



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE TECNOLOGIA
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA**



KARLA JULYANNA AURELIANO SILVA FONSECA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO BIO-ÓLEO DE COCO NO
FUNGO *CANDIDA ALBICANS***

Maceió
2024

KARLA JULYANNA AURELIANO SILVA FONSECA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO BIO-ÓLEO DE COCO NO
FUNGO *CANDIDA ALBICANS***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof. Dra. Livia Maria de Oliveira Ribeiro.

Coorientadora: Msc. Vanessa Daiany Vieira Medeiros

Maceió
2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

F676a Fonseca, Karla Julyanna Aureliano Silva.
Avaliação da atividade antifúngica do bio-óleo de coco no fungo *Candida albicans* / Karla Julyanna Aureliano Silva Fonseca. – 2024.
54 f. il. : figs. ; tabs. color.

Orientadora: Livia Maria de Oliveira Ribeiro.
Co-orientadora: Vanessa Daiany Vieira Medeiros.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química).
Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2024.

Bibliografia: f. 48-54.

1. Extrato Pirolenhoso. 2. Contagem Inibitória Mínima. 3. Bio-óleo. 4. *Cândida albicans*. I. Título.

CDU:661.163.2

Folha de Aprovação

KARLA JULYANNA AURELIANO SILVA FONSECA

Avaliação da atividade antifúngica do bio-óleo de coco no fungo *candida albicans*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Banca Examinadora:

 Documento assinado digitalmente
LIVIA MARIA DE OLIVEIRA RIBEIRO
Data: 03/04/2024 13:08:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientadora: Profª. Dra. Livia Maria de Oliveira Ribeiro
(Universidade Federal de Alagoas)

 Documento assinado digitalmente
VANESSA DAIANY VIEIRA MEDEIROS
Data: 05/04/2024 09:25:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Coorientadora: Msc. Vanessa Daiany Vieira Medeiros
(Universidade Federal de Alagoas)

 Documento assinado digitalmente
WILLIAM GONCALVES VIEIRA
Data: 04/04/2024 15:04:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. William Gonçalves Vieira
(Universidade Federal de Alagoas)

 Documento assinado digitalmente
WAGNER ROBERTO DE OLIVEIRA PIMENTEL
Data: 04/04/2024 18:04:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Wagner Roberto de Oliveira Pimentel
(Universidade Federal de Alagoas)

Dedico este trabalho primeiramente a **“Deus”**, fonte de toda sabedoria e inspiração, aos meus pais, por todo amor e apoio incondicionais, ao meu esposo, pela compreensão, incentivo e amor, e aos meus queridos filhos (Bruno e Anny), fonte de motivação e alegria constante em minha vida. Este trabalho não só é uma vitória minha, mas de todos aqueles que seguraram minhas mãos e disseram que eu conseguiria. Amo vocês!.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por tudo que Ele proporciona em minha vida, bênçãos, constantes orientações e pela força que me concedeu durante toda essa trajetória.

Aos meus pais, Maria Vitória Aureliano da Silva e João Aureliano da Silva, expresso minha profunda gratidão pelo amor incondicional e pelo apoio. Vocês foram minha base para prosseguir.

Ao meu esposo Rodrigo Silva Fonseca e aos meus filhos, Bruno Aureliano Silva Fonseca e Anny Beatriz Aureliano Silva Fonseca, agradeço por serem minha fonte de inspiração e apoio constante. O amor e a compreensão de vocês tornaram possíveis todos os dias e noites dedicados aos estudos e pesquisas. Vocês foram minha inspiração e suporte em todos os momentos.

Aos meus irmãos, Vilma Aureliano Emidio da Silva, Vandegé Aureliano da Silva Caetano e Fábio Júnior Aureliano da Silva, e aos meus sobrinhos e sobrinhas, agradeço por estarem sempre ao meu lado, compartilhando alegrias e incentivando-me a seguir em frente.

Aos meus sogros, João Tigre e Gessélia Elias Silva Tigre, meus sinceros agradecimentos pelo apoio ao longo desta jornada.

À minha Orientadora, Prof. Dra. Livia Maria de Oliveira Ribeiro e a minha coorientadora, Msc. Vanessa Daiany Vieira Medeiros, expresso minha gratidão pela orientação cuidadosa e pelo incentivo constante.

Ao Prof. Dr. João Inácio Soletti, pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos e por guiar na jornada acadêmica.

Em especial à minha amiga de jornada acadêmica, Maria Kelyane Miguel da Silva, agradeço por compartilhar comigo os desafios e as alegrias deste percurso. Como também não poderia deixar de mencionar aqueles colegas que, de uma forma ou de outra, contribuíram com essa trajetória durante todo o curso.

