



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA  
AFRO-BRASILEIRA – UNILAB  
PRO-REITORIA DE GRADUAÇÃO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA – ICEN  
CIÊNCIAS DA NATUREZA E MATEMÁTICA COM  
HABILITAÇÃO EM QUÍMICA**

**PAULO RONI SOUZA**

**O USO DE ENZIMAS PRESENTES NA ÁGUA DE COCO *Cocos nucifera*  
L PARA A PRODUÇÃO DE ESQUELETOS DE NATUREZA ANTI-  
INFLAMATÓRIA**

**ACARAPE-CE**

**2016**

PAULO RONI SOUZA

O USO DE ENZIMAS PRESENTES NA ÁGUA DE COCO *Cocos nucifera* L  
PARA A PRODUÇÃO DE ESQUELETOS DE NATUREZA ANTI-  
INFLAMATÓRIA

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira como requisito parcial para obtenção do Título de Licenciado em Ciências da Natureza e Matemática com habilitação em Química.  
Orientador: Prof. Dr. Alúcio Marques da Fonseca.

ACARAPE-CE

2016

PAULO RONI SOUZA

O USO DE ENZIMAS PRESENTES NA ÁGUA DE COCO *Cocos nucifera* L PARA A  
PRODUÇÃO DE ESQUELETOS DE NATUREZA ANTI-INFLAMATÓRIA

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira como requisito parcial para obtenção do Título de Licenciado em Ciências da Natureza e Matemática com Habilitação em Química.  
Orientador: Prof. Dr. Alúcio Marques da Fonseca.

**Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro- Brasileira  
Direção de Sistema Integrado de Bibliotecas da UNILAB (DSIBIUNI)  
Biblioteca Setorial Campus Liberdade  
Catalogação na fonte**

**Bibliotecário: Gleydson Rodrigues Santos – CRB-3 / 1219**

---

S713u

Souza, Paulo Roni.

O uso de enzimas presentes na água de coco cocos nucifera l para a produção de esqueletos de natureza anti-inflamatória. Paulo Roni Souza. – Acarape, 2016.

34 f.; 30 cm.

Monografia apresentada do Curso de Ciências da Natureza e Matemática, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza (ICEN) da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira – UNILAB.

Orientador: Prof. Dr. Alúcio Marques da Fonseca.

Inclui figuras, quadros, tabelas e referências.

1. Enzimas – Biotecnologia. 2. Biocatálise. I. Título.

CDD660.634

---

PAULO RONI SOUZA

O USO DE ENZIMAS PRESENTES NA ÁGUA DE COCO *Cocos nucifera* L PARA A  
PRODUÇÃO DE ESQUELETOS DE NATUREZA ANTI-INFLAMATÓRIA

Aprovado em: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca (Orientador)  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Lívía Paulia Dias Ribeiro (Examinadora)  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB

---

Prof. Dr<sup>a</sup> Regilany Paulo Colares (Examinadora)  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - UNILAB

Á Deus.

A minha mãe, Maria Fátima Souza de Lima  
(*in memorian*), aos meus filhos, Paulo Roni  
Souza Filho e Melissa Râmily da Silva Souza  
e minha esposa Antônia Jocélia Luiz da Silva.

## AGRADECIMENTOS

À Deus primeiramente pela vida sem a qual não estaria aqui, e pelas bênçãos que tem me dado. À minha mãe e a minha família pela educação e incentivo em continuar os estudos. A minha esposa Jocélia, aos meus filhos Paulo Roni Souza Filho e Melissa Râmily da Silva Souza. A minha professora Livia Paulia Dias Ribeiro por ter concedido a mim uma bolsa de extensão e pelos trabalhos apresentados, Ao meu professor e orientador Aluísio Marques da Fonseca pela oportunidade de participar da bolsa de pesquisa, pelos trabalhos publicados, pelos eventos que participei, por ter me dado apoio e a chance de aprender com ele e também por me orientar nesse trabalho e ao eterno Presidente da república federativa do Brasil senhor Luiz Inácio Lula da Silva.

Aos professores participantes da banca examinadora.

Aos professores do curso de Ciências da Natureza e Matemática: José Berto Neto, Regilany Paulo Colares, Livia Paulia Dias Ribeiro, Sinara Mota e Lourenço Ocunicá, pelo incentivo durante o curso e pela amizade.

Aos colegas da turma de Ciências da Natureza e Matemática em especial aos habilitados em Química pelo companheirismo e empenho nessa longa trajetória.

Ao programa Institucional de Bolsistas de Iniciação a docência (PIBID), Programa Institucional de Bolsistas de Iniciação Científica (PIBIC Unilab) e Programa Institucional de Bolsistas de Extensão Arte e Cultura (PIBEAC).

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da  
responsabilidade coletiva por toda a humanidade.”  
Marie Curie.

## RESUMO

Uma das grandes dificuldades encontradas hoje em dia é a capacidade de se produzir algo sem causar tantos prejuízos ao ambiente. Muitos fármacos produzidos através do método convencional utilizam várias rotas químicas que necessitam de solventes perigosos e de um alto custo energético. A biocatálise definida também como catalise enzimática ou biotransformação, é o uso de enzimas para catalisar reações químicas. O uso da biocatálise sugere como potencial na produção de fármacos e ou produtos, por ser mais econômica e não gerar resíduos tóxicos. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo verificar a capacidade biotecnológica das enzimas encontradas na água de coco como fonte de oxireductase/hidrolase. Para a realização das reações propostas, o vegetal selecionado foi utilizado in natura por meio de células íntegras. Foi desenvolvida uma técnica que utiliza as enzimas presente na água de coco (*Cocos nucifera* L) para auxiliar na produção de esqueletos de natureza anti-inflamatória. Os rendimentos obtidos das reações com o *C. nucifera* e com o composto *p*-nitroacetanilida tiveram uma variação entre 52,20% e 40,30%, respectivamente. As aminas obtidas da redução do composto nitrado inicial apresentaram esqueleto compatível com estruturas anti-inflamatórias. Por meio de uma reação de hidrólise, ocorreu a formação de uma amina, a partir da porção amida da estrutura. Portanto, pode-se afirmar que as enzimas presentes na água de coco podem ser utilizadas como um potencial agente de hidrólise e biorredutor.

**Palavras-chave:** Biocatálise. Redução. Hidrólise.

## ABSTRACT

One of the great difficulties encountered today is the ability to produce something without causing so much damage to the environment. Many drugs produced using the conventional method utilize various chemical routes that require hazardous solvents and high energy costs. Biocatalysis, also defined as enzymatic catalysis or biotransformation, is the use of enzymes to catalyze chemical reactions. The use of biocatalysis suggests as potential in the production of drugs and or products, because it is more economical and does not generate toxic waste. In this context, this work aims to verify the biotechnological capacity of the enzymes found in coconut water as a source of oxiredutase / hydrolase. In order to carry out the proposed reactions, the selected plant was used in natura by means of intact cells. A technique was developed that uses the enzymes present in coconut water (*Cocos nucifera* L.) to aid in the production of anti-inflammatory skeletons. The yields obtained from the reactions with *C. nucifera* and the p-nitroacetanilide compound ranged from 52.20% to 40.30%, respectively. The amines obtained from the reduction of the initial nitro compound showed skeleton compatible with anti-inflammatory structures. By means of a hydrolysis reaction, formation of an amine occurred from the amide portion of the structure. Therefore, it can be stated that the enzymes present in coconut water can be used as a potential hydrolysis agent and bioreductor

**Keywords:** Biocatalysis. Reduction. Hydrolysis.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Geral.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2. Especifico.....</b>	<b>11</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1 Anti-inflamatório .....</b>	<b>12</b>
<b>3.2 Biocatálise .....</b>	<b>12</b>
<b>3.3 Biocatálise em Meios Convencionais e Não convencionais.....</b>	<b>16</b>
<b>3.4 Considerações botânicas sobre o coco (<i>Cocos nucifera</i> L.).....</b>	<b>17</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1 Coleta do Vegetal.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2. Parte Experimental.....</b>	<b>21</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>22</b>
<b>5.2. Biorreduções/hidrólise utilizando água-de-coco.....</b>	<b>22</b>
<b>6 CONSTANTES FÍSICAS.....</b>	<b>27</b>
<b>6.2 DADOS DOS COMPOSTOS OBTIDOS NA REDUÇÃO E HIDRÓLISE DE AMIDAS.....</b>	<b>27</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>29</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>30</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Sabe-se que a necessidade de produzir anti-inflamatório é muito antiga e que desde as épocas passadas a procura por eles é constante, desde o isolamento da salicilina, e a demonstração dos seus efeitos antipiréticos em 1829 por Laurex, (Costa, 2006) até as drogas mais comuns nos dias atuais

Através de métodos convencionais e reacionais na produção de fármacos, utilizam-se solventes perigosos, como por exemplo, o penta cloreto de fósforo, utilizado na produção da penicilina, que pode causar prejuízos tanto pessoal como ambiental se não for descartado de forma correta.

