SINGH, 2015; RAGASA et al., 2012). Vega Andrade et al (2021) reportaram redução na viabilidade celular com o aumento da dosagem do extrato aquoso da semente de *M. oleifera*. A menor dosagem (30 mg/L) apresentou viabilidade celular muito semelhante ao controle ($91 \pm 13\%$), ou seja, citotoxicidade nula. Porém, o aumento da dosagem (300 mg/L até 750 mg/L) foi acompanhado da redução gradativa da viabilidade celular. Todavia, mesmo para as maiores dosagens (600 mg/L e 750 mg/L) a viabilidade celular média foi de 66% (baixa citotoxicidade). Os resultados de outros autores também corroboram que a citotoxicidade está relacionada com a dosagem (CHIVAPAT et al., 2012; DE BARROS et al., 2021).

A redução da viabilidade celular correlacionada ao aumento da dosagem ideal, em 10x, foram verificados nos extratos salinos. O ESFD-SMO passou de não citotóxico (91% de viabilidade celular) na dosagem ideal para citotoxicidade moderada (48% de viabilidade celular), na dosagem de 10 vezes a ideal. Já o ESF-SMO passou de citotoxicidade baixa (74% de viabilidade celular) na dosagem ideal para citotoxicidade severa (23% de viabilidade celular), na dosagem de 10 vezes a ideal. Destaca-se que o ESF-SMO na dosagem de 10 vezes a ideal foi o extrato mais citotóxico dentre os avaliados. Dependendo da concentração utilizada, soluções de NaCl podem causar danos celulares devido à desidratação osmótica, conforme relatado por Zawlodzka e Takamatsu (2005). Os autores expuseram células de adenocarcinoma prostático PC-3 ao estresse osmótico por solução NaCl em diferentes molaridades (2,5M e 4,5M) e tempos de exposição (1 a 60 min). A

diminuição da viabilidade celular foi observada devido à desidratação da célula, que causou a perda da integridade celular, sendo mais expressivo nas maiores concentrações (ZAWLODZKA; TAKAMATSU, 2005). Resultado semelhante foi observado por García e Ardila (2009), na variação da concentração de solução NaCl (0,42% a 11,70%) em mostras de sangue humano. As concentrações acima de 5,85% provocaram algum grau de hemólise (desnutrição prematura das hemácias por rompimento da membrana plasmática) (GARCÍA; ARDILLA, 2009).

Outra informação relevante a ser apontada por meio da Figura 33 é que a delipidação aumentou a viabilidade celular. A F-SMO apresentou moderada citotoxicidade, tanto na dosagem ideal (43% de viabilidade celular) quanto na dosagem de 10 vezes a ideal (44% de viabilidade celular). Já a FD-SMO apresentou baixa citotoxicidade na dosagem ideal (84% de viabilidade celular) e não foi citotóxico na dosagem de 10 vezes a ideal (94% de viabilidade celular). O mesmo efeito foi encontrado no EAF-SMO quando comparado com o EAFD-SMO, e com o ESF-SMO versus ESFD-SMO, ou seja, a etapa de delipidação da semente no pré-tratamento secundário aumentou a viabilidade celular. Alguns autores vão ao encontro com os resultados apresentados. Freitas et al (2016), Rolim et al (2011) e Al-Anizi, Hellyer e Zhang (2014) atribuíram a citotoxicidade da semente à componentes lipídicos, como ácidos graxo insolúveis que permanecem na água após a extração e compostos não lipídicos, como alcalóides, enzimas e glicosinolatos associados ao óleo (AL-ANIZI; HELLYER; ZHANG, 2014; FREITAS et al., 2016; PÉREZ-PÉREZ et al., 2020; ROLIM et al., 2011). Magalhães et al (2021) observaram redução significativa do teor de ácidos graxos e fenólicos quando aplicada a delipidação, sem afetar o teor de proteínas coagulantes. Nesse sentido, Garcia-Fayos et al (2016) discutem que a etapa de delipidação é recomendável para reduzir a citotoxicidade da semente, permitindo o uso mais seguro deste coagulante