À minha amiga e preceptora do estágio, Dra. Simone Regina Alves de Freitas Barros, quero expressar minha sincera gratidão. Sua orientação, sabedoria e dedicação foram fundamentais para o meu crescimento profissional e pessoal. Aprendi muito com você e sou imensamente grata por tudo que fez no decorrer do estágio no Hospital Universitário Professor Alberto Antunes (Hupaa).

Ao Laboratório de Sistemas de Separação e Otimização de Processos (LASSOP), pelo espaço que proporcionou o progresso deste estudo.

A Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e o Centro de Tecnologia (CTEC), por incentivar os estudantes a crescerem profissionalmente, oferecendo oportunidades para seu desenvolvimento.

A todos os professores, colegas, amigos e familiares que de alguma forma contribuíram para este momento, meu mais profundo agradecimento. Cada palavra de incentivo e gesto de apoio foram essenciais para minha jornada.

*“Consagre ao Senhor tudo o que
você faz, e os seus planos serão
bem-sucedidos”. Provérbios 16:3*

RESUMO

No Brasil o cultivo de coqueiros é uma indústria significativa, que gera uma grande quantidade de resíduos em aterros sanitários por longos doze anos, causando proliferação em lençóis freáticos, proliferação de diferentes insetos causadores de doenças, entre outros. Materiais como os resíduos do coco são ricos em compostos que podem ser aproveitados de diferentes formas obtendo um melhor descarte e gerando produtos ricos para toda sociedade através desta biomassa. A pirólise surge como uma solução para converter esses resíduos de forma sustentável, obtendo, assim, três produtos de grande valor agregado: biocarvão, bio-óleo e biogás. O bio-óleo, por sua sinergia de diversos compostos, possui ação antifúngica, a qual pode até se assemelhar a diversos produtos comerciais existentes no mercado. O fungo do gênero *Candida albicans* é um fungo causador de uma doença sistêmica mais comum, a candidíase. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo pirolisar o endocarpo do coco de modo a avaliar a ação deste bio-óleo como agente antifúngico na cepa de *Candida albicans*. Avaliou-se o extrato do bio-óleo em diferentes concentrações, sendo-as 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,70; 0,39; 0,19 e 0,09 mg/mL, e, de forma quantitativa e qualitativa, determinou que a Concentração de Inibição Mínima (CIM) de bio-óleo que se deve utilizar para conseguir controlar o crescimento bacteriano. Essa concentração foi de 0,70 mg/mL, ou seja, com uma pequena quantidade de bio-óleo já obteve um resultado bastante satisfatório e promissor para esse controle bacteriano. Assim, o bio-óleo utilizado como produto desse trabalho se mostrou eficiente no controle do fungo de *Candida albicans*, comprovando seu elevado poder antifúngico.

Palavras-Chave: Extrato Pirolenhoso. Contagem Inibitória Mínima. Bio-óleo. *Candida albicans*.

ABSTRACT

In Brazil, coconut tree cultivation is a significant industry, which generates a large amount of waste in landfills for twelve years, causing proliferation in groundwater, proliferation of different disease-causing insects, among others. Materials such as coconut waste are rich in compounds that can be used in different ways, achieving better disposal and generating rich products for the entire society through this biomass. Pyrolysis appears as a solution to convert this waste in a sustainable way, thus obtaining three products with great added value: biochar, bio-oil and biogas. Bio-oil, due to its synergy of different compounds, has antifungal action, which may even resemble several commercial products on the market. The fungus of the genus *Candida albicans* is a fungus that causes the most common systemic disease, candidiasis. In view of the above, the present work aimed to pyrolyze the coconut endocarp in order to evaluate the action of this bio-oil as an antifungal agent on the *candida albicans* strain. The bio-oil extract was evaluated at different concentrations, 12.5; 6.25; 3.12; 1.56; 0.70; 0.39; 0.19 and 0.09 mg/mL, and, quantitatively and qualitatively, determined the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of bio-oil that should be used to control bacterial growth. This concentration was 0.70 mg/mL, that is, with a small amount of bio-oil, a very satisfactory and promising result for this bacterial control was obtained. Thus, the bio-oil used as a product of this work proved to be efficient in controlling the candida albicans fungus, proving its high antifungal power.

