

- MORS, W. B. et al. Plant natural products active against snake bite: the molecular approach. *Phytochemistry*. v.55, p.627-42, 2000.
- MULLER, S. D. et al. LC and UV determination of flavonoids from *Passiflora alata* medicinal extracts and leaves. *J Pharm Biomed Anal*. v. 37, p. 399-403, 2005.
- NELSON, G. M. et al. Plants with neurobiological activity as potential targets for drug Discovery. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. v. 33, p. 1372-89, 2009.
- NICOLETTI, M. A. et al. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos. *Infarma* v.19, p.32-40, 2007.
- OCCHIUTO, F. et al. The phytoestrogenic isoflavones from *Trifolium pratense* L. (Red clover) protects human cortical neurons from glutamate toxicity. *Phytomedicine*. v.15, p.676-82, 2008.
- OGA, S. et al. Pharmacological trial of crude extract of *Passiflora alata*. *Planta Med*. v.50, p. 303-6, 1984.
- ONUSIC, G. M. et al. Effect of acute treatment with a water-alcohol extract of *Erythrina mulungu* on anxiety-related responses in rats. *Braz J Med Biol Res*. v. 35, p. 473-7, 2002.
- PARIS et al. Pharmacochemical study of aqueous extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims. *Acta Farm Bonaerense*. v. 21, p. 5-8, 2002.
- PEREIRA, C. A. et al. A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. *Phytochem anal*. v. 15, p. 241-8, 2004.
- PETRY et al. Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* Leaves. *Phytother Res*. v.15, p.162-4, 2001.
- PROVENSI, G. et al. Separação cromatográfica de flavonóides e saponinas em *Passiflora alata*. In: CONSELHO REGIONAL DE FARMÁCIA DO ESTADO DE SANTA CATARINA. *Farmapolis Livro de Resumos*, 2001, Florianópolis, p. 39.
- RAHMAN K. Garlic and aging: new insights into an old remedy. *Ageing Res Rev*. v.2, p.39-56, 2003.
- RE, T. A. et al. Application of the threshold of toxicological concern approach for the safety evaluation of calendula flower (*Calendula officinalis*) petals and extracts used in cosmetic and personal care products. *Food Chem Toxicol*. v.47, p.1246-54, 2009.
- REGINATTO, F. H. et al. Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves. *J. Braz. Chem. Soc*. v. 12, p.32-36, 2001.
- RODRIGUES, E. Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola). *J Ethnopharmacol*. v.111, 295-302, 2007.
- SANTOS, M. R. A.; LIMA, M. R. Levantamento dos recursos vegetais utilizados como fitoterápicos no município de Cujubim, Rondônia, Brasil. *Saber Científico*, Porto Velho, v.1, p.38-57, 2008.
- SHAHEEN, H. M. et al. Effect of *Psidium guajava* Leaves on Some Aspects of the Central Nervous System in Mice. *Phytother Res*. v. 14, p.107-11, 2000.
- SILVA, A. C. et al. Inhibition of NTPDase, 50-nucleotidase, Na⁺/K⁺-ATPase and acetylcholinesterase activities by subchronic treatment with *Casearia sylvestris*. *Phytomedicine*. v.13, p.509-14, 2006.
- SIQUEIRA, R. J. B. et al. Cardiovascular effects of the essential oil of *Croton zehntneri* leaves and its main constituents, anethole and estragole, in normotensive conscious rats. *Life Sci*. v.78, p.2365-72, 2006.
- SOUSA, F.C.F. et al. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. *Rev Bras Farmacogn*. v.18, p.642-654, 2008.
- STAUDT, M.; BERTIN, N. Use of services prior to and following intensive family preservation services. *Plant Cell Environ*. v. 21, p.385-95, 2001.
- VASCONCELOS, S. M. et al. Central activity of hidroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* in mice. *J Pharm Pharmacol*. v. 56, p. 389-93, 2004.
- TAPPIN, M. R. R. et al. Development of an HPLC method for the determination of tetranortriterpenoids in *Carapa guianensis* seed oil by experimental design. *J Pharm Biomed Anal*. v.48, p.1090-5, 2008.
- YOSHIKAWA, K. et al. Four cicloartane triterpenoids and six related saponins from *Passiflora edulis*. *J Nat Prod*. v. 63, p. 1229-34, 2000.
- ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: Cláudia M. O. Simões et al. (Org.). *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 5a ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2002, p. 577-614.
- BRASIL. RENISUS Disponível em <http://www.fitoterapia.org.br/portal>. Acesso em 2 de agosto de 2009.