Conforme já mencionado, ao ser adicionada à água de tratamento, a farinha libera, além das proteínas catiônicas, outros compostos provenientes da composição da semente que não são de interesse da coagulação, como lipídeos, outras proteínas e carga orgânica em geral. Segundo Al-Anizi et al (2014), a citotoxicidade também pode ser atribuída à matéria orgânica proveniente da composição da semente. Possivelmente, os efeitos dos compostos tóxicos liberados são mais expressivos quando usada a farinha in natura (F-SMO) devido ao maior tempo de contato da semente com a água, o que, provavelmente, justifica a menor viabilidade celular da F-SMO. Em contrapartida, a FD-SMO apresentou viabilidade celular

mais elevada, em comparação aos outros tratamentos. Conforme também já mencionado, a retirada do óleo implicou no aumento da viabilidade celular para todos os tratamentos devido à retirada de compostos citotóxicos atribuídos à porção lipídica.

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Este estudo avaliou o uso de coagulantes derivados de semente de *Moringa oleifera*, com e sem extração prévia do óleo, nas formas em farinha (F-SMO e FD-SMO), extrato aquoso (EAF-SMO e EAFD-SMO) e extrato salino (ESF-SMO e ESFD-SMO) para o tratamento de água turva sintética (200 unT). Todas as formas avaliadas de coagulantes derivados de sementes de *M. oleifera* foram capazes de neutralizar e reestabilizar (para doses além das ideais) as cargas das partículas na suspensão, características de coagulação por adsorção e neutralização de cargas. Além disso, todos os coagulantes derivados de sementes de *M. oleifera* não alteraram o pH da água tratada, ao contrário do sulfato de alumínio, que apresentou redução indesejada e esperada de redução do pH. Extrações salinas obtiveram os melhores resultados de remoção de turbidez (ESF-SMO - 90,2% e ESFD-SMO - 89,5%), mas mostraram um aumento indesejável na condutividade elétrica e citotoxicidade para células de mamíferos (células *VERO*) com o aumento da dosagem quando comparados aos demais coagulantes derivados de sementes de *M. oleifera*. Portanto, altas doses de extração salina devem ser evitadas, e mais estudos devem ser realizados para reduzir a concentração de solução salina, mantendo altas taxas de remoção de turbidez. As sementes delipidadas não alteraram significativamente a remoção de turbidez, mas também não foram capazes de reduzir a carga orgânica residual, apesar da recomendação da literatura de que a extração prévia poderia auxiliar na redução desta propriedade. Os resultados mostraram que o aumento da carga orgânica residual está relacionado com o aumento da dosagem aplicada. Por outro lado, as sementes delipidadas reduziram a citotoxicidade do coagulante na água tratada quando comparadas à semente não delipidada, demonstrando ser uma etapa importante no processamento de coagulantes derivados de sementes de *M. oleifera*, além de gerar um subproduto com valor agregado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL HAMID, S. H. et al. A study of coagulating protein of *Moringa oleifera* in microalgae bio-flocculation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 113, p. 310–317, 1 set. 2016.

ÁGUAS, A. N. DE; AMBIENTE, M. DO M.; PAULO, C. A. DO E. DE S. Guia Nacional De Coleta E Preservação De Amostras. 2011.

AHMAD, A. et al. Exploring the extraction methods for plant-based coagulants and their future approaches. **Science of the Total Environment**, v. 818, p. 151668, 2022.

AL-ANIZI, A. A.; HELLYER, M. T.; ZHANG, D. Toxicity assessment and modelling of *Moringa oleifera* seeds in water purification by whole cell bioreporter. **Water Research**, v. 56, p. 77–87, 2014.

AL DAYEL, M. F.; EL SHERIF, F. Evaluation of the effects of *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis salina*, and *Enterobacter cloacae* on growth, yield and active compound compositions of *Moringa oleifera* under salinity stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 3, p. 1687–1696, 2021.

ALI, E. N. et al. Production of Natural Coagulant from *Moringa Oleifera* Seed for Application in Treatment of Low Turbidity Water. **Journal of Water Resource and Protection**, v. 02, n. 03, p. 259–266, 2010.

ANG, W. L.; MOHAMMAD, A. W. State of the art and sustainability of natural coagulants in water and wastewater treatment. **Journal of Cleaner Production**, v. 262, 2020.

APHA (2017) - Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, **Water Environment Federation**, 23^a ed. Wahsington.

ARANTES, C. C.; RIBEIRO, T. A. P.; PATERNIANI, J. E. S. Processing of *Moringa oleifera* seeds using different equipments to obtain coagulant solution. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 6, p. 661–666, 2012.

