

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

MÔNICA BEZERRA DOS SANTOS OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E PERFIL QUÍMICO  
DE EXTRATOS ETANÓLICOS DA FIBRA DA CASCA DE COCO  
(*Cocos nucifera* L. (PALMAE))**

Maceió  
2015

**MÔNICA BEZERRA DOS SANTOS OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E PERFIL QUÍMICO  
DE EXTRATOS ETANÓLICOS DA FIBRA DA CASCA DE COCO  
(*COCOS NUCIFERA L. (PALMAE)*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Química e Biotecnologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Oliveira  
Fonseca Goulart

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Iara Barros  
Valentim

Maceió – AL

2015

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecária : Lucia Lima do Nascimento**

- O48a Oliveira, Mônica Bezerra dos Santos.  
Avaliação da capacidade antioxidante e perfil químico de extratos etanólicos da fibra da casca de coco (*Cocos nucifera* L.(PALMAE)) / Mônica Bezerra dos Santos Oliveira. – Maceió, 2015.  
98 f. : ils, tabs.
- Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.  
Coorientadora: Iara Barros Valentim.  
Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2015.
- Bibliografia. f. 88-98.
1. *Cocos nucifera* - Capacidade oxidante. 2. Ensaio eletroquímico. 3. CLAE UV-DAD. 4. Flavonoides. 5. Compostos fenólicos. I. Título.

CDU: 54.06 : 634.616



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E  
BIOTECNOLOGIA

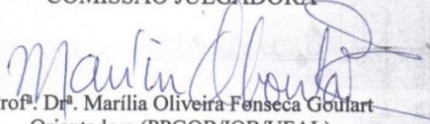


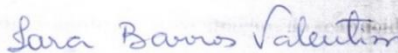
BR 104 Km14, Campus A. C. Simões  
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins  
57072-970, Maceió-AL, Brasil  
Fone/Fax: (82) 3214-1144  
email: ppgqb.ufal@gmail.com

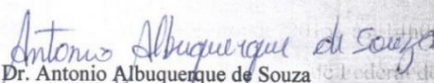
**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação de Mestrado de **Monika Bezerra dos Santos Oliveira**, intitulada: “**Avaliação da capacidade antioxidante e perfil químico de extratos etanólicos da fibra da casca de coco (*Cocos nucifera* L. *Palmae*)**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 27 de fevereiro de 2015, às 14h00, na Sala de Reuniões do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas.

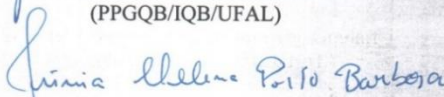
**COMISSÃO JULGADORA**

  
Prof.ª Dr.ª Marília Oliveira Fonseca Goulart  
Orientadora (PPGQB/IQB/UFAL)

  
Prof.ª Dr.ª Iara Barros Valentim  
Coorientadora (IFAL)

  
Prof. Dr. Antonio Albuquerque de Souza  
(IFAL)

  
Prof. Dr. Josué Carinhonha Caldas Santos  
(PPGQB/IQB/UFAL)

  
Dr.ª Junia Helena Porto Barbosa  
(PNPD-IQB/UFAL)

❖ Aos meus pais que sempre acreditaram em mim me dando apoio e carinho. Aos meus irmãos por todo o amor e incentivo, e ao meu esposo Roberto pelo amor, força e dedicação em todos os momentos necessários para a realização desta conquista.

## AGRADECIMENTOS

*Minha imensa gratidão a Deus, por estar sempre ao meu lado, iluminando e protegendo o meu caminho e me fazendo acreditar que é possível realizar sonhos. Basta apenas ter fé!*

*A minha orientadora, a Prof.<sup>a</sup> Dra. Marília Goulart, pela confiança e oportunidade que me proporcionou para a realização deste trabalho; pela contribuição com os ensinamentos valiosos para a minha vida profissional, e acima de tudo pela amizade e compreensão.*

*A Prof.<sup>a</sup> Dra. Iara Valentim, pelos ensinamentos que contribuíram para a minha formação de um senso crítico, pela confiança, incentivo fazendo-me acreditar que tudo é possível, pela disposição em todos os momentos em que necessitei, e pela amizade.*

*Ao Prof. Dr. Euzébio Goulart, pelo fornecimento das amostras das fibras da casca de coco para a realização deste trabalho.*

*À doutoranda Camila Calado, ao Dr. João Gomes e ao técnico Aldy dos Santos pela imensa colaboração nos dados eletroquímicos, estatísticos e nos processos de extração presentes neste trabalho.*

*Aos amigos do laboratório de eletroquímica pelo carinho, amizade, conselhos e disposição em ajudar nos momentos em que precisei.*

*Aos amigos da graduação e de toda vida Maria Dayanne e Claudécir Henrique pelo carinho, amizade, confiança e incentivo em todos os momentos alegres e difíceis.*

*Aos professores do IQB que contribuíram com valiosas informações para a minha formação científica.*

*A minha família, minha avó, minhas tias, meus tios, minha sogra Luiza que sempre me apoiou, aos meus cunhados e cunhada, por tudo.*

*Aos professores examinadores da banca pela contribuição.*

*Aos órgãos financiadores CNPq, CAPES, FAPEAL e à UFAL pelo apoio financeiro.*

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar a capacidade antioxidante dos extratos etanólicos das fibras da casca de coco (*Cocos nucifera* L.) das variedades anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido, visando sua possível utilização como antioxidante natural. Para isso, foram analisados o conteúdo total de fenóis, as atividades sequestradora do radical DPPH', redutora frente aos íons de ferro (FRAP), e íons de cobre (CUPRAC) e a inibição da lipoperoxidação utilizando um sistema de membranas biomimético. Fez-se investigação eletroquímica utilizando eletrodo de carbono vítreo e eletrodo de carbono vítreo modificado, assim como a identificação de alguns constituintes químicos, por meio da técnica de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro UV-Vis (CLAE – UV/DAD). Para o conteúdo total de fenóis, os maiores valores foram obtidos para a variedade híbrido ( $531 \pm 24$  mg EAG g<sup>-1</sup> extrato seco) e o menor foi para a variedade anão verde ( $58 \pm 9$  mg EAG g<sup>-1</sup> extrato seco). A habilidade dos extratos para sequestrar o radical DPPH' foi estabelecida na seguinte ordem: gigante > anão amarelo > híbrido > anão verde e os valores de IC<sub>50</sub> variaram de 8,6 a 55,9 µg mL<sup>-1</sup>. Todas as variedades mostraram potencial redutor para os métodos FRAP e CUPRAC, com o menor desempenho para a variedade anão verde. Através do sistema do uso de membranas biomiméticas, os extratos etanólicos da fibra da casca de coco mostraram proteção contra os danos oxidativo lipídicos, independente da variedade. Estudos de voltametria cíclica dos extratos etanólicos em eletrodo de carbono vítreo confirmaram a presença de compostos facilmente oxidáveis, e elevada capacidade antioxidante das variedades. Esta capacidade foi expressa em miligramas equivalentes de quercetina (Q) por grama de extrato seco e variou de 25,9 – 53,5 mg EQ g<sup>-1</sup> usando um eletrodo de carbono vítreo modificado (ECV/MWCNT/polí-ácido xanturênico). Na investigação de compostos fenólicos por CLAE-UV/DAD verificou-se a presença de quercetina, ácido clorogênico, ácidos vanílico, ferúlico, cafeíco, gálico, e catequina. Nosso trabalho sugere que esses extratos podem ser antioxidantes importantes para o enriquecimento na dieta humana, indústrias farmacêuticas e de cosméticos, agregando valor à enorme quantidade de resíduos gerados na indústria do coco.

**Palavras chaves:** *Cocos nucifera*, Capacidade Antioxidante, Ensaio eletroquímico, CLAE-UV/DAD, flavonoides, Compostos fenólicos.

## ABSTRACT

The present study aims to determine the antioxidant capacity of the ethanolic extracts of husk fiber of four coconut (*Cocos nucifera* L.) varieties (yellow dwarf, green dwarf, giant and hybrid), aiming to verify their possible utilization as natural antioxidants. For this, their total phenolic content, radical DPPH' scavenging activity, reducing ability towards iron ions (FRAP) and copper ions (CUPRAC) and inhibition of lipid peroxidation using a biomimetic membrane system were analysed. The electrochemical investigation using a glassy carbon and a modified glassy carbon electrode, and the identification of some chemical constituents were performed by cyclic and differential pulse voltammetry and liquid chromatography coupled with UV-VIS spectrometry (CLAE-UV/DAD) and mass spectrometry, respectively. The higher value of total phenolic content was found for the hybrid variety:  $531 \pm 24$  mg GAE g<sup>-1</sup> dry extract and the lowest was for the green dwarf with  $58 \pm 9$  mg GAE g<sup>-1</sup> dry extract. The ability of the extracts to scavenge DPPH' radicals was in the order giant > yellow dwarf > hybrid > green dwarf and IC<sub>50</sub> values varied from 8.6 to 55.9 µg mL<sup>-1</sup>. All varieties showed reducing potential by the use of FRAP and CUPRAC methods, with the lowest performance obtained for the green dwarf variety. Through the use of mimetic biomembranes, ethanolic extracts of coconut husk fibers were shown to protect lipids against oxidative damage independent of the variety. Cyclic voltammetric studies of the ethanolic extracts on glassy carbon electrode confirmed the presence of easily oxidized compounds, and the high antioxidant capacity of the varieties. This was expressed as mg quercetin equivalents g<sup>-1</sup> dry extract and ranged from 25.9 – 53.5 mg QE g<sup>-1</sup> dry extract using a glassy carbon xanthurenic acid modified electrode (GCE/MWCNT/ poly-Xanthurenic Acid). The investigation of phenols using CLAE-UV/DAD revealed the presence the catechin, quercetin, chlorogenic, vanillic, ferulic, caffeic and gallic acids. Our findings suggest that these extracts can be an important source of natural antioxidants for use in food and possibly in the pharmaceutical and cosmetic industry, aggregating value to the enormous amount of waste from the coconut industry.

**Keywords:** *Cocos nucifera*, Antioxidant capacity, Electrochemical behavior, CLAE-UV/DAD, Flavonoids, Phenols.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Coqueiros das variedades: gigante (a), anão (b) e híbrido (c).....	19
Figura 2 - Partes do coco fruto da espécie <i>C nucifera</i> L.....	20
Figura 3 - Rota experimental simplificada utilizada neste trabalho. ....	38
Figura 4 - Pó da fibra de casca de coco (a), Pó da fibra em percolador (b) e concentração do extrato em rotaevaporador (c). ....	39
Figura 5 - Reação do ácido gálico em presença do molibdato, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.....	40
Figura 6 - Curva de analítica com ácido gálico. Medidas em absorvência, $\lambda = 760$ nm, do complexo formado entre o reagente de Folin-Ciocalteu e o padrão ácido gálico. Experimento realizado em triplicata (N = 3). ....	41
Figura 7 - Reação de redução de DPPH' por um antioxidante. ....	422
Figura 8 - Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe (III)...	44
Figura 9 - Curva de analítica de FRAP, Medida em absorvência a $\lambda = 595$ nm. Experimento realizado em triplicata. (N = 3).....	45
Figura 10 - Redução do Cu (II) para Cu (I). ....	46
Figura 11 - Curva de calibração CUPRAC. Medida em absorvência a $\lambda = 450$ nm. Experimento realizado em triplicata.....	47
Figura 12 - Sistema de extrusão de membrana .....	48
Figura 13 - Curva de calibração de valores de AUC obtido para quercetina via VC (2,5 - 62,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em (ECV/MWCNT/poli-AX) em 50 $\text{mV s}^{-1}$ em tampão fosfato 0,2 $\text{mol L}^{-1}$ , pH 7,0. Insert: VC em diferentes concentrações de Quercetina.....	52
Figura 14 - Rota experimental do fracionamento dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco. ....	53
Figura 15 - Proteção à peroxidação (%) fornecida pelos extratos etanólicos das quatro variedades (10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e controles positivos em várias concentrações (trolox 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , vitamina C 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e resveratrol 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Controles negativos foram tampão fosfato e etanol. Lipossoma mais C <sub>11</sub> -BODIPY <sup>581/591</sup> foram adicionadas em todos os experimentos.....	63
Figura 16 - Voltamogramas cíclicos de quercetina (a), catequina (b), epicatequinas (c), ácidos gálico (d), vanílico (e), ferúlico (f), cafeíco (g), trolox (h), ácidos ascórbico (i), clorogênico (j) = 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ , eletrodo de (CV, 100 $\text{mV s}^{-1}$ , Ag AgCl Cl <sup>-</sup> , Tampão fosfato 0,2 $\text{mol L}^{-1}$ , pH 7,0. ....	65

Figura 17 - Voltamogramas dos extratos etanólicos da fibra da casca do coco anão amarelo, híbrido, gigante e anão verde. Tampão fosfato 0,2 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0 (5% de EtOH); 18,8 µg mL <sup>-1</sup> , eletrodo de CV. 0,100 V s <sup>-1</sup> , Ag AgCl Cl <sup>-</sup> .....	68
Figura 18 - Estrutura do AX (A); Sistema redox quinonoídico (B); voltametria cíclica de eletropolimerização do AX em ECV/MWCNT. Condições experimentais: AX 120 µM em 0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 5,5 e $\nu$ 0,05 V s <sup>-1</sup> . 10 varreduras; voltametria cíclica do ECV/MWCNT/poli-AX em tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0 e $\nu$ = 0,05 V s <sup>-1</sup> .....	72
Figura 19 - Voltametria cíclica dos quatros extratos etanólicos de fibra da casca de coco ( <i>Cocos nucifera</i> L.), (190 µg mL <sup>-1</sup> ) (ECV/MWCNT/poli-AX) a 50 mV s <sup>-1</sup> , em tampão fosfato, 0,2 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0.....	73
Figura 20 - Cromatograma do extrato etanólico da fibra da casca de coco anão amarelo - (a) e sua fração acetato de etila Fr-Aceot (aa) - (b).....	799
Figura 21 - Cromatograma do extrato etanólico da fibra da casca de coco anão verde - (a) e sua fração acetato de etila Fr-Aceot (av) - (b).....	8080
Figura 22 - Cromatograma do extrato etanólico da fibra da casca de coco gigante - (a) e sua fração acetato de etila Fr-Aceot (gi) - (b).....	811
Figura 23 - Cromatograma do extrato etanólico da fibra da casca de coco híbrido - (a) e sua fração acetato de etila Fr-Aceot (hi) - (b).....	822

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades biológicas encontradas nas fibras das cascas de <i>Cocos nucifera</i> L. ....	24
Tabela 2 - Espécies reativas de oxigênio (ERO) e algumas de suas características. .	277
Tabela 3 - Antioxidantes primários e secundários função e exemplos. ....	299
Tabela 4 - Subclasses especiais de flavonóides. ....	311
Tabela 5 - Avaliação da capacidade antioxidante e presença de compostos fenólicos em resíduos agroindustriais e vegetais. ....	32
Tabela 6 - Reagentes e solventes utilizados no trabalho.....	36
Tabela 7- Equipamentos utilizados. ....	37
Tabela 8 - Condições de análises por CLAE – UV/DAD. ....	54
Tabela 9 - Conteúdo total de fenóis (CTF), DPPH <sup>•</sup> , FRAP e CUPRAC dos extratos etanólicos da fibra de casca de coco das quatro variedades de <i>C. nucifera</i> L <sup>1</sup> .....	57
Tabela 10 - Valores para conteúdo total de fenóis em pele, cascas, sementes, e resíduos de frutas registrados na literatura. ....	58
Tabela 11 - Valores de IC <sub>50</sub> do presente trabalho e de alguns estudos encontrados na literatura para as fibras de casca de <i>C. nucifera</i> . ....	60
Tabela 12 - Valores de FRAP e CUPRAC para cascas, sementes, polpas de frutas e farinhas alimentícias encontrados na literatura. ....	62
Tabela 13 - Parâmetros eletroquímicos dos padrões fenólicos (0,1 mmol L <sup>-1</sup> ) e extratos etanólicos das fibras da casca de coco de quatro variedades (18,8 µg mL <sup>-1</sup> ), determinados por voltametria cíclica (VC), em um eletrodo de carbono vítreo (CV) a 0,100 V s <sup>-1</sup> , vs. Ag AgCl Cl <sup>-</sup> (0,1 mol L <sup>-1</sup> ) em tampão fosfato 0,2 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0. ....	70
Tabela 14 - Conteúdo de quercetina em extratos etanólicos de fibras de cascas de coco de 4 variedades.....	744
Tabela 15 - Correlação de Pearson entre as variáveis CFT e os métodos DPPH <sup>•</sup> , FRAP e CUPRAC. ....	755
Tabela 16 - Correlação Epa (ECV), e equivalentes de quercetina em eletrodo modificado com métodos de capacidade antioxidante.....	766
Tabela 17- Rendimentos das frações obtidas dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco de quatro variedades.....	76

**Tabela 18- Padrões fenólicos utilizados nas análises de CLAE, estruturas, concentração de análise e Tempo de retenção (Tr). ..... 788**

**Tabela 19 - Tempos de retenção dos padrões e frações de acetato de etila de quatro variedades de coco..... 833**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPH	2,2 – azobis (2-metilpropionamida)
BHA	Butil-hidroxianisol
BHT	Butil-hidroxitolueno
CAT	Catalase
CFT	Conteúdo fenóis totais
CLAE	Cromatografia líquida de Alta Eficiência
CUPRAC	Cupric reducing antioxidant Capacity
DNA	Ácido dexoxirribonucleico
DPPH•	Difenil-picril-hidrazina
ECV	Eletrodo de carbono vítreo
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetra-acético
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EQ	Equivalente de quercetina
ET	Equivalente de Trolox
FAO	Food and Agriculture Organization
FRAP	Ferric reducing/antioxidant Power
Fr-Aceot	Fração acetato de etila
Fr-Hex	Fração hexânica
Fr-Hmet	Fração metanólica
GPx	Glutaciona peroxidase
GSH	Glutaciona reduzida
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
IC <sub>50</sub>	Concentração que inibe em 50% determinada atividade
LEQUI	Laboratório de eletroquímica
LCCV	Líquido da casca do coco verde
Nc	Neocuproina
NO•	Óxido nítrico
NO <sup>-</sup>	Ânion nitroxila
Nm	Nanômetro
PBS	Solução tampão de fosfato – “Phosphate buffer solution”
O <sub>2</sub> • <sup>-</sup>	Radical superóxido
OH•	Radical hidroxila
ONOO <sup>-</sup>	Ânion Peroxinitrito
RO <sub>2</sub> •	Radical peroxila
<sup>1</sup> O <sub>2</sub> •	Oxigênio singleto
O <sub>2</sub> • <sup>-</sup>	Ânion radical superóxido
O <sub>3</sub>	Ozônio
RSA	Atividade sequestradora de radical – “Radical Scavenging Activity”
RFC	Reagente Folin-Ciocalteu
RLs	Radicais Livres
RP	Fase reversa – “Reversal phase”
SOD	Superóxido dismutase
TPTZ	2,4,6-tris(2-piridil)-5-triazina
UFAL	Universidade Federal de Alagoas

UV/DAD  
VC  
AX

Ultra violeta visível/detector Uv  
Voltametria cíclica  
Ácido xanturênico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1</b>	<b><i>Cocos nucifera</i> L. (Palmae).....</b>	<b>18</b>
<b>2.2</b>	<b>A cultura do coco: Aspectos econômicos, geração de resíduos e aproveitamento das fibras da casca de coco.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3</b>	<b>Propriedades biológicas encontradas nas fibras de <i>Cocos nucifera</i> L.....</b>	<b>24</b>
<b>2.4</b>	<b>Espécies reativas geradas através do metabolismo e as defesas antioxidantes.....</b>	<b>26</b>
<b>2.5</b>	<b>Compostos fenólicos.....</b>	<b>29</b>
<b>2.6</b>	<b>Resíduos agroindustriais como fontes naturais de antioxidante.....</b>	<b>32</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>35</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivos gerais.....</b>	<b>35</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTAL.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1</b>	<b>Reagentes, solvente e equipamentos.....</b>	<b>36</b>
<b>4.2</b>	<b>Métodos.....</b>	<b>38</b>
4.2.1	Coleta das amostras e preparo dos extratos.....	38
4.2.2	Determinação do conteúdo de fenóis totais.....	39
4.2.2.1	Método de Folin-Ciocalteu.....	39
4.2.2.2	Preparo da curva analítica com o ácido gálico.....	40
4.2.3	Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH'.....	41
4.2.3.1	Medidas de capacidade antioxidante das amostras.....	42
4.2.4	Capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro – FRAP.....	43
4.2.5	Capacidade antioxidante pelo método de redução do cobre – CUPRAC.....	45
4.2.6	Avaliação das amostras como inibidoras da lipoperoxidação.....	47
4.2.6.1	Preparação das vesículas unilamelares.....	47
4.2.6.2	Monitoramento da peroxidação lipídica usando amostras de coco.....	48
4.2.7	Métodos eletroquímicos.....	49
4.2.7.1	Limpeza do eletrodo de carbono vítreo (ECV).....	49
4.2.7.2	Análise dos padrões e amostras usando ECV.....	49
4.2.7.3	Preparação do eletrodo de carbono vítreo modificado (ECV/MWCNT).....	50
4.2.7.3.1	Análise das amostras usando eletrodo de carbono vítreo modificado.....	51
4.2.8	Identificação dos compostos fenólicos.....	52
4.2.8.1	Fracionamento dos extratos etanólicos das fibras da casca do coco.....	52
4.2.8.2	Análise das amostras usando CLAE-UV/DAD.....	53
4.2.9	Análises estatística.....	55
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>56</b>
<b>5.1</b>	<b>Conteúdo de fenóis totais (CFT) e métodos de avaliação da capacidade antioxidante DPPH', FRAP e CUPRAC.....</b>	<b>56</b>
<b>5.2</b>	<b>Inibição da lipoperoxidação.....</b>	<b>63</b>
<b>5.3</b>	<b>Métodos eletroquímicos.....</b>	<b>64</b>

5.3.1	Análise das amostras (ECV/MWCNT/poli-Ax).....	71
5.4	<b>Correlação entre CFT e os métodos de avaliação da capacidade antioxidante DPPH', FRAP, CUPRAC e parâmetros eletroquímicos.....</b>	<b>74</b>
5.5	<b>Obtenção e fracionamento dos extratos etanólicos das fibras de casca de coco de 4 variedades.....</b>	<b>76</b>
5.6	<b>Identificação dos compostos orgânicos usando CLAE-UV/DAD..</b>	<b>77</b>
6	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>85</b>
7	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>87</b>
	<b>PESPECTIVAS.....</b>	<b>88</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>89</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Uma grande quantidade de resíduos é produzida pelas indústrias de alimentos e produtos agrícolas, como bagaços, peles, sementes e cascas de frutas (AYALA-ZAVALA et al., 2011; GAYOSSO-GARCIA et al., 2011). Alguns desses resíduos são considerados subprodutos com certo valor econômico, já outros são completamente descartados. No entanto, a maioria destes resíduos são fontes naturais de antioxidantes, compostos estes que inibem a oxidação de moléculas, evitando o início ou a propagação das reações de oxidação em cadeia (KARADAG et al., 2009). Segundo HALLIWELL & GUTTERIDGE, (2007) um antioxidante pode ser definido como quaisquer substâncias que, quando presentes em baixa concentração comparada às de um substrato oxidável, retardam ou previnem significativamente a oxidação deste substrato.

Os antioxidantes são encontrados em frutas, legumes, bebidas, cereais, nutracêuticos e medicamentos, e tem recebido atenção crescente por seu uso potencial na prevenção e tratamento de doenças, cuja base bioquímica relaciona-se ao estresse oxidativo. São usados como aditivos para impedir processos de oxidação em alimentos. Eles podem reduzir o risco de distúrbios cardiovasculares e doenças neurodegenerativas. Estes efeitos benéficos geralmente são atribuídos à presença de níveis elevados de vitaminas, minerais e compostos antioxidantes, dentre os quais se destacam os polifenóis (OLIVEIRA et al., 2009; RENÉ et al., 2010; OMENA et al., 2012). Vários estudos têm demonstrado que as camadas externas de legumes, frutas e cereais, bem como a pele, cascas e sementes, contém polifenóis em sua composição (YU et al., 2005; S. BUTSAT et al., 2010; WANG et al., 2011; SINGH et al., 2011; BASANTA et al., 2014). Segundo BERGAMASCHI, (2010); INFANTE e colaboradores, (2013); ARBOS e colaboradores, (2013), as cascas de arroz, abacaxi, maracujá, amêndoa e manga, são fontes significativas de antioxidantes e atribuem esse efeito à presença dos compostos fenólicos. Nesse contexto, as fibras da casca de coco também vêm sendo contempladas nessas investigações, visto que alguns estudos relatam que estas fibras possuem propriedade antioxidante devido principalmente à presença de compostos fenólicos (ESQUENAZI et al., 2002; ALVIANO et al., 2004; RINALDI et al., 2009).

*Cocos nucifera* L. (Palmae) é amplamente distribuído na costa do Nordeste brasileiro e tem importância mundialmente reconhecida, tanto para o consumo “*in natura*” quanto para fins industriais. Neste processo ocorre a geração de resíduos que são rejeitados pelas indústrias. As fibras das cascas de coco apresentam teores elevados de pentosanas, celulosas e ligninas (ESQUENAZI et al., 2002). Estudos mostraram que o extrato aquoso da fibra de casca de *Cocos nucifera* apresenta importantes atividades biológicas, tais como atividade antimicrobiana, antiviral, antiulcerogênica, antineoplásica, anti-inflamatória e antioxidante (ESQUENAZI et al., 2002; ALVIANO et al., 2004; RINALDI et al., 2009; AKINYELE et al., 2011; SILVA et al., 2013). Entretanto, a fibra de casca de coco ainda tem sido pouco explorada, principalmente em relação ao seu potencial antioxidante. Diante disso, esse trabalho se propôs a avaliar a capacidade antioxidante *in vitro*, o perfil químico e eletroquímico de extratos etanólicos das fibras de cascas de *Cocos nucifera* L., e, assim contribuir para sua possível aplicação como fonte de compostos bioativos que possam ser usados como complemento antioxidante na alimentação, visto que, esses apresentam grande importância para a dieta diária humana e ao mesmo tempo agregar valor à enorme quantidade de resíduos gerados pelas indústrias de coco, evitando o desperdício e a poluição do meio ambiente.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Cocos nucifera* Linnus (Palmae).