Nos dias atuais, fala-se muito sobre o desenvolvimento sustentável. Sendo este definido como o progresso industrial que atende às necessidades do presente sem comprometer a capacidade das futuras gerações

Neste estudo, caracterizado como pesquisa experimental, com aspecto exploratório, buscou-se na literatura obras relacionadas à temática em questão, bem como uma série de experimentos voltados à descoberta do potencial biotecnológico das enzimas encontradas na água de coco (*Cocos nucifera* L). A biocatálise é um importante mecanismo para favorecer e facilitar algumas reações, nesse caso, o uso e a divulgação desse método, traz uma importância significativa para avançar cada vez mais ecologicamente corretos.

A espécie, *Cocos nucifera* L., é uma planta perene, palmeira de estipe liso da família Palmaceae, conhecida também como coqueiro. Frutifica apenas em locais de clima quente, muito comum nas regiões litorâneas, especialmente no Nordeste (PERSLEY, 1992). No interior do fruto, o albúmem líquido, também conhecido como água-de-coco, é considerado um isotônico natural, por ser rico em sais minerais. Sua composição é semelhante a do soro fisiológico, o que a torna eficiente para hidratar a pele, reduzir o colesterol, combater a desidratação, enjoos e também a retenção de líquidos no organismo.

Em estudos anteriores, foram identificadas duas enzimas de natureza oxiredutiva e hidroxidativas, as peroxidases (POD) e as polifenoloxidase (PFO) que podem ser bastantes promissoras na área de biotecnologia, a função da (POD) é catalisar a oxidação de componentes celulares, tais como peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou peróxidos orgânicos (CHAVES, 2003). Este trabalho surgiu da expectativa e da possível capacidade de enzimas específicas, presentes na água de coco, atuarem na produção de fármacos. Em adicional, busca apresentar uma rota reacional mais simples e econômica para essa produção.

Com este trabalho, foi possível mostrar que a água de coco pode ser um ótimo reagente para a produção de compostos orgânicos de natureza anti-inflamatória.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Este trabalho tem como objetivo geral verificar se as enzimas presentes na *Cocos nucifera* L podem atuar como reagentes para a PRODUÇÃO DE ESQUELETOS estruturais DE NATUREZA ANTI-INFLAMATÓRIA

### **2.2 Específicos**

- Quantificar, através de teste proteico, a presença de enzimas na água de coco;
- Caracterização e identificação por métodos espectroscópicos e espectrométricos, como a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $H^1$ ) e a cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM), as estruturas dos produtos reacionais;
- Divulgar a importância da biocatálise.

### **3. REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1 Anti-inflamatório**

Os anti-inflamatórios constituem uma das classes de fármacos mais difundidas em todo mundo, abrangendo diferentes especialidades no mercado global, utilizados no tratamento da dor aguda e crônica decorrente do processo inflamatório (SILVA; MENDONÇA; PARTATA 2014), eles possuem ação analgésica e antipirética que são essenciais no combate da dor e da febre.

Segundo a literatura, o salicilato de sódio foi usado para tratar a febre reumática como agente antipirético e no tratamento da artrite em 1875. O grande sucesso desse fármaco levou a produção do ácido acetilsalicílico. Após demonstrar um bom papel como anti-inflamatório foi introduzido na medicina em 1899 por Dresser, com um nome de aspirina, (MONTEIRO et al., 2015).

De acordo com Monteiro et al., (2015), eles têm sido a classe de medicações mais prescrita na área da Reumatologia, porém algumas preocupações a respeito da segurança desses fármacos, na área cardiovascular, tornam esta prática desafiadora. A maior parte dos medicamentos é bem absorvida por via oral, e a sua biodisponibilidade não é consideravelmente modificada pela presença de alimentos (FURST; ULRICH, 2010).

#### **3.2 Biocatálise**

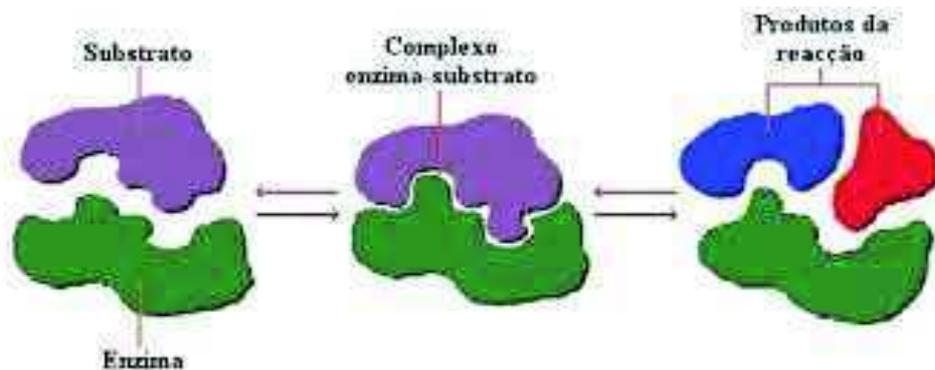
Os biocatalisadores estão sendo cada vez mais utilizados para auxiliar nas rotas sintéticas de interesse industrial (LENARDÃO et al., 2003). A facilidade em atuar a temperaturas brandas, condições neutras e aquosas chama a atenção para o uso destes em síntese química, das vantagens do uso de enzimas imobilizadas e economia significativa no custo global do processo, desde que o procedimento de imobilização não seja muito dispendioso, haja boa recuperação da atividade enzimática e que a meia vida operacional da enzima imobilizada seja suficientemente longa.

Atualmente, de acordo com Araujo (2009), são conhecidas várias enzimas, muitas estão sendo estudadas e aproximadamente 200 já são comercializadas. Grande parte destas enzimas são provenientes de bactérias, fungos filamentosos e leveduras. Ao utilizar um biocatalisador espera-se alcançar a conversão desejada do produto em questão.

Em adicional observa-se que o uso de agentes biológicos facilitam as reações de forma que ela aconteça de uma maneira mais simples. É valido salientar, que os fármacos trazem alguns efeitos contrários aos esperados por ter um alto teor de toxicidade e causam também desconforto gastrointestinal. A sociedade necessita de medicamentos cujos benefícios sejam os melhores possíveis, que os efeitos idensejáveis sejam minimizados Segundo Politzer e Bon (2006) o mercado global de enzimas movimentaria US\$ 4 bilhões até 2015, sendo 2,2 bilhões de dólares para o mercado de enzimas industriais (enzimas técnicas, enzimas para a indústria de alimentos e enzimas para ração animal) e 1,8 bilhão de dólares para o de enzimas especiais (enzimas terapêuticas, enzimas para diagnóstico e enzimas para química quiral).

De acordo com Filho (2003), a cadeia produtiva da indústria farmacêutica constitui-se da etapa química, em que são sintetizados os fármacos e os aditivos, e da etapa farmacêutica, na qual se produz o medicamento final.

Grande parte do poder catalítico das enzimas ocorre por elas aproximarem os substratos em orientações favoráveis nos complexos enzima-substrato (COMERLATO, 1995). Os substratos prendem-se a uma região específica da enzima, chamada de centro ativo (ou sítio ativo) que ocupa uma parte relativamente pequena do volume total dessa enzima.