AYDINA, A.; KORKMA, S. A. Evaluation of Pharmacological Activity of Heterobimetallic Coordination Compounds Containing N, N-Bis (2-hydroxyethyl)- Ethylenediamine on HT29, HeLa, C6 and *VERO* cell. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 18, p. 2011–2027, 2019.

BANKS, W. A. et al. **Aluminum complexing enhances amyloid β protein penetration of blood-brain barrier** *Brain Research*, 2006.

BAPTISTA, A. T. A. et al. Coagulation-flocculation process with ultrafiltered saline extract of *Moringa oleifera* for the treatment of surface water. **Chemical Engineering Journal**, v. 276, p. 166–173, 2015.

BAPTISTA, A. T. A. et al. Protein fractionation of seeds of *Moringa oleifera* lam and its application in superficial water treatment. **Separation and Purification Technology**, v. 180, p. 114–124, 2017.

BECKER, G. et al. Estudo do potencial zeta na coagulação/floculação de suspensões de caulim. **Siepe**, p. 6–11, 2018.

BIANCHI, E. et al. Evaluation of genotoxicity and cytotoxicity of water samples from the Sinos River Basin, southern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 2, p. S68–S74, 2015.

BISUTTI, I.; HILKE, I.; RAESSLER, M. Determination of total organic carbon – an overview of current methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, p. 716–726, 2004.

BOULAADJOUL, S. et al. A novel use of *Moringa oleifera* seed powder in enhancing the primary treatment of paper mill effluent. **Chemosphere**, v. 206, p. 142–149, 2018.

BRASIL. Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, São Paulo. 4 de maio de 2021.

C. MAIYO, F.; MOODLEY, R.; SINGH, M. Cytotoxicity, Antioxidant and Apoptosis Studies of Quercetin-3-O Glucoside and 4-(β -D-Glucopyranosyl-1 $\rightarrow$ 4- β -L-Rhamnopyranosyloxy)-Benzyl Isothiocyanate from *Moringa oleifera*. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 5, p. 648–656, 2015.

CAMACHO, F. P. et al. The use of *Moringa oleifera* as a natural coagulant in surface water treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 313, p. 226–237, 2017.

CAMACHO, F. P. et al. Application of defatted *Moringa oleifera* seeds from compressed propane extraction in the removal of emerging microorganisms. **Desalination and Water Treatment**, v. 126, p. 259–267, 2018.

CHIVAPAT, S. et al. Safety evaluations of ethanolic extract of *Moringa oleifera* lam. Seed in experimental animals. **Thai Journal of Veterinary Medicine**, v. 42, n. 3, p. 343–352, 2012.

CHOUDHARY, M.; NEOGI, S. A natural coagulant protein from *Moringa oleifera*: Isolation, characterization, and potential use for water treatment. **Materials Research Express**, v. 4, n. 10, 1 out. 2017.

CHOW, C. W. K. et al. Optimised coagulation using aluminium sulfate for the removal of dissolved organic carbon. **Desalination**, v. 245, n. 1–3, p. 120–134, 2009.

CLEMENTINO, M. R. A.; NETO, P. J. R.; ALENCAR, J. R. B. Carbono orgânico total: metodologia analítica e aplicações para indústria farmacêutica. **Revista brasileira de farmácia**, v. 23, p. 74–80, 2008.

CRITTENDEN, J. C. et al. **MWH's Water Treatment: Principles and Design**. 3. ed, 2011.

DAYARATHNE, H. N. P. et al. Removal of natural organic matter from source water: Review on coagulants, dual coagulation, alternative coagulants, and mechanisms. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, n. November 2020, p. 101820, 2021.

DE BARROS, M. C. et al. Cytotoxicity and genotoxicity assessment of the extract and lectins from *Moringa oleifera* Lam. Seeds / Avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade do extrato e lectinas das sementes de *Moringa oleifera* Lam. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 10, p. 94854–94869, 2021.

DEZFOOLI, S. M. et al. A simplified method for the purification of an intrinsically disordered coagulant protein from defatted *Moringa oleifera* seeds. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 8, p. 1085–1091, 1 ago. 2016.

FEIHRMANN, A. N. C. et al. Evaluation of coagulation/floculation process for water treatment using defatted cake from *Moringa oleifera*. **Chemical Engineering Transactions**, v. 57, p. 1543–1548, 2017.