Keywords: Pyroligneous Extract. Minimum Inhibitory Count. Bio-oil. *Cândida albicans*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Componentes de um coqueiro (<i>Cocos nucifera L.</i>).....	19
Figura 2. Produtos envolvidos na pirólise.....	21
Figura 3. Produtos obtidos na pirólise: a) bio-óleo e b) biocarvão.....	22
Figura 4. Fungo do gênero <i>Candida albicans</i>	25
Figura 5. Etapas realizadas no trabalho.....	29
Figura 6. Endocarpo de coco para limpeza.....	30
Figura 7. Endocarpo do coco: a) Quebra em uma morsa e b) Diminuição de sua granulometria.....	31
Figura 8. Equipamento utilizado para o procedimento da pirólise.....	31
Figura 9. Poços utilizados na técnica de microdiluição.....	34
Figura 10. Leitor de microplacas utilizado para contagem microbiológica.....	36
Figura 11. Equipamento utilizado para fracionar o bio-óleo.....	37
Figura 12. Bio-óleo obtido.....	38
Figura 13. Fungo <i>candida albicans</i> : a) em uma placa e b) análise microscópica.....	40
Figura 14. Atividade do extrato pirolenhoso em placas de 96 poços.....	41
Figura 15. Frações obtidas no fracionamento do extrato pirolenhoso.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Densidade da biomassa.....	39
Tabela 2. Volume dos produtos obtidos.....	39
Tabela 3. Rendimento dos produtos obtidos através da pirólise do EC.....	39
Tabela 4. Absorbâncias dos controles negativos e positivos.....	43
Tabela 5. Absorbâncias das soluções utilizando bio-óleo como agente antifúngicos.....	43

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AgNO₃ - Nitrato de prata

ASD - Ágar Sabouraud Dextrose

BO - Bio-óleo

CFC - Contagem de Formação de Colônias

CIM - Concentração Inibitória Mínima

cmHg - Centímetros de mercúrio

CTEC - Centro de Tecnologia

DIC - Delineamento Inteiramente Casualizado

EC - Endocarpo do coco

ha - Hectares

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

kPa - Quilopascal

kW - Quilowatt

LASSOP - Laboratório de Sistemas de Separação e Otimização de Processos

µg - Miligrama

µL - Microlitro

mL - Mililitro

rpm - Rotação por minuto

RVVC - Candidíase Vulvovaginal Recorrente

TTC - Cloreto de 2,3,5 Trifeniltetrazolio

UFAL - Universidade Federal de Alagoas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. RELEVÂNCIA DO TEMA.....	16
3. OBJETIVOS.....	17
3.1 Objetivo geral.....	17
3.2 Objetivos específicos.....	17
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
4.1 O Coco (<i>Cocos Nucifera L.</i>).....	18
4.1.1 Resíduos do coco.....	19
4.2 Pirólise.....	20
4.2.1 Bio-óleo e suas aplicações.....	22
4.3 Fungos.....	24
4.3.1 Fungo do gênero <i>Candida Albicans</i>	24
4.3.2 Tratamentos atuais para <i>Candida Albicans</i>	26
4.4 Fracionamento do bio-óleo.....	27
5. METODOLOGIA.....	29
5.1 Obtenção do coco e Pirólise.....	29
5.1.1 Análise do rendimento da pirólise.....	32
5.2 Avaliação da atividade antifúngica do bio-óleo.....	32
5.2.1 Cultivo do fungo.....	33
5.2.2 Preparação do extrato pirolenhoso.....	34
5.2.3 Crescimento dos fungos.....	35
4.3 Fracionamento de Fases.....	36
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
6.1 Pirólise do Coco.....	38
6.1.1 Análise do rendimento na produção do bio-óleo.....	39
6.2 Avaliação da atividade antifúngica do bio-óleo.....	40
6.3 Fracionamento de Fases.....	45
7. CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo de coqueiros tem uma produção estimada em 2,74 milhões de toneladas por ano, com um rendimento médio de 100 g/ha, totalizando em 14,5 milhões de toneladas, que abrange uma área de 189.525 ha (FAO, 2022). Salienta-se, que o coqueiro é uma planta multifacetada com alto potencial econômico, por isso, tem uma gama de variedade de produtos a ser explorada. Elucidando, a casca do coco pode ser usada em artesanatos, o óleo de coco, comumente, é utilizado pela indústria alimentícia e a fibra do coco maduro é amplamente empregada pela indústria e agricultura brasileiras (BARROS, 2022).

À vista disso, o vasto potencial de utilidade do coco resulta em uma quantidade significativa de resíduos, gerando desafios consideráveis para a disposição adequada, especialmente em aterros sanitários. Por isso, o manejo de resíduos sólidos, particularmente os orgânicos, torna-se uma problemática nos países em desenvolvimento, dada sua capacidade de gerar energia. Com isso, no Brasil, o uso de resíduos orgânicos como biomassa impulsiona a liderança do país em recursos renováveis. Entre eles, o coco verde vem ganhando destaque devido à sua abundância, como também ao seu uso industrial e doméstico disseminado (SANTANA, 2020).

