



APLICAÇÃO DO FARELO DESENGORDURADO SEMENTES DE *MUCUNA DEERINGIANA* OBTIDOS VIA TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA EM SEMENTES DE SOJA

Vitor Augusto dos Santos Garcia¹, Caroline Ortega Terra Lemos², Elisangela Mendes dos Santos³, Camila da Silva⁴, Lucio Cardozo Filho⁵

RESUMO: O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da aplicação do farelo desengordurado de *Mucuna deeringiana* sob sementes de soja (*Glycine max (L.) Merrill*), obtidos por diferentes condições operacionais, utilizando dióxido de carbono em condições pressurizadas como solvente. As extrações do óleo foram realizadas em unidade de escala laboratorial nas temperaturas de 40 a 60 °C, e pressões de 150 a 250 bar, fluxo do solvente fixo em 3 mL/min. O experimento foi conduzido em câmara de germinação (25 °C, fotoperíodo de 12 horas para luz e 12 horas escuro), onde avaliou-se a germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG), com contagens diárias durante 7 (sete) dias. A análise dos dados permitiu concluir que a extração do óleo a partir de dióxido de carbono, se mostrou eficiente para concentrar o composto alélopático L-dopa no farelo, obtendo percentuais de L-dopa entre 1.86 % a 4.65 %, sendo condizentes com os maiores percentuais de óleo. As sementes de soja na presença do farelo desengordurado não apresentaram diferença significativa no percentual de germinação, no entanto, a aplicação do mesmo influenciou significativamente o índice de velocidade de germinação em relação ao tratamento controle.

PALAVRAS-CHAVE: *Mucuna deeringiana*, soja, semente, dióxido de carbono supercrítico.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura de soja constitui objeto de intensa atividade de pesquisa, com vistas à obtenção de informações que possibilitem expansão de seu cultivo e aumento na sua produtividade. Com uma produção mundial estimada em 256 milhões de toneladas, tem significativa importância na economia mundial e fornece metade da demanda global de óleo vegetal e proteína (ALMEIDA *et al.*, 2001).

No ano de 2009/2010, o Brasil produziu-se aproximadamente 69 milhões de toneladas de soja, sendo o segundo maior produtor mundial depois dos Estados Unidos

¹ Acadêmico do Curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. Bolsista CAPES. garcia.vitoraugusto@gmail.com

² Acadêmica do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. Bolsista CAPES. carolaterra@hotmail.com

³ Acadêmica do Curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. Bolsista CAPES. elisbi3@yahoo.com.br

⁴ Orientadora, Professora Doutora docente do Curso de Tecnologia em Alimentos da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Umuarama – Paraná. Camiladasilva.eq@gmail.com

⁵ Orientador, Professor Doutor docente do Curso de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. cardozo@deq.uem.br

da América, cultivada em praticamente todas as regiões do território brasileiro, com área de cultivo superior a 21 milhões de hectares (EMBRAPA SOJA, 2008).

Em razão da grande importância, procura-se aumentar a qualidade destas sementes para a cultura se estabelecer de uma forma mais adequada nos diversos tipos de solo, e para isso vem sendo estudada a utilização de plantas que possuem substâncias naturais, que possam auxiliar no desenvolvimento das sementes, conforme estudos apresentados na literatura (BORELA e PASTORINI, 2010). Estas substâncias naturais são denominadas aleloquímicos, biomoléculas responsáveis pelos efeitos alelopáticos, que podem ser metabólitos diretos, subprodutos de outros processos metabólicos ou produtos da decomposição de compostos ou biomassa.

Os efeitos alelopáticos são mediados por substâncias que pertencem a diferentes categorias de compostos secundários. Os produtos químicos mais comuns causando efeitos alelopáticos pertencem aos grupos dos ácidos fenólicos, cumarinas, terpenóides, alcalóides, glicosídeos cianogênicos, derivados do ácido benzóico, etileno, saponinas, taninos, quinonas complexas e flavonóides.

Mucuna pruriens, é uma planta da família Fabaceae, típica de regiões tropicais atualmente estudada por possuir habilidades especiais, como no controle de plantas daninhas, a tolerância a pragas, a supressão de nematóides, melhoria de aspectos físicos dos solos e por conter em suas folhas, sementes e raízes um importante agente alelopático, a L-dopa (L- 3,4-dihidroxifenilalanina) (MELO *et al.*, 2005), precursor de muitos compostos secundários. A L-dopa tem sido aplicada em grandes culturas, a fim de verificar seu efeito no desenvolvimento do plantio, como indicativo de boa ou não produtividade.