FREITAS, J. H. E. S. et al. Evaluation of using aluminum sulfate and water-soluble *Moringa oleifera* seed lectin to reduce turbidity and toxicity of polluted stream water. **Chemosphere**, v. 163, p. 133–141, 2016.

GANDIWA, B. I. et al. Optimisation of using a blend of plant based natural and synthetic coagulants for water treatment: (*Moringa Oleifera*-*Cactus Opuntia*-alum blend). **South**

African Journal of Chemical Engineering, v. 34, n. July 2019, p. 158–164, 2020.

GARCÍA-BELTRÁN, J. M. et al. Effects of aqueous and ethanolic leaf extracts from drumstick tree (*Moringa oleifera*) on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes, and their cytotoxic, antitumor, bactericidal and antioxidant activities. **Fish & Shellfish Immunology**, 2020.

GARCIA-FAYOS, B. et al. *Moringa oleifera* for drinking water treatment: influence of the solvent and method used in oil-extraction on the coagulant efficiency of the seed extract. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 48–49, p. 23397–23404, 2016.

GARCÍA, M. J.; ARDILLA, A. M. Cell volume variation under different concentrations of saline solution (NaCl). **Revista Colombiana de Anestesiología**, v. 37, p. 101–105, 2009.

HENDRAWATI, H. et al. **The use of *Moringa Oleifera* Seed Powder as Coagulant to Improve the Quality of Wastewater and Ground Water**. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. **Anais...**Institute of Physics Publishing, 22 fev. 2016.

HENDRICKS, D. **Fundamentals of Water Treatment Unit Processes: Physical, Chemical, and Biological**. 1^a ed. CRC Press, 2011.

HOA, N. T.; HUE, C. T. Enhanced water treatment by *Moringa oleifera* seeds extract as the bio-coagulant: Role of the extraction method. **Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA**, v. 67, n. 7, p. 634–647, 2018.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, “Biological evaluation of medical devices”. Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods”, 3st ed, ISO 10993-5, 2009.

JUNG, Y. et al. Evaluation of *Moringa oleifera* seed extract by extraction time: Effect on coagulation efficiency and extract characteristic. **Journal of Water and Health**, v. 16, n. 6, p. 904–913, 2018.

KANSAL, S. K.; KUMARI, A. **Potential of *M. oleifera* for the treatment of water and wastewater****Chemical Reviews**American Chemical Society, , 14 maio 2014.

KATALO, R. et al. *Moringa oleifera* coagulation as pretreatment prior to microfiltration for membrane fouling mitigation. **Environmental Science: Water Research and Technology**, v. 4, n. 10, p. 1604–1611, 1 out. 2018.

KATAYON, S. et al. Effects of storage duration and temperature of *Moringa oleifera* stock solution on its performance in coagulation. **International Journal of Engineering and Technology**, p. 146–151, 2004.

KATAYON, S. et al. Preservation of Coagulation Efficiency of *Moringa oleifera*, a Natural Coagulant. 2006a.

KATAYON, S. et al. Effects of storage conditions of *Moringa oleifera* seeds on its performance in coagulation. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 13, p. 1455–1460, 2006b.

KLOPPEL, H.; FLIEDNER, A.; KORDEL, W. Behaviour and ecotoxicology of aluminium in soil and water - Review of the scientific literature. **Chemosphere**, v. 35, p. 353–363, 1997.

LANDÁZURI, A. C. et al. *Moringa oleifera* Lam. leaf powder antioxidant activity and cytotoxicity in human primary fibroblasts. 2020.

LEMES, M. R. **Extração do óleo de gergilim**, 2018.

LEONE, A. et al. *Moringa oleifera* seeds and oil: Characteristics and uses for human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 12, p. 1–14, 2016.

LIU, Y. et al. Values, properties and utility of different parts of *Moringa oleifera*: An overview. **Chinese Herbal Medicines**, v. 10, n. 4, p. 371–378, 2018.

LOPES, C. A.; ROLEDO, C.; REIS, A. G. DOS. *Moringa oleifera* seed husks for methylene blue dye adsorption: kinetic, equilibrium, and thermodynamic analyses. **Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, 2022.