Com intuito de aproveitar os resíduos orgânicos, a pirólise emerge como uma possível solução, convertendo-os em energia. Porém, a qualidade e a quantidade dos produtos obtidos dependem das propriedades químicas e físicas da biomassa utilizada (SILVEIRA, 2018). Segundo Figueiredo (2011), a pirólise da biomassa quebra as estruturas moleculares dos componentes (celulose, hemicelulose e lignina), gerando rendimentos significativos e altos em produtos líquidos.

Existem dois tipos de pirólise, cuja pirólise lenta, também chamada de pirólise convencional, é usada para produzir carvão vegetal, enquanto, a pirólise rápida, é um processo que ocorre com altas taxas de aquecimento e curtos tempos de residência, sendo causado por vapores, aerossóis e uma certa quantidade de carvão vegetal. Trata-se de um processo de eliminação de resíduos através do aquecimento em uma atmosfera pobre em oxigênio, abaixo do nível de combustão estequiométrica. Não obstante, ao contrário da combustão, a pirólise é um processo endotérmico, que implica a exigência de calor para ocorrer, no qual, a conversão catalítica pode ocorrer, dependendo do tipo de resíduo e do equipamento usado (OLIVEIRA, 2009).

Logo, os óleos que podem ser usados na indústria química, os sólidos com propriedades de combustíveis e adsorptivos e os gases que podem ser reciclados em usinas de co-geração são produtos de pirólise (OLIVEIRA, 2009). Como produto da pirólise, tem-se um líquido marrom escuro com poder calorífico equivalente a 40% do óleo combustível e ainda apresenta altos rendimentos de gás (GOMEZ, 2000).

Em fase aquosa, o produto conhecido como extrato pirolenhoso é originado de várias reações, incluindo a desidratação, contendo compostos oxigenados de maior polaridade do que aqueles encontrados na fase orgânica. Constata-se, que esses compostos abrangem fenóis, aldeídos, cetonas, orgânicos, entre outros (VIEIRA, 2019).

Nesse encadeamento, ressalta-se que a pirólise é uma técnica importante, especialmente na separação de fases do extrato pirolenhoso do óleo de coco, crucial para isolar os componentes distintos do extrato, permitindo a identificação dos compostos ativos responsáveis por suas propriedades biológicas ou terapêuticas.

A ligação entre separação de fases e pirólise emerge quando uma mistura complexa é mantida na pirólise. Assim, a combinação pode conter vários elementos, dentre os quais podem ter propriedades distintas, como pontos de evaporação, volatilidade e reatividade térmica. Vale frisar, que os compostos podem se decompor de diferentes maneiras, com alguns sendo lançados como gases e outros se tornando puros resíduos como carvão ou cinza. Posto isto, tal separação pode ser útil na fase pós-tratamento, após a pirólise, para separar e purificar os produtos obtidos ao longo do procedimento.

Portanto, a utilização do extrato pirolenhoso de óleo de coco tem sido estudada como uma estratégia terapêutica para doenças de pele e fúngicas em animais com ênfase na saúde. Dessa maneira, o objetivo deste estudo está em avaliar a atividade antifúngica da levedura *Candida Albicans*, através da reativação em meios de cultura sólidos, com Ágar Sabouraud Dextrose, para obtenção de um produto com características antifúngicas. Assim como, realizar o fracionamento do extrato pirolenhoso do óleo de coco, para posterior estudo de grupamento de compostos ativos.

2. RELEVÂNCIA DO TEMA

O estudo dos produtos obtidos da pirólise é algo que vem crescendo cada vez mais devido a sua facilidade de processo, alto valor aquisitivo envolvido e finalidade a uma biomassa que, por muitas vezes, pode se tratar de um problema ambiental.

Por conta disso, entender a composição desses produtos e sua eficiência para um determinado uso é primordial de forma a agregar valor e direcioná-lo a uma determinada problemática. Dessa forma, esse estudo propôs estudar o bio-óleo, obtido através do resíduo do endocarpo do coco, de modo a utilizá-lo como agente antifúngico do fungo causador da candidíase, fungo do gênero *candidas albicans*, um dos fungos mais comuns que afeta tantos seres humanos quanto animais.

No meio acadêmico, poucos trabalhos foram publicados a respeito do tema (utilização do bio-óleo como agente antifúngico), onde, após uma consulta bibliográfica foram encontrados apenas 33 artigos publicados, ao longo de todos os anos, sendo importante destacar nos últimos 5 anos: 7 artigos em 2020, 5 artigos em 2021, 5 artigos em 2022, 5 artigos em 2023 e 1 artigo já publicado em 2024. No entanto, a escassez de trabalhos sobre a ação do bio-óleo de coco na *candida albicans*, de modo a determinar os princípios ativos através do seu fracionamento, fizeram desse trabalho algo promissor no mundo acadêmico.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliação da atividade antifúngica de *Candida albicans*, seguido de um fracionamento do extrato pirolenhoso de óleo de coco para posterior estudo de grupamento de compostos ativos.