De acordo com Adebawale *et al.*, (2005), as sementes de *Mucuna* apresentam um elevado percentual de lipídeos, além de proteínas, carboidratos e minerais. A extração a partir dióxido de carbono supercrítico além de permitir uma eficiente remoção do óleo, pois apresenta alta solubilidade, em determinadas condições de pressão e temperatura, permite a obtenção de produtos na ausência de solventes. Melo *et al.*, (2005) relataram que a L-dopa apresenta uma baixa solubilidade em dióxido de carbono, portanto a remoção do óleo das sementes de *Mucuna deeringiana*, utilizando como solvente o CO₂, poderá ser uma técnica eficiente para concentrar este composto alelopático.

Diante do exposto acima, o presente trabalho visou avaliar o efeito da aplicação do farelo de *Mucuna deeringiana* obtido após extração do óleo com dióxido de carbono supercrítico sob o índice de velocidade de germinação e a taxa de germinação de semente de soja (*Glycine Max L. Merrill*). Para isso, foi aplicado nas sementes, o farelo desengordurado de *Mucuna deeringiana*, obtido em diferentes condições de extração e com diferentes teores de L-Dopa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

Para realização das extrações, foram utilizados sementes de *Mucuna* variedade *deeringiana* adquirida da empresa Pró-Sementes (São Paulo, Brasil) e para as extrações utilizou-se dióxido de carbono de procedência Air Liquide (São Paulo, Brasil) com 99,5% de pureza. Na quantificação de L-Dopa, nas amostras de farelo desengordurado foi utilizado o padrão cromatográfico L-3,4-Dihidroxifenilalanina (Sigma-Aldrich 99,9%), ácido fosfórico e metanol, ambos grau HPLC Tedia®. Para a realização dos testes de germinação foram utilizadas sementes de soja variedade BRS 282, safra 2009/2010 obtidas junto a empresa SL Alimentos (Paraná), caixas plásticas e folhas de papel filtro.

Extração do Óleo das sementes de *Mucuna deeringiana*

O aparato experimental utilizado nas extrações com dióxido de carbono é apresentado na Figura 01. A unidade experimental é constituída basicamente de um cilindro de dióxido de carbono, dois banhos termostáticos, duas bombas tipo seringa (Teledyne ISCO 500), um vaso extrator encamisado de aço inox com capacidade de 166,5 cm³ e um vaso coletor. Cerca de 60 g de sementes secas foram introduzidas no extrator, após o solvente foi bombeado e mantido em contato com a matriz herbácea por pelo menos 30 minutos para permitir a estabilização do sistema. O óleo foi coletado a partir da abertura da válvula. Depois disso, a massa de óleo extraída foi pesada e o tubo foi reconectado ao equipamento. Este procedimento foi realizado até que a massa de óleo extraída mantivesse constante. As condições experimentais foram: temperatura de 40 a 60°C, pressão de 150 a 250 bar (Tabela 1) e fluxo de solvente fixo em 3 mL/min. O rendimento de extração foi calculado pela razão entre a massa de óleo extraído e da matéria-prima utilizada. O farelo agora desengordurado é retirado do extrator e transferido para um recipiente plástico e armazenado em um local no escuro.

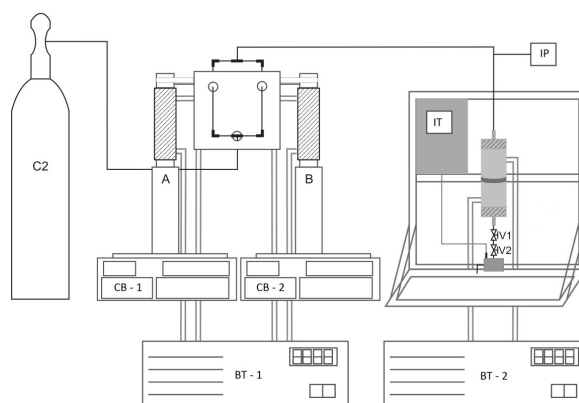


Figura 01 - Aparato Experimental. C2: Cilindro de Dióxido de Carbono; V1: Válvula Macrométrica; V2: Válvula Micrométrica; A e B: Bomba tipo Seringa; CB-1 e CB-2: Controlador da bomba; IP: Indicador de Pressão; IT: Indicador de Temperatura; BT-1 e BT-2: Banho Termostático.