REMOÇÃO DE POLIFENÓIS DO RESÍDUO DA CASCA DO COCO VERDE: UMA NOVA PERSPECTIVA DE FONTE DE FIBRAS

LOSS, R.¹
ALBUQUERQUE, E. D.²
FERNANDES, P. M. B.³
FERNANDES, A. A. R.³
CHIARADIA, A.C.N.³

1. Mestre em Biotecnologia, UFES.
2. Discente do curso de Doutorado em Biotecnologia do RENORBIO/UFES.
3. Docentes do núcleo de Biotecnologia, UFES.

Autor responsável: R. Loss. E-mail: ricardoloss@gmail.com

INTRODUÇÃO

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de água de coco verde, com uma produção pouco superior a 3 milhões de toneladas. Volumes significativos e crescentes dos resíduos do coco ficam expostos ao meio ambiente aumentando o foco e a proliferação de doenças, atraindo ratos e insetos como a hospedagem do mosquito da dengue, e são locados em lixões e aterros sanitários, diminuindo, assim, a vida útil destes. Estes resíduos são constituídos basicamente de uma estrutura lignocelulósica, um complexo formado por uma matriz dura e fibrosa, onde fibras flexíveis de celulose, hemicelulose e pectina, estão embebidas em uma matriz de lignina, um composto polifenólico de natureza complexa e variável.

Os polifenóis abrangem um extenso grupo de substâncias que possuem anéis aromáticos contendo grupos hidroxilas, e estes estão associados a digestibilidade das proteínas. Os polifenóis livres inibem várias enzimas digestivas em sistemas *in vitro*. Esses compostos estão envolvidos nas ligações da lignina com os carboidratos da parede celular e essa associação reduz a digestibilidade (CORRÊA, *et al.*, 2004). Há também o fato de os fenóis precipitarem as proteínas pela formação de um revestimento hidrofóbico, semelhante à complexação taninos-proteínas (LOPES, 1990). Podemos destacar também a redução da disponibilidade de aminoácidos, como a lisina, em que seu grupo amino torna-se indisponível (KUMAR, *et al.*, 1984; SGARBIERI, 1996). A presença de polifenóis influencia também negativamente a disponibilidade de metionina (NELSON, *et al.*, 1985). A metionina além de doadora de grupos metil é fonte de enxofre para a detoxificação de cianeto.

O aprofundamento na utilização de recursos oriundos dos resíduos industriais e urbanos merece mais do que uma simples reflexão passageira. Dentro dessa concepção de aproveitamento potencial dos rejeitos do coco verde, torna-se inexorável sua transformação em matéria prima para várias aplicações potenciais tais como: polpação e branqueamento de fibras em indústrias de papel, liberação de carboidratos e alimentação animal e possivelmente humana. Sendo assim, este trabalho tem como intuito comparar os métodos químico e biológico para remoção de polifenóis das fibras da casca do coco verde para utilização efetiva do resíduo do coco.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparo do Material: O resíduo do coco verde foi coletado na propriedade rural localizada em Pedro Palácios no município de Ibiráçu. Foram coletadas amostras frescas previamente trituradas e acondicionadas em caixa térmica. O resíduo foi triturado e as partículas foram padronizadas em peneira de 1 mm. Logo após o material foi seco em estufa com circulação de ar a 60°C por 24 horas.

Determinação do teor de umidade: foi utilizado o método gravimétrico de acordo com metodologia descrita na Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990).