3.2 Objetivos específicos

- Pirólise da biomassa para produção de bio-óleo;
- Avaliação da atividade antifúngica para a *Candida albicans*;
- Fracionamento das fases do extrato pirolenhoso do óleo de coco.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esta seção trata dos principais tópicos estudados neste trabalho, o qual foi de fundamental importância para seu entendimento e realização. Inicialmente foi abordado sobre a biomassa escolhida para utilizar como produto da pirólise, no caso o coco e, conseqüentemente, a obtenção do bio-óleo. Em seguida, foi apresentado sobre o fungo estudado, *Candida albicans*, bem como o tratamento que é feito atualmente para seu controle infeccioso.

4.1 O Coco (*Cocos Nucifera L.*)

O coqueiro, com o nome binomial de *Cocos nucifera L.*, também conhecido por palmeira, tem uma ampla distribuição mundial, identificado em cerca de 90 países. Trata-se de uma planta monocotiledônea da família *Palmaceae*, proveniente do Sudeste Asiático, que chegou ao Brasil pela Bahia, em 1553, e depois disso ficou conhecido como "Coco-da-Baía" (REIS, 2020). Mundialmente, os cocos são conhecidos como sementes oleaginosas e são principalmente processados como combustível e outros produtos nos estágios finais. No entanto, no Brasil, os cocos verdes também são consumidos devido à disponibilidade de água rica em sais minerais encontrados neles. Inclusive, nas cidades costeiras e turísticas do país, grandes quantidades de coco verde são despejadas diariamente por comerciantes que vendem partes comestíveis e água de frutas. Segundo o IBGE, em 2021 estima-se que obteve um valor da produção de 1.299.188 mil reais, a quantidade produzida de 1.638.573 mil frutos, a área colhida em torno de 186.392 hectares e um rendimento médio de 8.791 frutos/ha, na produção de coco-da-baía (ANDRADE *et al.*, 2004; IBGE, 2021).

Essas palmeiras se adaptam às diferentes condições do clima e do solo existentes em várias regiões do Brasil, onde seu fruto tem sido fonte de alimento, além de ser muito usado em produtos artesanais, remédios e cosméticos (SANTANA, *et al.* 2020). Por ser uma árvore muito versátil, suas partes são utilizadas para várias finalidades, sendo-as apresentadas na Figura 1.

Figura 1. Componentes de um coqueiro (*Cocos nucifera L.*)



Fonte: Cuenca, 2021.

O mesocarpo ou casca fibrosa é a camada mais externa e durável do coco, feita de fibras duras. Esta casca protege a fruta, mantendo-a segura e preserva o conteúdo do seu interior, conhecida como casca marrom. Ela é responsável por preservar a integridade do fruto.

O endocarpo, ou casca dura, envolve a polpa do coco, sendo responsável por manter a integridade da fruta.

A polpa, também denominada como a carne do coco, é a parte suculenta e comestível da fruta. Essa polpa tem uma cor branca, rica em vitaminas, minerais e nutrientes saudáveis. A polpa pode ser utilizada fresca diretamente do coco ou para preparar diversas receitas culinárias (ex. doces, bebidas, entre outras).

4.1.1 Resíduos do coco

Os resíduos do coco são os subprodutos resultantes do processamento dessa fruta tropical. Sendo assim, um dos problemas ambientais que mais preocupam os atuantes na gestão pública é a produção de rejeito, pois o gerenciamento de resíduos sólidos requer manejo e destinação eficiente para reduzir os efeitos (JESUS *et al.*, 2021).

De acordo com Souza et al. (2023), a produção de coco tem experimentado um grande crescimento global devido à crescente demanda por produtos derivados do coco. Entretanto,

esse aumento na produção também resulta em um aumento na quantidade de resíduos gerados pela indústria.

Pontua-se que a questão dos resíduos do coco é preocupante, pois as cascas demoram cerca de doze anos para se decompor completamente. Nesse sentido, a busca por alternativas eficientes para o aproveitamento desses resíduos é um campo crescente de pesquisa e inovação, visando transformá-los em produtos de alto valor agregado, tais como biocombustíveis, aditivos para materiais de construção, fertilizantes orgânicos, produtos terapêuticos e muito mais (SOUZA, 2023).