**Foto:** Fonte da internet

A síntese por enzimas contribui significativamente para a criação dos novos fármacos. Por volta de 1930 os medicamentos utilizados na medicina eram a base de produtos naturais. A partir da década de 80, a quantidade de moléculas com efeitos terapêuticos tem sido fortalecido e enriquecido por produtos obtidos através da aplicação de processos

biotecnológicos, que utilizam princípios da engenharia genética, tais como fermentações com microrganismos geneticamente modificados e cultura de células de mamíferos.

De acordo com Camargo (2012), A insulina humana foi o primeiro biofármaco produzido por *Escherichia coli* geneticamente modificada. A insulina é uma enzima produzida no pâncreas com a função de regular o metabolismo de carboidratos, sendo sua produção original feita da extração a partir de animais, tais como porcos e bois.

Desta forma, pode-se facilmente perceber que a utilização desse tipo de enzima traz vantagens no sentido de economia, sendo que existe uma boa recuperação da atividade enzimática e que a meia vida operacional seja suficientemente longa. A velocidade das reações enzimáticas aumenta com o aumento da temperatura de modo semelhante ao das reações químicas, isto é, a velocidade da reação duplica com o aumento de 10°C na temperatura da reação. após determinada temperatura a velocidade declina rapidamente, mesmo aumentando a temperatura. Isso ocorre por que a estrutura tridimensional das enzimas se rompe, impossibilitando-a de formar o complexo enzima-substrato. Pode-se dizer que a velocidade de reação aumenta ou diminui por um fator de 2 a cada variação de 10 graus centígrados na faixa de 10° a 70°.

Em seus estudos com reações enzimáticas, Zimmer et al., (2009), mostrou que a velocidade da reação química aumenta com a temperatura, até atingir uma velocidade máxima, a partir da qual começa a decrescer. Isso demonstra que toda e qualquer enzima possui sua temperatura ideal para que ela atinja sua atividade máxima.

De acordo com Coelho e Amaral (2009), ainda hoje há a produção de um número importante de enzimas de tecidos animais e vegetais, tais como as proteases vegetais que são usadas em anti-inflamatórios e as amilases para a preparação de mostos de cerveja. As enzimas de origem vegetal são produzidas em grande parte como subprodutos da atividade agrícola, podendo ser citada a papaína que é extraída do látex do papaya e a bromelina, obtida do talo da pinha.

Alguns autores mostram ainda que dentre as classes de enzimas mais comumente aplicadas em síntese orgânica, às enzimas hidrolíticas envolvem o grupo com maior aplicação por catalisarem reações de biotransformação com alta quimio-, regio- e enantiosseletividade. Por outro lado, no setor industrial as mais usadas são as proteases, que ocupam 40% do mercado de enzimas. As classes de enzimas mais utilizadas em síntese orgânica são apresentadas na tabela 1.

Dentro da classe das hidrolases, as reações catalisadas por lipases possuem uma grande importância biotecnológica (JAEGER et al., 1999). As lipases pertencem a um grande grupo de enzimas capazes de hidrolisar ligações éster em triacilgliceróis, processar gorduras ou atuar como detergentes. O entendimento do ciclo catalítico das lipases representou um importante passo para disseminar sua aplicação em síntese orgânica. Como, em geral, apresentam alta especificidade, promovem reações enantiosseletivas e devido ao baixo custo e alta eficiência, as lipases são aplicadas em inúmeros processos em indústria farmacêutica (OLIVEIRA; MANTOVANI, 2009, p. 746).

**Tabela 1.** Classes de Enzimas e suas Aplicações.

Classes de Enzimas	Subclasses mais utilizadas	Reações mais Comuns
Hidrolases	Esterases, Lipases, Amidases (proteases e acilases), Fosfatases e Epóxido Hidrolases.	Hidrólise e formação de ésteres, amidas fosfato e hidrólise de epóxidos.
Oxidoredutases	Desidrogenases, mono e di-oxigenases, peróxidasas.	Oxidação e redução de alcoóis, epoxidação, hidroxilação de alcenos e alcanos.
Transferases	Quinases	Fosforilação (depende de ATP).
Ligases	Aldolases, transaldolases, glicosidasas e transaminases.	Reação aldólica, formação de ligação glicosídica, formação de ésteres sulfato e ligação C-N.
Liases	Carboxilases, amônia-liases Hidroliases.	Adição e eliminação em ligações como C=C, C=O, C=N.
Isomerases	Racemases, epimerases.	Isomerizações como racemização, epimerização, rearranjo.

Fonte: OLIVEIRA; MANTOVANI (2009).

As enzimas estão sujeitas a inativação por vários fatores como, por exemplo: químicos, físicos ou biológicos, podendo ocorrer quando estocadas ou durante o uso (SILVA et al., 2008, p.642). Há assim, a necessidade de estabilizar a enzima contra sua inativação para utilizá-la em determinados meios orgânicos (FONSECA, 2009). Desta forma, faz-se necessário o emprego de um método que leve a enzima a não perder sua atividade catalítica bem como manter sua estabilidade.

### 3.3 Biocatálise em Meios Convencionais e Não convencionais

De acordo com a tradição os processos enzimáticos têm sido empregados em meio aquoso, principalmente devido à ideia preconcebida de que este é um bom ambiente para manutenção da conformação estrutural da enzima cataliticamente ativa (PEREZ et al., 2014). Contudo, verificou-se que o uso exclusivo da água, limitava a gama de biotransformações, tal como limitava a produtividade de processos que envolviam substratos hidrofóbicos (GROSSO, 2011), conseqüentemente descobriu-se que muitas enzimas (ou complexos enzimáticos) são cataliticamente ativas em ambientes hidrofóbicos naturais com eficiência similar àquela em soluções aquosas, ou em certos casos, até superior (LIMA; ANGNES, 1999). Além disso, a constatação de que muitas enzimas operam *in vivo* em ambientes ricos em lipídios hidrofóbicos, permitiu concluir que os meios não aquosos são, de igual modo, adequados à biocatálise (AIRES-BARROS, 2002).

Podem ser considerados como ambientes não aquosos ou não convencionais os solventes orgânicos, os fluidos supercríticos, os gases, os substratos líquidos ou misturas eutéticas de substratos livres de solventes (LIMA; ANGNES, 1999).

Contudo, há vantagens e desvantagens na utilização de meios não convencionais em biotransformações. Algumas vantagens foram apresentadas por (GROSSO, 2011):

- Maior solubilidade de substratos e/ou produtos hidrofóbicos, facilitando o desenvolvimento de processos com produtividade volumétrica elevada;
- Facilidade na recuperação de produtos e de enzima do meio reacional, devido ao baixo ponto de ebulição dos solventes;
- Possibilidade de realização de reações termodinamicamente desfavoráveis na presença de água;
- Facilidade na recuperação do biocatalisador.

As desvantagens de meios não convencionais, nomeadamente de meios orgânicos são apresentadas a seguir (LIMA; ANGNES, 1999):

- A toxicidade de alguns solventes;
- O aumento das limitações difusionais à transferência de massa de substratos e/ou produtos, uma vez que se introduz mais uma fase (orgânica) além da fase aquosa e da fase sólida, se o biocatalisador estiver imobilizado;

- A baixa atividade apresentada por algumas enzimas relativamente a meios aquosos.

### 3.4 Considerações botânicas sobre o coco (*Cocos nucifera* L.)

O coqueiro pertence à classe *Monocotyledoneae*, ordem *Palmales*, família *Arecaceae*, subfamília *Coccoideae* e gênero *Cocos*. Este gênero apresenta apenas a espécie *Cocos nucifera* L., constituída por dois grupos, o Nana (coqueiro anão) e o Typica (coqueiro gigante) (LOIOLA, 2009).