Tratamento químico: O resíduo do coco previamente seco foi submetido a extração constante com o auxílio do extrator de Soxhlet com os seguintes solventes: Inicialmente, etanol: tolueno (1:2) v/v e posteriormente com

etanol 95%. O resíduo foi transferido para um erlenmeyer e adicionado a 500 mL de água sendo submetido ao banho Maria por 1 hora. Em seguida o pó foi filtrado e seco até peso constante.

Tratamento biológico do resíduo: Dois fungos endofíticos foram utilizados para os testes: Fungo 1 e Fungo 2, isolados respectivamente da casca do coco verde e do bagaço da cana-de-açúcar. Estes fungos foram selecionados em meio específico para atividade lignolítica e celulolítica. Cerca de 5 mm do fungo foi inoculado em meio contendo 5g de peptona, 5g de extrato de levedura e 20g do pó da casca do coco verde sonificado por 30 minutos e seco. Os frascos foram submetidos a agitação constante a 150 rpm a 28, 5 °C por 10 dias. Em seguida o meio contendo o Fungo 1, Fungo 2 e Fungo 1 + Fungo 2 foram analisados quanto ao teor de polifenóis, para comparar a eficiência destes tratamentos.

Dosagem de polifenóis: O pó resultante dos tratamentos biológico e químico foi seco em estufa a 60°C por 24 horas. A extração de polifenóis foi realizada com auxílio de metanol 70%. O resíduo foi centrifugado a 11.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e a dosagem foi realizada segundo protocolo de Folim-Ciocalteu para os polifenóis livres e para os polifenóis ligados a parede celular, foi adicionado hidróxido de sódio 0, 5N e ácido clorídrico 2N. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 750 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram necessárias 24 horas para a secagem do material. O teor de umidade foi em média 9, 1% ± 0, 27. A escolha dos solventes químicos para remoção de polifenóis foi baseada na solubilidade dos compostos a serem extraídos. O metanol foi utilizado para extrair os polifenóis do resíduo devido sua afinidade pelos compostos fenólicos. A primeira extração utilizando etanol:tolueno (1:2) possui a finalidade de extrair compostos apolares tais como ceras, ácidos graxos, corantes e compostos aromáticos. A segunda extração, com etanol 95% teve a finalidade de extrair polifenóis mais polares e a terceira extração, com água destilada quente, compostos polares mais firmemente ligados as fibras. Num total de 3 extrações obtivemos uma perda de 15, 23 % de substâncias extraídas do resíduo.

O tratamento prévio do resíduo, sonicação, foi realizado a fim de facilitar a ação dos fungos. O meio de crescimento para o fungo foi suplementado com extrato de levedura e peptona como fonte de nitrogênio e o resíduo do coco como única fonte de Carbono. O fungo 1 apresenta apenas atividade lignolítica oxidando polifenóis ligados a parede celular, a lignina, e alguns compostos fenólicos livres. O fungo 2 além de degradar compostos fenólicos ligados a parede celular degrada também a celulose em pequenos monômeros. A degradação da lignina é complexa e dependente de condições do meio de cultivo, pode ser

compreendida como um processo multienzimático resultante da ação de várias enzimas que desestabilizam sua estrutura.

A dosagem de polifenóis foi realizada com o intuito de comparar qual tratamento, químico ou biológico, foi mais eficaz para retirada dos compostos fenólicos (Tabela 2). No tratamento biológico, o fungo 1 demonstrou maior ação na degradação dos compostos fenólicos tendo uma redução no teor de polifenóis (5, 90 µg de fenol/mg) quando comparado com o controle (7, 60 µg de fenol/mg) uma queda de 22, 4%. O fungo 2 não teve grande diminuição de polifenóis (6, 30 µg de fenol/mg) demonstrando uma redução de 17%. O co-cultivo dos fungos 1 e 2 não demonstrou maior eficiência na redução de polifenóis (7, 0 µg de fenol/mg), apenas 7, 9%, podemos perceber que eles tiveram um comportamento antagonico. No pó resultante do tratamento químico obtivemos uma redução de

15% dos compostos fenólicos quando comparados com o controle (6, 5 µg de fenol/mg) (Tabela 2).