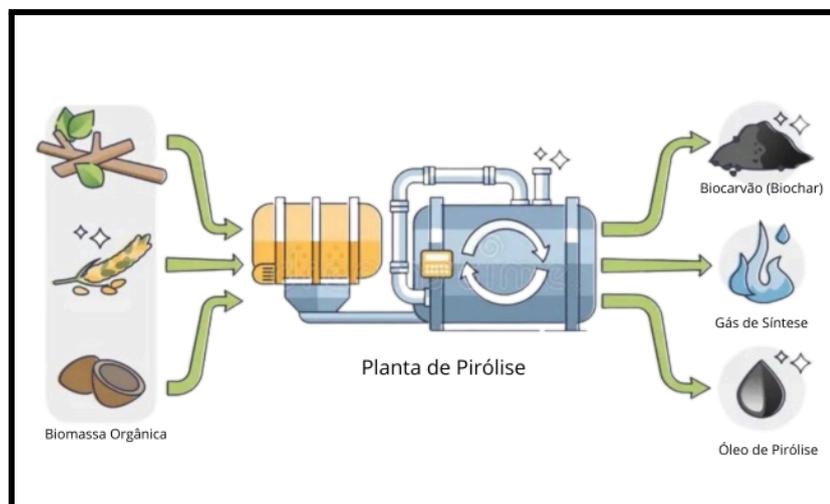
4.2 Pirólise

O processo de pirólise é uma reação química de biomassa ou outra matéria orgânica na ausência ou com quantidades limitadas de oxigênio e em temperaturas elevadas, geralmente acima de 350°C. Tais condições térmicas são críticas para evitar a combustão completa de materiais orgânicos.

Por sua grande diversidade de utilização, a pirólise vem sendo uma alternativa viável para utilização de biomassas que são vistas como agentes poluentes, ou seja, como resíduos. Nessa perspectiva, a pirólise surge como solução para agregar valor aos resíduos gerados por várias produções, como por exemplo a do coco, podendo se tornar, assim, um subproduto útil.

Como efeito, os materiais orgânicos não queimam completamente na forma de cinzas ou carbono, ao invés disso se decompõem em produtos úteis, como gases, líquidos e sólidos. Conseqüentemente, estes podem ser realizados em laboratórios e em escala industrial, cujo sólido produzido é chamado de biochar ou biocarvão e o líquido é chamado de líquido/extrato pirolenhoso ou bio-óleo (FÉLIX *et al.*, 2017). A Figura 2 esquematiza os produtos obtidos nesse processo.

O biochar, Figura 3b, possui como principal característica ser um material rico em carbono, tornando-o versátil para diversas aplicabilidades. Possui uma estrutura altamente porosa, ocupando de 70 a 80% de seu volume, devido à eliminação de água e compostos voláteis durante a pirólise. Isso resulta em uma baixa densidade, variando entre 200 a 400kg/m³, dependendo do processo. Além de seu uso como fonte de energia, o carvão tem várias outras aplicações, algumas delas são: fertilizante de solo, adsorvente e carvão ativado em indústrias químicas, farmacêuticas e de alimentos.

Figura 2. Produtos envolvidos na pirólise

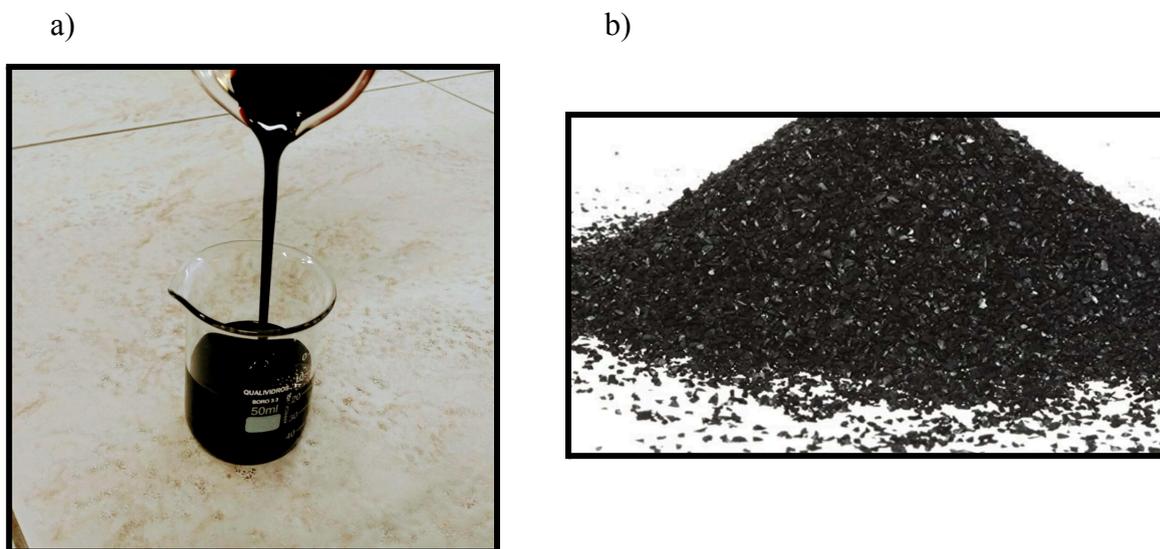
Fonte: Silva, 2019.