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é uma palmeira tropical da família *Palmae* (Arecaceae), originária provavelmente, do sudeste asiático. No Brasil, essa espécie é largamente encontrada no litoral do nordeste brasileiro, pois apresenta o solo e as condições climáticas satisfatórias para o seu cultivo (ESQUENAZI et al., 2002; FIGUEIRA et al., 2013). O gênero *Cocos* é constituído apenas pela espécie *Cocos nucifera* L., a qual é composta de duas principais variedades: Gigante (*Cocos nucifera* L. (Palmae) *typica* A. popularmente conhecida como ‘Olho de cravo’) (Figura 1(a)), e Anão (*Cocos nucifera* L. (*nana*) (Figura (1b)) que é composta das cultivares Amarelo, Verde, Vermelho de Camarões e Vermelho da Malásia (FONSECA et al., 2009; DEBMANDAL et al., 2011; EMBRAPA, 2011). A variedade híbrida (Figura (1c)) é obtida a partir do cruzamento das variedades gigante e anão (CARVALHO et al., 2008; ARAGÃO et al., 2009; KUMAR et al., 2011).

A variedade gigante apresenta crescimento rápido e atinge de 20 a 30 m de altura, inicia a floração entre cinco a sete anos, produzindo em média 60 a 80 frutos/planta/ano em tempo de vida útil por cerca de 60 anos (ARAGÃO et al., 2009).

A variedade anão apresenta crescimento lento, atingindo cerca de 8 a 10 m de altura. A floração inicial ocorre em torno de dois a três anos, com vida útil por cerca de 40 anos. Produz em média 200 frutos/planta/ano, considerados pequenos em relação às outras variedades e geralmente são destinados para o consumo *in natura* de água do fruto ainda imaturo (ARAGÃO et al. 2002; EMBRAPA, 2011). Esta variedade é composta pelas cultivares, verde, amarelo, vermelha da Malásia e vermelha de Camarões (CARVALHO et al., 2008). Essa classificação é baseada, principalmente, na cor da plântula, do pecíolo, da inflorescência e do fruto imaturo (EMBRAPA, 1999).

A intervarietal híbrido tem o florescimento inicial em torno de três a quatro anos e apresenta crescimento intermediário, chegando a uma altura em torno de 20 m. A sua vida útil é de 50 a 60 anos, com produção de 120 a 150 frutos/planta/ano. Seus frutos se encontram entre os tamanhos intermediário/grande, e por serem maiores, apresentam vantagens sobre seus parentais (ARAGÃO et al., 2004).

**Figura 1 - Coqueiros das variedades: gigante (a), anão (b) e híbrido (c).**



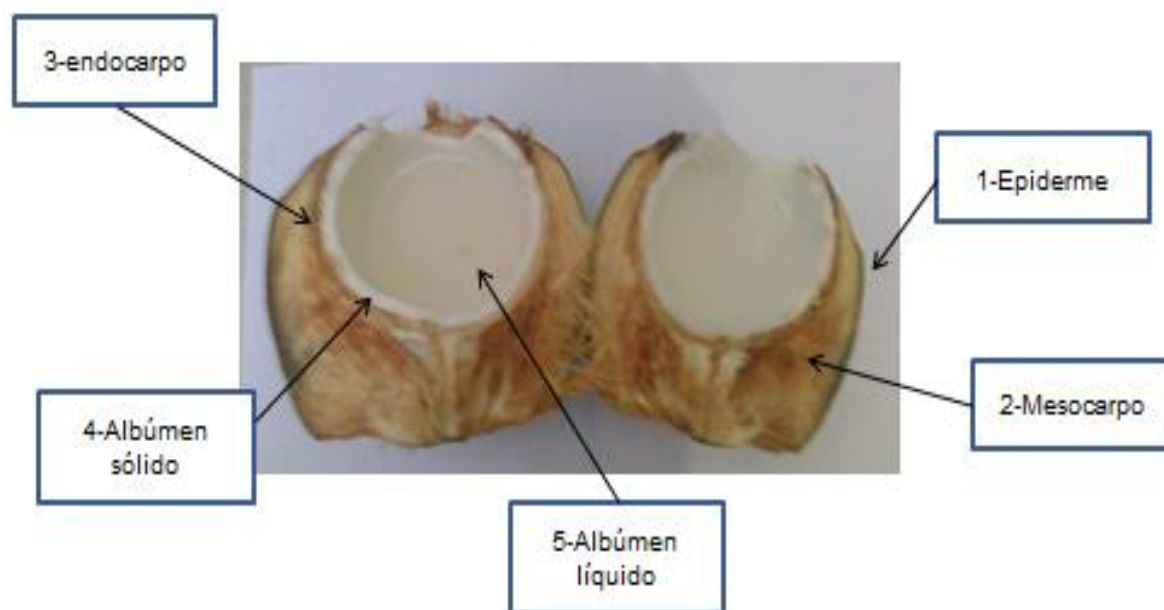
Fonte: EMBRAPA, 2011.

O coqueiro é constituído por raiz, estirpe, inflorescência, folhas, frutos e cascas, seu fruto é uma drupa fibrosa ovoide e quase globosa (Figura 2), constituído pelas seguintes partes: 1 - epicarpo ou epiderme lisa (é a camada externa chamada de casca do fruto), 2 - mesocarpo que fica entre o epicarpo e o endocarpo, é uma camada espessa, constituída de fibras e pó, 3 - endocarpo é uma camada lenhosa que reveste o albúmen e se torna mais dura à medida que o fruto amadurece, é constituído por 4-albúmen sólido ou amêndoa (carne do coco) e 5 - albúmen líquido (endosperma) ou polpa branca líquida (água de coco) (EMBRAPA, 2011).

A espécie de *Cocos nucifera* L. é uma árvore cultivada mundialmente por suas múltiplas utilidades, principalmente por seus valores nutricionais e medicinais. Aproveita-se praticamente quase tudo dessa planta, nada se perde, pois suas partes como raiz, caule, folha, inflorescência e fruto, são utilizadas em diversas áreas (DEBMANDAL et al., 2011).

A raiz pode ser utilizada para fins artesanais, como a confecção de balaios, e também para aplicação biológica, por apresentar atividade antimicrobiana, antioxidante pela presença de flavonóides, glicosídeos, taninos, carboidratos e saponinas (SIVAKUMAR et al., 2011). De acordo com NASKAR e colaboradores (2011), a raiz é adstringente e diurética, e pode ser usada como antisséptico em feridas e em gargarejos bucais.

Figura 2 - Partes do coco fruto da espécie *C nucifera* L.



Fonte: AUTORA, 2015.

As folhas podem ser utilizadas como forrageiras, na fabricação de telhados, peneiras, chapéus, esteiras. Elas também podem ser aplicadas na área medicinal devido às suas propriedades terapêuticas. Em estudos realizados por FIGUEIRA, (2012), os extratos brutos etanólicos das folhas de *Cocos nucifera* L. na variedade anã verde coletada no Estado de Alagoas, apresentaram atividade antioxidante, antimicrobiana e ausência de citotoxicidade.

Segundo RENJITH e colaboradores (2013), na medicina popular indiana, o suco fresco da inflorescência de *Cocos nucifera* é muito utilizado no tratamento de diarreia e diabetes.

O fruto é a parte de maior importância do coqueiro, e suas partes podem ser utilizadas em diversas áreas. A amêndoa (carne do coco) é utilizada na agroindústria alimentícia, na culinária doméstica e no preparo da copra, sendo esta usada principalmente para a extração do óleo de coco.

A água de coco contém açúcar, proteínas, fibras, compostos com ação antioxidante, é muita rica em sais minerais, sendo um isotônico natural, e uma fonte de alimento nutritivo (HOODA et al., 2013). É uma bebida natural, saborosa e apreciada mundialmente, pode ser usada para o consumo *in natura* ou de maneira

industrializada. Na área medicinal é utilizada no combate à diarreia, e na proteção contra infecções do trato intestinal (AWUA et al., 2012).

O óleo de coco é um dos principais produtos produzidos a partir da polpa do coco, e aplicado na indústria de cosméticos por ser rico em ácido láurico e também na gastronomia (HOODA et al., 2012).

Além do conhecimento já produzido das múltiplas utilidades do coqueiro, são de grande importância estudos que contemplem outras partes como, por exemplo, as fibras das cascas de coco, que são os resíduos obtidos a partir da industrialização desses frutos que também podem apresentar várias aplicações, principalmente uso medicinal, devido ao grande potencial biológico que o fruto do coco possui e que já foram explorados em diversas pesquisas.

## **2.2 A cultura do coco: aspectos econômicos, geração de resíduos e aproveitamento das fibras da casca de coco.**

A cultura do coqueiro é considerada como uma das mais importantes culturas frutíferas nas regiões intertropicais, na qual esta planta é nativa, sendo cultivada aproximadamente em mais de 86 países (ARAGÃO et al., 2004; SIVAKUMAR et al., 2011; NASIMUISLAM et al., 2014). Esta cultura possui grande importância econômica e social, pela capacidade de gerar empregos e conseqüentemente, renda em vários países, devido à utilização de seu fruto para o consumo *in natura* ou pela industrialização (CUENCA et al., 2003; HOODA et al., 2012).

Segundo dados da EMBRAPA (2011), a Indonésia se destaca como o maior produtor mundial de coco, seguida por Filipinas e Índia, somando um total em torno de 45 milhões de toneladas, numa área colhida de 11,2 de hectares, e o Brasil com uma produção em 2,8 milhões de toneladas, ocupa o quarto lugar.

No Brasil, as maiores plantações e produção de coco estão concentradas na faixa litorânea do Nordeste. De acordo com WANDERLEI & LOPES (2010), a área plantada de coqueiro no país está distribuída entre as variedades gigante, anão e o híbrido, os quais correspondem em 70, 20 e 10% de exploração comercial no Brasil, respectivamente. Na variedade gigante, o fruto é destinado tanto para o uso *in natura* quanto para uso na culinária e na agroindústria.

As variedades do coqueiro anão verde e amarelo são destinadas principalmente ao consumo de água de coco, porém, devido à diferença entre as

idades de colheitas, a cultivar verde é a mais utilizada comercialmente, tanto para o consumo *in natura* da água do fruto imaturo, quanto ao uso da sua polpa na industrialização de produtos à base de coco (COSTA et al.; 2006). Os frutos dos coqueiros híbridos são empregados na culinária e na agroindústria (ARAGÃO et al., 2004).

A cocoicultura é bastante representativa no Nordeste do Brasil, no qual a finalidade é a produção do coco seco para uso culinário e para as agroindústrias de alimentos. A aplicação do fruto se dá mediante a utilização do albúmen sólido submetido à secagem (copra) ou fresco, destinados para a fabricação de produtos como leite de coco e coco ralado, empregados na indústria alimentícia de doces, bolos, bombons, chocolates ou utilizado "*in natura*", na culinária doméstica. Já nas outras regiões do Brasil, a cultura destina-se principalmente à produção do fruto *in natura* para o consumo de sua água (ARAGÃO et al., 2001; FONTENELE, 2005).

O processamento industrial do coco e seu uso na forma *in natura* para o consumo de água têm gerado grandes quantidades de resíduos como as cascas, por exemplo, que na maioria das vezes, são descartados de forma incorreta em aterros sanitários e lixões diminuindo sua vida útil, se tornando foco de proliferação de doenças, ou destinadas à queima, produzindo substâncias poluidoras ao meio ambiente (PANNIRSELVAM et al., 2005).

Nos últimos anos, especial atenção vem sendo dada para a minimização ou o aproveitamento de resíduos gerados nos diferentes processos industriais (SILVA & JERÔNIMO et al., 2012). Esta prática é de grande importância social e econômica, pois possibilita a redução dos transtornos ambientais e contribui para a geração de rendas. Resíduos provenientes da cultura do coco resultantes do seu processamento industrial como a torta ou farelo do coco, o efluente da casca do coco verde e principalmente as cascas (fibras ou pó de coco), são materiais ideais para essa prática de aproveitamento e se apresentam como excelentes matérias-primas que podem ser utilizados de várias formas e em diversas áreas, como por exemplo, na agricultura, na medicina, na indústria têxtil, dentre outras.

Segundo SENHORAS (2003), a torta do coco ou farelo do coco que é um subproduto da extração do óleo de coco, pode ser empregado na alimentação de animais, por ser uma ração rica com 20% de proteínas.

Estudos de OMENA e colaboradores, (2010), analisaram os reflexos da utilização de farelo de coco na alimentação do peixe da *tilápia-do-Nilo* e concluíram

que este subproduto do coco pode ser usado como fonte alternativa na alimentação destes pescados, pois o valor nutricional e a qualidade para o consumo humano não foram alterados.

As cascas de coco (verde e maduro) são os resíduos de maior importância da cultura do coco, a partir do processo de prensagem dessas cascas são obtidos subprodutos como o efluente denominado de líquido da casca de coco verde (LCCV) e as fibras (SIQUEIRA, 2012).

O LCCV apresenta açúcares e alto teor de polifenóis em sua composição e pode ser utilizado como fonte nutriente de processos de fermentação alcoólica na produção de etanol (TEIXEIRA et al., 2007). Recentemente este efluente tem sido alvo de algumas pesquisas no sentido de possíveis aplicações biológicas devido às propriedades farmacológicas e biológicas que eles apresentam como a sua atividade antiproliferativa em linfócitos e anti-helmíntica (KISZBERG, 2003; ROSA et al., 2007).

As fibras das cascas de coco são constituídas de componentes químicos como celulose, hemicelulose e ligninas como principais polímeros naturais (SILVA, 2003). Apresentam um considerável valor agregado, visto que o mercado deste produto contribui para a economia de vários países onde o beneficiamento destas fibras emprega diversas pessoas, gerando renda local.

Em países como, por exemplo, a Índia, o Sri Lanka e a Tailândia, que segundo a FAO (*Food and Agriculture Organization*) são alguns dos maiores produtores mundiais deste produto, as fibras são tradicionalmente utilizadas para diversas finalidades como na fabricação de produtos artesanais como vassouras, escovas, tapetes, dentre outros (THEBO et al., 2014).

De acordo com SENHORAS, (2003), as fibras podem ser empregadas no setor agrícola como matéria-prima para a proteção dos solos e como substratos agrícolas. Além das aplicações já mencionadas, as fibras da casca de coco também são aproveitadas na medicina popular. Alguns estudos relatam que em países como Brasil e Índia, por exemplo, essas fibras são utilizadas para o preparo de chá no tratamento de diarreia e compressa feita com o líquido para combater artrites e outros processos anti-inflamatórios (SILVA et al. 2013; ESQUENAZI et al. 2002; ALVIANO et al., 2004; RINALDI et al., 2009).



### 2.3 Propriedades biológicas das fibras das cascas de *Cocos nucifera* L.

Nos últimos anos, alguns ensaios foram conduzidos para investigar as propriedades farmacológicas e biológicas das fibras da casca de coco, que assim como outros resíduos agroindustriais também podem ser utilizadas como fontes de compostos bioativos, visto que pesquisas com os extratos aquosos e de acetato de etila obtidos a partir das mesmas indicaram a presença de flavonoides, xantonas e taninos condensados (ESQUENAZI et al. 2002; SILVA et al., 2009). Estes constituintes exercem atividades antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória, analgésica, antitumoral, antimalárica e antioxidante (SILVA et al. 2013).

A Tabela 1 apresenta trabalhos encontrados na literatura que descrevem as propriedades biológicas encontradas em extratos de fibras das cascas de *C. nucifera* L..

**Tabela 1 - Propriedades biológicas encontradas nas fibras das cascas de *Cocos nucifera* L.**

(continua)

Resultados	Indicação terapêutica	Referências
O extrato aquoso da fibra da casca de <i>C. nucifera</i> e fração acetato de etila, foram ativas contra <i>Staphylococcus aureus</i> . Presença de compostos fenólicos: catequina, epicatequinas, dímeros de procianidina e taninos condensados.	Antimicrobiano	SILVA et al., 2013
O extrato aquoso da fibra da casca do coco gigante apresentou atividade anti-inflamatória por inibição da migração celular, ativo contra <i>S. aureus</i> e atividade antioxidante.	Atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante.	SILVA et al., 2013
O extrato hexânico do mestiço foi ativo contra o <i>P. falciparum</i> e não apresentou toxicidade.	Anti- plasmódica, hemolítica e citotóxica.	ADEBAYO et al., 2012

**Tabela 1 - Propriedades biológicas encontradas nas fibras das cascas de *Cocos nucifera* L.**

(conclusão)

Resultados	Indicação terapêutica	Referências
O extrato hexânico foi ativo contra 30 e o aquoso contra 29 diferentes cepas de <i>Listeria</i> .	Antilisterial	AKINYELE et al., 2011
Ratos tratados com o extrato acetato de etila do líquido da fibra de <i>C. nucifera</i> demonstraram ausência de estímulo imunológico, porém apresentaram melhoras.	Controle da <i>L. braziliensis</i>	FREITAS et. al., 2011
Ratos tratados com extratos butanólicos do líquido da casca do coco verde mostraram redução da carga parasitária.	Controle de nematoides intestinais	COSTA et al., 2010
Extrato aquoso e frações de baixo e alto peso moleculares da fibra da casca de <i>C. nucifera</i> agiram como analgésico e inibiram o edema de pata induzido em ratos.	Analgésico e anti-inflamatório	RINALDI et al., 2009
Os extratos metanólicos do mesocarpo do <i>C. nucifera</i> foram ativos contra <i>S. aureus</i> e apresentaram atividade antioxidante.	Antimicrobiano e antioxidante	CHAKRABORTY et al., 2008
Frações de baixos e altos pesos moleculares obtidas a partir do extrato aquoso da fibra da casca de <i>C. nucifera</i> apresentaram atividade antitumoral.	Antineoplásico.	KOSCHEK et al., 2007
No tratamento tópico de coelhos com o extrato aquoso indicou ausência de irritação dérmica e ocular. <i>In vitro</i> teve ação anti radicalar.	Atóxico para a pele e mucosa ocular. É anti radicalar.	ALVIANO et al., 2004
A concentração inibitória mínima do extrato aquoso da fibra de casca de <i>Cocos nucifera</i> inibiu o crescimento do parasita em camundongo.	Potencial leishmanicida	MENDONÇA-FILHO et al., 2004
O extrato aquoso da fibra da casca de <i>C. nucifera</i> mostrou atividade contra <i>S. aureus</i> .	Antimicrobiano	ESQUENAZI et al., 2002

Fonte: Adaptado de FIGUEIRA et al. (2013).

De acordo com os dados apresentados na tabela acima, observa-se que a maioria dos estudos realizados demonstrou que as fibras das cascas de *C. nucifera* apresentam diversas atividades biológicas no tratamento de diversas doenças. Entretanto, a determinação da capacidade antioxidante, ainda é um assunto pouco explorado. Há necessidade de mais estudos que determinem o potencial antioxidante das fibras da casca de coco, visto que os antioxidantes são essenciais no combate aos efeitos prejudiciais das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.

## 2.4 Espécies reativas geradas através do metabolismo e as defesas antioxidantes

Os radicais são espécies químicas constituídas de um átomo ou associação de átomos, possuindo um ou mais elétrons livres ou não pareados na sua órbita mais externa. Estas espécies, na sua maioria, são altamente instáveis, tendo tempo de meia vida curta, e, quimicamente muito reativas, capazes de reagir com uma grande variedade de compostos que estejam próximos da sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; COTINGUIBA et al., 2013). São exemplos de radicais, o ânion radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o radical hidroxila ( $HO^{\bullet}$ ) e o óxido nítrico ( $NO^{\bullet}$ ) (VASCONCELOS et al., 2006; FRANÇA et al., 2013).

Existe um conjunto dos agentes químicos patogênicos que possuem reatividade semelhante aos radicais, mas que não apresentam elétrons desemparelhados na última camada (CAVALCANTE et al., 2009). Os termos mais apropriados para classificar esses agentes químicos são espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e incluem o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o ânion nitroxila ( $NO^-$ ) e o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) (VASCONCELOS et al., 2006; FRANÇA et al., 2013).

Entretanto, as EROs são as espécies que possuem maior destaque. Elas são geradas nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma, sendo que a mitocôndria por meio da cadeia transportadora de elétrons é a principal fonte geradora dessas espécies. Podem ser formadas de diferentes maneiras, dentre elas, durante a redução tetravalente do oxigênio à água, na cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria (BARBOSA et al., 2010; CONTIGUIBA et al., 2013). Durante este processo, ocorre a formação de compostos intermediários reativos como os radicais  $O_2^{\bullet-}$ ,  $HO^{\bullet}$  e o  $H_2O_2$ . Essas espécies reativas apresentam a capacidade de reagirem com um grande número de compostos que estejam próximos ao local de sua geração (ANDRADE et al. 2010), assim, podem causar danos ao DNA, oxidar proteínas e lipídios, atacar a membrana celular, gerando lipoperoxidação, acarretando alterações na sua estrutura, fluidez e permeabilidade.

A Tabela 2 apresenta as espécies reativas de oxigênio mais importantes e algumas características.

**Tabela 2 - Espécies reativas de oxigênio (ERO) e algumas de suas características.**

Espécies reativas	Características
Ânion radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ )	Gerado nas mitocôndrias, em solução aquosa é um agente oxidante fraco. Pouco reativo.
Radical hidroxila ( $HO^{\bullet}$ )	É o mais reativo e deletério do organismo, uma vez formado não existe mecanismo de defesa. Modifica o DNA, causa danos às proteínas e gera peroxidação lipídica.
Peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ )	Formado no organismo humano via amplo número de reações, formando radicais potentes como $HO^{\bullet}$ .
Radical peroxila ( $RO_2^{\bullet}$ )	Reativo e formado a partir de lipídios, proteínas, DNA e açúcares durante a peroxidação lipídica.
Oxigênio singleto ( $^1O_2^{\bullet}$ )	Altamente reativo, produzido por reações fotoquímicas e reações químicas.
Ozônio ( $O_3$ )	Produzido no ar atmosférico poluído, é lesivo para o pulmão e oxida proteínas, lipídios e DNA.

Fonte: Adaptado de VASCONCELOS et al., (2006); FRANÇA et al., (2013); HALLIWELL, (2007).

Espécies reativas de oxigênio/nitrogênio, de cloro, de carbono, de enxofre, e os metais de transição Fe, Cu, Mn e Zn, são parte integrante do metabolismo humano e estão presentes em condições normais, observadas nos processos fisiológicos envolvidos na produção de energia, regulação do crescimento celular, fagocitose, sinalização intracelular e síntese de substâncias importantes, tais como hormônios e enzimas (VASCONCELOS et al., 2014). Porém, quando essas espécies são produzidas em concentração excedente ao normal, podem causar efeitos prejudiciais no organismo.

Para contrabalancear essa produção e seus efeitos negativos, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio. O desbalanço entre a produção descontrolada dessas espécies reativas ou a deficiência do potencial antioxidante do organismo, com predomínio dos pró-oxidantes é denominado estresse oxidativo e nesta situação, a presença das espécies reativas em excesso pode causar sérios danos moleculares, tais como a lipoperoxidação de membrana, oxidação de proteínas, de enzimas, de carboidratos e de DNA. Por este motivo, as espécies reativas estão relacionadas com a etiologia de várias doenças crônicas incluindo doenças cardiovasculares, câncer, aterosclerose e doenças neurodegenerativas (VASCONCELOS et al., 2007; RAHAL

et al., 2014; ONDEI et al., 2014). Além de causar sérios danos à saúde, essas espécies reativas interferem de maneira negativa nos processos tecnológicos alimentares por atuarem na deterioração, na oxidação de óleos e gorduras, causando odores e sabores rançosos, diminuindo a qualidade sensorial e o valor nutricional.

A exposição do organismo a radicais livres promoveu o desenvolvimento de várias estratégias de defesa antioxidante, para tolerar ou reparar danos causados em diversas estruturas celulares.

Esses sistemas de defesas naturais podem ser classificados como enzimáticos e não enzimáticos. Os sistemas enzimáticos são capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, essas enzimas removem as espécies reativas de oxigênio e são representados por enzimas produzidas no organismo tais como, catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD). Os sistemas antioxidantes não enzimáticos são moléculas que interagem com as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e são consumidas durante a reação, e incluem compostos de origens endógena e/ou dietética como a glutathione-reduzida (GSH), ácido úrico, ácido ascórbico, ácido lipóico, vitaminas C e E, vitaminas do complexo B, minerais (Zn, Se) e os polifenóis derivados das plantas (VASCONCELOS et al., 2014).

Os antioxidantes agem nos organismos vivos por meio de diferentes mecanismos de ação, tais como: complexação dos íons metálicos, captura de radicais livres, decomposição de peróxidos, inibição de enzimas responsáveis pela geração de EROs e ERNs (OLIVEIRA et al., 2009), como as NADPH-oxidases e outras, estímulo à expressão de genes antioxidantes, por ativação de fatores de transcrição como NrF2 (Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like)2 e outros mecanismos mais complexos (KUMAR et al., 2011).

De acordo com o mecanismo de ação, eles podem ser classificados como primários e secundários. Os primários reagem com íons metálicos, que catalisam o processo de formação de  $\cdot\text{OH}$ , impedem a geração ou sequestram as espécies reativas, bloqueiam a etapa de iniciação da peroxidação lipídica, cedem hidrogênio a um radical lipídico e assumem a forma de radical estável. Os secundários diminuem a taxa de oxidação, repõem átomo de hidrogênio para os primários, decompõem hidroperóxidos em espécies não radicalares. Este grupo se apresenta subdividido

em sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (RAMALHO et al., 2006).

A Tabela 3 apresenta os tipos de antioxidantes primários e secundários, a função e exemplos.

**Tabela 3 - Antioxidantes primários e secundários função e exemplos.**

<b>Tipo de antioxidantes</b>	<b>Função</b>	<b>Exemplos</b>
<b>PRIMÁRIOS</b>	Promovem a remoção ou inativação das EROs e ERNs, formados na iniciação ou propagação da reação.	Polifenóis: Butil-hidroxi-anisol (BHA) Butil-hidroxi-tolueno(BHT)
<b>SECUNDÁRIOS</b>		
<b>Sinergistas</b>	Aumentam as atividades dos antioxidantes primários.	Ácidos cítrico, ascórbico, tartárico.
<b>Removedores de oxigênio</b>	Capturam O <sub>2</sub> por reações químicas estáveis.	Ácido ascórbico e seus isômeros.
<b>Biológicos</b>	Removem compostos reativos dos sistemas alimentícios.	Enzimas: glucose oxidase, superóxido dismutase e catalase.
<b>Agentes quelantes</b>	Complexam íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica (Fe <sup>2+</sup> e Cu <sup>+</sup> ).	Ácido cítrico e sais de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).
<b>Mistos</b>	Compostos de plantas e animais usados como antioxidantes em alimentos.	Proteínas hidrolisadas, flavonoides.