Quantificação de L-Dopa

Para quantificação dos teores de L-dopa, presente no farelo desengordurado, utilizou um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Varian 920 LC, com detector ultravioleta-visível, equipado com bomba quaternária, injetor automático, coluna Res Elut C₁₈ (Varian, 150 mm x 4,6 mm d. i.), com o volume de injeção de 20µL, fluxo de 0,5mL/min, detecção em 280 nm, temperatura da coluna de 30°C e fase móvel composta por água, metanol e ácido fosfórico (97,5:2:0,1 v/v/v). Utilizou-se o padrão cromatográfico L - 3,4-Dihidroxifenilalanina, para a obtenção da curva de calibração, com injeção de soluções com concentrações crescentes de L-dopa (5 a 140 mg/L), a qual apresentou um coeficiente de regressão (r) de 0,99.

Na quantificação das amostras foi realizada a pesagem de 0,1 g do farelo desengordurado de *Mucuna*, adicionado em 5 mL de Água ultra pura Mili-Q e levado ao sonificador (Unique 1400A) por 5 min. Após, as amostras terem sido filtradas em membrana de nylon 0,45 µm (Milipore), 50 µL desta solução foram transferidos para balão volumétrico de 1 mL e o volume completado com a fase móvel. Todas as análises foram realizadas em duplicada.

Testes de Germinação

Para os ensaios de germinação, utilizou-se 100 sementes de soja (*Glycine Max L. Merril*), em cada tratamento, sendo divididas em 4 repetições de 25 sementes cada. As sementes foram imersas em hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por 5 min e lavadas exaustivamente com água deionizada. O Tratamento controle (TC), foi realizado apenas com água deionizada, e para os demais tratamentos 0,1 g de farelo desengordurado de *Mucuna* foram adicionados em 5 mL de água ultra pura Mili – Q, levado ao sonicador por 5 minutos e utilizado apenas o sobrenadante para os testes.

O ensaio germinativo foi conduzido em caixa plástica tipo gerbox (11x11x3,5cm) transparente com tampa (contendo 3 folhas de papel filtro), onde as sementes de soja foram semeadas, após embebidas na solução de L-dopa, sendo mantida em câmara de germinação, com fotoperíodo de 12 horas para luz e 12 horas para escuro, a 22 °C e umidade relativa do ar de aproximadamente 85%. Avaliou-se diariamente a porcentagem de germinação e ao final do ensaio, o índice de velocidade de germinação (IVG), utilizando a expressão proposta por Maguire (1962).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extração de óleos vegetais presente em folhas, sementes e raízes, é realizada a partir de dióxido de carbono em condições pressurizadas, por apresentar uma alta solubilidade, em determinadas condições de pressão e temperatura, aumentando desta forma os rendimento de extração. A L-dopa apresenta baixa solubilidade em dióxido de carbono supercrítico (Melo *et al.*, 2005), isto irá permitir concentrar este composto alélopático, pois durante a extração, o solvente entra em contato com a amostra e o óleo é removido, mas a L-dopa permanece no mesmo.

A Tabela 1 apresenta as condições experimentais de extração, rendimento em óleo e os teores de L-dopa obtidos no farelo desengordurado. Na presente pesquisa o maior teor de L-dopa foi observado para as extrações realizadas em pressão de 250 bar e temperatura de 60°C, condizente com o melhor rendimento em óleo. Nas condições operacionais 4 e 6, verifica-se que o diâmetro das partículas influencia no rendimento em óleo e nos teores de L-dopa no farelo desengordurado, pois a redução no tamanho das partículas aumenta a área superficial e há uma maior exposição do material a ser extraído (AQUINO *et al.*, 2009). Desta forma, se ocorre uma menor remoção de óleo, ocorre o decréscimo nos teores de L-dopa no farelo de *Mucuna deeringiana*, como pode ser observado nos experimentos 2 e 5, visto que na massa do farelo desengordurado há a presença de óleo, o que dificulta a obtenção da L-dopa.

Tabela 1. Condições experimentais de extração de dióxido de carbono supercrítico e teores de L-dopa presente no farelo desengordurado.

Experimento	Pressão (bar)	Temperatura (°C)	Diâmetro das partículas (mm)	Tempo (min)	Rendimento de Óleo*	% L-dopa*
01	150,0	40	0,6	510	4,34	3,93±0,06
02	250,0	40	0,6	330	4,59	4,65±0,50
03	176,7	60	0,6	330	2,27	3,02±0,15
04	244,1	60	0,6	300	4,35	4,43±0,08
05	250,0	40	1,18	290	3,05	1,86±0,09
06	244,1	60	1,18	360	3,46	2,26±0,23

*100mg

A Tabela 2 apresenta os valores médios de germinação e índice de velocidade de germinação das sementes de soja, tratadas com solução de L-dopa obtida a partir do

farelo desengordurado de *Mucuna deeringiana*. A maior porcentagem de germinação foi de 98% e o maior IVG (índice de velocidade de germinação) 29,64, no tratamento 4. O percentual de germinação nas sementes de soja do tratamento controle (TC), não diferenciou significativamente em relação aos tratamentos realizados a partir do farelo desengordurado, indicando que a L-dopa aplicada nas sementes não apresentou influência nesta variável, assim como foi constatado por FORTES *et al.* (2009), que avaliando o efeito alelopático da aplicação do extrato aquoso de capim-limão em sementes de soja, constatou que a porcentagem de germinação não foi influenciada por compostos alelopáticos.