MADRONA, G. S. et al. Avaliação de extratos obtidos da semente de *Moringa oleifera lam* com nacl e seus efeitos no tratamento para obtenção de água potável. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 34, n. 3, p. 289–293, 2012.

MAGALHÃES, E. R. B. et al. Effect of oil extraction on the composition, structure, and coagulant effect of *Moringa oleifera* seeds. **Journal of Cleaner Production**, v. 279, 2021.

MATILAINEN, A.; VEPSALAINEN, M.; SILLANPAA, M. Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 159, p. 189–197, 2010.

MECHA, A. C. Ultraviolet and solar photocatalytic ozonation of municipal wastewater :

Catalyst reuse , energy requirements and toxicity assessment. **Chemosphere**, v. 186, p. 669–676, 2017.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Wastewater Engineering - Treatment and Resource Recovery**. 5. ed. McGrall Hill Education, 2016.

MOHAMED, E. H. et al. Influence of extraction and freeze-drying durations on the effectiveness of *Moringa oleifera* seeds powder as a natural coagulant. **Desalination and Water Treatment**, v. 55, n. 13, p. 3628–3634, 2015.

MOHAMED NOOR, M. H. et al. *Moringa oleifera* extract as green coagulant for POME Treatment: Preliminary studies and sludge evaluation. **Materials Today: Proceedings. Anais...Elsevier Ltd**, 2020.

NDABIGENGESERE, A.; NARASIAH, K. S.; TALBOT, B. G. Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. **Water Research**, v. 29, n. 2, p. 703–710, 1995.

NDABIGENGESERE, A.; SUBBA NARASIAH, K. QUALITY OF WATER TREATED BY COAGULATION USING *MORINGA OLEIFERA* SEEDS. 1998.

NHARINGO, T.; ZIVURAWA, M. T.; GUYO, U. Exploring the use of cactus *Opuntia ficus indica* in the biocoagulation–flocculation of Pb(II) ions from wastewaters. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 12, n. 12, p. 3791–3802, 2015.

NKURUNZIZA, T. et al. The effect of turbidity levels and *Moringa oleifera* concentration on the effectiveness of coagulation in water treatment. **Water Science and Technology**, v. 59, n. 8, p. 1551–1558, 2009.

NONFODJI, O. M. et al. Performance of *Moringa oleifera* seeds protein and *Moringa oleifera* seeds protein-polyaluminum chloride composite coagulant in removing organic matter and antibiotic resistant bacteria from hospital wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 33, n. February 2020, 2020.

NOOR, M. J. M. M. et al. Effectiveness of salt-extracted freeze-dried *Moringa oleifera* as a coagulant. **Desalination and Water Treatment**, v. 55, n. 13, p. 3621–3627, 2015.

OKUDA, T. et al. Improvement of extraction method of coagulation active components from *Moringa oleifera* seed. **Water Research**, v. 33, n. 15, p. 3373–3378, 1999.

OLADIPO, B.; BETIKU, E. Process optimization of solvent extraction of seed oil from *Moringa oleifera*: An appraisal of quantitative and qualitative process variables on oil quality using D-optimal design. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, n. May, p. 101187, 2019.

PÉREZ-PÉREZ, V. et al. Evaluation of acute toxicity and chemical composition of refined oil *Moringa oleifera* cultivated in Mexico. **Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, v. 23, p. 1–9, 2020.

RAGASA, C. Y. et al. Cytotoxic isothiocyanates from *Moringa oleifera* Lam seeds. **Philippine Science Letters**, v. 5, n. 1, p. 46–52, 2012.

RIBEIRO, J. V. M.; ANDRADE, P. V.; REIS, A. G. DOS. *Moringa oleifera* seed as natural coagulant to treat low-turbidity water by in-line filtration. **Revista Ambiente e Agua**, v. 14, n. 6, p. 8, 2019.

ROLIM, L. A. D. M. M. et al. Genotoxicity Evaluation of *Moringa oleifera* Seed Extract and Lectin. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, 2011.

SAKUMA, C. Novel endogenous simian retroviral integrations in *VERO* cells : implications for quality control of a human vaccine cell substrate. **Scientific Reports**, v. 644, 2018.

SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; GHEBREMICHAEL, K.; BELTRÁN-HEREDIA, J. Comparison of single-step and two-step purified coagulants from *Moringa oleifera* seed for turbidity and DOC removal. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 15, p. 6259–6261, ago. 2010.