Fonte: adaptado de FIGUEIRA, (2012).

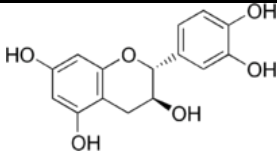
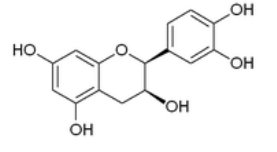
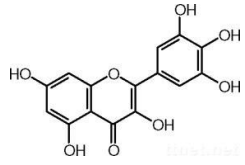
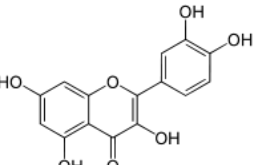
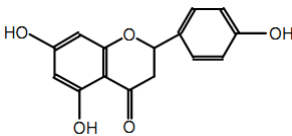
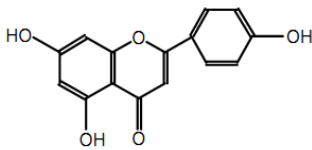
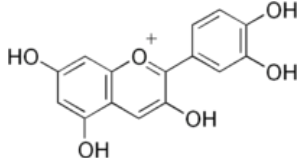
## 2.5 Compostos fenólicos

Compostos fenólicos ou polifenóis são comumente encontrados em plantas, nas quais são amplamente distribuídos. Polifenóis são produtos do metabolismo secundário de plantas e, geralmente estão envolvidos na defesa contra organismos patogênicos e radiações no ultravioleta. São caracterizados por uma estrutura aromática, com uma ou mais hidroxilas ligadas ao anel benzênico e classificados de acordo com o número de anéis fenólicos em sua estrutura, e podem ser divididos em classes, tais como: ácidos fenólicos, flavonóides, estilbenos e taninos (ARCHELA et al., 2013).

Os polifenóis têm recebido muita atenção nos últimos anos, são conhecidos como antioxidantes de ocorrência natural e são encontrados em alimentos (frutas, legumes, bebidas, cereais), em cascas de frutas, bagaços, sementes, resíduos da agroindústria, nutracêuticos, medicamentos, e são comumente usados como aditivos para prevenção do processo de oxidação em alimentos (OLIVEIRA et al., 2009; RENÉ et al., 2010). A sua atividade antioxidante deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e à estrutura química. Desempenham papel importante na neutralização ou sequestro de espécies reativas e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, em cadeia (SOUZA et al., 2007).

Os principais compostos fenólicos presentes na dieta humana são os flavonóides e os ácidos fenólicos. Os flavonóides são distribuídos amplamente no reino vegetal e se encontram presentes em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas. Possuem como subclasses especiais os flavanóis (catequinas, epicatequinas), flavonóis (miricetina, quercetina), flavanonas (naringina) e flavonas (apigenina), antocianidinas (cianidina) (Tabela 4) (ARCHELA et al., 2013), e a sua atividade antioxidante é devida a sua capacidade de sequestrar espécies reativas em ambientes lipofílico e hidrofílico, atuam como doadores de átomos de hidrogênio, inibindo as reações em cadeias e quelam metais de transição, (OLIVEIRA, 2008). Os ácidos fenólicos podem ser divididos em derivados dos ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinâmico (OLIVEIRA et al., 2011).

Tabela 4 - Subclasses especiais de flavonóides.

		Compostos fenólicos	
Classes	Compostos	Estruturas	Fontes naturais
Flavanóis	(+)-Catequina		Maçã, chá verde, vinho tinto e chá preto
	(-)-Epicatequina		
Flavonóis	Miricetina		Pitanga, caju, maçã, ameixa, uva, cebola, cascas de frutas, acerola e cascas de frutas,
	Quercetina		
Flavanonas	Naringina		Frutas cítricas
Flavonas	Apigenina		Casca de maçã, aipo
Antocianidina	Cianidina		Cereja, uva, morango, amora, repolho roxo e açaí

Fonte: AUTORA, 2015.



## 2.6 Resíduos agroindustriais como fontes naturais de antioxidantes

As frutas tropicais, verduras, vegetais e cereais apresentam em sua constituição compostos com ação antioxidante dos quais se destacam os fenólicos, carotenóides, tocoferóis, ácido ascórbico (INFANTE et al., 2013). Estudos têm mostrado que uma dieta rica nesses alimentos tem contribuído para a prevenção de doenças crônicas e degenerativas (OLIVEIRA et al., 2009). A crescente demanda social por produtos naturais, biologicamente ativos dentre os quais os antioxidantes naturais, de baixo custo e que contribuam para a melhoria da qualidade de vida, tem gerado atualmente um elevado interesse de pesquisadores em explorar novas fontes que apresentem essas características como os resíduos de processamento agroindustriais (ALVES et al., 2013; DAIUTO et al., 2014).

Dentre os resíduos agroindustriais mais comumente encontrados destacam-se as cascas, sementes e bagaços, que na maioria das vezes são desperdiçados de maneira inadequada causando danos ao meio ambiente ou destinados para a alimentação de animais. De acordo com HUBER e colaboradores (2012) e ARBOS e colaboradores, (2013), a maior parte destes resíduos são ricos em fibras, vitaminas, minerais e compostos fenólicos que são antioxidantes, e podem ser utilizados como fontes alternativas de compostos bioativos, visto que os antioxidantes possuem larga aplicação nos setores farmacêutico, cosmético e nutricional, além de servirem como aditivos naturais em alimentos.

A Tabela 5 apresenta alguns estudos realizados para a avaliação da capacidade antioxidante e a presença de compostos fenólicos em resíduos agroindustriais e vegetais.

**Tabela 5 - Avaliação da capacidade antioxidante e presença de compostos fenólicos em resíduos agroindustriais e vegetais.**

(continua)

Resíduos da agroindústria e de vegetais.	Principais resultados	Referências
Resíduos de manga ubá	Os extratos hidroalcoólico das cascas apresentaram elevada atividade antioxidante quando comparado com os antioxidantes sintéticos butil-hidroxianisol – BHA, butil-hidroxitolueno – BHT	HUBER et al., 2012

**Tabela 5 - Avaliação da capacidade antioxidante e presença de compostos fenólicos em resíduos agroindustriais e vegetais.**

(conclusão)

Resíduos da agroindústria e de vegetais.	Principais resultados	Referências
Bagaços de uvas Isabel, Verdejo e de goiaba	Os extratos aquosos exibiram elevada capacidade antioxidante e a presença dos compostos fenólicos: ácido gálico, quercetina e epicatequinas nos três extratos.	MELO et al., 2011
Farinhas de resíduos de acerola, maracujá e abacaxi	Os extratos metanólicos apresentaram capacidade antioxidante, sendo os mais promissores os extratos da farinha de acerola e maracujá.	OLIVEIRA et al., 2008

Fonte: AUTORA, (2015).

Outros estudos demonstram que os resíduos gerados pelas agroindústrias e de uso doméstico, como as cascas, sementes, polpas, de frutas e vegetais como, por exemplo: abacate (*Persea americana Mill*), jaborcaba (*Myrciaria cauliflora*), gabiboraba (*Campomanesia sp.*), noni (*Morinda citrifolia Linn.*), sementes do mamão (*Carica papaya L.*), são fontes naturais de antioxidantes (DAIUTO et al, 2014; GURAK et al., 2014; ALVES et al., 2013; COSTA et al., 2013; JORGE et al., 2008)

KIAT e colaboradores (2014) avaliaram a capacidade antioxidante e o perfil químico dos extratos hidrometanólicos das cascas e sementes de abóbora, amêndoa e damasco. Os resultados mostraram que todos os extratos possuem atividade antioxidante e nas análises do perfil químico revelaram compostos fenólicos como os ácidos cafeíco e vanílico nos extratos de damasco e ácido vanílico em sementes de abóbora. Os autores sugerem que estas amostras podem ser fontes naturais de antioxidantes.

KHONKARN e colaboradores, (2010) avaliaram a atividade antioxidante das frações acetato de etila e metanol das cascas de rambotã (*Nephelium lappaceum*), coco (*Cocos nucifera*) e mangostão (*Garcinia mangostana*), utilizando os métodos de ABTS e FRAP. Os resultados mostraram que os extratos possuem elevada capacidade antioxidante, considerada maior que a vitamina E, e os autores atribuíram isso à presença de compostos fenólicos nas amostras.

SOONG e colaboradores (2004) determinaram a atividade antioxidante e o total de fenóis dos extratos de sementes de abacate, manga, jaca e tamarindo.

Todas as sementes apresentaram capacidade antioxidante e o teor total de fenóis se mostrou maior que na parte comestível das frutas.

Neste contexto, resíduos gerados da cultura do coco como as cascas, também podem ser aproveitadas por apresentar um grande potencial biológico, mencionado anteriormente no contexto deste trabalho. Alguns estudos com extratos obtidos a partir de fibras das cascas de coco detectaram através de técnicas cromatográficas que estes resíduos possuem flavonoides, ácido ferúlico e compostos fenólicos (ESQUENAZI et al., 2002; DEY et al., 2003; SILVA et al., 2013), esses compostos podem capturar radicais livres, conferindo-lhes potentes características antioxidantes.

Esses dados despertaram interesse no grupo em avaliar a capacidade antioxidante e analisar o perfil químico dos extratos etanólicos das fibras da casca de coco de quatro variedades, visto que a utilização dessas amostras surge como uma fonte alternativa de antioxidantes.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Determinar a capacidade antioxidante, potencial redox e perfil químico dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco (*Cocos nucifera* L. (Palmae)), provenientes do estado de Alagoas.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar o conteúdo total de fenóis e a capacidade redutora dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco das variedades anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido, utilizando os métodos de Folin-Ciocalteu, DPPH', FRAP e CUPRAC;
- ✓ Determinar o poder de inibição da peroxidação lipídica *in vitro* dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco das variedades anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido como índice de proteção de membranas celulares frente ao radical peroxila;
- ✓ Determinar o potencial redox das amostras por meio de investigação eletroquímica;
- ✓ Identificar compostos fenólicos dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco e suas respectivas frações.

## 4 EXPERIMENTAL

### 4.1 Reagentes, solventes e equipamentos

Para o presente trabalho foram utilizados os seguintes reagentes e solventes (Tabela 6).

**Tabela 6 - Reagentes e solventes utilizados no trabalho.**

Reagentes e solventes	Marca
Quercetina, epicatequina, ácidos cafeíco, ferúlico, clorogênico, vanílico, e ascórbico, resveratrol, reagente de Folin-Ciocalteu, DPPH• (2,2- difenil-1-picril-hidrazila), TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-5-tiazina), tris (hidroxi – metil) aminometano, Trolox® (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico), cloreto de cobre (II), ácido clorídrico, neocuproína (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina), acetato de amônio, MWCNT (nanotubos de carbono de paredes múltiplas) e ácido xanturênico.	Sigma Aldrich Brasil Ltda.
Sonda Bodipy C11 <sup>581/591</sup> (ácido 4,4-difluoro-5-(4-fenil-1,3-butadienil)-4-bora-3a,4a-diaza-sindaceno-3-undecanóico).	Molecular Probes (Ontario, Canadá)
Acetonitrila para HPLC, EDTA.	Acros Organics (Brasil)
Metanol, Etanol, Hexano, acetato de etila, ácido gálico e ácido acético glacial.	Vetec Química Fina Ltda (Brasil).
Cloreto férrico hexa-hidratado e acetato de sódio.	CRQ (Cromato Produtos Químicos Ltda)
Carbonato de sódio anidro	Reagen Químibras Indústrias Químicas S.A (Brasil)

Fonte: AUTORA, 2015.

Todos os reagentes são de grau analítico e os tampões foram preparados com água purificada (18 MΩ cm) de um sistema de purificação Milli – Q da Millipore Inc. As vidrarias utilizadas foram de uso exclusivo, sendo lavadas com etanol a 70% (v/v), antes e após a sua utilização.

A Tabela 7 apresenta a lista de equipamentos utilizados no presente trabalho.

**Tabela 7- Equipamentos utilizados.**

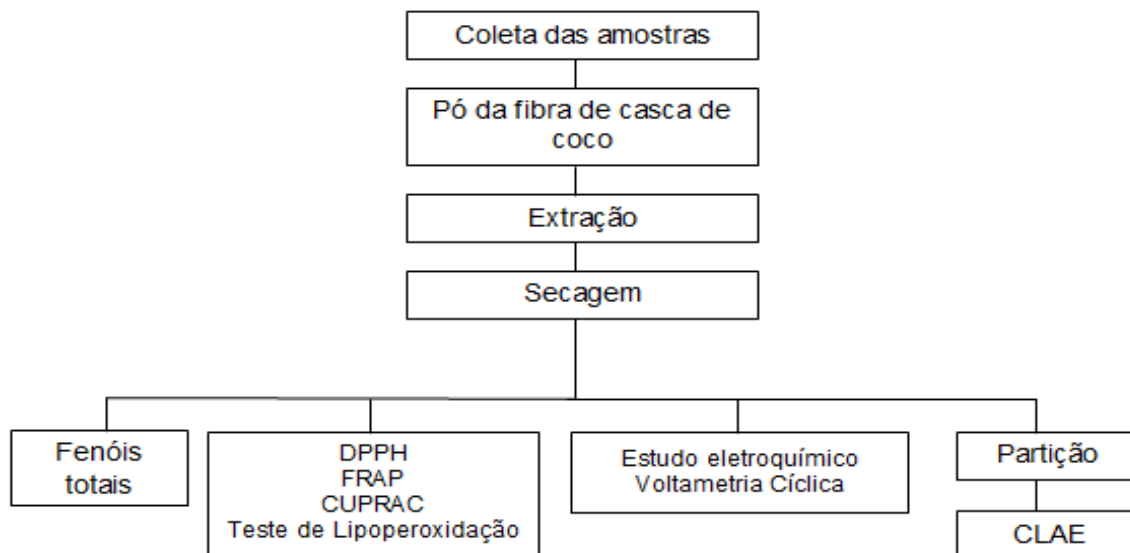
<b>Equipamentos</b>	<b>Marca</b>
Espectrofotômetro UV-vis	Mutispec - 1501 Shimadzu, Japão.
Espectrofluorímetro	Spex Fluorolog - 1681®
Rotaevaporador	BUCHI R-210
Balança analítica (0,01mg / 0,1mg)	Mettler Toledo AG 245
Agitador de soluções	Phoenex AP-56
Ultrassom	Cristófoli
Aquecedor	BiomiXer 78 HW-1
pH metro (0,001 pH e 0,1 mV)	Quimis Aparelhos Científicos LTDA
Potenciostato	PGSTAT – 30 Eco Chemie da AUTOLAB
Estufa	TECNAL – TE – 394/1
HPLC	Shimadzu modelo 20A
Bomba de vácuo	Emerson – Motor Division ST Louis, MO. USA – CASSKXDJW – 2137 CAT

Fonte: AUTORA, 2015.

Os experimentos foram realizados no laboratório de Eletroquímica do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), exceto as análises de peroxidação lipídica que foram realizadas no Laboratório de Radicais Livres e Bioluminescência, localizado no Departamento de Bioquímica da USP.

A Figura 3 mostra a rota experimental utilizada no presente trabalho.

**Figura 3 - Rota experimental simplificada utilizada neste trabalho.**



Fonte: AUTORA, 2015.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Coleta das amostras e preparo dos extratos etanólicos

As fibras da casca das quatro variedades de *Cocos nucifera L.* anão amarelo (maduro), anão verde (fase jovem), gigante (maduro) e híbrido (maduro) foram coletadas em Maceió, Alagoas, Nordeste do Brasil. As plantas foram identificadas pela botânica Rosângela P. L. Lemos e as amostras foram depositadas no herbário do Instituto do Meio Ambiente, Estado de Alagoas, Brasil. As cascas foram processadas (40 °C), secas e transformadas em pó, separadamente. Os extratos etanólicos deste pó (400 g) (Figura 4 (a)) foram preparados por percolação com 6 L de etanol por 72 h, por duas vezes (Figura 4(b)). Os extratos etanólicos foram concentrados, utilizando-se o rotaevaporador (Buchi Rotavapor R-114) (Figura 4 (c)) a 35°C e armazenados em recipiente de vidro e mantidos em refrigeração a 4°C.

**Figura 4 - Pó da fibra de casca de coco (a), Pó da fibra em percolador (b) e concentração do extrato em rotaevaporador (c).**



Fonte: AUTORA, (2015).

#### 4.2.2 Determinação do conteúdo de fenóis totais

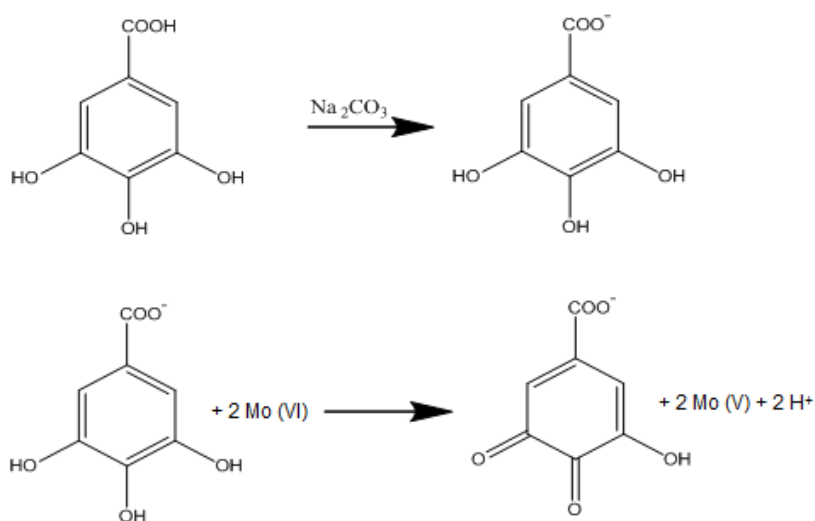
##### 4.2.2.1 Método de Folin – Ciocalteu

O reagente de Folin-Ciocalteu (RFC) consiste de mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstíco, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação (VI) (cor amarela), porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 (V) e 6 (VI) e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras.

A Figura 5 mostra que, em meio básico, o ácido gálico (composto fenólico) é desprotonado gerando o ânion carboxilato. Em uma reação de oxirredução entre o ânion e RFC, o metal sofre redução a Mo (V) e o meio reacional muda de coloração amarela para azul (SINGLETON, ORTHOFER & LAMUELA-RAVENTÓS, 1999; HUANG, Ou & PRIOR, 2005; MACDONALD-WICKS, 2006).



**Figura 5 - Reação do ácido gálico em presença do molibdato, componente do reagente de Folin-Ciocalteu**



Fonte: Adaptado de Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999).

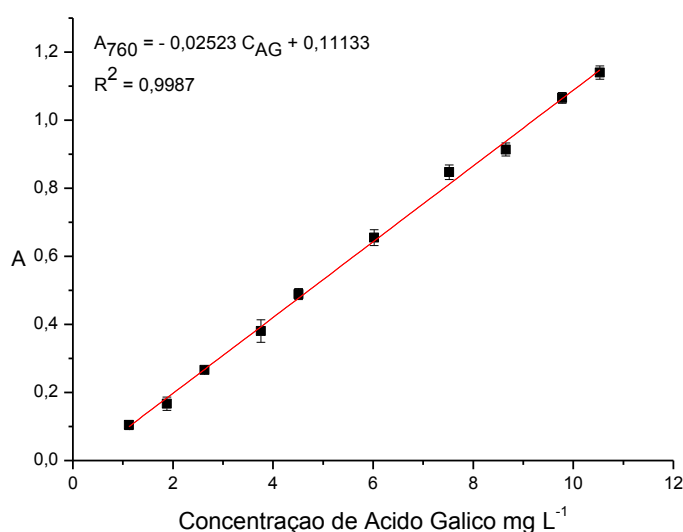
A concentração dos compostos fenólicos dos extratos etanólicos de fibra de casca de coco nas variedades anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido, foi determinada utilizando método do reagente de Folin-Ciocalteu (RFC), como descrito por CICCIO e colaboradores (2009) com algumas modificações. As amostras foram diluídas em etanol ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Em tubos de ensaio foram colocadas alíquotas de  $120 \mu\text{L}$  dos extratos com  $180 \mu\text{L}$  de água Milli Q. Em seguida, foram adicionados,  $300 \mu\text{L}$  de RFC e, após 2 min,  $2,4 \text{ mL}$  de carbonato de sódio a 5% (m/v) totalizando um volume de 3 mL. Os tubos foram agitados em um vórtex e mantidos no escuro em banho-maria a uma temperatura de  $40^\circ\text{C}$  por 20 min. Em seguida, uma alíquota de 3 mL da amostra foi colocada em cubeta de quartzo (capacidade = 3 mL; caminho óptico = 1 cm) e medida a absorvência a 760 nm, usando um espectrofotômetro (UV-vis modelo Mutispec-1501 Shimadzu, Japão). O mesmo procedimento foi realizado utilizando  $120 \mu\text{L}$  de etanol como branco.

#### 4.2.2.2 Preparo da curva analítica com o ácido gálico

Foi preparada uma curva analítica a partir da solução etanólica do padrão de ácido gálico ( $1,12 - 10,53 \text{ mg L}^{-1}$ ), a partir de alíquotas de diferentes volumes de concentrações estabelecidas. A curva analítica foi construída a partir do programa

Origin 8.0 (UFAL), onde foi efetuada a regressão linear e obtida a equação da reta [ $y = a + b.x$ ], relacionando a concentração de ácido gálico e absorvência de cada medida a 760 nm. O conteúdo de fenóis totais foi obtido a partir da curva de calibração (Figura 6) e expresso como massa de equivalentes de ácido gálico por grama do extrato (mg de EAG/g).

**Figura 6 - Curva de analítica com ácido gálico. Medidas em absorvência,  $\lambda = 760$  nm, do complexo formado entre o reagente de Folin-Ciocalteu e o padrão ácido gálico. Experimento realizado em triplicata (N = 3).**

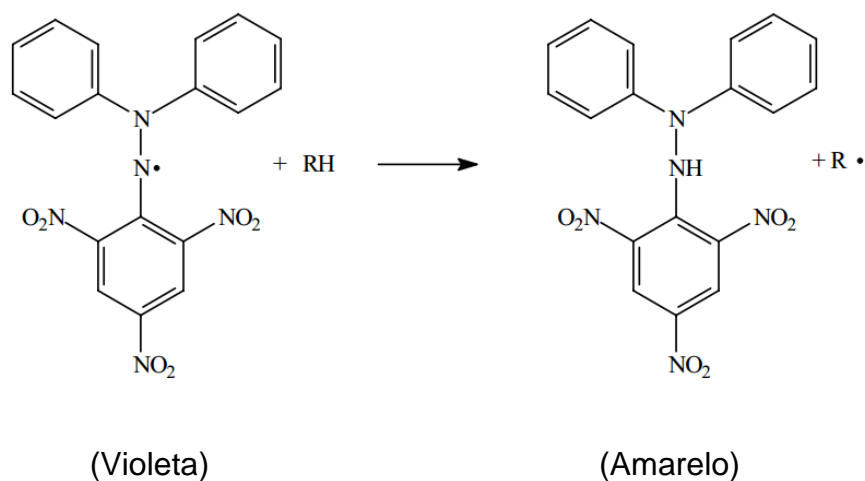


Fonte: AUTORA, 2015.

#### 4.2.3 Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH'

Este método consiste em avaliar a capacidade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH'). A molécula de DPPH' é caracterizada como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula e esse fato confere a esta molécula uma coloração púrpura que absorve em comprimento de onda de 516 nm (OMENA et al., 2012; ALAM et al., 2013). Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R\*), o DPPH\* é reduzido formando 2,2-difenil-picril-hidrazina (DPPH-H) (Figura 7), de coloração amarela, com o conseqüente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorvência (BERTONCELJ et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009).

**Figura 7 - Reação de redução de DPPH' por um antioxidante.**



Fonte: Adaptado de FERREIRA, 2013.

A determinação da capacidade antioxidante dos extratos etanólicos de fibra de casca de coco nas variedades anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido, foi feita de acordo com SAÂNCHEZ-MORENO e colaboradores 1999 com algumas modificações.

A capacidade antioxidante foi determinada monitorando-se a reação entre o radical livre DPPH' e os extratos, através da medida do decréscimo da absorvência a 516 nm, em espectrofotômetro (UV-vis modelo Multispec – 1501 Shimadzu, Japão). O metanol PA foi utilizado como branco.

#### 4.2.3.1 Medidas da capacidade antioxidante das amostras

Soluções etanólicas dos extratos etanólicos de fibras de cascas de coco nas variedades anão amarelo, anão verde, gigante e mestiço foram preparadas na concentração de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ . No preparo das misturas reacionais foram utilizados 0,3 mL da solução da amostra e 2,7 mL da solução metanólica de DPPH', na concentração de  $40 \mu\text{g mL}^{-1}$  e suas medidas de absorvência foram feitas a 516 nm. Primeiramente, fez-se um branco com 0,3 mL da solução do extrato da amostra ou do padrão e 2,7 mL de metanol.

A percentagem da capacidade sequestradora de radicais do DPPH (% RSA - DPPH') de cada extrato foi calculada da seguinte forma, **equação 1**:

$$\% \text{ de RSA} = (1 - A_C / A_D) \times 100, \quad \text{Equação 1}$$

Onde:  $A_C$  é a absorvência da solução quando o extrato foi adicionado a uma concentração particular em 30 min,  $A_D$  é a absorvência da solução de DPPH'. Todas as reações foram realizadas em triplicata.