A planta do coqueiro é considerada uma das espécies perenes de maior relevância do mundo, porque detém a capacidade de gerar emprego e, conseqüentemente, a renda em vários países, seja mediante o consumo de seus frutos *in natura* ou pela industrialização, bem como de outros órgãos desta planta (raiz, estipe, inflorescência, folhas e palmito), originando mais de 100 produtos e subprodutos de significativo valor econômico. Além disso, o coqueiro é utilizado como planta paisagística, adornando espaços públicos e privados (COSTA et al., 2006).

Recentemente, descobriu-se que a casca do coco verde pode ser utilizada em processos fermentativos. Couto e Sanromán, (2005, apud FONSECA, 2009), mostraram em sua pesquisa que este resíduo pode ser utilizado como meio de cultura natural para a produção de enzimas hidrolíticas, como: celulasas, celobiase e xilanase.

As Celulasas são sistemas enzimáticos complexos com atividade endo-1,4- $\beta$ -glucanase (EC 3.2.1.4), exo-1,4- $\beta$ -glucanase (EC 3.2.1.91) e 1,4- $\beta$ -D-glucosidase (EC 3.2.1.21). Estas enzimas juntamente com as hemicelulasas e pectinases estão entre as enzimas mais importantes no processamento de material lignocelulósico para a produção de alimentos, combustíveis e produtos químicos (OLIVEIRA, 2009).

A celobiase ou  $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21) catalisa a hidrólise da celobiose e, numa velocidade menor, degrada também pequenos oligossacarídeos, nos dois casos liberando D-glucose (OLIVEIRA, 2009).

Por outro lado, o grande interesse pelas enzimas xilanases está relacionado ao seu potencial de aplicação na indústria e sua eficiência vem sendo estudada nos processos de clareamento de polpa de papel, recuperação de fibras celulósicas têxteis e bioconversão da biomassa em combustíveis e substâncias químicas (OLIVEIRA, 2009).

O coco tem sido utilizado também na produção de biodiesel. O conteúdo de óleo presente na polpa desse fruto é superior a 60%, o que equivale a uma produção de 500 a 3000 Kg de óleo (MAZZANI, 1963, apud ARAÚJO et al., 2009). O óleo do coco também é usado

atualmente com muito sucesso como surfactante em microcápsulas anfóteras no encapsulamento do óleo volátil de citronela (HSIEH et al., 2006 apud FONSECA, 2009).

Outro componente desta fruta que tem sido bastante usada desde muito tempo nos mais variados tipos de usos populares e na terapia medicinal é a água de coco (ARAGÃO et al., 2001, apud FONSECA, 2009). Por ser estéril e estar dentro do fruto, a água extraída de frutos jovens apresenta composição química próxima à do soro glicosado isotônico empregado em hospitais, o que possibilita o seu uso na esfera médica (FONSECA, 2009).

Em relação a sua composição química, o coco é um fruto rico em fósforo e potássio (AZEVEDO, 2014). Também contém proteínas, gorduras, e minerais, e é muito rico em carboidratos (CHUMBIMUNI-TORRES e KUBOTA, 2006; JIROVETZ et. al., 2003, apud FONSECA, 2009).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Coleta do Vegetal

As amostras dos frutos das espécies *Cocos nucifera L.* (coco) (**Figura 1**), foram coletados em um sítio localizado no município de Redenção. Este município está localizado em uma superfície de 240,7 Km<sup>2</sup>, latitude 04° 13' 33"S, longitude 38° 43' 50"W e altitude de 88m á nível do mar.



**Figura 1.** Foto do Coco

Os experimentos foram realizados no laboratório da Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Pici no departamento de Química Orgânica e no laboratório de Biotecnologia e Ciências Naturais (LABIOCN) da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira (UNILAB), Campus das Auroras. Após a coleta as amostras foram lavadas com água destilada.

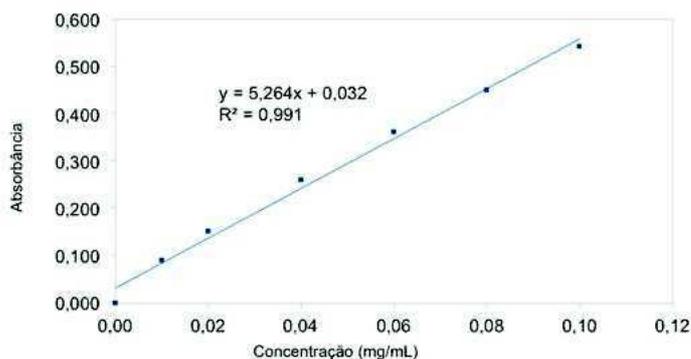
### 4.2. Seleção das fontes enzimáticas

Os sistemas enzimáticos empregados foram, extraídos da água-de-coco, realizando-se e inicialmente o teste de teor proteico. Após a detecção de enzimas presentes na água de coco o processo foi realizado.

### 4.3. Determinação do Teor de Proteínas

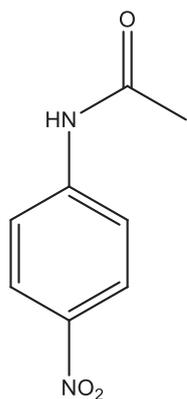
De acordo com a literatura (Bradford, 1976), preparou-se uma solução de albumina de soro bovino (BSA) com concentração de 1 mg.mL<sup>-1</sup>. A partir dessa solução foram feitas

diluições de 0,00 a 0,10 mg/mL com volume de 200 $\mu$ L em tubos Eppendorf, adicionou-se 2000 $\mu$ L do reagente de Bradford e agitou-se cada tubo Eppendorf por 5 segundos. Esperou-se 10 minutos para a reação acontecer. Em seguida fez-se a leitura em espectrofotômetro a 595nm e construiu-se a curva de calibração (**Figura 2**).



**Figura 2.** Curva de Calibração do Método Bradford.

Para a reação, foi selecionado o composto orgânico fenólico *p*-nitroacetanilida (Figura 2) para processo de acetilação via enzimática; O processo da reação foi monitorado por cromatografia de camada delgada (CCD) e análise de espectroscopia de RMN  $H^1$  e todas as conversões foram baseadas em medidas de RMN  $H^1$  e de CG/EM.



**Figura 3.** Estrutura da *p*-nitroacetanilida

## 4.2. Parte Experimental

Antes de realizar a reação entre a água de coco e *p*-nitroacetanilida efetuou-se uma leitura no espectrômetro UV a partir do material enzimático (água de coco), para determinar o teor total de proteínas utilizando uma curva de calibração preparada com soluções padrões de albumina bovina.

Feita a leitura, misturou-se 100 mg de *p*-nitroacetanilida em 200 mL de água de coco. A mistura reacional foi posta sob agitação durante 120 horas, em agitador magnético na velocidade de 150 rotações por minuto (RPM) como mostra a (**Figura 4**).

Após o término do tempo reacional, a mistura foi coletada, filtrada e extraída com solvente orgânico (20 mL de acetato de etila), por quatro vezes, depois foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida,



**Figura 4.** Água-de-coco + 4-acetanilida em processo reacional.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Teste proteico com a água de coco (células íntegras)

Os resultados mostram que as concentrações obtidas no sexto dia de extração foram as que apresentaram os maiores índices de proteínas. Sendo o teor de proteína obtido de 1,95 mg.mL<sup>-1</sup> da água-de-coco, como mostra a Tabela 1.

**Tabela 2.** Concentração de proteína da água-de-coco correspondente.

Concentração de Proteína	tempo de extração (dias)					
	1		6		9	
EXT2 (mg/mL)	1,26	± 0,05*	1,95	± 0,06*	1,93	± 0,05*

### 5.2. Biorreduções/hidrólise utilizando água-de-coco

#### Biorreduções com amidas

Em estudos anteriores, a redução dos aldeídos e das cetonas com água-de-coco (Fonseca et al., 2009) renderam os respectivos álcoois com rendimentos excelentes e com os resultados superiores àqueles relatados para *Daucus carota* (YADAV et al., 2002), *Zygosaccharomyces rouxii* (ANDERSON et al., 1995) e as espécies do *manihot* (MACHADO et al., 2006). Neste caso é observado que a utilização da água de coco já mostrou eficiência em outros trabalhos.