SANTOS, T. R. T. DOS et al. Trihalomethanes minimization in drinking water by coagulation/flocculation/sedimentation with natural coagulant *Moringa oleifera* Lam and activated carbon filtration. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 94, n. 7, p. 1277–1284, 2016.

SANTOS, T. R. T. DOS et al. Magnetic coagulant based on *Moringa oleifera* seeds extract and super paramagnetic nanoparticles: Optimization of operational conditions and reuse evaluation. **Desalination and Water Treatment**, v. 106, n. May, p. 226–237, 2018.

SENEDA, R. M.; GARCIA, G. F.; DOS REIS, A. G. Flocculation kinetics: A comparative study on the use of polyaluminium chloride with high and low basicity and alum. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 26, n. 2, p. 283–290, 1 mar. 2021.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: Implicações

para a saúde. **Revista de Nutricao**, v. 24, n. 6, p. 895–904, 2011.

SILVA, D. F. S. et al. Separation of microalgae cultivated in anaerobically digested black water using *Moringa oleifera* Lam seeds as coagulant. **Journal of Water Process Engineering**, v. 39, n. June 2020, 2021.

SKAF, D. W. et al. Impact of *Moringa oleifera* extraction conditions on zeta potential and coagulation effectiveness. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 104687, 2021.

SLETTEN, G. B. G.; DAHL, J. E. Cytotoxic effects of extracts of compomers. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 57, p. 316–322, 1999.

TAIWO, A. S.; ADENIKE, K.; ADERONKE, O. Efficacy of a natural coagulant protein from *Moringa oleifera* (Lam) seeds in treatment of Opa reservoir water, Ile-Ife, Nigeria. **Heliyon**, v. 6, n. 1, 1 jan. 2020.

VALVERDE, K. C. et al. Preparation of *Moringa oleifera* seeds as coagulant in water treatment. **Environmental Engineering and Management Journal**, v. 17, n. 5, p. 1123–1129, 2018.

VARKEY, A. J. Purification of river water using *Moringa oleifera* seed and copper for point-of-use household application. **Scientific African**, v. 8, 1 jul. 2020.

VEGA ANDRADE, P. et al. Use of *Moringa oleifera* seed as a natural coagulant in domestic wastewater tertiary treatment: Physicochemical, cytotoxicity and bacterial load evaluation. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, 1 abr. 2021.

VERGOLYAS, M. Research of cytotoxic activity of water from different water supply sources. v. 5, n. 2, p. 92–96, 2019.

VILASECA, M.; LÓPEZ-GRIMAU, V.; GUTIÉRREZ-BOUZÁN, C. Valorization of waste obtained from oil extraction in *Moringa oleifera* seeds: Coagulation of reactive dyes in textile effluents. **Materials**, v. 6, n. 9, p. 6569–6584, 2014.

VILLASEÑOR-BASULTO, D. L. et al. Wastewater treatment using *Moringa oleifera* Lam seeds: A review **Journal of Water Process Engineering** Elsevier Ltd, , 1 jun. 2018.

VUNAIN, E. et al. Evaluation of coagulating efficiency and water borne pathogens reduction capacity of *Moringa oleifera* seed powder for treatment of domestic wastewater from

Zomba, Malawi. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 3, 2019.

WU, C. et al. Coagulation performance and floc characteristics of aluminum sulfate using sodium alginate as coagulant aid for synthetic dying wastewater treatment. **Separation and Purification Technology**, v. 95, p. 180–187, 2012.

YAMAGUCHI, N. U. et al. A review of *Moringa oleifera* seeds in water treatment: Trends and future challenges. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 147, p. 405–420, 2021.

ZAID, A. Q. et al. Experimental optimization of *Moringa oleifera* seed powder as bio-coagulants in water treatment process. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 5, p. 1–5, 2019.

ZAID, A. Q.; GHAZALI, S. B. Dataset on physicochemical properties of particle-sized *Moringa oleifera* seed cake and its application as bio-coagulants in water treatment application. **Chemical Data Collections**, v. 24, 2019.

ZAWLODZKA, S.; TAKAMATSU, H. Osmotic injury of PC-3 cells by hypertonic NaCl solutions at temperatures above 0°C. **Cryobiology**, v. 50, n. 1, p. 58–70, 2005.