A  $IC_{50}$  (concentração da amostra ou padrão que causa 50% de inibição da concentração inicial de DPPH) foi obtida graficamente usando uma curva de calibração na faixa linear pela plotação da concentração *versus* o efeito sequestrante correspondente. A  $IC_{50}$  ou I% (porcentagem de inibição) durante 30 min foi calculada segundo Scherer e Godoy (2009), utilizando a **equação 2**:

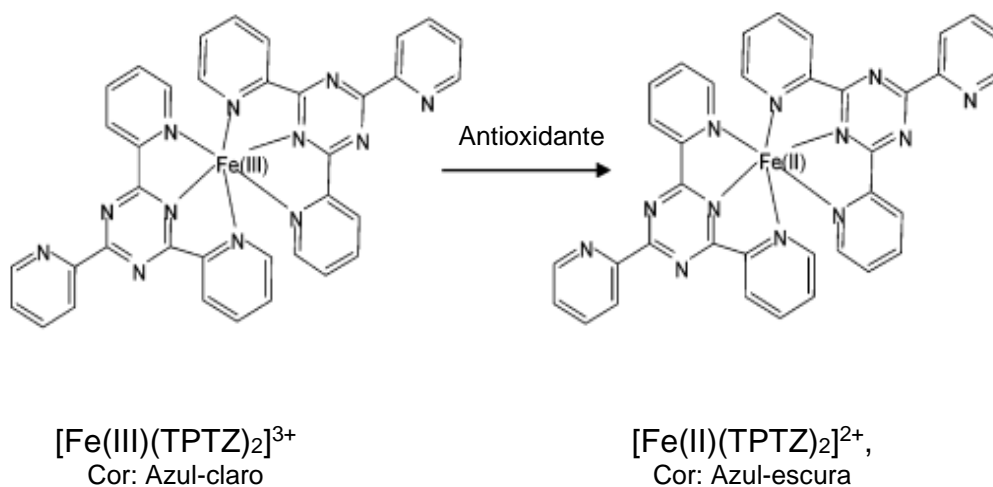
$$I\% = [(Abs_0 - Abs_1) / Abs_0] \times 100, \quad \text{Equação 2}$$

Onde:  $Abs_0$  é a absorvência do controle e  $Abs_1$  é a absorvência na presença do composto de teste. Todas os ensaios foram realizadas em triplicata.

#### 4.2.4 Capacidade antioxidante pelo método de redução de ferro – FRAP.

O método se baseia na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem em meio ácido (pH = 3,6) (BENZIE et al., 1999; RUFINO et al., 2006; SUCUPIRA et al., 2012) o complexo  $[Fe(III)(TPTZ)_2^{3+}]$  para formar Fe(II), coloração azul, em comprimento de onda de 595 nm. A equação relativa ao processo pode ser vista na Figura 8.

**Figura 8 - Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe (III).**



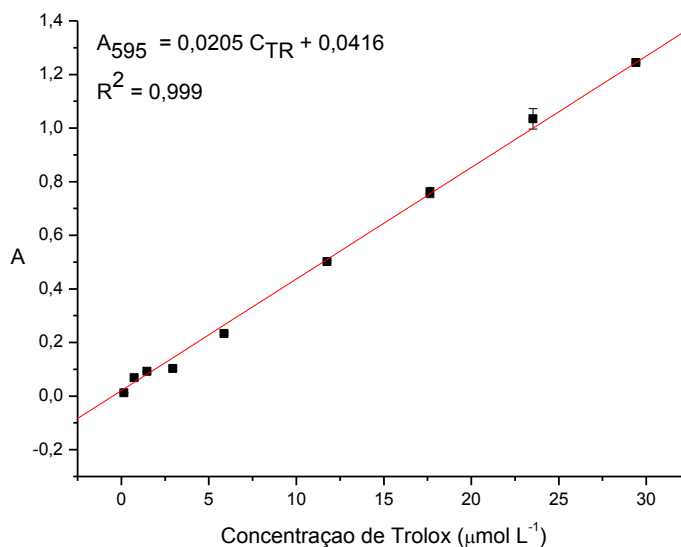
Fonte: HUANG et al., 2005.

Para a determinação da capacidade antioxidante por redução do ferro em extratos etanólicos de fibra de casca de coco nas variedades anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido, foi utilizado o procedimento descrito por (BENZIE et al. 1996), com algumas modificações.

Foram transferidos para um tubo de ensaio uma alíquota de 90  $\mu\text{L}$  de cada diluição das amostras dos extratos etanólicos ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 270  $\mu\text{L}$  de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, que foi preparado no momento da análise através da mistura de 25 mL de tampão acetato ( $300 \text{ mmol L}^{-1}$ , pH 3,6), 2,5 mL solução TPTZ ( $10 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\text{HCl } 40 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e 2,5 mL da solução de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Em seguida, agitaram-se os tubos com tampas em um vórtex e estes foram mantidos em banho-maria a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 30 minutos. As medidas de absorvência foram realizadas em um espectrofotômetro a 595 nm. Utilizou-se o reagente FRAP como branco para calibrar o equipamento.

A curva de analítica (Figura 9) foi preparada com o padrão Trolox ( $0,15 - 30 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalentes trolox (ET)/ g do extrato seco.

**Figura 9 - Curva de analítica de FRAP, Medida em absorvência a  $\lambda = 595$  nm. Experimento realizado em triplicata. (N = 3)**

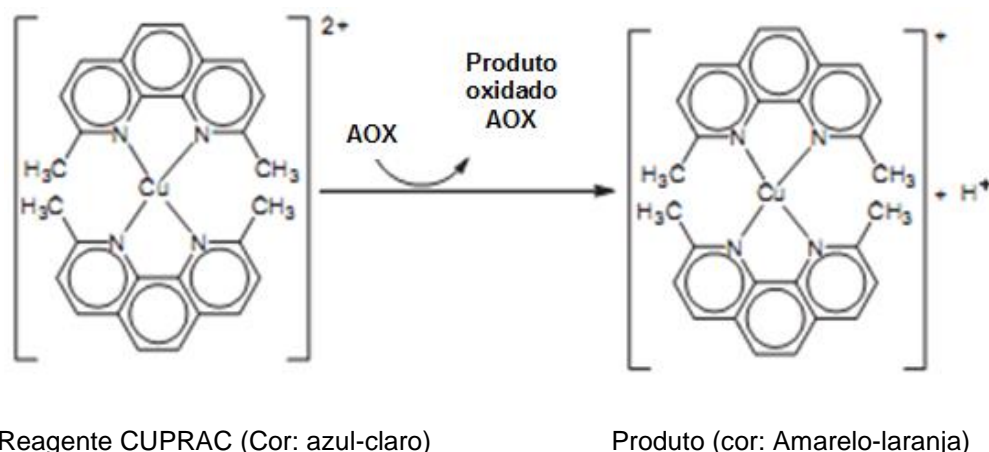


Fonte: AUTORA, 2015.

#### 4.2.5 Capacidade antioxidante pelo método de redução de cobre – CUPRAC

O método se baseia na transferência de elétrons que ocorre na redução de  $\text{Cu(II)}$  a  $\text{Cu(I)}$  por redutores (antioxidantes), e a capacidade antioxidante é mensurada com base na medição da absorção do quelato formado  $\text{Cu(I)}$  e neocuproina (Nc) como resultado da reação redox entre o antioxidante e o reagente CUPRAC,  $\text{Cu(II)}$  e neocuproina (Nc), medindo a absorvência no comprimento máximo de 450 nm, (HUANG et al., 2005; APAK et al., 2007; ÖZYÜREK et al., 2011; OMENA, 2012); A Figura 10 representa a reação que ocorre em solução.

**Figura 10 - Redução do Cu (II) para Cu (I).**



Fonte: ÖZYÜREK et al., 2011.

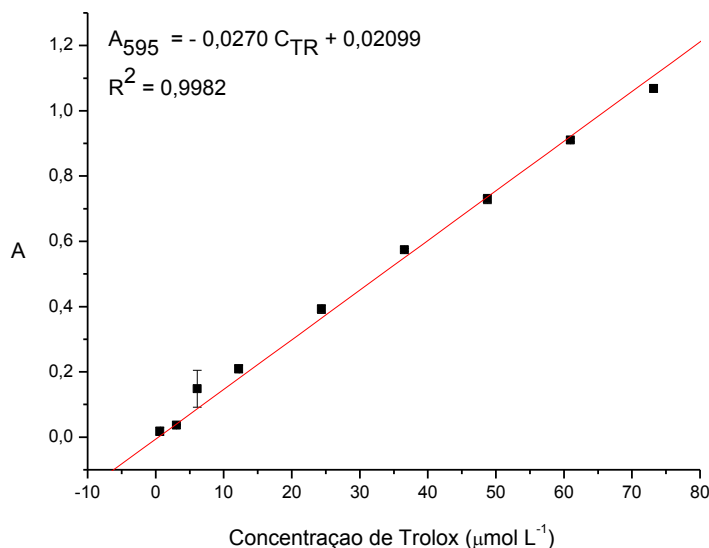
Para a determinação da capacidade antioxidante por redução do cobre em extratos etanólicos de fibra de casca de coco nas variedades anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido foi determinada segundo (APAK et al., 2004), com algumas modificações.

No preparo das misturas reacionais, colocou-se em um tubo de ensaio 1 mL de  $\text{CuCl}_2$  (solução aquosa) ( $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ ), 1 mL de neocuproína (solução etanólica) ( $7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ), 1 mL de tampão  $\text{NH}_4\text{Ac}$  ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ ) e homogenizou-se em vórtex. Em seguida, adicionou-se 500  $\mu\text{L}$  das amostras de extratos etanólicos de fibra de casca de coco ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e 600  $\mu\text{L}$  de água.

As medidas foram realizadas em um espectrofotômetro UV-vis a 450 nm após ter aguardado 1 hora a reação acontecer em temperatura ambiente.

A curva de analítica (Figura 11) foi preparada com trolox ( $0,6 - 73 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) como padrão, e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  equivalentes de trolox / g de extrato seco.

**Figura 11 - Curva de calibração CUPRAC. Medida em absorvência a  $\lambda = 450$  nm. Experimento realizado em triplicata.**



Fonte: AUTORA, 2015.

#### 4.2.6 Avaliação das amostras como inibidoras da lipoperoxidação

A capacidade antioxidante dos extratos etanólicos de fibras de cascas de coco foi avaliada através de um modelo de peroxidação lipídica mediada por um radical peroxila gerado pelo azo composto AAPH, utilizando uma membrana biomimética (lipossomas unilamelares de lecitina de soja) acoplada à sonda fluorescente  $C_{11}$  – BODIPY  $^{581/591}$  que apresenta sensibilidade ao radical peroxila, (OLIVEIRA et al. 2009).

##### 4.2.6.1 Preparação das vesículas unilamelares

Vesículas unilamelares de fosfatidilcolina de soja ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) foram preparadas por extrusão em 10 mL de tampão fosfato ( $50 \text{ mmol L}^{-1}$ , pH 7,4), como descrito por (MACDONALD et al., 1991), com a incorporação adicional da sonda fluorescente  $C_{11}$  – BODIPY  $^{581/591}$  ( $10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ ) em DMSO (DRUMMEN et al., 2002). Durante esta etapa ocorre a formação dos lipossomas multilamelares. A dispersão multilamelar foi obtida através de sistema de extrusão (Figura 12) de membrana tendo 100 nm de diâmetro de poros, a  $25^{\circ}\text{C}$ . Os lipossomas multilamelares foram



passados por 15 vezes no sistema de extrusão, para produzir lipossomas unilamelares marcados com a sonda C<sub>11</sub> – BODIPY<sup>581/591</sup> com diâmetro com 100 nm de diâmetro. O tamanho das partículas foi confirmado por modelo Nanotracs-Zetatrac, NPA 151-31A – D30-10M.

**Figura 12 - Sistema de extrusão de membrana**



Fonte: AUTORA, 2015.

#### 4.2.6.2 Monitoramento da inibição da peroxidação lipídica usando amostras de coco

Este monitoramento foi feito a 37 °C usando um espectrofluorímetro Fluorolog Spex 1681<sup>®</sup>. Em uma cubeta de quartzo de 1 mL foram misturadas quantidades adequadas de vesículas unilamelares, tampão fosfato pH 7,4 e amostra do extrato de coco (concentração final de 10 µg mL<sup>-1</sup>) ou controles positivos (Trolox - 10 µmol L<sup>-1</sup>, vitamina C - 100 µmol L<sup>-1</sup> e resveratrol – 100 µmol L<sup>-1</sup>). O tampão e o etanol foram usados como controle negativo. A reação foi iniciada com adição de 100 µL de AAPH (100 mmol L<sup>-1</sup>). A medida do decaimento da fluorescência ( $\lambda_{\text{excitação}} = 580 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{emissão}} = 600 \text{ nm}$ ) foi realizada em uma cinética de 30 minutos. Foi utilizada como branco, uma solução de 800 µL do lipossoma com a sonda, 100 µL do tampão e 100 µL do AAPH.

#### 4.2.7 Métodos eletroquímicos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados utilizando a técnica de voltametria cíclica (VC). Os experimentos foram realizados em uma cela eletroquímica com um sistema de três eletrodos sendo o eletrodo de referência, um de Ag/AgCl (KCl saturado), um fio de platina como eletrodo auxiliar e um eletrodo de carbono vítreo (BAS, diâmetro 3,0 mm) como eletrodo de trabalho ou um eletrodo de carbono vítreo modificado com ácido poli-xanturênico / nanotubos de carbono de paredes múltiplas, (do inglês *multi-walled carbon nanotubes*, MWCNT). As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato modelo PGSTAT – 30 Eco Chemie da AUTOLAB (Utrecht, Holanda) acoplado a um microcomputador utilizando o software GPES 4.9, e o tratamento posterior dos dados foi realizado por meio do programa Origin 6.0. Tais medidas foram realizadas à temperatura ambiente.

##### 4.2.7.1 Limpeza do eletrodo de carbono vítreo (ECV)

O eletrodo de carbono vítreo passou por uma limpeza manual de polimento para eliminar possíveis impurezas adsorvidas na superfície do eletrodo antes das análises. Este eletrodo foi polido com pasta de diamante Fortel (1/4 micron) e lavado com água; posteriormente foi levado ao ultrassom por 30 s em etanol para remoção das partículas residuais. Após o procedimento de limpeza do eletrodo de carbono vítreo, realizou-se o teste com solução padrão de ferricianeto de potássio ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) / ferrocianeto de potássio ( $K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$ )  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , para verificar a área eletroativa do eletrodo. Em seguida, o eletrodo foi utilizado para avaliar o comportamento eletroquímico dos extratos etanólicos de fibra de casca de coco.

##### 4.2.7.2 Análises dos padrões e amostras usando ECV

Após o procedimento de limpeza, o ECV foi utilizado para avaliar o comportamento eletroquímico de diferentes padrões com capacidade antioxidante e dos extratos etanólicos das fibras da casca do coco.

As soluções etanólicas dos padrões fenólicos foram preparadas na concentração de  $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ , imediatamente antes de sua utilização no estudo eletroquímico em meio prótico, para evitar eventuais instabilidades de fenóis. Destas soluções, retirou-se uma alíquota de  $200 \text{ }\mu\text{L}$  ajustando o volume final para  $4,8 \text{ mL}$  com solução tampão pH 7,0 ( $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ), resultando na concentração de  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  na cela eletroquímica.

Para os extratos etanólicos das fibras da casca do coco, uma solução estoque foi preparada em concentração de  $470 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$  em etanol. A partir desta solução, uma alíquota de  $200 \text{ }\mu\text{L}$  foi misturada com  $4,8 \text{ mL}$  de tampão fosfato pH 7,0, resultando em uma concentração final de  $18,8 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$  na célula eletroquímica. Para as medidas de VC, a faixa de potencial variou de  $-0,2$  a  $+1,20 \text{ V vs. Ag|AgCl|Cl}^{-}$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), e a velocidade de varredura foi de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### 4.2.7.3 Preparação do eletrodo de carbono vítreo modificado (ECV/MWCNT)

O ECV foi polido manualmente com alumina ( $\phi = 1 \text{ }\mu\text{m}$ ), lavado com água Milli-Q, levado ao ultrassom por 30 segundos em etanol e lavado novamente com água. Após o procedimento de limpeza do eletrodo de carbono vítreo, realizou-se o teste com solução padrão de ferricianeto de potássio ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )/ ferrocianeto de potássio ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , para verificar a área eletroativa do eletrodo.

Para a modificação do eletrodo de carbono vítreo com MWCNT, em um eppendorf foram pesados  $2 \text{ mg}$  de MWCNT e adicionado  $1 \text{ mL}$  de DMF, agitado e deixado por  $2 \text{ h}$  no ultrassom para a completa dispersão,  $10 \text{ }\mu\text{L}$  da dispersão de MWCNT em DMF foram depositadas sobre a superfície do ECV em alíquotas de  $1 \text{ }\mu\text{L}$ , sempre esperando secar a  $80^\circ\text{C}$  em estufa para adição da alíquota seguinte (SILVA et al., 2010).

Antes do procedimento de ativação do ECV/MWCNT com ácido xanturênico (AX), primeiramente foi feita uma solução do ácido xanturênico onde  $6,1 \text{ mg}$  do mesmo foram misturados com  $450 \text{ }\mu\text{L}$  de NaOH ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e  $550 \text{ }\mu\text{L}$  de água Milli-Q. Após essa etapa, o eletrodo de ECV/MWCNT preparado, foi lavado com água Milli-Q e colocado numa cela eletroquímica em uma solução tampão fosfato pH 5,5 ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) onde foram realizadas varreduras sucessivas utilizando a técnica de

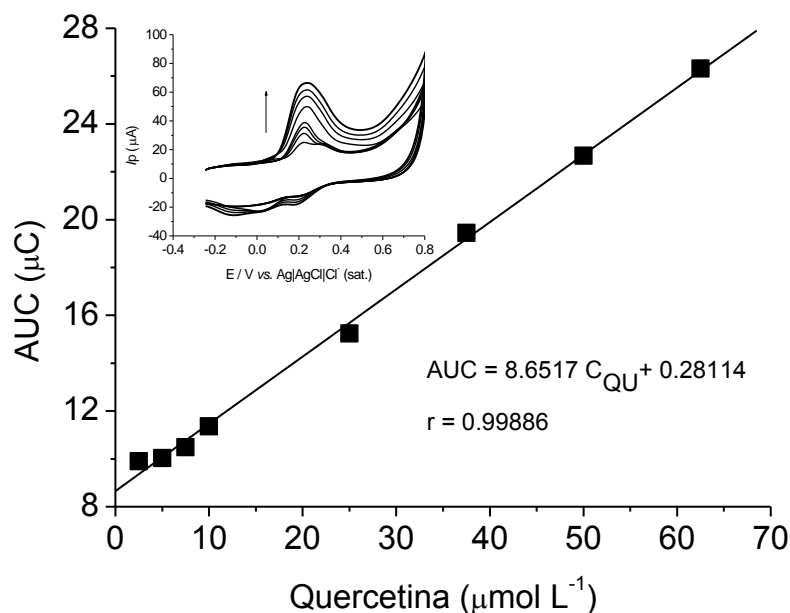
voltametria cíclica a  $50 \text{ mV s}^{-1}$  numa faixa de potencial  $-0,5$  a  $1,0 \text{ V}$  vs  $\text{Ag|AgCl|Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), este resultado foi chamado de branco. Antes da etapa de polimerização, a solução tampão foi desaerada por 10 min. Após esta etapa  $100 \mu\text{L}$  de AX foram adicionados nesta célula (resultando em uma concentração de  $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ , desaeração por 3 min), e 10 ciclos foram feitos nas condições já mencionadas, esta etapa foi chamada de polimerização do A, obtendo assim o ECV/MWCNT/poli-AX.

#### 4.2.7.3.1 Análise das amostras usando eletrodo de carbono vítreo modificado (ECV/MWCNT)

Antes da análise das amostras foi realizado um branco do eletrodo de carbono modificado em  $5,0 \text{ mL}$  de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0 numa faixa de potencial  $-0,2$  a  $+1,2 \text{ V}$  vs  $\text{Ag|AgCl|Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) a  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .  $200 \mu\text{L}$  da solução estoque da amostra foram misturados com  $4,8 \text{ mL}$  de tampão fosfato pH 7,0, resultando numa concentração de  $190 \mu\text{g mL}^{-1}$  na célula eletroquímica. Para as medidas de VC, a faixa de potencial variou de  $-0,2$  a  $+1,20 \text{ V}$  vs.  $\text{Ag|AgCl|Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ).

Uma curva padrão de AUC (*area under the curve*) vs concentração de Quercetina ( $2,5 - 62,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) foi feita utilizando ECV/MWCNT/poli-AX, numa faixa de potencial de  $-0,25$  a  $+0,80 \text{ V}$  a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , (Figura 13) visando expressar os resultados dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco como mg de equivalentes de quercetina (EQ) por g de extrato seco ( $\text{mg EQ g}^{-1}$  extrato seco).

**Figura 13 - Curva de calibração de valores de AUC obtido para quercetina via VC (2,5 - 62,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em (ECV/MWCNT/poli-AX) em 50  $\text{mV s}^{-1}$  em tampão fosfato 0,2  $\text{mol L}^{-1}$ , pH 7,0. Insert: VC em diferentes concentrações de Quercetina.**



Fonte: AUTORA, 2015.

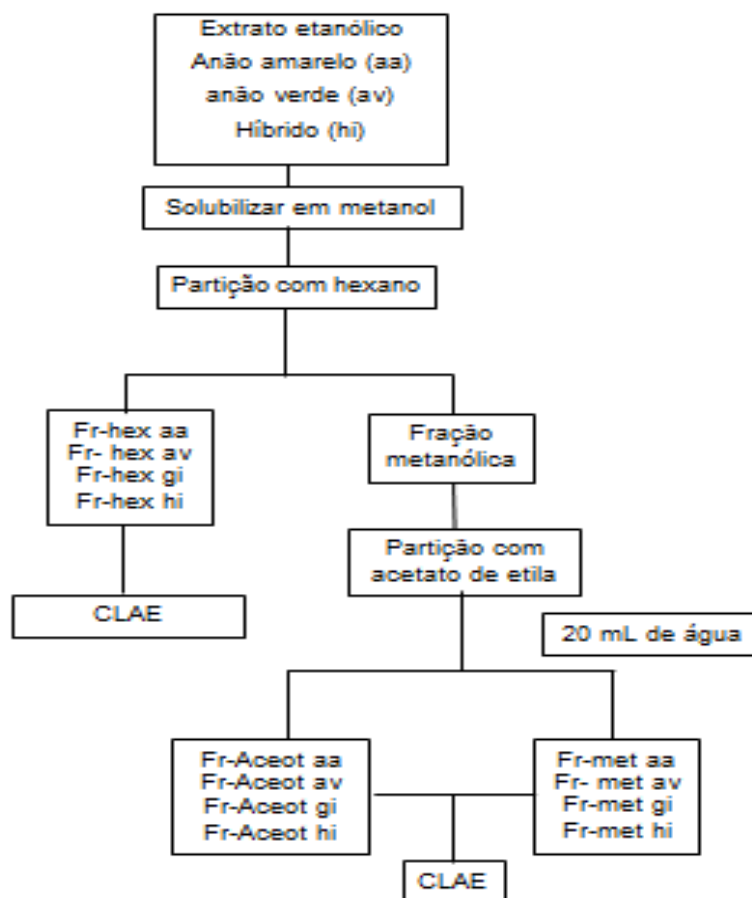
#### 4.2.8 Identificação de compostos fenólicos

##### 4.2.8.1 Fracionamento dos extratos etanólicos das fibras das cascas do coco

Os extratos etanólicos das fibras das cascas de coco das variedades anão verde, anão amarelo, híbrido e gigante, foram solubilizados em metanol e seus componentes foram submetidos a um fracionamento utilizando a técnica de extração líquido - líquido com solventes de polaridades diferentes. A partição foi realizada em um funil de separação, utilizando os solventes hexano e acetato de etila, obtendo-se as frações hexânica (Fr-Hex), acetato de etila (Fr-Aceot) e hidrometanólica (Fr-Hmet). Todas as frações foram concentradas em um rotaevaporador, a 50 °C.

A Figura 14 apresenta o fluxograma com a rota experimental do fracionamento dos extratos etanólicos das fibras da casca de coco de quatro variedades.

Figura 14 - Rota experimental do fracionamento dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco.



Fonte: AUTORA, 2015.

#### 4.2.8.2 Análise das amostras usando CLAE – UV/DAD

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas de acordo com PENG et al., 2001, com algumas modificações. Neste trabalho, a técnica de CLAE foi utilizada para a identificação de compostos fenólicos nos extratos etanólicos das fibras da casca de coco anão amarelo, anão verde, gigante, híbrido e nas frações das variedades de coco anão amarelo (aa), anão verde (av), gigante (gi) e híbrido (hi) obtidas a partir do fracionamento mencionado anteriormente. Após estabelecer a metodologia utilizada com os extratos etanólicos, foram feitos vários testes com as frações e observou-se que as frações acetato de etila (Fr-Aceot) das quatro variedades de coco, dentre as outras, foram as que apresentaram melhores separações. Então se resolveu usar estas frações como as de trabalho. A identificação foi realizada a partir da comparação dos tempos de

retenção dos padrões fenólicos (ácidos cafeíco, clorogênico, gálico, ferúlico e vanílico, catequina, epicatequinas, epigallocatequina, quercetina) e amostras.

Nos procedimentos, primeiramente foi preparado o solvente A da fase móvel: (água purificada Milli-Q acidificada com ácido acético a 0,1% (v/v)), filtrado em bomba de vácuo e armazenado em recipiente de vidro, o solvente B utilizado foi a acetonitrila grau CLAE.

Para o preparo das amostras, soluções dos extratos etanólicos e Fr-Aceot das quatro variedades de coco em concentração de 4 mg / 0,5 mL foram solubilizadas em 250 µL do solvente A e 250 µL do solvente B da fase móvel. Em seguida foram filtradas com o auxílio de microfiltro e seringa de vidro. Para o preparo das soluções dos padrões fenólicos (0,10 mg / 0,5 mL) os procedimentos foram os mesmos mencionados para as amostras. Após esta etapa 20 µL de cada solução (amostras e padrões) foram injetados em Cromatógrafo Shimadzu, modelo – 20A, em triplicata.

A Tabela 8 apresenta as condições utilizadas para as análises das amostras e padrões fenólicos por CLAE.

**Tabela 8 - Condições de análises por CLAE – UV/DAD.**

(continua)

Dados	Condição
Coluna	RP C18 (250 mm x 4,6 mm)
Vazão	0,4 min/mL
Temperatura	30°C
Comprimento de onda	280 nm
Detector	Uv – vis
Volume de injeção	20 µL
Fase móvel	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>gradiente A:</b> água purificada Milli-Q acidificada com ácido acético a 0,1% (v/v)</li> <li>• <b>gradiente B:</b> acetonitrila</li> </ul>

**Tabela 8 - Condições de análises por CLAE – UV/DAD.**

(conclusão)

Dados	Condição
<b>Sistema de gradiente</b>	15 min – 15% de B
	40 min – 17% de B
	55 min – 20% de B
	60 min – 15% de B

Fonte: AUTORA, 2015.

#### 4.2.9 Análises estatísticas

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada amostra e os resultados foram expressos como médias e seus desvios padrões. Foram realizadas análises de variância e teste de média usando teste de Tukey para comparação das amostras estudadas. Teste de correlação de Pearson foi realizado para determinar as correlações entre os métodos. A análise estatística foi realizada utilizando SAEG 9.1 (Sistema para Análise Estatística, MG, Brasil).