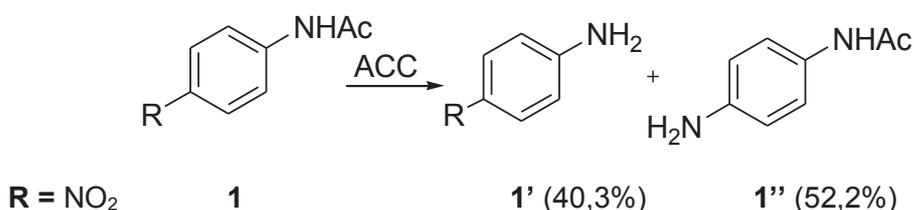
Assim, os dados registrados em ambas as técnicas foram em acordo, com pequenas diferenças em precisão. A percentagem de cada produto foi calculada a partir da comparação da integração dos picos de hidrogênios selecionados nos substratos e respectivos produtos. Assim, foram comparados a integração dos sinais dos hidrogênios aromáticos *p*-substituídos e suas amidas produzidas *p*-nitroacetanilida (1) e os produtos *p*-nitroanilina (1') e *p*-aminoacetanilida (1''); Além dos fragmentos de massa dos compostos, que foram registrados na Tabela 3 e Esquema 1.

**Tabela 3.** Relativo rendimento percentual dos produtos reduzidos de 1 por redutase e hidrólise usando água-de-coco. As quantificações foram feitas por RMN H<sup>1</sup> e CG/EM.

Reagentes	Produtos	T.R.	% <sup>a</sup>	Identificação dos produtos	Massa de conversão	e.e % <sup>b</sup>
<b>1</b>	1'		40,3	4-nitro-anilina	41	-
	1''	30,599	52,2	4-amino-acetanilida	40	-

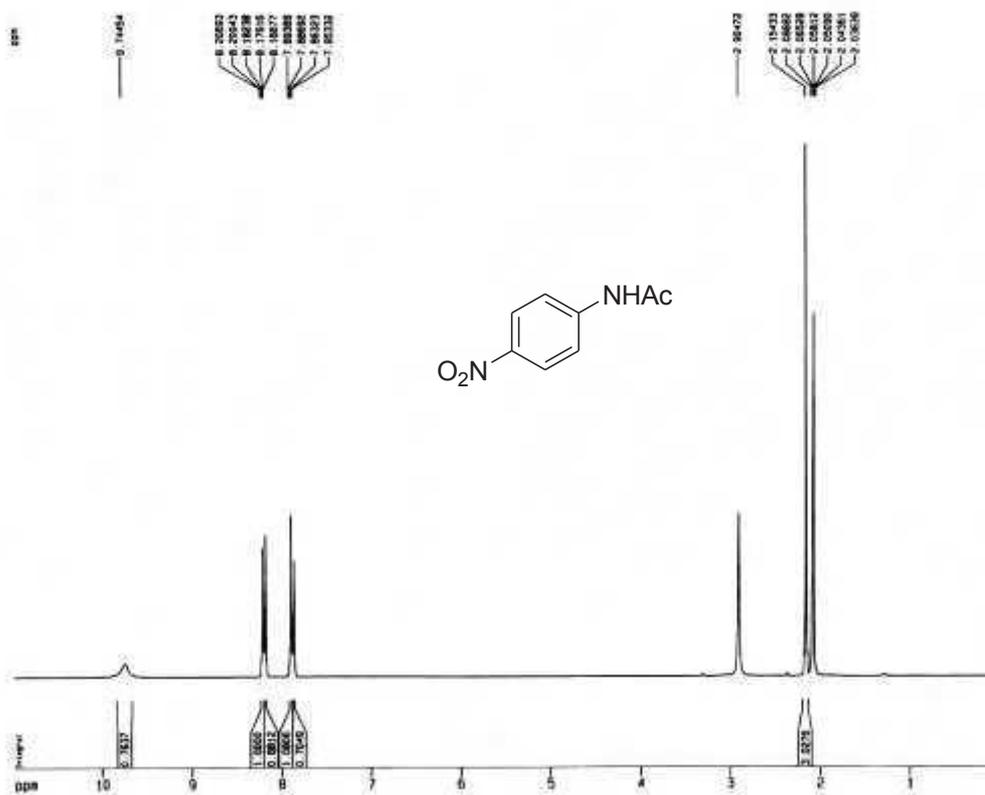
T.R: tempo de retenção; <sup>a</sup> Determinado por CG-EM; <sup>b</sup> Determinado por CG-quiral

**Esquema 1.** Reação da água-de-coco com amidas nitradas.

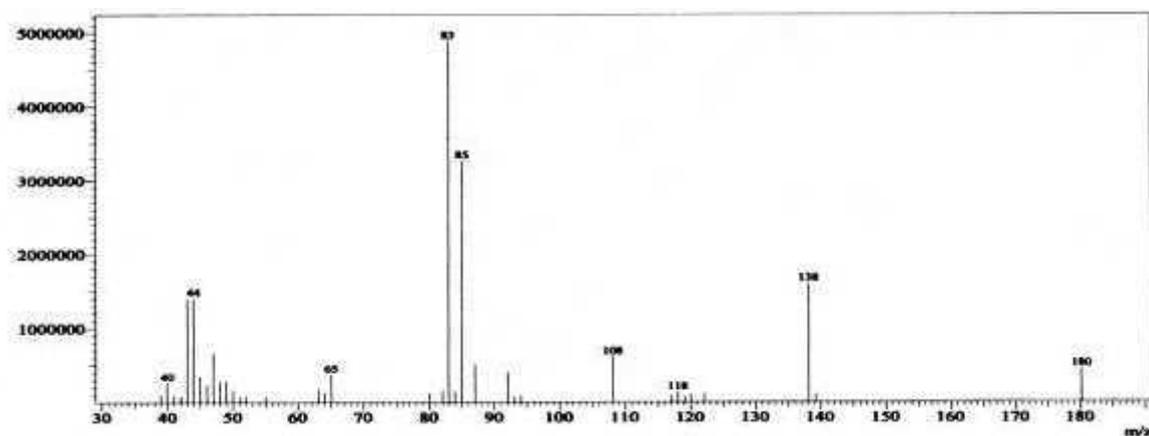


Os rendimentos obtidos pela água-de-coco como biocatalisador tiveram uma variação de 40,30% para a *p*-nitro anilina e 52,20% para a *p*-amino acetanilida. A amina obtida da hidrólise da porção amida (1'), e a redução do composto nitrado (1'') apresentaram estruturas com esqueleto com natureza anti-inflamatória de acordo com Costa (2006). A reação entre amino fenol com anidrido acético, resulta no paracetamol e ácido acético isso nos faz refletir que nesse caso o paracetamol surgiu de uma amina, nesse trabalho foi possível obter uma *p*-amino acetanilida através da reação entre *p*-nitro acetanilida com água de coco.

A seguir estão apresentados os espectros de RMN H<sup>1</sup> e os espectros de massa do composto nitrado de partida **Figura 5** (5a-5b) e das respectivas aminas obtidas (**Figuras 6a-6b e 7a-7b**).



**Figura 5a.** Espectro RMN  $H^1$  (500 MHz,  $(CD_3)_2CO$ ) do reagente 4-nitroacetanilida



**Figura 5b:** Espectro EIMS do composto 4-nitroacetanilida.

Através da ressonância magnética nuclear de hidrogênio foi possível observar um sinal que caracteriza um singlete do hidrogênio da amida em  $\delta_H$  2,9, e a existência de dois acoplamentos *o*- dos hidrogênios aromáticos com  $\delta_H$  7,8 e  $\delta_H$  8,3, com frequência em 1,2Hz caracterizando tratar-se da *p*-nitroacetanilida (1). Essa confirmação foi evidenciada pelos fragmentos do espectro de massa com razão massa/carga ( $m/z$  180 para massa molécula do reagente, e os fragmentos:  $m/z$  138; 108, 83 e 44); Para os produtos estão relacionados no

item 6 todos os dados físicos através da análise espectroscópica de RMN  $H^1$  e Espectrométrica de CG/EM.