CONCLUSÕES

A remoção dos polifenóis da casca do coco verde foi mais eficaz no tratamento biológico com o fungo 1 removendo cerca de 22, 4% de compostos fenólicos, enquanto o tratamento químico apenas 15%. O procedimento de retirada dos polifenóis por fungos é mais vantajoso quando comparado com o processo químico por ser menos poluente e impactante para o meio ambiente e por apresentar custos reduzidos.

Dessa forma, estudos posteriores devem ser realizados no intuito da utilização destas fibras sem polifenóis para alimentação humana, animal e produção de papel.

Tabela 1. Tratamento químico com auxílio do extrator de Soxhlet

Solvente para extração	Componentes extraíveis		Perda dos extraíveis %
	Antes (g)	Após (g)	
Etanol:Tolueno (1:2)	5, 66	5, 18	8, 46
Etanol 95%	5, 18	5, 14	0, 64
Água quente	5, 14	4, 79	6, 80
Total	5, 66	4, 79	15, 23

Tabela 2. Dosagem de Polifenóis livres e ligados a parede celular no resíduo do coco verde após tratamento químico e biológico

Tratamento Utilizado	Polifenóis livres (µg fenol/mg)	Polifenóis Ligados (µg fenol/mg)	Poifenóis totais (µg fenol/mg)
Controle	3, 33	4, 27	7, 60
Resíduo + Fungo 1	1, 92	4, 09	5, 90
Resíduo + Fungo 2	2, 13	6, 3	6, 30
Resíduo + Fungo 1 e 2	2, 88	4, 12	7, 00
Resíduo após extração de Soxhlet	2, 33	4, 13	6, 50

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Washington: Association of Official Agricultural Chemists. 1990.
- AZIZ, S. H.; ANSELL, M. P.; CLARKE, S. J.; PANTENY, S. R. Modified polyester resins for natural fibre composites. **Composites Science and Technology**, v. 65, 2005.
- BENASSI, A. C.; RUGGIERO, C.; MARTINS, A. B. G.; SILVA, J. A. A. Caracterização biométrica de frutos de coqueiro, *Cocos nucifera* L. variedade Anã-Verde, em diferentes estádios de desenvolvimento. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 302-307, 2007.
- BITENCOURT, D. V. **Potencialidades e estratégias sustentáveis para o aproveitamento de rejeitos de coco (*Cocos nucifera* L.)**. 2008. 135 f. Dissertação (Desenvolvimento Regional) Programa de pós graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente, Universidade Federal do Sergipe, Sergipe, 2008.
- BLEDZKI A. K.; REIHMANE S.; GASSAN J. Natural fiber polymer composites: A review. **Journal of Applied Polymer Science**. V. 59. 1996.
- CORRÊA, A.D.; SANTOS, S.R.; ABREU, C.M.P. Remoção de Polifenóis da farinha de folhas de mandioca. Campinas: **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 2004.
- COTTERILL, J. V.; WILKINS, R. M.; SILVA, F. T. Aproveitamento integral de resíduos agrícolas e agroindustriais. **Journal of Controlled Release**. Amsterdam, v. 40, 1996.
- D'ALMEIDA, M. L. O. **Composição química dos materiais lignocelulósicos**. In: Celulose e Papel, Tecnologia de Fabricação da Pasta Celulósica, Brasil, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A. – IPT-, 2ª Edição, v. 1, Capítulo III, p. 45-106. 1988.
- KUMAR, R.; SINGH, M. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32, p. 447-453, 1984.
- LOPES, C. T. **Digestibilidade "in situ" de bagaço de cana, palha de arroz, de feijão e capim Cameroon tratados termicamente**. 1990. 33 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Ruminantes) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1990.
- NELSON, T.S.; STEPHENSON, E.L.; BURGOS, A.; FLOYD, J.; YORK, J.O. Effect of tannin content and dry matter digestion on energy utilization and average amino acid availability of hybrid sorghum grains. **Poultry Science**, v. 54, p. 1620-1623, 1975.
- SGARBIERI, V.C. **Proteínas em Alimentos Protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p.