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Conteúdo de fenóis totais (CTF) e métodos de avaliação de capacidade antioxidante DPPH<sup>•</sup>, FRAP e CUPRAC.

Ácidos fenólicos, flavonoides e outros compostos de origem vegetal e animal, apresentam atividade antioxidante e estão largamente distribuídos na natureza. Estes compostos bioativos também estão presentes em resíduos gerados na agroindústria e podem ser utilizados como fontes naturais atrativas de antioxidantes (CONTRERAS-CALDERON et al., 2011).

Devido à natureza estrutural complexa e diversificada dos fitoquímicos, a atividade antioxidante do fruto, extrato de semente, polpa e casca não pode ser avaliada por um único método, visto que não existe um procedimento metodológico universal. Vários ensaios têm sido desenvolvidos para a avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas, envolvendo desde ensaios químicos com substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais (ALVES et al., 2010).

Em nossos experimentos, foi avaliado o conteúdo total de fenóis (CTF), usando o método do reagente Folin Ciocalteu (FC), a determinação da capacidade antioxidante por métodos DPPH<sup>•</sup>, FRAP, CUPRAC, juntamente com a estimativa de inibição da peroxidação lipídica em um sistema de membrana biomimético e ainda a determinação do potencial redox por meios de ensaios eletroquímicos.

A Tabela 9 mostra os resultados de CTF, DPPH, FRAP e CUPRAC obtidos a partir de extratos etanólicos da fibra de casca de coco nas variedades anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido.

A quantificação de compostos fenólicos foi realizada por meio do método de Folin-Ciocalteu. Dentre uma variedade de métodos para a quantificação desses compostos, o método de Folin-Ciocalteu é o mais empregado, por ser simples e reprodutível (OLIVEIRA et al., 2009). De acordo com a Tabela 9, o conteúdo total de fenóis para os extratos etanólicos das fibras de casca de coco variou de 58 a 531 mg EAG g<sup>-1</sup> em extrato seco.

Os extratos das variedades híbrido e anão amarelo foram os que mais se destacaram com valores de 531 e 501 mg EAG g<sup>-1</sup> de extrato seco, respectivamente.

A variedade gigante apresentou um valor intermediário entre as amostras com  $420 \pm 20$  mg EAG/ g de extrato seco, enquanto que a variedade anão verde foi a que apresentou o valor mais baixo dentre as variedades estudadas com  $58 \pm 9$  mg EAG/ g em extrato seco.

**Tabela 9 - Conteúdo total de fenóis (CTF), DPPH<sup>•</sup>, FRAP e CUPRAC dos extratos etanólicos da fibra de casca de coco das quatro variedades de *C. nucifera* L<sup>1</sup>.**

Variedades	CTF mg EAG*g <sup>-1</sup> extrato seco	DPPH <sup>•</sup>		FRAP (µmol ET/g extrato seco)	CUPRAC (µmol ET/g extrato seco)
		RSA%**	IC <sub>50</sub> ( µg mL <sup>-1</sup> )		
<b>Anão Amarelo</b>	501 ± 29 <sup>a</sup>	72,3 ± 5,6 <sup>ab</sup>	8,6 ± 0,4	2687 ± 154 <sup>b</sup>	4445 ± 126 <sup>c</sup>
<b>Anão Verde</b>	58 ± 9 <sup>c</sup>	18,2 ± 1,6 <sup>c</sup>	59,7 ± 0,5	125 ± 4 <sup>d</sup>	507 ± 22 <sup>d</sup>
<b>Gigante</b>	420 ± 20 <sup>b</sup>	81,7 ± 4,2 <sup>a</sup>	11,0 ± 0,8	3286 ± 38 <sup>a</sup>	5416 ± 149 <sup>a</sup>
<b>Híbrido</b>	531 ± 24 <sup>a</sup>	67,3 ± 0,4 <sup>b</sup>	9,1 ± 0,5	2464 ± 21 <sup>c</sup>	4989 ± 38 <sup>b</sup>

\*Equivalentes de ácido gálico. \*\* Percentagem de habilidade em sequestrar radical DPPH radical em 30 min. \*\*\* equivalente de Trolox (ET). Médias com letras diferentes em uma mesma coluna são diferentes significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey

A discrepância entre o valor encontrado para a variedade anão verde em relação às outras variedades presentes (Tabela 9) pode ser explicada pelo fato de que diversos fatores podem influenciar na composição dos frutos tais: como crescimento, maturidade, condição de colheita, e também os fatores climáticos (temperatura e umidade) e região de cultivo (KIM et al., 2003).

DEY e colaboradores (2003) avaliaram o conteúdo total de fenóis do extrato etanólico da casca de coco maduro e encontraram um valor de cerca de 13 mg EAG/ g de extrato seco. Nota-se que este valor é considerado baixo em relação aos valores descritos na Tabela 9. Isto pode estar relacionado com o tipo de processamento realizado para a obtenção da amostra. Yu e colaboradores (2005)

demonstraram os efeitos dos métodos de remoção (descamação direta, branqueamento e torrefação) e os solventes de extração (água, etanol, metanol) sobre os compostos fenólicos de pele de amendoim, encontrando uma variação de 90 - 125 mg total de fenólicos g<sup>-1</sup>. ANDRADE e colaboradores (2012) analisaram o teor de fenóis totais em extratos da casca de café obtidos por extração com fluido supercrítico com CO<sub>2</sub> e com CO<sub>2</sub> e co-solvente, e observaram valores maiores para os extratos obtidos pelo segundo processo de extração com (61 – 151 mg EAG g<sup>-1</sup> extrato seco).

Para fins de comparação, a Tabela 10 apresenta alguns estudos realizados para determinar o conteúdo total de fenóis em resíduos de casca de frutas, polpas e sementes e cereais, no sentido de obter novas fontes desses compostos.

**Tabela 10 - Valores para conteúdo total de fenóis em pele, cascas, sementes, e resíduos de frutas registrados na literatura.**

<b>Amostras</b>	<b>Valores de CTF (mg EAG/ g de extrato seco)</b>	<b>Referências</b>
Extrato hidrometanólico de casca de jabuticaba	30,24 ± 1,37	GURAK et al., 2014
Extrato hidrometanólico de bagaço de Jabuticaba	43,39 ± 4,45	GURAK et al., 2014
Extrato hidroetanólico da casca de abacate	63,5 ± 7,2	DIAUTO et al., 2014
Extrato hidroetanólico da casca de abacaxi	2,40 ± 0,06	INFANTE et al., 2013
Extrato hidroetanólico cascas de maracujá	3,34 ± 0,24	INFANTE et al., 2013
Extrato metanolico de cascas de umbu	52,5 ± 5,9	OMENA et al. 2012
Extrato metanolico de cascas de jenipapo	187,7 ± 11,3	OMENA et al. 2012
Extrato metanolico de cascas de seriguela	112,2 ± 13,2	OMENA et al. 2012
Extrato metanolico de resíduos de maçã	52,18 ± 4,80	PERCHEL et al., 2006
Extrato metanolico de farinhas de resíduos de acerola	94,59 ± 7,44	OLIVEIRA et al, 2009
Extrato metanolico farinhas de resíduos de maracujá	41,24 ± 4,16	OLIVEIRA et al, 2009

Fonte: AUTORA, 2015

A partir da comparação entre os valores dos trabalhos mencionados realizados com cascas, sementes e resíduos de frutas, observou-se que os valores encontrados para a maioria dos extratos das fibras das cascas de coco foram superiores e que essas fibras possuem grande potencial para servirem como fontes de compostos bioativos. Entretanto, vale ressaltar que o reagente de Folin-Ciocalteu não é seletivo para compostos fenólicos, pois este pode sofrer ação de interferentes, como compostos não fenólicos, tipo o ácido ascórbico. Diante disso faz-se necessária a aplicação de outros métodos para a confirmação da capacidade antioxidante.

O ensaio de DPPH<sup>•</sup> é comumente empregado na verificação da habilidade de sequestro de radicais por antioxidantes presentes em frutas, vegetais, bebidas dentre outros (PRIOR et al., 2005). Este ensaio foi utilizado na determinação da capacidade antioxidante das presentes amostras. Os resultados observados para a atividade sequestradora de radical DPPH<sup>•</sup> dos extratos etanólicos das fibras das cascas de coco de quatro variedades (Tabela 9), mostraram uma variação de (18,2 - 81,7%). Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) foi observada entre os extratos analisados, e a ordem de capacidade de sequestro do radical pelos extratos etanólicos foi de gigante > anão amarelo > híbrido > anão verde.

Os valores de capacidade antioxidante necessários para diminuir a concentração inicial de DPPH<sup>•</sup> em 50 % denominado (IC<sub>50</sub>), dos extratos etanólicos das fibras de cascas de coco de quatro variedades, mostraram variação de 8,6 – 55,7 µg mL<sup>-1</sup>, e se apresentaram na seguinte ordem de potencial antioxidante: anão amarelo > híbrido > gigante > anão.

É possível inferir que os extratos etanólicos de quatro variedades de coco apresentam alta eficácia como sequestradores de radicais livres, pois, de acordo com RODRIGUES, (2012) quanto maior o consumo de DPPH<sup>•</sup> por uma amostra menor será seu IC<sub>50</sub> e maior será a sua capacidade antioxidante.

A Tabela 11 apresenta os valores de IC<sub>50</sub> obtidos nesse trabalho em comparação com alguns estudos encontrados na literatura utilizando o DPPH<sup>•</sup> para determinação de IC<sub>50</sub> em extrato de fibra da casca de *C. nucifera*.

**Tabela 11 - Valores de IC<sub>50</sub> do presente trabalho e de alguns estudos encontrados na literatura para as fibras de casca de *C. nucifera*.**

Amostras	Valores de IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Referências
Anão amarelo	8,6 $\pm$ 0,4	Presente trabalho
Anão verde	59,7 $\pm$ 0,5	Presente trabalho
Gigante	11,0 $\pm$ 0,8	Presente trabalho
Híbrido	9,1 $\pm$ 0,5	Presente trabalho
Extrato aquoso da casca da fibra da casca de <i>Cocos nucifera</i> (variedade <i>typica</i> )	10,0 $\pm$ 0,7	ALVIANO et al., 2004
Extrato etanólico mesocarpo de <i>Cocos nucifera</i> na Fase jovem	32,3 $\pm$ 0,6	CHAKRABORTY et al., 2008 CHAKRABORTY et al., 2008
Fase madura	45,4 $\pm$ 0,4	CHAKRABORTY et al., 2008
Fase avançado	90,2 $\pm$ 0,3	

Fonte: AUTORA, 2015.

A partir de comparação entre os valores de IC<sub>50</sub> obtidos no presente trabalho, e dos trabalhos encontrados na literatura, observou-se que os extratos do presente trabalho obtiveram maior capacidade antioxidante, pois apresentaram menores valores de IC<sub>50</sub>.

NASIMUNISLAM e colaboradores (2013) determinaram a atividade antioxidante com o método de DPPH do extrato aquoso da casca de *C. nucifera* L., em concentrações entre 0,1 - 5 mg mL<sup>-1</sup> e compararam com o padrão ácido ascórbico. Obtiveram 100% de inibição na concentração de 1 mg mL<sup>-1</sup>.

Silva e colaboradores (2013) utilizaram o método de DPPH para a avaliação da atividade antioxidante em extrato aquoso de *C. nucifera* L. variedade *typica* (conhecida como gigante) e compararam os valores obtidos de IC<sub>50</sub> com os padrões quercetina, rutina e ácido ascórbico. Observaram que o extrato aquoso de *C. nucifera* apresentou um potencial antioxidante próximo à atividade antioxidante dos padrões ácido ascórbico e rutina, e um valor maior comparado ao padrão quercetina.

No presente trabalho as amostras que apresentaram alto conteúdo de fenóis totais puderam mostrar baixos valores de IC<sub>50</sub>, confirmando que os fenóis são

susceptíveis a ter uma contribuição importante para a capacidade antioxidante dos extratos.

A capacidade antioxidante dos extratos etanólicos das fibras da casca de coco de quatro variedades, também foi avaliada usando os métodos de FRAP e CUPRAC. A capacidade antioxidante dos extratos variou com o tipo de extrato analisado e a metodologia aplicada. Os resultados expressos na Tabela 9 mostram os valores obtidos para o ensaio FRAP que variaram de 125 – 3286  $\mu\text{mol trolox/g}$  de extrato seco e os valores obtidos para o ensaio CUPRAC apresentaram uma variação de 507 – 5416  $\mu\text{mol trolox/g}$  de extrato seco. Os dados revelam que dentre os extratos etanólicos analisados, o extrato da variedade gigante foi o que se destacou com a maior capacidade para reduzir Fe (III) a Fe (II) e Cu (II) para Cu (I). O extrato da variedade anão amarelo apresentou potencial redutor intermediário para o ensaio FRAP, enquanto que para o ensaio de CUPRAC foi o extrato da variedade híbrido; a variedade anão verde foi a que apresentou o menor poder redutor em ambos os métodos.

Ambos os métodos são baseados no poder de redução de metais, entretanto observa-se que a maioria dos valores obtidos com o CUPRAC são maiores que aqueles obtidos com FRAP (realizado em meio neutro). Isto pode ter ocorrido devido ao método de CUPRAC apresentar sensibilidade para medir simultaneamente antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos (APAK et al., 2008) e ser realizado em pH neutro, onde as características antioxidantes ficam mais evidentes. Quanto maior o valor do pH, maior a tendência de dissociação de ácidos e fenóis, com o aumento da carga negativa e facilitação da saída de elétrons (oxidação).

Trabalhos com extratos de cascas, sementes, polpas de frutas, e farinhas alimentícias têm utilizado estes métodos para a determinação da capacidade antioxidante dessas amostras. Ambos os métodos apresentam vantagens para as suas aplicações tais como: simples execução e não necessidade de equipamentos sofisticados, dentre outros.

A Tabela 12 apresenta valores de FRAP e CUPRAC encontrados na literatura para amostras de cascas, sementes, polpas de frutas e farinhas alimentícias.

**Tabela 12 - Valores de FRAP e CUPRAC para cascas, sementes, polpas de frutas e farinhas alimentícias encontrados na literatura.**

<b>Amostras</b>	<b>Valores de FRAP (<math>\mu\text{mol ET / g extrato seco}</math>)</b>	<b>Valores de CUPRAC (<math>\mu\text{mol ET / g extrato seco}</math>)</b>	<b>Referências</b>
Extrato metanólico de casca de jenipapo	710 $\pm$ 0,06	1320 $\pm$ 0,05	OMENA et al. 2012
Extrato metanólico de polpa de seriguela	280 $\pm$ 0,09	370 $\pm$ 0,01	OMENA et al. 2012
Extrato metanólico de polpa de jenipapo	1020 $\pm$ 0,11	1040 $\pm$ 0,13	OMENA et al. 2012
Extrato metanólico de farinha de linhaça	43 $\pm$ 1	325 $\pm$ 74	HERCULANO, 2014
Extrato metanólico de farinha de milho	99 $\pm$ 1	583 $\pm$ 44	HERCULANO, 2014
Extrato metanólico de farinha de soja	102 $\pm$ 6	597 $\pm$ 14	HERCULANO, 2014
Extrato metanólico de farinha de girassol	1242 $\pm$ 34	1668 $\pm$ 42	HERCULANO, 2014
Extrato metanólico de farinha de Açafrão ( <i>Curcuma longa</i> )	945 $\pm$ 60	1738 $\pm$ 51	HERCULANO, 2014

Fonte: AUTORA, 2015.

A partir da comparação entre os valores de FRAP e CUPRAC obtidos para as amostras do presente trabalho apresentados na Tabela 9 com os valores dos trabalhos encontrados na literatura (Tabela 12), observa-se que os extratos do presente trabalho apresentaram valores superiores aos resíduos de frutas e de farinha alimentícias.

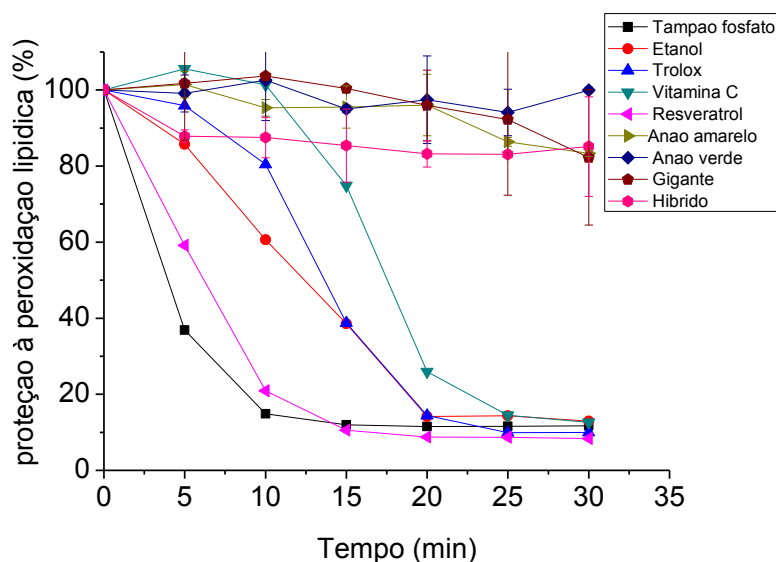
De modo geral, baseado nos resultados obtidos para estes extratos com os métodos descritos, observa-se que as variedades híbrido, anão amarelo e gigante foram as que apresentaram os maiores teores de fenóis totais, visto que a presença dos compostos fenólicos em uma amostra está relacionado ao seu poder antioxidante. Verificou-se que os extratos dessas variedades também foram os que apresentaram a maior capacidade antioxidante, alternando apenas a ordem entre eles no poder de redução que variou com o tipo de método aplicado. O extrato anão verde foi o que apresentou o menor teor de fenóis total, e conseqüentemente a menor capacidade antioxidante dentre as amostras.

## 5.2 Inibição da lipoperoxidação

A capacidade antioxidante das amostras foi também avaliada usando uma membrana (lipossomas unilamelares de lecitina de soja) como modelo para peroxidação lipídica mediada por radical peroxila. Uma sonda fluorescente sensível a este radical foi usada, a  $C_{11}$ -BODIPY<sup>581/591</sup> (OLIVEIRA et al., 2009). Este sistema de quebra de lipossoma induzida por radicais é útil para estudar danos oxidativos e proteção por antioxidantes.

A Figura 15 mostra a proteção à peroxidação lipídica (%) em função do tempo (total 30 min) dos extratos etanólicos da fibra da casca do coco das quatro variedades ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e em comparação com os controles positivo e negativo.

**Figura 15 - Proteção à peroxidação (%) fornecida pelos extratos etanólicos das quatro variedades ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e controles positivos em várias concentrações (trolox  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ , vitamina C  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  e resveratrol  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Controles negativos foram tampão fosfato e etanol. Lipossoma mais  $C_{11}$ -BODIPY<sup>581/591</sup> foram adicionadas em todos os experimentos.**



Fonte: AUTORA, 2015.

Os resultados indicaram que todos os extratos etanólicos de quatro variedades do coco protegeram a membrana, fornecendo mais que 95% de proteção em 30 min. Este resultado foi melhor do que aqueles obtidos com os controles positivos (Trolox -  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; vitamina C -  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  e resveratrol -  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). É possível observar também que a variedade anão verde apresentou um



desempenho similar aos das outras variedades, em contraste com os resultados obtidos para os métodos DPPH<sup>\*</sup>, FRAP e CUPRAC. Assim, compostos antioxidantes diferentes podem contribuir para a capacidade antioxidante total em uma amostra complexa.

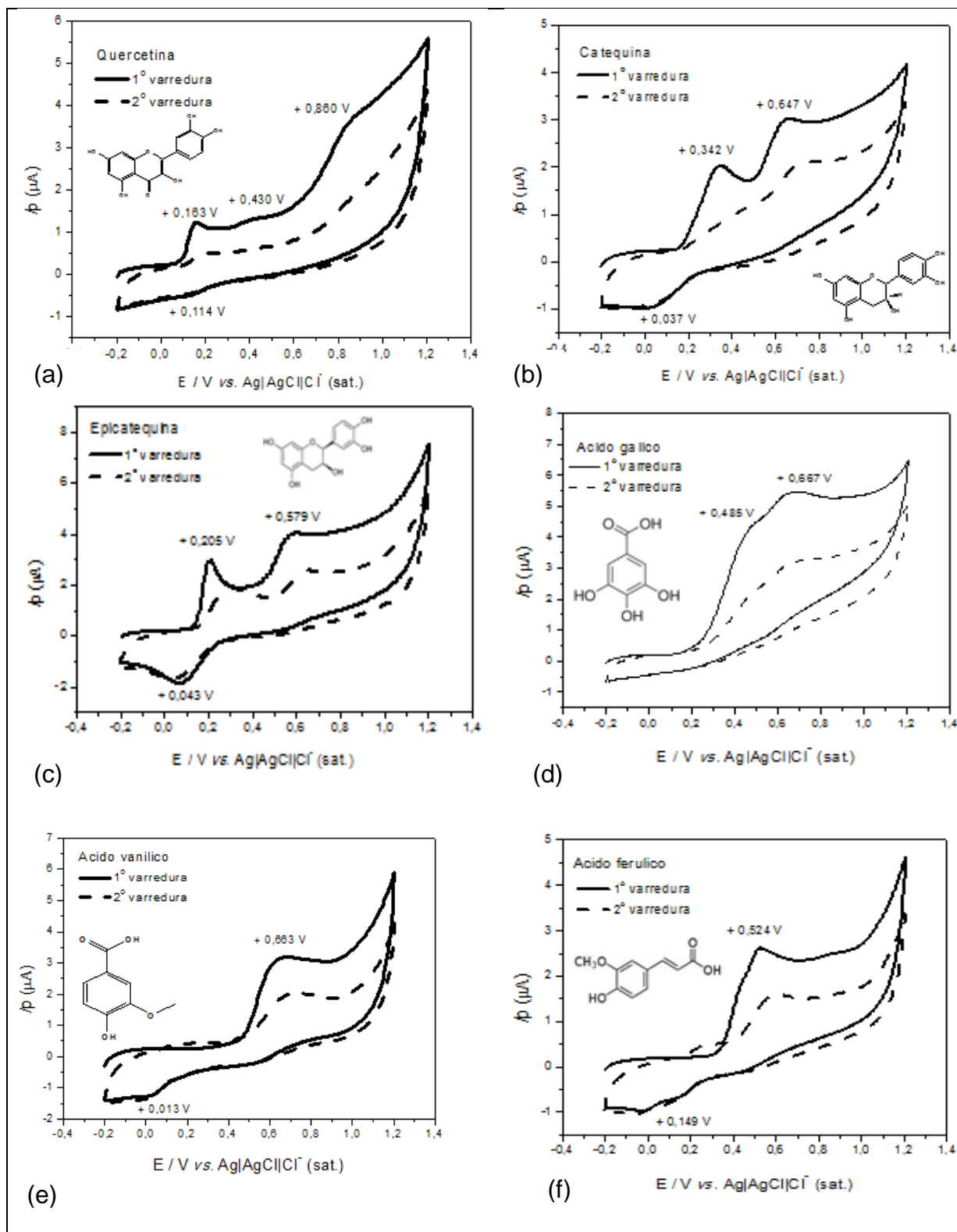
Uma tendência semelhante foi observada em casca de soja. TYUG e colaboradores, (2010) determinaram a composição aproximada, capacidade antioxidante, teor de fenólicos totais, isoflavonas e compostos fenólicos livres no subproduto da soja, leite em pó da soja A (GASP), leite em pó da soja B (GBSP) e da casca de soja em pó (SHP). Eles observaram que a SHP exibiu uma das maiores capacidades antioxidantes para o ensaio de  $\beta$ -caroteno, e o pior desempenho para os ensaios de ABTS e FRAP e o principal composto fenólico, na forma livre, foi o ácido ferúlico, predominante em todos os extratos.

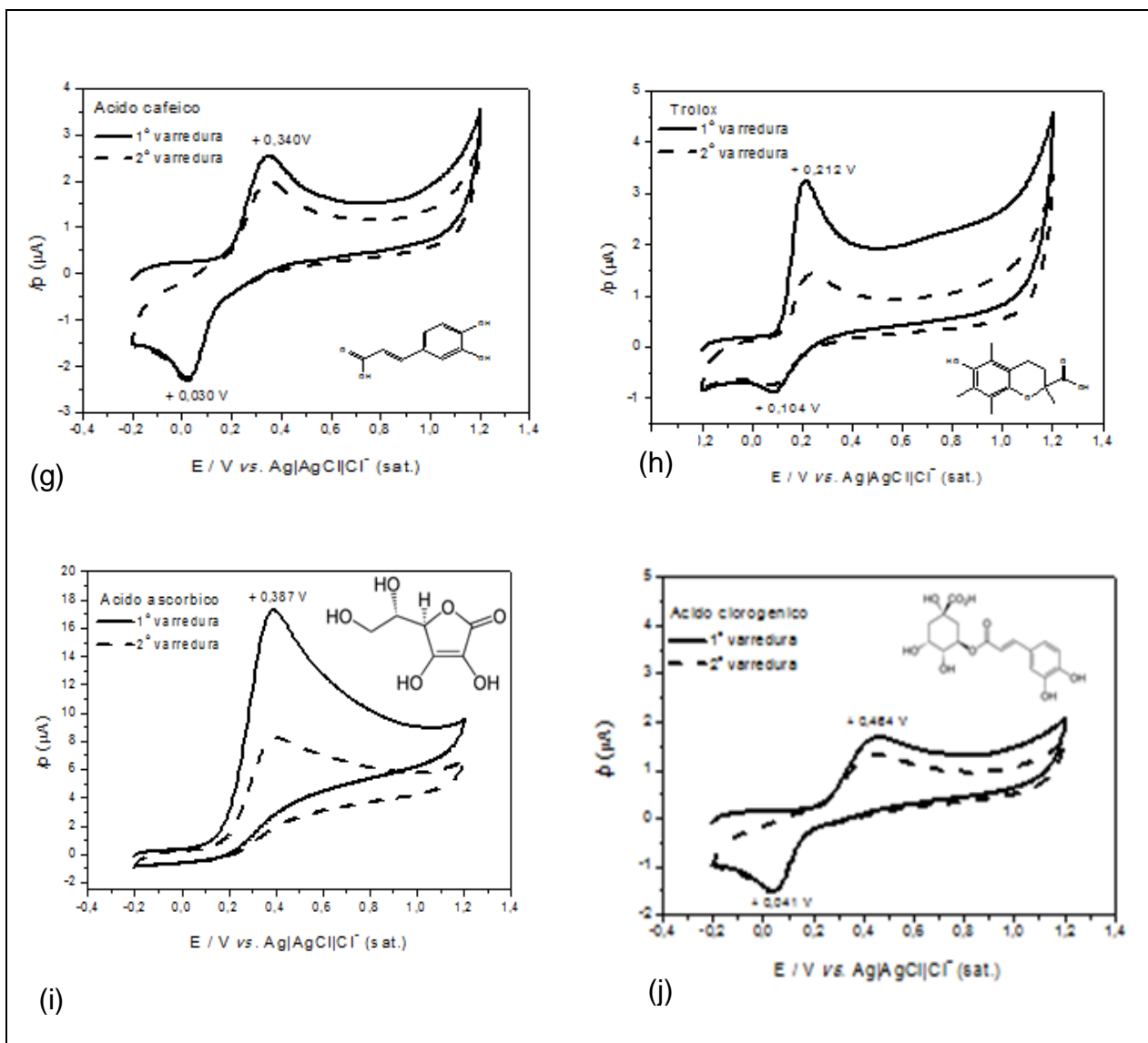
### 5.3 Métodos eletroquímicos

As amostras contendo antioxidantes, por exemplo, compostos fenólicos, podem ser analisadas utilizando os métodos eletroquímicos. Estes métodos são capazes de medir a habilidade de uma determinada amostra em doar elétrons, desde que tais amostras sejam espécies eletroativas. Na voltametria cíclica (VC), o antioxidante é caracterizado pela relação corrente-potencial frente a um eletrodo (KILMARTIN, 2001). A VC pode ser utilizada para determinar a força redutora de antioxidantes por meio do potencial de pico anódico (E<sub>pa</sub>). Quanto mais próximo de zero este potencial, maior a habilidade do composto de doar um elétron, ou seja, de ser oxidado. A corrente de pico anódico (I<sub>pa</sub>) pode ser usada como um indicador da concentração do composto no meio. No entanto, se mais de um agente redutor estiver na mistura, então a área sob a curva refletirá o total de antioxidantes presentes (RAGUBEER et al., 2010).