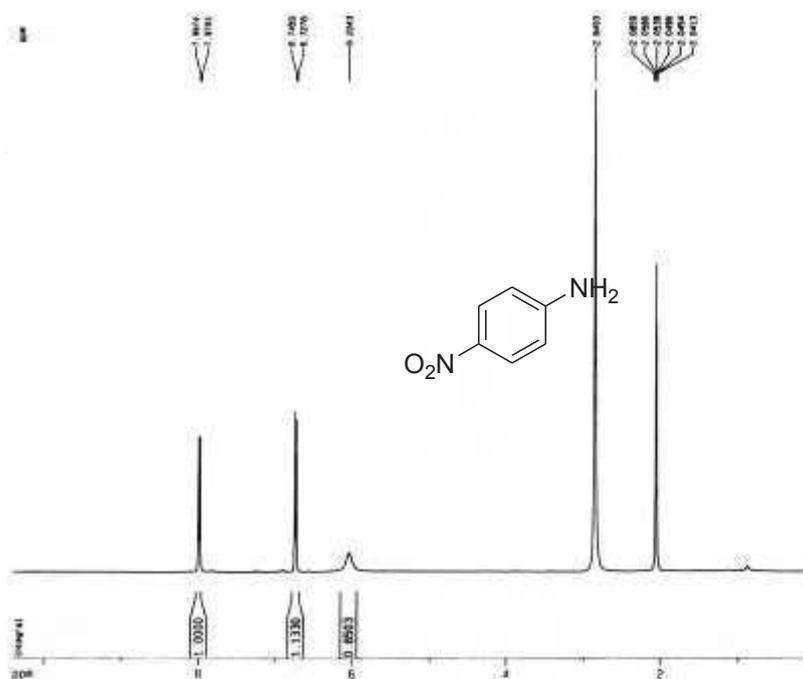


Figura 6a. Espectro RMN  $H^1$  (500 MHz,  $(CD_3)_2CO$ ) do composto 4-nitroanilina.

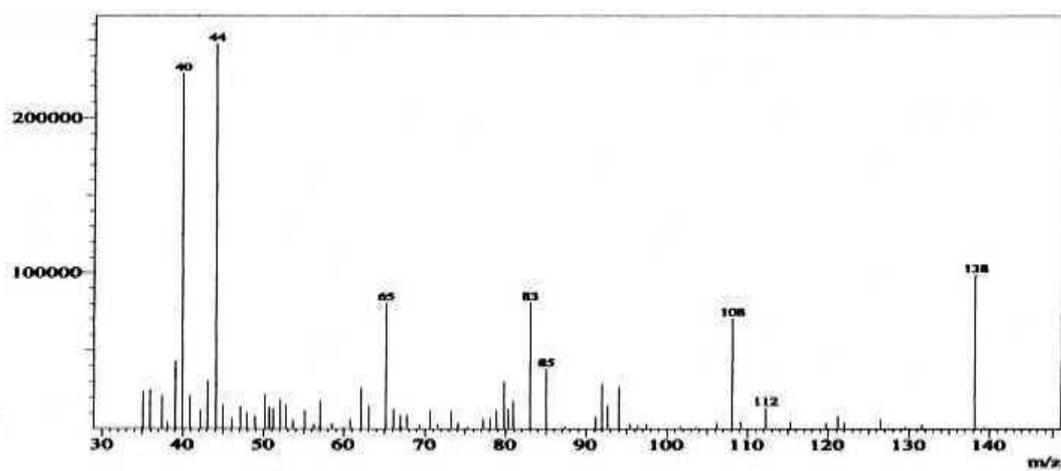


Figura 6b. Espectro EIMS do composto 4-nitroanilina.

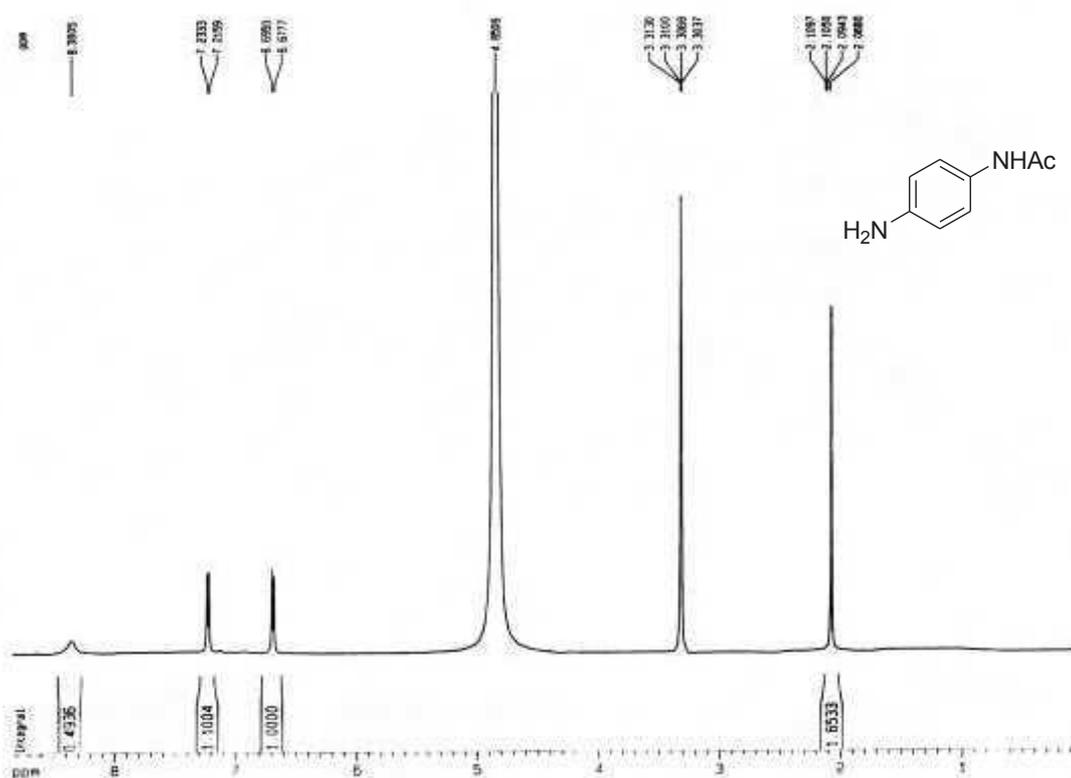


Figura 7a. Espectro RMN  $H^1$  (500 MHz,  $CD_3OD$ ) do composto 4-aminoacetanilida.

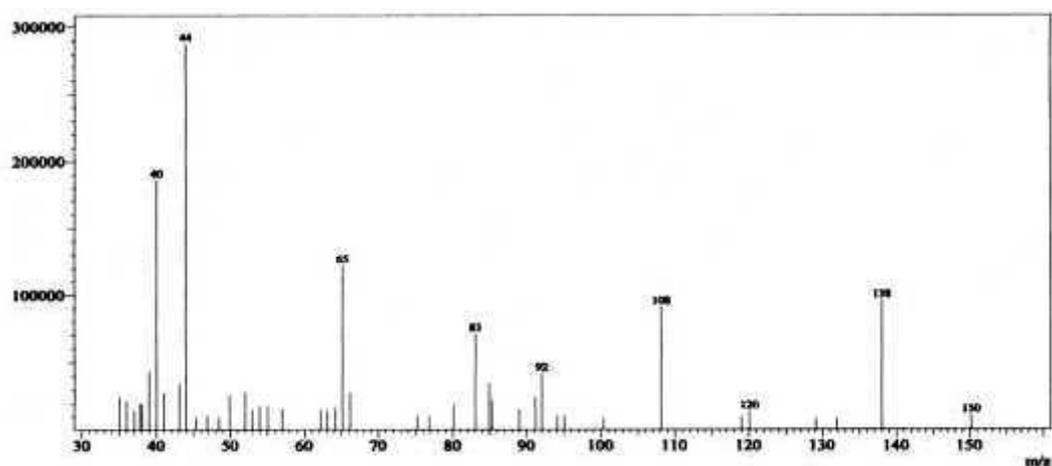


Figura 7b. Espectro EIMS do composto 4-aminoacetanilida.