Sua produção é economicamente importante para o Brasil, especialmente na indústria siderúrgica, onde é essencial na fabricação de ferro gusa, ferro-ligas e peças de ferro fundido, além de contribuir para a produção de silício metálico (MONTORO, 2021). As condições de pirólise, junto com as características da matéria-prima, têm um grande impacto nas propriedades físicas e químicas do biocharvão resultante, como composição, distribuição de partículas e tamanho de poros, determinam sua aplicação adequada. O biochar é extremamente resistente no solo, com tempos de residência que podem chegar a centenas e milhares de anos, para o biochar de madeira, muito mais longos do que os da matéria orgânica. (DUKU, 2011).

Pesquisas estão sendo feitas para compreender os efeitos do biochar no solo, e os resultados indicam que seu uso tem se tornado eficaz, trazendo melhorias em várias frentes. Entre os benefícios que esse subproduto tem ocasionado, estão: incremento na capacidade de troca catiônica, aumento da retenção de água e nutrientes, e elevação do pH do solo (GONZALEZ, 2017).

O líquido pirolenhoso ou bio-óleo, Figura 3a, é composto de uma mistura muito complexa de hidrocarbonetos oxigenados, incluindo álcoois, ácidos, aldeídos, ésteres, cetonas, fenóis, bem como oligômeros derivados da lignina (XIU e SHAHBAZ, 2012). Como uma mistura complexa de compostos orgânicos, altamente oxigenados e de coloração marrom escuro, tem potencial para ser usado como biocombustível, como material de partida para aquisição de produtos químicos e também para ações antifúngicas devido a sua capacidade de ser antibactericida (PEACOCKE e BRIDGWATER, 1995).

Figura 3. Produtos obtidos na pirólise: **a)** bio-óleo e **b)** biocarvão



Fonte: Xiu e Shahbaz, 2012.

4.2.1 Bio-óleo e suas aplicações

A composição e a concentração do extrato pirolenhoso têm uma variedade de usos, pois o extrato pirolenhoso contém compostos químicos que podem ser utilizados em diversos contextos, como na produção de produtos químicos, farmacêuticos, pesticidas e outros produtos industriais (SILVEIRA, 2010). Segundo Zeferino et al. (2018), na agricultura é utilizado como bioestimulante para promover o crescimento das plantas, aumentar a resistência a pragas e doenças e melhorar a qualidade das culturas. Comumente, é usado na produção de carvão ativado e como parte de medicamentos tradicionais para fungos na pele e outros problemas de saúde.

A princípio, ao avaliar as atividades nematostáticas e nematocida de extratos pirolenhosos das palmeiras *Cocos nucifera*, *Syagrus cearensis*, *S. coronata* e *Wodetia bifurcata* contra *S. bradys*, constatou-se que os extratos pirolenhosos, particularmente de *Cocos nucifera*, têm propriedades nematostáticas e nematocidas, sendo promissores no controle de infecções por *S. bradys* e *Pratylenchus spp.* na cultura do inhame (FARIAS *et al.*, 2020).

Analogamente, ao examinar as propriedades antipiréticas e antifúngicas do ácido pirolenhoso, derivado de resíduos de abacaxi por meio de pirólise, os resultados demonstraram que o extrato inibiu o crescimento dos fungos *Pycnoporus sanguineus* e *Coriolus versicolor* (YAHAYU *et al.*, 2017).

Além disso, quando aplicado nas concentrações de 70% e 100%, o extrato suprime efetivamente o crescimento dos fungos *Aspergillus niger* e *Botryodiplodia theobromae* por um período de 7 dias. Em decorrência disso, verificou-se que o extrato exibiu atividade antipirética, levando à mortalidade completa de *Coptotermes curvignathus* após uma semana de incubação (VIEIRA, 2019). Diante disto, sugere-se que os componentes fenólicos presentes no extrato, incluindo fenol, 2,6-dimetoxifenol e 2-metoxi-4-metilfenol, são responsáveis pela atividade antipirética indicando seu potencial uso em aplicações terapêuticas ou como meio de controle de pragas na agricultura (VIEIRA, 2019).