A Figura 16 apresenta os voltamogramas cíclicos dos padrões fenólicos quercetina (a), catequina (b), epicatequinas (c), ácidos gálico (d), vanílico (e), ferúlico (f), cafeíco (g), trolox (h), ácidos ascórbico (i), clorogênico (j) (0,1 mol L<sup>-1</sup>) em eletrodo de CV, 100 m V s<sup>-1</sup>, vs Ag|AgCl|Cl<sup>-</sup>, tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup>, EtOH) pH 7,0 (5% de EtOH)

Figura 16 - Voltamogramas cíclicos de quercetina (a), catequina (b), epicatequinas (c), ácidos gálico (d), vanílico (e), ferúlico (f), cafeíco (g), trolox (h), ácidos ascórbico (i), clorogênico (j) = 0,1 mol L<sup>-1</sup>, eletrodo de (CV, 100 m V s<sup>-1</sup>, Ag|AgCl|Cl<sup>-</sup>, Tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0.





Fonte: AUTORA, 2015.

Na Figura 16 (a) observa-se que o voltamograma cíclico da quercetina apresentou três ondas anódicas, sendo a primeira em  $E_{pa1} + 0,163$  V, e a segunda e terceira ondas em +0,430 V e +0,860 V, e uma onda catódica em +0,114 V, indicando processo reversível ou quase reversível. Na segunda varredura (- - -), foi possível observar a presença da primeira onda anódica de menor intensidade de corrente, e a ausência da segunda e terceira ondas anódicas, o que pode estar relacionado com processos de adsorção, comportamento típico de compostos fenólicos. Comportamentos semelhantes ao da quercetina podem ser observados nas (Figuras 16 (b), (c), (e), (f), (h) e (j)), nos voltamogramas da ( $\pm$ )-catequina e (-)-epicatequina, ácidos vanílico e ferúlico, trolox e ácido clorogênico, respectivamente. Entretanto a ( $\pm$ )-catequina apresentou apenas duas ondas

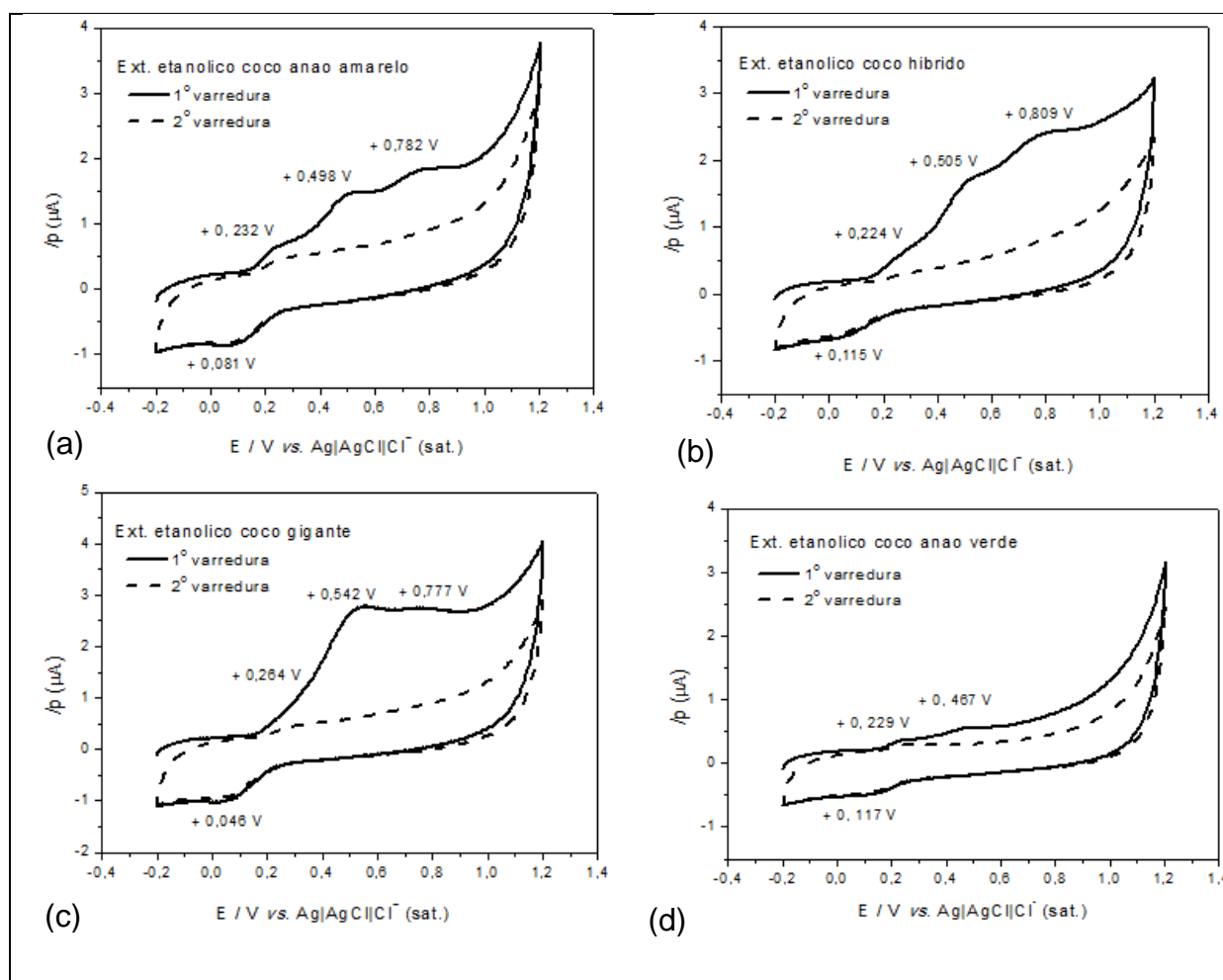
anódicas, sendo a primeira em +0,342 V e a segunda em +0,647 V, e uma onda catódica em 0,037 V. Na segunda varredura, observou-se a ausência da primeira onda anódica, mas ainda é possível verificar a presença da segunda onda anódica de menor intensidade de corrente. O voltamograma da (-)-epicatequina apresentou duas ondas anódicas, sendo a primeira em +0,205 V, e a segunda em +0,579 V e uma onda catódica em +0,430 V. Na segunda varredura, ainda foi possível verificar a presença da primeira e segunda ondas anódicas, porém com menor intensidade de corrente. O voltamograma cíclico do ácido vanílico apresentou uma onda anódica em +0,663 V e uma onda catódica em +0,013 V. Na segunda varredura cíclica, observou-se uma diminuição na corrente de pico anódica. Para o voltamograma do ácido ferúlico foi possível observar um pico em +0,524 V e a presença de um pico catódico em +0,149 V. Na segunda varredura, ainda foi possível verificar a presença da onda anódica, porém com menor intensidade de corrente. O voltamograma cíclico do trolox apresentou uma onda anódica em +0,217 V e uma onda catódica em +0,149 V. Na segunda varredura, observou-se uma diminuição na corrente de pico anódica. No voltamograma cíclico do ácido clorogênico pode ser observada uma onda anódica, em +0,464 V e uma onda catódica em +0,149 V. Na segunda varredura, observou-se uma diminuição da corrente de pico, devido ao processo adsorptivo na superfície do eletrodo.

Nas (Figura 16 (d) e 16(i)), os voltamogramas cíclico dos ácidos gálico e ascórbico apresentaram comportamentos semelhantes com características de processos irreversíveis pela ausência do pico catódico, porém o voltamograma do ácido gálico apresentou duas ondas anódicas em +0,485 V e 0,667 V. Na segunda varredura cíclica foi possível observar a presença da primeira onda, em menor intensidade e o desaparecimento da segunda onda. Já o voltamograma cíclico do ácido ascórbico só apresentou uma onda anódica em +0,337 V. Na segunda varredura observou-se uma diminuição na corrente de pico anódica.

Os comportamentos voltamétricos dos extratos das fibras da casca de coco das variedades anão amarelo, híbrido, gigante e anão verde podem ser observados na (Figuras 17 (a), (b), (c) e (d)), respectivamente. O voltamograma cíclico da variedade anão amarelo apresentou três picos anódicos em +0,232 V, +0,498 V, e +0,782 V e uma onda catódica em +0,081 V. O voltamograma do extrato etanólico da variedade híbrido também apresentou três picos anódicos, o primeiro apareceu em torno de +0,224 V, o segundo em torno de +0,505 V e o terceiro em +0,809 e um

catódico em +0,115 V. O cromatograma da variedade gigante apresentou três ondas anódicas em + 0,264 V, + 0,542 V e + 0,777 V e, uma onda catódica em + 0,046 V. A variedade anão verde apresentou um voltamograma com duas ondas anódicas em +0,229 V, +0,467 V e uma onda catódica em +0,117 V. Na segunda varredura, todos mostraram ausência das ondas anódicas. Este comportamento é típico de processo de adsorção, o que pode estar relacionado aos compostos fenólicos presentes nas amostras.

**Figura 17 - Voltamogramas dos extratos etanólicos da fibra da casca do coco anão amarelo, híbrido, gigante e anão verde. Tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 (5% de EtOH); 18,8 µg mL<sup>-1</sup>, eletrodo de CV. 0,100 V s<sup>-1</sup>, Ag|AgCl|Cl<sup>-</sup>.**



Fonte: AUTORA, 2015.

Valores de potencial e de corrente para estes picos dependem da composição da fibra da casca de coco e da concentração dos antioxidantes e podem ser diferentes para as outras variedades. Polifenóis presentes podem ser oxidados no

eletrodo de carbono vítreo em determinado potencial e a corrente gerada está diretamente relacionada à concentração de cada um deles, em picos separados ou em conjunto, a depender de suas estruturas e facilidade de oxidação.

Em termos de comparação, a Tabela 13 mostra os parâmetros eletroquímicos dos padrões fenólicos estudados e extratos etanólicos das fibras da casca de coco de quatro variedades determinados por voltametria cíclica (VC), em um eletrodo de carbono vítreo (CV), a  $0,100 \text{ V s}^{-1}$  vs.  $\text{Ag|AgCl|Cl}^-$ , em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0.

**Tabela 13 - Parâmetros eletroquímicos dos padrões fenólicos ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e extratos etanólicos das fibras da casca de coco de quatro variedades ( $18,8 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), determinados por voltametria cíclica (VC), em um eletrodo de carbono vítreo (CV) a  $0,100 \text{ V s}^{-1}$ , vs.  $\text{Ag|AgCl|Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0.**

(continua)

Padrões e amostras	$E_{pa_1}$ (mV)	$E_{pa_2}$ (mV)	$E_{pa_3}$ (mV)	$E_{pc_1}$ (mV)	$\Delta E_p$ (mV)	$I_{pa_1}$ ( $\mu\text{A}$ )
Quercetina	163	430	860	114	49	1,234
Trolox	212	----	----	104	108	3,270
(-)-Epicatequina	205	579	----	43	162	2,988
( $\pm$ )-Catequina	342	647	----	37	305	2,067
Ácido vanílico	663	----	----	13	650	3,203
Ácido ascórbico	387	----	----	----	----	1,258
Ácido cafeíco	340	----	----	30	310	2,722
Ácido gálico	485	667	----	----	----	4,439

**Tabela 13 - Parâmetros eletroquímicos dos padrões fenólicos (0,1 mmol L<sup>-1</sup>) e extratos etanólicos das fibras da casca de coco de quatro variedades (18,8 µg mL<sup>-1</sup>), determinados por voltametria cíclica (VC), em um eletrodo de carbono vítreo (CV) a 0,100 V s<sup>-1</sup>, vs. Ag|AgCl|Cl<sup>-</sup> (0,1 mol L<sup>-1</sup>) em tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0.**

(conclusão)

<b>.Padrões e amostras</b>	<b>Epa<sub>1</sub> (mV)</b>	<b>Epa<sub>2</sub> (mV)</b>	<b>Epa<sub>3</sub> (mV)</b>	<b>Epc<sub>1</sub> (mV)</b>	<b>ΔEp (mV)</b>	<b>Ipa<sub>1</sub> (µA)</b>
Ácido ferúlico	524	----	----	149	375	2,637
Ácido clorogênico	464	----	----	41	423	1,686
Anão amarelo	232	498	782	81	151	0,662
Anão verde	229	467	----	117	112	0,350
Gigante	264	542	770	46	218	0,715
Híbrido	224	505	809	115	109	0,558

Fonte: AUTORA, 2015.

De acordo com os dados da Tabela 13, os potenciais anódicos dos fenóis mostraram valores de  $E_{pa1}$  variando de 163 – 663 mV, sendo o menor  $E_{pa1}$  para a quercetina e o valor mais alto para o ácido vanílico. Valores baixos de potencial anódico correlacionam-se a um alto poder antioxidante. Dentre os padrões utilizados, a quercetina apresentou o menor potencial de pico anódico de todos os compostos testados. Isto significa que ela pode ser considerada um agente redutor mais potente. Quanto mais próximo de zero este potencial, maior a habilidade do composto em doar um elétron. O processo redox da quercetina apresentou características de um processo quase-reversível, isto é essencial para o prolongamento das propriedades antioxidantes e para possíveis efeitos sinérgicos. A mesma característica foi observada para a catequina, trolox e ácidos cafeico, ferúico e vanílico. O perfil irreversível foi verificado para os ácidos ascórbico e gálico.

Os potenciais anódicos dos extratos mostraram valores variando de 224 - 264 mV, sendo o menor potencial para o extrato da variedade híbrido. Os extratos têm uma boa habilidade em doar elétrons quando comparada com quercetina, trolox, e (-)-epicatequina. Segundo BORDONADA e colaboradores, (2012), valores de  $E_{pa}$  menores que 0,400 V vs. Ag|AgCl|Cl<sup>-</sup> indicam compostos com alta capacidade antioxidante. A presença de picos catódicos nos extratos anão amarelo, gigante e híbrido indica o processo de reversibilidade ou quase reversibilidade das reações redox dos extratos, enquanto que o anão verde só apresentou dois picos anódicos.

Segundo YAKOVLEVA e colaboradores (2007), fenóis simples ou ácidos mono-hidroxifenólicos apresentam um potencial de pico anódico em torno de +0,600 V. Já os polifenóis com substituintes metoxila apresentam potencial de oxidação entre 0,400 – 0,600 V. Flavonóides e ácidos fenólicos com dois grupos hidroxila em posição *orto*, entre si, apresentam potencial de oxidação abaixo de 0,400 V. Assim, potenciais anódicos ( $\leq +264$  mV) obtidos para as variedades de coco podem estar relacionados com a presença de flavonóides. Isto está consistente com as análises feitas neste trabalho para a determinação da capacidade antioxidante das amostras.

### 5.3.1 Análise das amostras com (ECV/MWCNT/poli-AX)

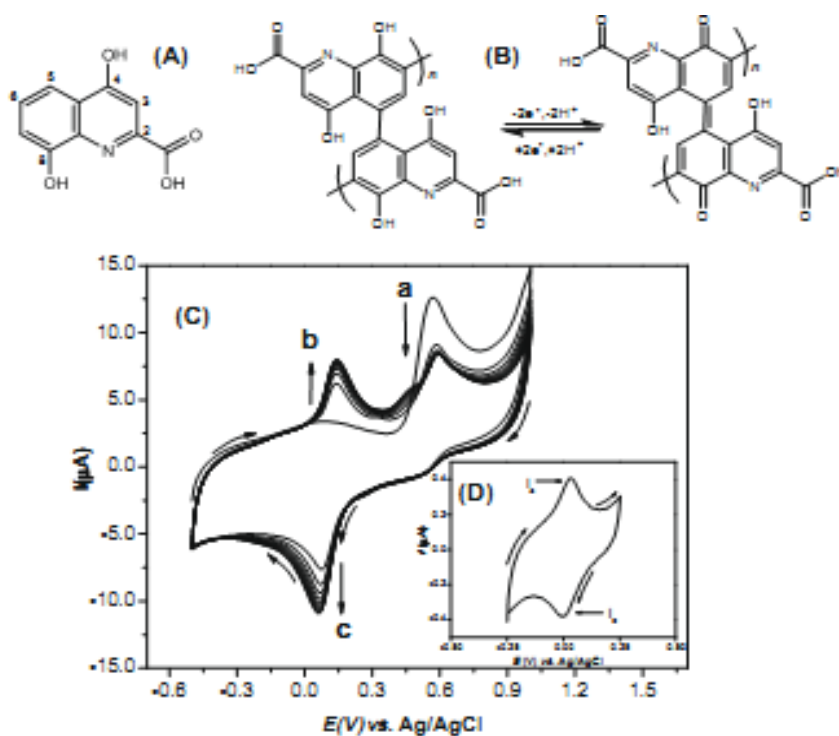
Sabe-se que alguns polifenóis tem tendência de se adsorver na superfície de ECV (CONTRAS-CALDERON et al., 2011), e uma das alternativas para minimizar esses efeitos é o uso de eletrodos modificados. Silva e colaboradores, (2010), relataram que a oxidação de fenóis como o ácido xanturênico na presença do nanotubos de carbono não ocorre com bloqueio da superfície do eletrodo. Este composto apresenta versatilidade estrutural, representada por grupo hidroxila na posição 8 que pode ser ativado *in situ* para um sistema redox quinonóide (QRS),

A eletropolimerização do ácido xanturênico (Figura 18 (A)) inicialmente se dá pela ativação *in situ*, a partir do grupo fenólico, com a posição *para* livre do ácido xanturênico, gerando espécies eletroativas estáveis na superfície eletródica (poli-AX) (Figura 18 (B)), após sucessivas varreduras numa faixa de potencial entre -0,5 a 1,0 V vs Ag|AgCl|Cl<sup>-</sup> (0,1 mol L<sup>-1</sup>) em tampão fosfato pH 5,5 , a  $v$  0,05 V s<sup>-1</sup>. O processo de eletropolimerização de AX foi otimizado com 10 ciclos aplicados ao eletrodo, concentração de AX (120  $\mu$ M) nas condições mencionadas (Figura 18(C)), e durante as sucessivas varreduras, observou-se a diminuição na intensidade do pico anódico



(a) em torno de 0,6 V vs Ag|AgCl, (Figura 18 (C)), e o aparecimento do par redox b/c em torno de 0,0 V (Figura 18 (C)) confirmando a polimerização, indicando um sistema reversível necessário para servir de sensor. A voltametria cíclica do ECV/MWCNT/poli-AX em tampão fosfato pH 7,0 e  $\nu = 0,05 \text{ V s}^{-1}$ , permitiu verificar a presença do par redox (Figura (d)).

**Figura 18 - Estrutura do AX (A); Sistema redox quinonoídico (B); voltametria cíclica de eletropolimerização do AX em ECV/MWCNT. Condições experimentais: AX 120  $\mu\text{M}$  em 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,5 e  $\nu$  0,05 V s<sup>-1</sup>. 10 varreduras; voltametria cíclica do ECV/MWCNT/poli-AX em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 e  $\nu = 0,05 \text{ V s}^{-1}$ .**

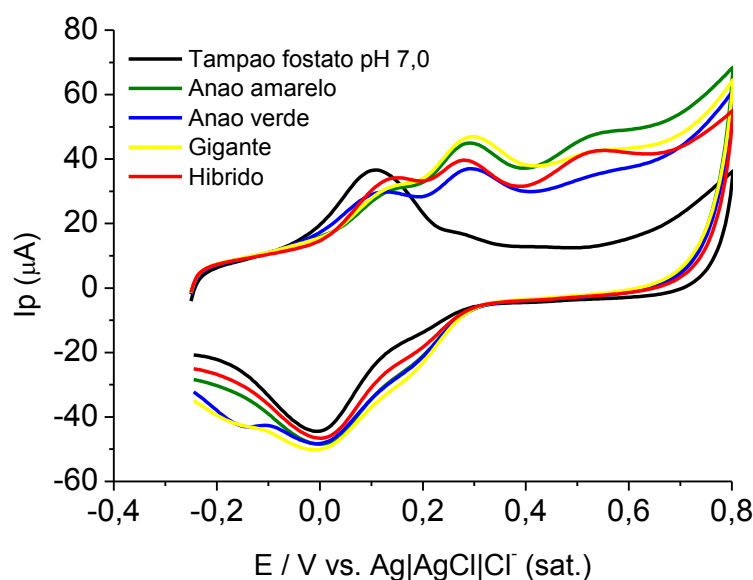


Fonte: SILVA et al., 2010.

Após o processo de polimerização realizado de acordo com SILVA et al., (2010), o ECV/MWCNT/poli-AX, foi utilizado neste experimento para obter o conteúdo de quercetina nos extratos etanólicos das quatro variedades de coco, sendo expresso como mg EQ g<sup>-1</sup> de extrato. A escolha deste padrão para a quantificação nas amostras está relacionada ao fato dela ter apresentado a melhor capacidade antioxidante entre os padrões utilizados nos experimentos com ECV.

A Figura 19 apresenta o comportamento voltamétrico dos extratos etanólicos de fibra da casca do coco no ECV/MWCNT/poli-AX para as quatro variedades de coco (anão amarelo, anão verde, gigante e híbrido). Dois picos anódicos foram observados, o primeiro em +0,290 V e o segundo em torno de +0,540 V. O terceiro pico identificado para as amostras não foi observado, porque a faixa de potencial foi menor (-0,25 até +0,80 V), tal como descrito por SILVA et al. 2010.

**Figura 19 - Voltametria cíclica dos quatro extratos etanólicos de fibra da casca de coco (*Cocos nucifera* L.), ( $190 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (ECV/MWCNT/poli-AX) a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , em tampão fosfato,  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0**



Fonte: AUTORA, 2015.

O eletrodo modificado foi efetivo para a quantificação de quercetina e uma relação linear foi encontrada entre AUC do voltamograma cíclico ( $\mu\text{C}$ ) e concentração que variou de  $2,5 - 62,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Os resultados em relação ao conteúdo de quercetina para os extratos etanólicos das fibras das cascas de coco das diferentes variedades obtidos a partir da equação da reta se encontram na Tabela 14.

**Tabela 14 - Conteúdo de quercetina em extratos etanólicos de fibras de cascas de coco de 4 variedades.**

<b>Variedades</b>	<b>mg EQ g<sup>1</sup> ( extrato)</b>
Anão amarelo	49,2 ± 4,6
Anão verde	27,8 ± 1,8
Gigante	53,5 ± 3,1
Híbrido	25,9 ± 6,4

Fonte: AUTORA, 2015.

Em relação ao conteúdo de quercetina, as variedades gigante e anão amarelo apresentaram os maiores valores, já as variedades anão verde e híbrido mostraram valores mais baixos. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos utilizando os métodos de FRAP e CUPRAC, mostrando que a variedade gigante tem uma capacidade antioxidante mais elevada que a variedade anão verde.

Pode-se afirmar que o ECV/MWCNT/poli-AX foi eficiente para a determinação da capacidade antioxidante utilizando quercetina como padrão.

Em outros estudos realizados por SILVA e colaboradores, (2012), utilizando o ECV/MWCNT/poli-AX para determinação simultânea de ácido ascórbico (AA) e ácido úrico (AU) em amostras de urina, os autores relataram que o eletrodo modificado exibiu uma excelente atividade eletrocatalítica para a oxidação de AA em baixo potencial.

#### **5.4 Correlação entre o CTF e os métodos de avaliação da capacidade antioxidante DPPH, FRAP, CUPRAC e parâmetros eletroquímicos.**

A análise de correlação de Pearson foi realizada entre todos os métodos utilizados para determinar a capacidade antioxidante.

Na Tabela 15, encontram-se os resultados da análise de correlação de Pearson entre as diversas variáveis.

**Tabela 15 - Correlação de Pearson entre as variáveis CFT e os métodos DPPH<sup>•</sup>, FRAP e CUPRAC.**

Variável 1	Variável 2	Correlação
CTF	FRAP	0,8908**
CTF	DPPH	0,9090**
CTF	CUPRAC	0,9351**
DPPH	FRAP	0,9963**
DPPH	CUPRAC	0,9811**
FRAP	CUPRAC	0,9814**

\*\* Significativo a  $p < 0,01$ .

Fonte: AUTORA, 2015.

Em geral, houve correlação fortemente positiva ( $p < 0,01$ ) entre o conteúdo total de fenóis e variáveis DPPH, FRAP e CUPRAC, entre DPPH e as variáveis FRAP e CUPRAC e entre FRAP e CUPRAC. Correlações positivas entre as capacidades antioxidantes e o teor de fenóis totais indicam que os compostos fenólicos tem um papel importante na capacidade antioxidante dos extratos estudados. Esta análise sugere que todos os ensaios são recomendáveis para avaliar a capacidade antioxidante dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco das 4 variedades.