Através do método espectrômetro, ressonância magnética nuclear (RMNH) foi possível observar as amostras tanto na fase inicial, reagentes, como na fase final, produtos. A utilização dessa técnica instrumental nos possibilitou a entender a forma estrutural da substância. Ela auxiliou na identificação do esqueleto carbono-hidrogênio, os núcleos giratórios carregados geraram um campo magnético, como o campo de uma pequena barra de

ímã. Quando a amostra foi colocada no espectrômetro, submetida a uma radiação de 500 MHz os prótons de hidrogênio e de carbono sofreram uma excitação, sabendo que os elétrons possuem cargas e nesse caso tanto os núcleos de hidrogênio como de carbono possuem estados de spin  $+1/2$  e  $-1/2$  e na presença desse campo magnético, os prótons de hidrogênio-carbono tenderam a se alinhar a favor ou contra o campo magnético, quando eles se alinharam a favor, indicou que estavam no **estado de spin  $\alpha$**  no estado de menor energia e os que se alinharam contra estavam no **estado de spin  $\beta$**  estado de maior energia. A diferença foi muito pequena, mas foi o suficiente para formar a base da espectroscopia de RMN, com isso foi possível realizar a leitura.

Já a cromatografia gasosa foi utilizada para separar individualmente os diversos constituintes da substância, essa separação se deu por migração da amostra através de uma fase estacionária por intermédio de um fluido. Após a introdução da amostra no sistema cromatográfico, os componentes se distribuíram entre as duas fases e viajaram mais lentamente que a fase móvel devido ao efeito retardante da fase estacionária,

## 6. CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROSCÓPICOS DE COMPOSTOS ORGÂNICOS OBTIDOS A PARTIR DAS ENZIMAS ENCONTRADAS EM CÉLULAS ÍNTEGRAS DA ÁGUA-DE-COCO (*Cocos nucifera*)

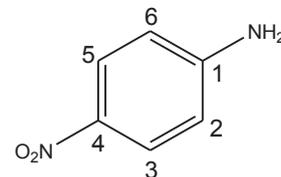
### 6.2. DADOS DOS COMPOSTOS OBTIDOS NA REDUÇÃO E HIDRÓLISE DE AMIDAS

6.2.1. *p*-Nitroanilina (1'): 60% de rendimento, 79 mg

Fórmula empírica:  $C_6H_6N_2O_2$

Peso molecular: 138,13 g/mol

$R_f$  (10% AcOEt/Hexano): 0,6



RMN<sup>1</sup>H ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 500 MHz):  $\delta$  7,98 (d, 2H, H-5,3), 6,73, (d, 2H, H-6,2), 6,22 (s 2H, NH<sub>2</sub>).

EM (IE<sup>+</sup>, m/z): 138 (41%), 108 (22%), 83 (33%), 44 (85%).

**Separação analítica usando as seguintes técnicas:**

Coluna capilar DB-1: 4 °C/min de 50 a 180°C e 20°C/min de 180 a 280°C.

Tempo de retenção da *p*-nitroanilina: 30,25 min; Tempo de retenção da *p*-hidroxiacetanilida: 33,12 min.

**6.2.2. *p*-Aminoacetanilida (1'')**: 40% de rendimento, 43 mg

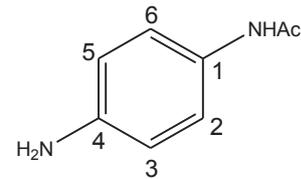
**Fórmula empírica:** C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O

**Peso molecular:** 150,18 g/mol

**R<sub>f</sub> (10% AcOEt/Hexano):** 0,6

**RMN<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz):** δ 8,38 (s, 1H, NH), 7,22, (d, 2H, H-6,2), 6,68 (d, 2H, H-5,3), 2,10 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

**EM (IE<sup>+</sup>, m/z):** 150 (12%), 138 (39%), 65 (45%), 44 (90%).

**Separação analítica usando as seguintes técnicas:**

Coluna DB-1: 4 °C/min de 50 a 180°C e 20°C/min de 180 a 280°C.

Tempo de retenção da *p*-aminoacetanilida: 30,60 min; Tempo de retenção da *p*-nitroacetanilida: 33,12 min.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O suco (albúmen líquido) das espécies de coco *C. nucifera* se mostrou muito efetivo em seletividade por reduzir a porção nitro da amida aromática exibindo uma substancial regioseletividade em seus produtos. A espécie estudada apresentou-se como potenciais agentes biorredutores. A partir das células íntegras, foi possível realizar reações com resultados que comprovaram sua eficácia, na obtenção da 4-nitroanilina e da 4-aminoacetanilida.

O resultado obtido permitem-nos refletir acerca das aplicações industriais que a espécie estudada pode ter, uma vez que pode ser empregada nas reações de biorredução na forma *in natura* (células íntegras). E nesse caso a água de coco, além do poder nutricional, mostrou-se um potencial enzimático promissor na preparação de compostos ativos, como precursores de esqueletos de natureza anti-inflamatória.

A utilização da água de coco neste processo mostrou-se uma eficácia importante. Pois foi possível a biorredução do *p*-nitroacetanilida para *p*-aminoacetanilida. O paracetamol um dos fármacos conhecido por possuir uma ação anti-inflamatória é derivado do *p*-amino fenol mais anidrido acético, que ao reagir produz paracetamol mais ácido acético.

Portanto ao ser convertido o grupo nitro por amino pode-se subentender que essa aminoacetanilida é um esqueleto favorável a síntese de anti-inflamatório. Pois a diferença existente no paracetamol é o grupo amino que é substituído por uma hidroxila.

## REFERÊNCIAS

- AIRES-BARROS, Maria, Raquel. Biocatálise em solventes orgânicos. Lisboa, v. 72, p. 2-12, 2002.
- ANDERSON, B. A.; HANSEN, M. M.; HARKNESS, A. R.; HENRY, C. L.; VICENZI, J. T.; ZMIJEWSKI, M. J. Application of a Practical Biocatalytic Reduction to an Enantioselective Synthesis of the 5H-2,3-Benzodiazepine LY300164. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117(49), p. 12358-12359, 1995.
- ANTUNES, A.; BON, E.; FERRARA, M. A. Catalisadores na Química Fina. Publicação da Associação Brasileira das Indústrias de Química Fina, Biotecnologia e suas Especialidades. Rio de Janeiro, 2011, Ano V, nº31. 32p.
- ARAÚJO, G. S.; CARVALHO, R. H. R.; SOUSA, E. M. B. D. **Produção de Biodiesel a partir de Óleo de Coco (*Cocos nucifera L.*) Bruto**. In: 2<sup>nd</sup> International Workshop/Advances in Cleaner Production, 2009, p. 2-10, São Paulo. Anais. Natal: UFRN.
- ARAUJO, L. T. **Aplicações de Lipases**. Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, 2009. 70p.
- BRADFORD, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p. 248-254, 1976.
- CAMARGO, Eduarda, Cristina, de Matos. Aplicação da Síntese Enzimática na Química Fina e na Produção de Fármacos, 2012.
- CHAVES, J. S. M. **Peroxidase em folhas do juazeiro (*Zizyphus joazeiro Martius*): semipurificação e caracterização parcial**, 2003, p. 1-58.
- COELHO, M. A. Z.; AMARAL, P. F. F. Produção de Enzimas. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. UFRJ, Rio de Janeiro, 2009. 47p.
- COMERLATO, M. H. **Imobilização de Enzimas no Suporte Crisotila**. Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 1995. 100p.
- COSTA, P. R. R. Síntese de Fármacos. Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais – UFRJ, 2006.

DIAS, F. R. F.; FERREIRA, V. F.; CUNHA, A. C. Uma Visão Geral dos Diferentes Tipos de Catálise em Síntese Orgânica. *Rev. Virtual Qui.m*, 2012, v. 4, n 6, p. 840-871.