Tabela 2. Valores médios de germinação e índice de velocidade de germinação de soja.

Tratamento	% de Germinação	IVG	% L-dopa
TC	98 ^a	23,41 ^a	-
T1	95 ^a	28,33 ^b	3,93
T2	96 ^a	29,64 ^b	4,65
T3	97 ^a	25,70 ^a	3,02
T4	97 ^a	28,94 ^b	4,43
T5	96 ^a	24,04 ^a	1,86
T6	98 ^a	25,34 ^a	2,26

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de confiança.

Quanto ao IVG das sementes de soja, a aplicação da L-dopa promoveu um aumento significativo da velocidade de germinação quando comparada ao tratamento controle, visto que as sementes germinaram em menor tempo. Os tratamentos 3, 5 e 6 que apresentavam os menores percentuais do composto alelopático 3,02%, 1,86% e 2,26%, respectivamente, não diferiram significativamente em relação ao tratamento controle (TC), o que não ocorreu com os outros tratamentos, que demonstraram o poder alelopático deste composto sobre o IVG de soja. O índice de velocidade de germinação apresentou aumento significativo nos tratamentos 1, 3, 4 com a aplicação do farelo desengordurado de *Mucuna deeringiana*, os outros tratamentos também tiveram tendência em aumentar o IVG, porém não diferenciaram da testemunha.

4 CONCLUSÕES

Este trabalho reportou os rendimentos em óleo das sementes de *Mucuna deeringiana* utilizando como solvente dióxido de carbono em condições pressurizadas, com a finalidade de concentrar no farelo desengordurado o composto alelopático L-dopa. Através dos resultados obtidos podemos concluir que o farelo desengordurado de *Mucuna deeringiana* apresentaram percentuais de L-dopa entre 1,86 a 4,65 %, estando condizente com os rendimentos em óleo obtidos. Através da aplicação do farelo desengordurado de *Mucuna deeringiana* em sementes de soja constatou-se que o percentual germinação não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), em relação ao tratamento controle, no entanto, o índice de velocidade de germinação apresentaram melhores resultados quando comparadas as sementes na ausência deste composto, confirmando desta forma a interferência do composto alelopático L-dopa em sementes de soja.

REFERÊNCIAS

- ADEBOWALE, Y. A.; ADEYEMI, A.; OSHODI, A. A. Variability in the physicochemical, nutrition and antinutritional attributes of six *Mucuna* species. **Food Chemistry**, Akure, v. 89, n. 4, p. 37 – 48, jan. 2005.
- AQUINO, L. P.; FERRUA, F. Q.; BORGES, S. V.; ANTONIASSI, R.; CORREA, J. L. G.; CIRILLO, M. A. A influência da secagem do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na qualidade do óleo extraído. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n.2, p. 354-357, abr./jun. 2009.
- ALMEIDA, A. M. R.; ABDELNOOR, R. V.; CALSO, E. S.; TESSNMAN, D.; YORINORI, J. T. Genotypic diversity among Brazilian isolates of *Sclerotium rolfsii*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 149, n. 1, p. 493 – 502, sep. 2001.
- BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Efeito alelopático de frutas de umbu (*Phytolacca dióica* L.) sobre a germinação e crescimento inicial de alface e picão-preto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 5, p. 1129 – 1135, set./out. 2010.
- EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologia de produção de soja – Região Central do Brasil – 2008**. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 280p., 2008.
- FORTES, A. M. T.; MAULI, M. M.; ROSA, D. M.; PICCOLO, G.; MARQUES, D. S.; REFOSCO, R. M. C. Efeito alelopático de sabugueiro e capim-limão na germinação de picão-preto e soja. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 241 – 246, 2009.
- MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, p. 176-177, jan. 1962.
- MELO, S. A. B. V.; MELO, R. L. F. V.; COSTA, G. M. N.; ALVES, T. L. L. Solubility of L – dopa in supercritical carbon dioxide: prediction using a cubic equation of state. **Journal of Supercritical Fluids**, Aracaju, v. 34, n. 1, p. 231 – 236, 2005.