Alguns autores têm demonstrado que existe uma forte correlação positiva entre o teor de fenóis totais e a capacidade antioxidante frente ao DPPH<sup>•</sup>, FRAP e CUPRAC. OMENA e colaboradores 2012 encontraram correlações positivas entre o total de fenóis e a capacidade antioxidante em cascas, sementes e polpas de jenipapo, umbu e seriguela. HERCULANO, 2014 encontrou uma correlação fortemente positiva entre CTF e DPPH<sup>•</sup> para amostras de farinhas alimentícias, sugerindo que os compostos fenólicos estejam relacionados, em grande parte, com a atividade antioxidante. Do mesmo modo OLIVEIRA, 2008 relatou uma correlação positiva entre a quantidade de fenóis dos extratos das farinhas de resíduos de acerola, abacaxi e maracujá.

Além disso, foram realizadas correlações entre as variáveis Epa (mV) em eletrodo de carbono vítreo e equivalentes de quercetina (eletrodo modificado), com CTF, DPPH, FRAP e CUPRAC (Tabela 16).

**Tabela 16 - Correlação Epa (ECV), e equivalentes de quercetina em eletrodo modificado com métodos de capacidade antioxidante.**

Variavel 1	Variavel 2	Correlação
Epa em (ECV)	FRAP	0,5317*
mg EQ g <sup>-1</sup> (ECM)	DPPH	0,7368**
mg EQ g <sup>-1</sup> (ECM)	CUPRAC	0,7435**
mg EQ g <sup>-1</sup> (ECM)	FRAP	0,7359**

\* p < 0,05 e \*\* p < 0,01.

Fonte: AUTORA, 2015.

### 5.5 Obtenção e fracionamento dos extratos etanólicos das fibras das cascas de coco de 4 variedades

Os extratos etanólicos das fibras de cascas de coco anão amarelo (aa), anão verde (av), gigante (gi) e híbrido (hi) foram submetidos a um fracionamento líquido-líquido. A Tabela 17 apresenta os resultados com os rendimentos das frações

**Tabela 17- Rendimentos das frações obtidas dos extratos etanólicos da fibra da casca de coco de quatro variedades.**

Frações	Rendimento
Hexânica (Fr-Hex aa)	17,6%
Acetato de etila (Fr-Aceot aa)	28,3%
Hidrometanólica (Fr-Hmet aa)	37,6%
Hexânica (Fr-Hex av)	10,1%
Acetato de etila (Fr-Aceot av)	29,6%
Hidrometanólica (Fr-Hmet av)	38,5%
Hexânica (Fr-Hex gi)	15,1%
Acetato de etila (Fr-Aceot gi)	31,9%
Hidrometanólica (Fr-Hmet gi)	35,1%
Hexânica (Fr-Hex hi)	18,6%
Acetato de etila (Fr-Aceot hi)	29,8%
Hidrometanólica (Fr-Hmet hi)	32,1%

Fonte: AUTORA, 2015.

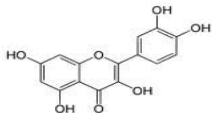
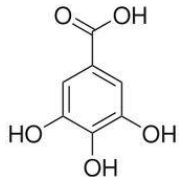
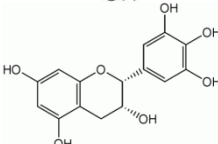
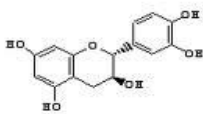
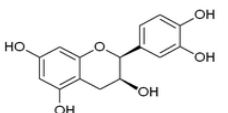
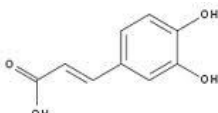
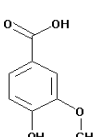
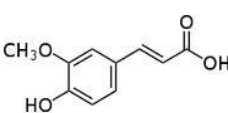
A partir dos resultados obtidos na Tabela 17, pode-se observar que os maiores rendimentos no processo de fracionamento dos extratos de quatro variedades de coco foram encontrados nas frações hidrometanólica e acetato de etila.

## **5.6 Identificação de compostos orgânicos usando CLAE-UV/DAD**

Neste trabalho, a técnica de CLAE foi utilizada para a identificação dos compostos fenólicos nos extratos etanólicos da fibra da casca de coco das variedades anão amarelo, anão verde, híbrido, gigante e em suas frações acetato de etila Fr-Aceot (aa), Fr-Aceot (av), Fr-Aceot (hi) e Fr-Aceot (gi). A identificação dos compostos fenólicos nas amostras foi feita por comparação direta dos tempos de retenção dos padrões fenólicos analisados (ácidos cafeíco, clorogênico, gálico, ferúlico e vanílico, catequina, epicatequinas, epigalocatequina, quercetina) e amostras.

A Tabela 18 apresenta os compostos fenólicos utilizados nas análises de CLAE, suas estruturas, concentração usada na análise e Tempo de retenção (Tr).

**Tabela 18- Padrões fenólicos utilizados nas análises de CLAE, estruturas, concentração de análise e Tempo de retenção (Tr).**

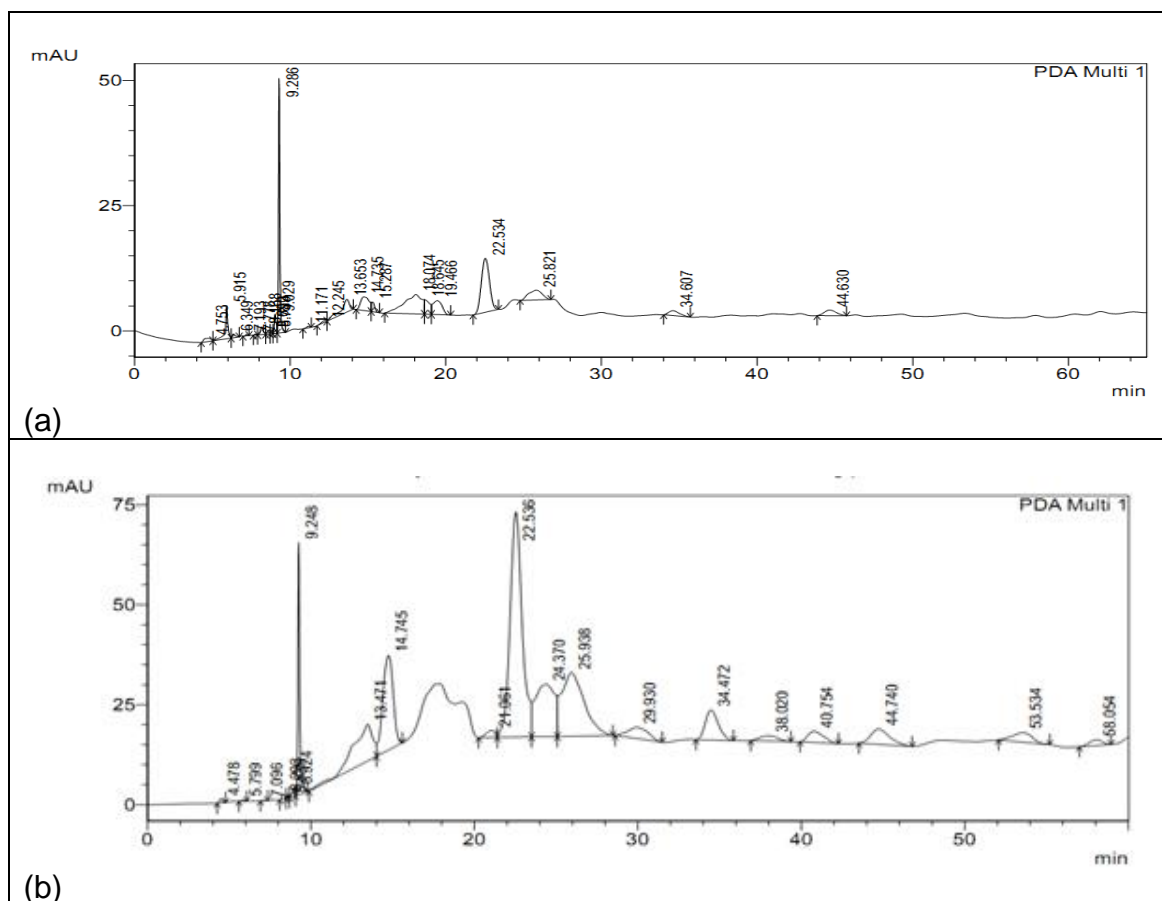
Padrões Fenólicos	Estruturas	Concentração	Tr (min)
Quercetina		0,1 mg / 0,5 mL	9,225
Ácido gálico		0,1 mg / 0,5 mL	10,341
Epigallocatequina		0,1 mg / 0,5 mL	13,563
Catequina		0,1 mg / 0,5 mL	17,826
Epicatequina		0,1 mg / 0,5 mL	24,792
Ácido cafeíco		0,1 mg / 0,5 mL	25,764
Ácido vanílico		0,1 mg / 0,5 mL	26,263
Ácido ferúlico		0,1 mg / 0,5 mL	53,445

Fonte: AUTORA, (2015).

Após verificar os tempos de retenção dos padrões fenólicos, os extratos etanólicos e as frações em acetato de etila de quatro variedades de coco foram submetidos às análises de CLAE.

As (Figuras 20 (a) e (b), 21 (a) e (b), 22 (a) e (b) e 23 (a) e (b)) apresentam os cromatogramas dos extratos etanólicos das fibras de cascas de coco de quatro variedades e suas respectivas frações acetato de etila.

**Figura 20 - Cromatograma do extrato etanólico da fibra da casca de coco anão amarelo - (a) e sua fração acetato de etila Fr-Aceot (aa) - (b).**

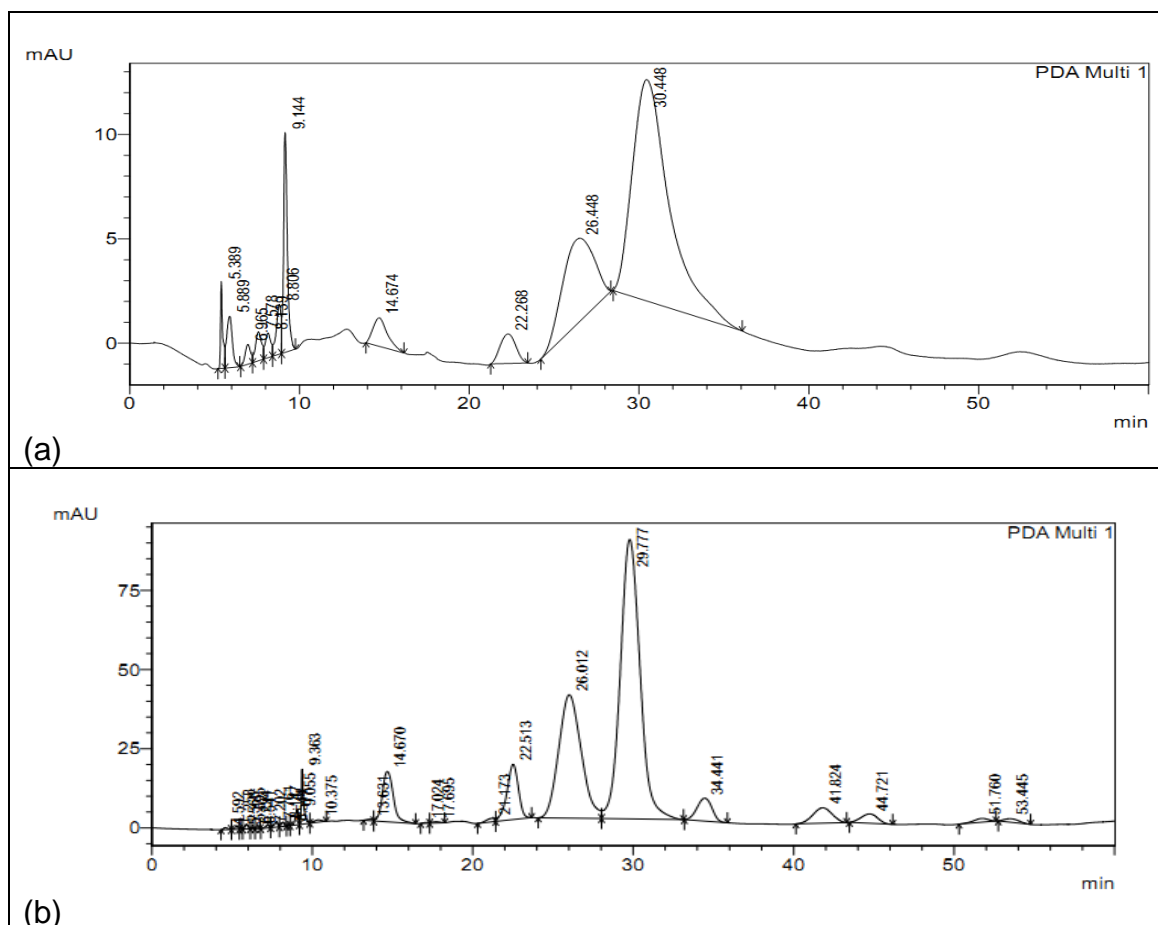


Fonte: AUTORA, (2015).

De acordo com a (Figura 19 (a) e (b)), os cromatogramas do extrato etanólico da fibra da casca de coco anão amarelo e Fr-Aceot (aa) apresentaram picos de retenção majoritários em torno de  $T_r = 9,248$  e  $22,536$  min. próximos aos observados nos padrões Quercetina  $T_r = 9,225$  min. e ácido clorogênico  $T_r = 22,997$  min. Também foi possível observar a presença de um pico no cromatograma da fração em menor intensidade em  $T_r = 53,534$  com tempo de retenção próximo ao padrão ácido ferúlico  $T_r = 53,445$  min.



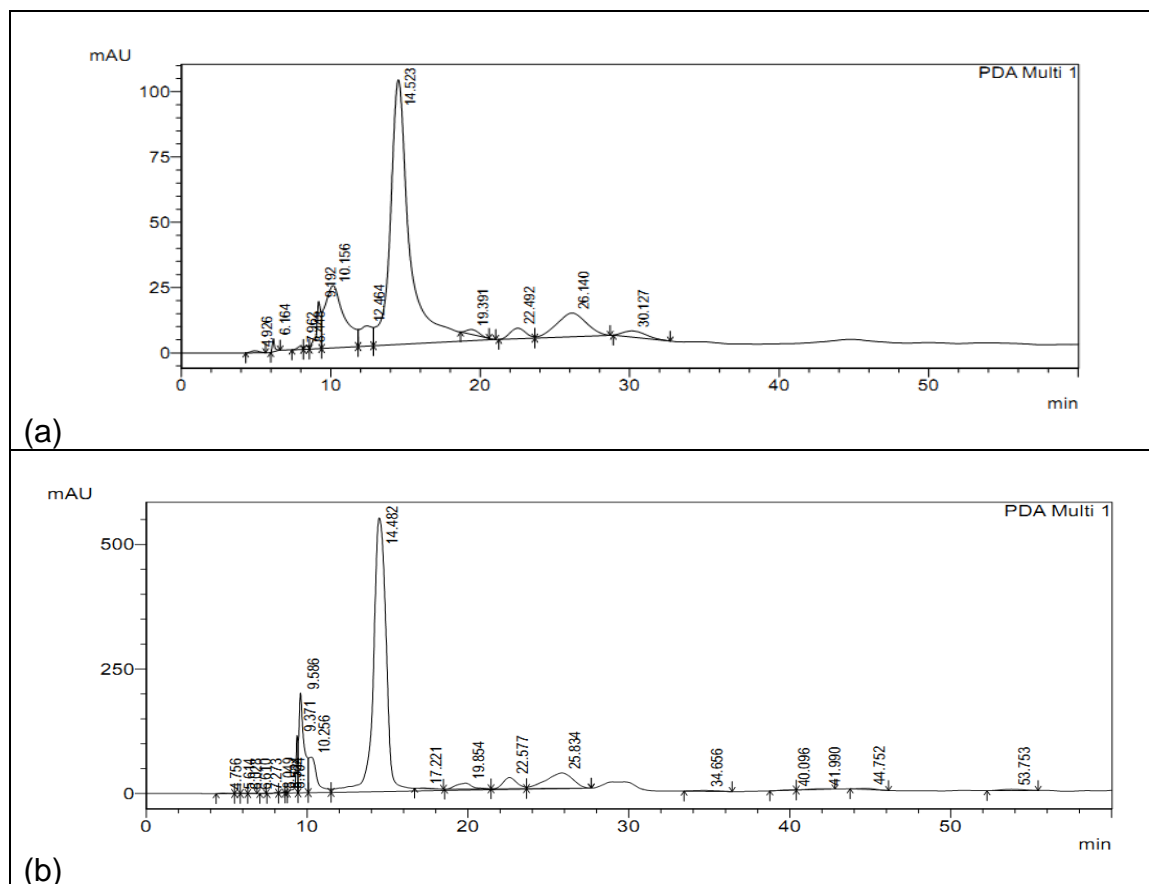
**Figura 21 - Cromatograma do extrato etanólico da fibra da casca de coco anão verde - (a) e sua fração acetato de etila Fr-Aceot (av) - (b).**



Fonte: AUTORA, (2015).

De acordo com a Figura 20 (a) e (b), os cromatogramas do extrato etanólico da fibra da casca de coco anão verde e Fr-Aceot (av) apresentaram picos de retenção em torno de  $Tr = 9,363$ ,  $22,513$  e  $26,012$  min, próximos aos observados nos padrões: quercetina  $Tr = 9,225$  min., ácido clorogênico  $Tr = 22,997$  min e ácido vanílico  $Tr = 26,012$  min, respectivamente. Foi possível notar a presença de um pico de menor intensidade no cromatograma da fração  $Tr = 53,445$  min. sendo este mesmo tempo observado para o padrão ácido ferúlico  $Tr = 53,445$  min. Observa-se que o pico majoritário na amostra com  $Tr = 29,777$  min, não foi verificado em nenhum dos tempos de retenção dos padrões utilizados neste trabalho. Entretanto é necessário investigação adicional no sentido de elucidar qual é a natureza deste composto nas diferentes amostras.

**Figura 22 - Cromatograma do extrato etanólico da fibra da casca de coco gigante - (a) e sua fração acetato de etila Fr-Aceot (gi) - (b).**

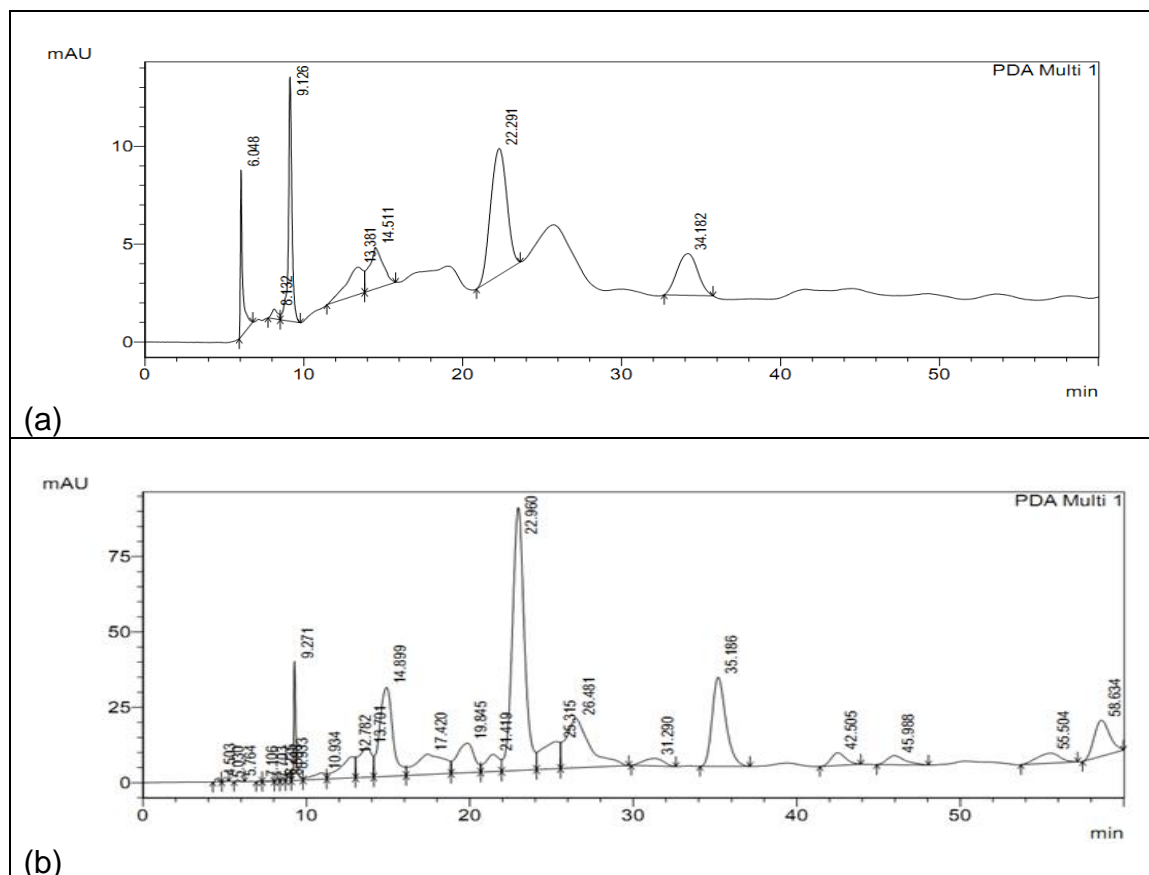


Fonte: AUTORA, (2015).

De acordo com a (Figura 21 (a) e (b)), os cromatogramas do extrato etanólico da fibra da casca de coco gigante e Fr-Aceot (gi) apresentaram picos de retenção em torno de  $Tr = 9,586, 17,221, 22,577, 25,834$  e  $53,753$  min. próximos aos observados nos padrões: quercetina  $Tr = 9,225$  min, catequina  $Tr = 17,826$  min, ácidos clorogênico  $Tr = 22,997$  min e ferúlico  $Tr = 53,445$  min. A Fr-Aceot (gi) também apresentou um pico em torno de  $Tr = 10,256$  min, próximo ao composto ácido gálico  $Tr = 10,341$  min. Houve perfil semelhante em relação à variedade anão verde que apresentou um pico majoritário que não foi identificado, também foi possível observar um pico majoritário com  $Tr = 14,482$  min, não foi verificado em nenhum dos tempos de retenção dos padrões utilizados neste trabalho.

Novos experimentos são necessários para a identificação de outros constituintes presentes nas amostras.

**Figura 23 - Cromatograma do extrato etanólico da fibra da casca de coco híbrido - (a) e sua fração acetato de etila Fr-Aceot (hi) - (b).**



Fonte: AUTORA, (2015).

De acordo com a (Figura 23 (a) e (b)), os cromatogramas do extrato etanólico da fibra da casca de coco híbrido e Fr-Aceot (hi) apresentaram picos de retenção em torno de  $Tr = 9,271$  e  $22,536$  min. próximos aos observados nos padrões: quercetina  $Tr = 9,225$  min e ácido clorogênico  $Tr = 22,997$  min. No cromatograma (a) foi possível observar a presença de um pico com  $Tr = 6,048$  min. não sendo identificado pois nenhum padrão fenólico analisado apresentou tal tempo de retenção.

No cromatograma (b) verificou-se a presença de picos de menor intensidade em  $Tr = 10,934$ ,  $17,420$ ,  $26,481$  min próximos aos padrões ácido gálico  $Tr = 10,341$ , catequina  $Tr = 17,221$  e ácido vanílico  $Tr = 26,263$  min.

Para fins de comparação a Tabela 19 mostra os tempos de retenção dos padrões fenólicos e das frações em acetato de etila de quatro variedades de coco.

**Tabela 19 - Tempos de retenção dos padrões e frações de acetato de etila de quatro variedades de coco.**

Compostos fenólicos	Padrão	<i>Tr</i> (min)			
		Fr – Acoet aa	Fr – Acoet av	Fr – Acoet gi	Fr – Acoet hi
Ácido cafeíco	25,764	25,938	-	25,834	-
Ácido clorogênico	22,997	22,536	22,513	22,577	22,536
Ácido Gálico	10,341	-	-	10,256	10,934
Ácido ferúlico	53,445	53,534	53,445	53,753	-
Acido vanílico	26,263	-	26,012	-	26,481
Catequina	17,826	-	-	17,221	17,420
Epicatequina	24,792	24,370	-	-	-
Epigalocatequina	13,563	-	-	-	-
Quercetina	9,225	9,248	9,363	9,586	9,271

Fonte: AUTORA, (2015).

Diante dos resultados observa-se que as fibras das cascas de coco de quatro variedades apresentaram tempos de retenção próximos aos dos padrões utilizados neste trabalho, indicando a presença de compostos fenólicos nessas amostras. Pode ser notar a presença da quercetina e do ácido clorogênico em todas as frações.

Em trabalhos realizados por SILVA e colaboradores, (2013), com fração acetato de etila da fibra da casca de coco (*Cocos nucifera*) utilizando técnicas de CLAE, os mesmos encontraram compostos fenólicos como ácido elágico, catequina, epicatequina, procianidinas dimero 1(4), procianidinas dimero 1(6), procianidinas poliméricas (7). ESQUENAZI e colaboradores, (2012), encontraram catequina,

epicatequina, procianidina polimérica em frações de acetato de etila da fibra da casca do coco. Em estudos de DEY e colaboradores, (2003), encontraram os compostos 4-hidroxibenzóico (4-HBA) como principal componente fenólico no mesocarpo do coco maduro e em menor quantidade, ácido ferúlico. DEY e colaboradores, (2005), identificaram em *Cocos nucifera* o ácido 4-cumárico e em quantidade menor, o ácido vanílico. De modo geral, todos estes compostos fenólicos são conhecidos por atribuir atividade antioxidante em extratos de plantas, vegetais, frutas e em resíduos da agroindústria. Em trabalhos realizados por OMENA e colaboradores, (2012), por meio de UPLC-MS, identificaram a quercetina como componente predominante em cascas de jenipapo, siriguela e umbu.

A capacidade antioxidante dos extratos do presente trabalho foi avaliada por diferentes métodos, e observou-se que estes extratos apresentaram uma potente capacidade antioxidante, e isto pode estar relacionada principalmente à presença desses compostos, como a quercetina e ácido clorogênico, presentes em todos os extratos.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com relação ao conteúdo de fenóis totais, os extratos etanólicos das fibras das cascas de coco híbrido e anão amarelo foram os que mais se destacaram, apresentando os maiores valores, o extrato etanólico da variedade anão verde foi o que apresentou o menor valor.