FILHO, P. L. P. Cadeia Farmacêutica no Brasil: Avaliação Preliminar e Perspectivas. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, 2003, n. 18, p. 3-22.

FLORINDO, C. I. S. Estudo da biodisponibilidade de Princípios Activos Farmacêuticos por utilização de Líquidos Iônicos. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Biotecnologia. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2012. P.1-209.

FONSECA, Aluisio, Marques. Contribuição ao conhecimento fitoquímico e biotecnológico da água-de-coco (*cocos nucifera L.*). Fortaleza-Ce, 2009, p.1-209.

FURIGO, A. Enzimas e suas Aplicações - Cinética Enzimática. Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, 2001. 39p.

FURST, Daniel E.; ULRICH, Robert W. Fármacos antiinflamatórios não esteroides, fármacos anti-reumáticos modificadores da doença, analgésicos não-opioides e fármacos usados. In: KATZUNG, Bertram G. Farmacologia Básica e Clínica. 10 ed. São Paulo: AMGH, 2010. Cap. 36, p. 515-524.

GARCIA, S. M. P. Biocatálise em Meios Não Convencionais: Solventes Orgânicos, Fluidos Supercríticos e Líquidos Iônicos. Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia. Lisboa, 2005, p.20-24.

GROSSO, Carla, Sofia, da Palma. Produção de butirato de etilo catalisada por lipases imobilizadas. Faro-Algarve, 2011, p.2-75.

JAEGER, K.E.; DIJSTRA, B.W.; REETZ, M.T. "Bacterial Biocatalist: molecular biology, three dimensional structures and biotechnological applications of lipases". **Annu. Rev. Microbiol.**, 53, 315-351, 1999.

Jerusa Marques da Silva, Patrícia Pereira Mendonça, Anette Kelsei Partata, ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES E SUAS PROPRIEDADES GERAIS, Revista Científica do ITPAC, Araguaína, v.7, n.4, Pub.5, Outubro 2014.

LENARDÃO, Eder, João; FREITAG, Rogério, Antônio; DABDOUB, Miguel, J.; BATISTA, Antônio, C., Ferreira; SILVEIRA, Claudio, da Cruz. "**Green chemistry**" - Os 12 Princípios

da Química Verde e sua Inserção nas Atividades de Ensino e Pesquisa. **Quím. Nova**, São Paulo, 2003, v.26, n.1, p.123-129.

LIMA, Antonio, William, Oliveira; ANGNES, Lúcio. **Biocatálise em meios aquo-restritos: fundamentos e aplicações em química analítica**. **Quím. Nova**, São Paulo, 1999, v. 22, n. 2, p.229-245.

Loilola CM (2009) Comportamento de Cultivares de Coqueiro (*Cocos nucifera* L.) em diferentes condições agroecológicas dos tabuleiros costeiros do Nordeste Brasileiro **Dissertação** (Mestrado em Agroecossistemas, área de concentração Sustentabilidade em Agroecossistemas) Universidade Federal de Sergipe.

MACHADO, L. L. **Estudo Fitoquímico e Atividade Biológica dos Frutos de Passiflora edulis e Redução Seletiva de Aldeídos e Cetonas Aromáticas Utilizando a Casca da Passiflora como Biocatalisador**, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará-Brasil, 2004.

MARIOTTO, J. R. Enzimas. Estágio de Docência. Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, 2006. 13p.

MELO, W. J.; LOPES, A.; OLIVEIRA, M. F.; SACZK, A. A.; MAGRIOTIS, Z. M.; MODENES Junior, M. A.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B.; STRADIOTTO, N. R. Produção, caracterização e utilização do biodiesel de tucumã originário da região amazônica. In: LEMOS, E. G. M.; STRADIOTTO, N. R. **Bioenergia: Desenvolvimento, Pesquisa e Inovação**. 1ª ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2012. v. 1, cap 13, p. 409-446.

MENDES, Adriano, A.; CASTRO, Pedro, C. de; CASTRO, Heizir, F. de; GIORDANO, Raquel, de L. C. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 831-840, 2011.

MIWA, A, C, P.; FALCO, P. B.; CALIJURI, M. C.; Avaliação de métodos espectrofotométricos para determinação de proteína em amostras de lagoas de estabilização. Monteiro, E. C. A. (2008).

NAVARRO, Marcelo; SENA, Vera, L. M.; SRIVASTAVA, Rajendra, M.; NAVARRO, Daniela, M., do Amaral, Ferraz. Atualizando a química orgânica experimental da licenciatura. **Quím. Nova**, São Paulo, 2005, v. 28, n. 6, p.1111-1115.

OLIVEIRA, B.H. Obtenção de novos fármacos através da biotransformação de produtos naturais. In R.S.YUNES; V.CECHINEL FILHO. Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia. Itajaí: UNIVALI, 2009.

OLIVEIRA, Luciana, Gonzaga; MANTOVANI, Simone, Moraes. Biological transformations: contributions and perspectives. **Quím. Nova**, São Paulo, 2009, v. 32, n. 3, p.742-756.

OLIVEIRA, Marcia, Terezinha, Ramos. Secagem, armazenamento e qualidade fisiológica de sementes de carambola (*Averrhoa carambola L.*). Rio de Janeiro, 2007, p. 2-93.

OLIVEIRA, Simone Lopes do Rêgo. Aproveitamento da Casca do Coco Verde (*Cocos Nucifera L.*) para Produção de Celulases. Fortaleza-Ce, 2010, p.15-67.

PEREZ, Victor, H.; BOENO, Samyra, I., S.; FERREIRA, Patrícia, R.; MIRANDA, Everson A.; VALENÇA, Gustavo, P., **Biocatálise Heterogênea em Fase Sólido/Gás: Princípios e Aplicações**. **Quím. Nova**, São Paulo, 2014, v. 37, n.2, p.323-330.

PERSLEY, G. J. **Replanting the tree of life** : towards na international agenda for coconut palm research. Wallingford: CABIACCAR, 1992. 156p.

POLITZER, K.; BON, E. P. da S. Visão Geral da Área de Enzimas, Conclusões e Recomendações Enzimas Industriais e Especiais Rio de Janeiro, 2006. v. 1.

PRADO Alexandre G. S. Química Verde, os Desafios da Química do Novo Milênio. **Quím. Nova**, São Paulo, 2003, v.26, n.5, p.738-744.

SILVA, Flavia, Martins; DE LACERDA, Paulo, Sérgio, Bergo; JÚNIOR, Joel, Jones. Desenvolvimento Sustentável e Química Verde. **Quím. Nova**, São Paulo, 2005, v. 28, n. 1, p. 103-110.

SILVA, Flavia, Martins; JÚNIOR, Joel, Jones. Reações Orgânicas em Meio Aquoso. **Quím. Nova**, Rio de Janeiro, 2001, v. 24, n. 5, p.646-657.

SILVA, Rosa, Luísa, de Farias, Oliveira, Bezerra; DE SOUZA, Roberto, Rodrigues; SANTANA, José, Carlos, Curvelo; TAMBOURGI, Elias, Basile. Imobilização de enzimas de milho maltado em gel. *Ciênc. Tecnol. Alimen*, Campinas, 2008, v.28, n.3, p.642-648.

SILVA, Vânia, Maria, Barboza. Características de composição química e atividades da peroxidase e da polifenoloxidase dos cultivares de abacaxi MD-2 e pérola. Paraíba, 2012, p.14-63.

SOUZA, Luis, Henrique, Batista. Cultivo do morango, 2014, p.1-62.

YADAV, J. S.; NANDA, S.; REDDY, P. T.; RAO, A. B. Efficient enantioselective reduction of ketones with *Daucus carota* root. **Journal of Organic Chemistry**, v. 67, p. 3900–3903, 2002.

ZIMMER, K. R. et al. Enzimas microbianas de uso terapêutico e diagnóstico clínico. Revista Liberato, Novo Hamburgo, 2009, v. 10, nº 14. p. 123-137.