Sobre a atividade sequestradora do radical DPPH', todos os extratos mostraram habilidade para sequestrar este radical, sendo os extratos etanólicos das fibras das cascas de coco gigante, anão amarelo e híbrido os que apresentaram a maior habilidade de sequestro do radical, e o extrato etanólico da variedade anão verde o que menos se destacou. Em relação aos valores de IC<sub>50</sub> os extratos etanólicos das variedades anão amarelo, híbrido e gigante foram os que apresentaram os menores valores e o maior potencial antioxidante, enquanto o extrato etanólico da variedade anão verde foi o que apresentou o menor potencial antioxidante.

Em relação ao poder redutor dos extratos, determinados por FRAP e CUPRAC, todos apresentaram tal ação, porém o extrato etanólico da variedade anão foi o que apresentou o menor poder de redução dentre todos.

No método que simulou a membrana lipídica, onde a capacidade dos extratos em inibir a peroxidação lipídica induzida por radicais peroxila foi medida, foi observado que todos os extratos protegeram a membrana deste ataque fornecendo elevada proteção no tempo estabelecido.

Em relação aos estudos eletroquímicos, as análises de voltametria cíclica dos extratos etanólicos em eletrodo de carbono vítreo confirmaram a presença de compostos facilmente oxidáveis.

As análises com eletrodo modificado demonstraram ser o método eficiente na quantificação de quercetina nos extratos etanólicos, onde os maiores valores foram para a variedade gigante e anão amarelo, sendo os menores valores para os extratos do coco anão verde e híbrido.

Em relação às análises estatísticas, observou-se que há uma correlação elevada entre o conteúdo total de fenóis dos extratos etanólicos estudados, com os métodos utilizados para medir a capacidade antioxidante dos mesmos, significando que os compostos fenólicos podem contribuir em grande parte para a capacidade antioxidante destes extratos. Observou-se também uma correlação positiva entre

estudos eletroquímicos com eletrodo de carbono vítreo e a técnica de FRAP, e eletrodos de carbono vítreo modificado com as técnicas de DPPH, FRAP e CUPRAC.

Nas análises de CLAE-UV/DAD foi possível identificar compostos fenólicos nos extratos de quatro variedades através de comparação com os tempos de retenção dos padrões utilizados. Porém estudos adicionais serão necessários, visto que os extratos apresentaram compostos que não foram identificados.

## **7 CONCLUSÃO**

A relação da capacidade antioxidante dos extratos etanólicos de quatro variedades de coco e o potencial redox usando diferentes métodos foi positiva.

As variedades do coco gigante, híbrido e anão amarela exibiram os melhores desempenhos na maioria dos testes enquanto a variedade anão verde foi a que apresentou o menor desempenho.

Esses resultados fornecem informações valiosas sobre a atividade antioxidante e composição fenólica das fibras de cascas de coco. As fibras apresentam grande potencial antioxidante e podem ser usadas no enriquecimento de dietas, principalmente animais, para a indústria farmacêutica e cosmética no desenvolvimento de diferentes produtos que podem retardar ou prevenir a ação de EROs, agregando valor econômico para a enorme quantidade de resíduos da indústria do coco, usado principalmente para fins de queima.



## PERSPECTIVAS

- Estudos de caracterização química das fibras da casca de coco serão realizados, por meio de técnicas cromatográficas (HPLC, UPLC) e análise por espectrometria de massas, visando a identificação e quantificação dos principais compostos bioativos presentes nessas amostras.
- Realizar análise dos extratos por RMN  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , para investigação metabólica.
- Investigar um procedimento cromatográfico para a separação dos produtos principais.
- Realizar análise de toxicidade, bem como de biodisponibilidade destas fibras antes de uma aplicação dietética, no intuito de obter um bioproduto, de interesse nutracêutico ou farmacêutico.
- Identificar marcadores químicos para o controle de qualidade, caso seja gerado um bioproduto.

## REFERÊNCIAS

ADEBAYO, J.; SANTANA, A. E. G.; KRETTLI, A. U. Evaluation of the antiplasmodial and cytotoxicity potentials of husk fiber extracts from *Cocos nucifera* a medicinal plant used in Nigeria to treat human malaria, **Human and Experimental Toxicology**, v. 31, n. 3, p. 244-249, 2012.

AKINYELE, T. A.; AKINPELU, D.A.; OKOH. A. I. *In vitro* antilisteral properties of crude aqueous and hexane extracts of the of *C. nucifera*, **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.41, p. 8117-8121, 2011.

ALVES, C. Q; DAVID, J. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quimica Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ALVES, M. A.; ALVES, M. S. O.; FERNANDES, T. O.; NAVES, R. V.; NAVES, M. M. V. caracterização física e química, fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa e resíduo de gabioba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 837-844, 2013.

ALVIANO, D. S.; RODRIGUES, K. F.; LEITÃO, S. G.; RODRIGUES, M. L.; MATHEUS, M. E.; FERNANDES, P. D.; ANTONIOLLI. A. R.; ALVIANO, C. S. Antinociceptive and free radical scavenging activities of *Cocos nucifera* L. (Palmae) husk fiber aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, p. 269-273, 2004.

ANDRADE, E. R., MELO-STERZA, F. A.; SENEDA, M.M., ALFIERI, A. A.; Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 2, p. 79-85, 2010.

APAK, R.; GÜÇLÜ, K.; ÖZYÜREK, M.; Karademir, S.E. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: cuprac method. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 7970–7981, 2004.

ARAGÃO, W.M.; RIBEIRO, F.E.; TUPINAMBÁ, E.A.; SIQUEIRA, E.R. Variedades e híbridos do coqueiro In: *Coco: pós-colheita*. Brasília: Vera Cruz, v. 1, p. 26-34, 2002.

ARAGÃO, W.M.; COSTA, A.S.; SANTOS, H.C.A.C.; PEDROSO, G.T. Florescimento, produção e composição morfológica de frutos de cultivares de coqueiro. **Agrotropica**, v. 14, n. 3, p. 85-174, 2004.

ARAGÃO, W. M.; RIBEIRO, F. E.; MELO, M. F. V. Cultivares de coqueiro para a produção de coco seco: coqueiro Gigante vs híbridos. In: CINTRA, F. L. D.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M.; FERREIRA, J. M. S. (Ed.). *Fundamentos*

tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, v. 232, p. 37-60, 2009.

ARBOS, K. A.; STEVANI, P. C.; CASTANHA, R. F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga, **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 2, p. 161-165, 2013.

AYALA-ZAVALA, J.F.; VEGA - VEJA, V.; ROSAS-DOMÍNGUEZ, C.; PALAFOX-CARLOS, H.; VILLA-RODRIGUEZ, J.A.; SIDDIQUI, M.W.; DÁVILA-AVIÑA, J.E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. Agro-industrial potential of exotic fruit by products as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, p.1866–1874, 2011.

AWUA, A. K.; DOE. D. E.; AGYARE, R. Potencial bacterial health risk posed to consumers of fresh coconut (*Cocos nucifera* L.) water. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, p. 1136-1143, 2012.

BASANTA, M. F.; PLÁ, M. F.E; RAFFO, M. D; STORTZ, C. A; ROJAS, A. M. Isolated from harvest residues as valuable dietary fiber and functional food ingredients. **Journal of Food Engineering**, v. 126, p. 149-155, 2014.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios, **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BENZIE, I. E. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BERGAMASCHI, B. K. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. Dissertação de mestrado, Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba – SP, 2010.

BORDONABA, J.G.; TERRY, L.A. Electrochemical behavior of polyphenol rich fruit juices using disposable screen-printed carbon electrodes: towards a rapid sensor for antioxidant capacity and individual antioxidants. **Talanta**, v. 90, p. 38-45, 2012.

BUTSAT, S.; SIRIAMORNUN, S. Phenolic acids and antioxidant activities in husk of different Thai rice varieties. **Food Science Technological International**, v. 16, n 4, p. 329–336. 2010.

CALDERÓN, C. J.; JAIMES, C. L.; HERNÁNDEZ, G. E.; VILLANOVA, G. B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2047-2053, 2011.

CARVALHO, X. E.; FILHO, A. J. C.; ARAGÃO, M. W.; MUSSER, S. R.; FERRAZ, B. G. L.; REIS, V. O.; BASTOS, Q. G.; OLIVEIRA, J. F.; Melhoramento genético

vegetal: Variabilidade e Comportamento de cultivares de coqueiro anão nos tabuleiros do norte de Sergipe. *Bragantia*, Campinas, v. 67, n. 1, p. 91-100, 2008.

CHAKRABORTY, M.; MITRA, A. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp, **Food Chemistry**, v. 107, p. 994–999, 2008.

CICCO, N.; LANORTE, M.T.; PARAGGIO, M.; VIGGIANO, M.; LATTANZIO, V. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. **Microchemical journal**, v. 91, p. 107–110. 2009.

COSTA, J. M. C.; ALVES, M. C. S.; CLEMENTE, E.; FELIPE, E. M. F. Características físico-químicas e minerais de água de coco de frutos químicos e minerais de água de coco de frutos, da variedade anão amarelo em diferentes períodos de maturação, **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, n. 2, p. 173-177, 2006.

COSTA, A. B.; OLIVEIRA, A. M. C.; SILVA, A. M. O., FILHO, J. M.; LIMA, A. Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do noni, (*Morinda citrifolia* Linn). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 345-354, 2013.

COSTA, C. T.C, BEVILAQUIA, C.M. L.; MORAIS, S. M.; VASCONCELOS, A. L. F. C.; MACIEL, M. V.; BRAGA, R. R., et al. Anti-helminthic activity of *C. nucifera* L. on intestinal nematodes of mice, **Research in Veterinary Science**, v. 88, n.1, p. 101-103, 2010.

COTINGUIBA, G. G.; SILVA, J. R. N. S.; AZEVEDO, R. S.; ROCHA, T. J. M.; SANTOS, A. F.; Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura, **UNOPAR Científica Ciências Biológica e da Saúde**, v. 15, n. 3, p. 231-237, 2013.

CUENCA, M. A. G.; SIQUEIRA, L. A. Aspectos econômicos da cocoicultura, coco: produção, aspectos técnicos. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 10-13, 2003.

DAIUTO, R. R.; TREMOCOLDI, M. A.; ALENCAR, S. M.; VIEITESS, R. L.; MINARELLI, P. H. Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'hass', **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 417-424, 2014.

DEBMANDAL, M.; MANDAL, S. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): in health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 241–247, 2011.

DEY, G.; SACHAN, A.; GHOSH, S.; MITRA, A. Detection of major phenolic acids from dried mesocarpic husk of mature coconut by thin layer chromatography. **Industrial Crops and Products**, v. 18, p. 171-176, 2003.

DEY, G. CHAKARBORTY, M.; MITRA, A. Profiling C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> and phenolics metabolites in *Cocos nucifera*, **Journal of Plants Physiology**, v. 162, p. 3751-381, 2005.

EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros. Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional - Panorama 2010. Documentos, nº 164 Aracaju, SE, p. 32. 2011.

EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros. O coqueiro-anão no Brasil. Documentos, nº 8 Aracaju, SE, p. 24, 1999.

ESQUENAZI, D.; WIGG, M.D.; MIRANDA, M.M.F.S.; HUGO M. RODRIGUES, H. M.; TOSTES, J.B.F.; ROZENTAL, S.; SILVA, A.J.R.; ALVIANO, C.S. Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. **Research Microbiology**, v. 153, p. 647-652. 2002.

FRANÇA, B. K.; ALVES, M. R. M.; ALVES, M. R. M.; SOUTO, F. M. S.; TIZIANE, L.; BOAVENTURA, R. F.; GUIMARÃES, A.; JUNIOR, A. A. Peroxidação lípica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos, GE J Port Gastreterol. **Portuguese Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 5, p. 199-206, 2013.

FERREIRA F. R. **Emprego de técnicas avançadas em estudos bioeletroquímicos de substâncias de interesse biológico**. Tese de doutorado, Universidade Federal de Alagoas. Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, 2013.

FIGUEIRA, C. N. T.; SANTOS, R. M.; CAMPESATTO, E. A.; LÚCIO, I. M. L.; ARAÚJO, E. C.; BASTOS, M. L. Biological activity of the *Cocos Nucifera* L. And its profile in the treatment of diseases: A review, **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 5, p. 297-302, 2013.

FIGUEIRA, C. N. T. **Avaliação da atividade antimicrobiana, citotóxica e capacidade sequestradora de radicais livres do extrato bruto de *Cocos nucifera* Linn**, (Dissertação de Mestrado) Escola de Enfermagem e Farmácia – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2012.

FONSECA, A. M.; BIZERRA, A.M.C.; SOUZA, J.S.N.; MONTE, F.J.Q.; OLIVEIRA, M.C.F.; MATTOS, M.C.; GEOFFREY CORDELL, G.A.; BRAZ-FILHO, R.; LEMOS, T.L.G. Constituents and antioxidant activity of two varieties of coconut water (*Cocos nucifera* L.). **Brazilian Journal of Pharmacognose**, v. 19, n. 1B, p. 193-198, 2009.

FREITAS, J. C.C.; DIANA, PINHEIRO, D. C. S. N.; PESSOA, A. W. P.; SILVA, L. C. R.; GIRÃO, V. C.C.; NETO, E. L.; AGOSTINHO, M. S.; ABREU, C. R. A. Effect of ethyl acetate extracts from husk fiber water of *Cocos nucifera* in *Leishmania brazileinsis* infected hamsters, **Brazilian Journal of Pharmacogenosy**, v. 21, n.6, p. 1006-1011, 2011.

GAYOSSO-GARCÍA SANCHO, L. E.; YAHIA, E.M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. **Food Research International**, v.44, p.1284-1291, 2011.

GURAK, P. D; BONA, G. S. D.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. Jaboticaba Pomace Powder Obtained as a Co-product of Juice Extraction: A Comparative Study of Powder Obtained from Peel and Whole Fruit, **Food Research International**, v. 62, p. 786–792, 2014.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. **Oxford University Press**, 4 ed., 2007.

HERCULANO, K. L.; **Capacidade antioxidante de Farinhas Alimentícias, (dissertação de mestrado), Instituto de Química e Biotecnologia**, Universidade Federal de Alagoas, 2014.

HOODA, V.; SHARMA, N. G.; TYAGI, N.; HOODA, A., phytochemical and pharmacological profile of *Cocos nucifera*: an overview. **International Journal of Pharmacy & Therapeutics**, v. 3, n. 2, p. 130-135, 2012.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

HUBER, K.; QUEIROZ, J. H.; MOREIRA, A. V.; RIBEIRO, S. M. Caracterização química do resíduo agroindustrial da manga ubá (*Mangifera indica* L.): Uma perspectiva para a obtenção de antioxidantes naturais, **Revista Brasileira de Tecnologia agroindustrial**, v. 06, n. 01, p. 640-654, 2012.

INFANTE, J.; SELANI, M. M.; TOLEDO, N. M. V.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.; ALENCAR, M. S.; SPOTO, M. H. F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais, **Brazilian Journal Food and Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 87-91, 2013.

JORGE, N.; MALACRIDA, C. R. Extratos de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) como fonte de antioxidantes naturais, **Alimento e Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 337-340, 2008.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. **Food Analytical Methods**, v. 2, p. 41-60, 2009.

KIAT, V. V.; SIANG, W. K.; MADHAVAN, P.; CHIN, J.H.; AHMAD, M.; AKOWUAH, G. A. FT-IR Profile and Antiradical Activity of Dehulled Kernels of Apricot, Almond and Pumpkin, **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 112, 2014.

KILMARTIN, P.A. Electrochemical detection of natural antioxidants: principles and protocols. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 3, n. 6, p. 941-955, 2001.

KIM, D. O.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003.

KIRSBERG, C.; ESQUENAZI, D.; ALVIANO, C. S.; RUMJANEK, V. M. The Effect of a Catechin-rich Extract of *Cocos nucifera* on Lymphocytes Proliferation, **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 1054–1058, 2003.

KOHNKARN, R.; OKOGONI, S. A.; ANUCHAPREEDA, S. Investigation of fruit peel extracts as sources for compounds with antioxidant and antiproliferative activities against human cell lines. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 2122-2129, 2010.

KOSCHEK, P. R.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; GATTASS, C. R. The rusk fiber of *Cocos nucifera* L. (Palmae) is a source of anti-neoplastic activity, **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p. 1339-1343, 2007.

KUMAR, S.N. Variability in coconut (*Cocos nucifera* L.) germplasm and hybrids for fatty acid profile of oil. **Journal Agriculture Food Chemical**, v. 59, p. 13050–13058. 2011.

KUMAR, V., et al., Novel chalcone derivatives as potent Nrf2 activators in mice and human lung epithelial cells. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4147-59, 2011.

MCDONALD, S.; *et al.* Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. **Food Chemistry**, v. 73, p. 73-84, 2001

MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; TIVERON, A. P.; OLDONI, T. L.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais, **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1088-1093, 2011.

MENDONÇA-FILHO, R. R.; RODRIGUES, I. A.; ALVIANO, D. S.; SANTOS, A. S.; SOARES, R. M. A.; ALVIANO, C. S.; LOPES, A. H.C.S.; ROSA, M. S. S. Leishmanicidal activity of polyphenolic-rich extract from husk fiber of *Cocos nucifera* Linn. (Palmae), **Research in Microbiology**, v. 155, p. 136–143, 2004.

NASIMUNISLAM, N.; NAINE, J.; KHORA, S. S.; KUMAR, V.; OHANASRINIVASAN, V.; Devi, S. C.; PANNEERSELVAM, A., Cytotoxic Property of *Cocos nucifera* shell Extracts on HeLa Cells. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 7, n. 5, p. 521-525, 2014.

NASCAR, S.; MAZUMDER, U. K.; PRAMANIK, G.; BALA, A.; HALDAR, P. K.; ISLAM, A.; GUPTA, M. Comparative in vitro antioxidant activity of different parts of *Cocos of nucifera* (Linn.) on reactive oxygen and nitrogen species, **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 3, 2011.

OLIVEIRA, A. C. **Capacidade antioxidante de farinhas de resíduos de frutas tropicais**. (Dissertação de Mestrado) Ciências da Saúde – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A., BECHARA, E.J.H.; DE BARROS, M.P.; MANO, C.M.; GOULART, M.O.F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, p. 469–475. 2009.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

OMENA, C. M. B.; MENEZES, M. E. S.; CARVALHO, C. M.; SILVA, J. M.; OLIVEIRA, M. B. F.; MIRANDA, E. C.; PINHEIRO, D. M.; ALENCAR, S. M.; SANT'ANA, A. E. G. Reflexos da utilização de farelo de coco sobre o valor nutricional do filé de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857, **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 30, n. 3, p. 674-679, 2010.

OMENA, C.M.B.; VALENTIM, I.B.; GUEDES, G.S.; RABELO, L.A.; MANO, C.M.; BECHARA, E.J.H.; SAWAYA, A.C.H.F.; TREVISAN, M.T.S.; DA COSTA, J.G.; FERREIRA, R.C.S.; SANT'ANA, A.E.G.; GOULART, M.O.F. antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seed of exotic brazilian fruits. **Food research International**, v. 49 p. 334-344, 2012.

ONDEI, L. S.; TERESA, F. B.; BONINI-DOMINGOS, C. R.; Avaliação de fatores preditivos de estresse oxidativo em pessoas saudáveis, **Revista Biotemas**, v. 27, n. 3, p. 167-173, 2014.

ÖZUREK, M.; GÜÇLÜ, K.; APAK, R. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement, **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 665-664, 2011.

PANNIRSELVAM, P. V.; LIMA, F. A. M.; DANTAS, B. S.; SANTIAGO, B. H. S.; LADCHUMANANADASIVAM, R.; FERNANDES, M.R. P. Desenvolvimento de projeto para produção de fibra de coco com inovação de tecnologia limpa e geração de energia, **Revista Analytical**, v. 15, p. 56-62, 2005.



PENG, Z.; HAYASAKA, Y.; ILAND, P. G.; SEFTON, M.; HOJ, P.; WATERS, E. J. Quantitative analysis of polymeric procyanidins (tannins) from grape (*Vitis vinifera*) seeds by reverse phase high-performance liquid chromatography, *J. Agriculture Food Chemistry*, v. 49, p. 26–31, 2001.

PESCHEL, W, et al. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, v. 97, p. 137–150, 2006.

PRIOR, R. L; WU, X; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 10, p. 4290- 4302, 2005.

RAGUBEER, N.; BEUKES, D.R.; LIMSON, J.L. Critical assessment voltammetry for rapid screening of antioxidants in marine algae. *Food chemistry*, v. 121, p. 227-232, 2010.

RAHAL, A.; KUMAR, A.; INGH, V. S.; YADAY, B.; TIWARI, R.; CHAKRABORTY, S.; DHAMA, K. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay, *BioMed Research International*, p. 1-19, 2014.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos, *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RENÉ, A.; ABASQ, MARIE-LAURENCE; HAUCHARD, D.; HAPIOT, P. How do phenolic compounds react toward superoxide ion? A simple electrochemical method for evaluating antioxidant capacity. *Analytical Chemistry*. v. 82, p. 8703–8710, 2010.

RENJITH, RS.; CHIKKU, AM.; RAJAMOCHAN, T. Cytoprotective, antihyperglycemic and phytochemical properties of *Cocos nucifera* (L.) inflorescence. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, p. 804-810, 2013.

RINALDI S.; SILVA, D. O.; BELLO, F.; ALVIANO, C. S.; ALVIANO, D. S.; MATHEUS, M. E.; FERNANDES, P. D. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities from *Cocos nucifera* L. (Palmae). *Journal Ethnopharmacol*, v. 122, p. 541– 546, 2009.

RODRIGUES. J. S. Q. **Infusões à base de folhas de passifloras do cerrado: Compostos fenólicos, atividade antioxidante in vitro e perfil sensorial.** (Dissertação de mestrado), Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, 2012.

RUFINO. M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). *EMBRAPA, Comunicado Técnico Online 127*, 4p, 2006.

SENHORAS, E. **Estratégia de uma Agenda para a Cadeia Agroindustrial do Coco**. Campinas: ed. ESC, 2003.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.S. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SILVA, F. A. S.; LOPES, CLEYLTON, B. L.; COSTA, E. O.; LIMA, P. R.; KUBOTA, L. T.; GOULART, M. O. F. Poly-xanturenic acid as an efficient mediator for the electrocatalytic oxidation of NADH, **Electrochemistry Communications**, v. 12, n. 3, p. 450-454, 2010.

SILVA, F. A. S.; LOPES, C. B.; LIMA, P. R.; KUBOTA, L. T.; GOULART, M. O. F. A Poly-xanthurenic acid modified electrodes: An amperometric sensor for the simultaneous determination of ascorbic and uric acids. **Sensors and Actuators**. Part B. Chemical, v. 168, p. 289–296. 2012.

SILVA, D. O.; MARTINS, G. R.; SILVA, A. J. R.; ALVIANO, D. S.; NASCIMENTO, R.; P.; KAPLAN M. A. C.; ALVIANO, C. S. Chemical and antimicrobial analysis of husk fiber aqueous extract from *Coco nucifera* L.. **African Journal of Biotechnology**, 12, 2478-2483, 2013.

SILVA, R. R.; SILVA, D. O.; FONTES, H. R.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D.; ALVIANO, D. S. Anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial activities of *Cocos nucifera* var. *typica*, **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, p. 107, 2013.

SILVA, G. O.; JERÔNIMO, C. E. **Estudo de alternativas para o aproveitamento de resíduos sólidos da industrialização do coco**, Monografia ambientais, Remoa UFSM, v. 10, n. 10, p. 2193-2208, 2012.

SINGH, A.; SABALLY, K.; KUBOW, S.; DONNELLY, D.J.; GARIEPY, Y.; ORSAT, V.; RAGHAVAN, G.S.V. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidants from potato peels. **Molecules**, v. 16, p. 2218-2232, 2011.

SIQUEIRA, A. C. A. **Caracterização e obtenção de compostos fenólicos presentes no efluente do processamento da casca do coco verde**, Dissertação de mestrado Engenharia Química – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

SIVAKUMAR, M, K.; MOIDEEN, M. M.; VARGHESE, R.; SHEIK, BASHEERUDDIN, DHANAPAL, CK. Preliminary Phytochemical Screening and Anti-Bacterial activity of *Cocos nucifera* Linn root, **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 2, n. 3, p. 468-477, 2011.

SOONG, Y.; BARLOW, P. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds, **Food Chemistry**, v. 88, p. 411-417, 2004.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R., et al., Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais, **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Revista UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, 263-269, 2012.

THEBO, N. K.; SIMAIR, A. A.; SHEIK, W. A.; MANGRIO, S. M.; NAGNI, NAGNI, P. L.; MANGRIO, S. G.; NIZAMANI, H. M. Determination of fatty acids and elements from coconut (*Cocos nucifera*) shell, **Pakistan Journal Biotechnol**, v. 11, n. 1, p. 33 – 40, 2014.

TEIXEIRA, R. B. **Fermentação alcoólica utilizando líquido da casca do coco verde como fonte de nutrientes**, Dissertação de Mestrado Engenharia Química, Natal, UFRN, 2007.

VASCONCELOS, S. M. L.; SILVA, M. A. M.; GOULART, M. O. F. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função. **Nutrire: Journal Brazilian Society of Food and Nutrition**, v. 31, n. 3, p. 95-118, 2006.

VASCONCELOS, T. B.; CARDOSO, A. R. N. R.; JOSINO, J. B.; MACENA R. H. M.; BASTOS, V. P. D. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo?, **UNOPAR Científica Ciências Biológica e da Saúde**, v. 16, n. 3, p. 213-219, 2014.

WANG, Bi-Ni; LIU, H. F.; ZHENG, J.B.; FAN, M.T.; CAO, W. Distribution of phenolic acids in different tissues of jujube and their antioxidant activity. **Journal Agriculture. Food Chemistry**, v. 59, p. 1288-1292, 2011.

YU, J.; AHMEDNA, M.; IPEK GOKTEPE, I. Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. **Food Chemistry**, v. 90, p. 199-206, 2005.

YAKOVLEVA, K.E.; KURZEEV, S.A.; STEPANOVA, E.V.; FEDOROVA, T.V.; KUZNETSOV, B.A.; KOROLEVA, O.V. Characterization of plant phenolic compounds by cyclic voltammetry. **Applied Biochemistry Microbiology**, v. 43, n. 6, p. 661-668, 2007.

YU, T-W., ANDERSON, D. Reactive oxygen species--induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research, Amsterdam**, v. 379, n. 2, p. 201-210, 1997.