Complementando, interação *in vitro* entre diferentes dosagens de licor pirolenhoso e o fungo *Rhizoctonia solani*, que vive no solo e pode atacar várias plantas, indicou que as doses mais efetivas estavam entre 3,0% e 4,5%. Recomendando-se o uso de 45 mL por litro de licor pirolenhoso para eliminar completamente o fungo. Logo, comprova-se que doses iguais ou superiores a 4,5% de licor pirolenhoso são eficazes para eliminar o fungo *Rhizoctonia solani* (CARAMELO *et al.*, 2022).

Através das literaturas pode-se mostrar que extratos pirolenhosos tem várias aplicabilidade e uma das maneiras de testar sua eficácia é em testes inibitórios de fungos.

4.3 Fungos

Os fungos, uma categoria diversificada de organismos eucariontes e heterótrofos, são conhecidos por sua capacidade de nutrição por absorção, podendo assumir estruturas leveduriformes ou filamentosas. Sua origem, conforme a teoria da endossimbiose, remonta a ancestrais que possivelmente foram parasitas ou saprófitos. Estudos identificaram aproximadamente 1300 espécies de fungos, indicando uma linhagem evolutiva distinta caracterizada pela perda da fase fagotrófica e especialização em diferentes grupos. Análises moleculares confirmam a relação evolutiva dos fungos com os animais, reforçando a teoria de um ancestral comum semelhante aos coanoflagelados (DRECHSLER-SANTOS, 2015).

Segundo Abreu (2015), os fungos desempenham um papel essencial no ecossistema e na vida humana, influenciando diversas atividades. Com uma vasta diversidade ecológica, fisiológica e morfológica. Os fungos filamentosos têm importância na produção de alimentos, na indústria farmacêutica e na reciclagem de compostos da biosfera. As leveduras, são amplamente utilizadas na produção de bebidas alcoólicas, na panificação e na produção de proteínas heterólogas em larga escala, tornando-as os eucariotos mais estudados em biotecnologia.

Os fungos possuem uma variedade de aplicações, sendo empregados na produção de alimentos, como em produtos fermentados e bebidas alcoólicas, e têm uma contribuição significativa na indústria farmacêutica. Além disso, nos processos de biodegradação e tratamento biológico de efluentes, bem como na atividade enzimática, sendo responsáveis pela produção de enzimas de interesse industrial e na biotransformação (ABREU, 2015).

Dentre os fungos patogênicos humanos, quatro são os gêneros mais comuns: *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* e *Pneumocystis*, sendo parasitas heterotróficos que invadem o organismo, resultando em lesões. Em indivíduos imunossuprimidos, as infecções fúngicas tendem a ser mais graves, podendo até levar à morte. Em paralelo, para o tratamento dessas infecções, os antifúngicos mais comuns pertencem a três classes principais: polienos, azóis e equinocandinas (ARAÚJO, 2018).

4.3.1 Fungo do gênero *Candida albicans*

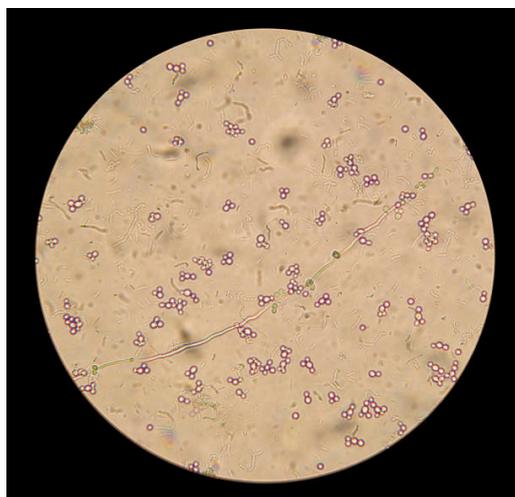
A maioria das infecções fúngicas em humanos é causada por fungos oportunistas, como a *Candida albicans*, Figura 4, que pode levar a várias doenças. Normalmente, a *Candida* vive no corpo humano sem causar problemas de saúde, sendo encontrada em até

75% das pessoas saudáveis. Nas mulheres, entre 20% e 30% podem ter esse fungo, principalmente a *Candida albicans*. A candidíase ocorre quando desequilíbrios nos micro-organismos, como problemas no sistema imunológico, permitem a proliferação do fungo, podendo resultar em complicações graves ou mesmo morte (DE ROSSI, 2011).

Em termos de sua morfologia, as características macroscópicas incluem uma consistência cremosa, podendo ser brilhantes ou opacas, com uma coloração que varia de branca a creme, embora possam também exibir tons de marfim a vermelho. Em um nível microscópico, essas estruturas podem variar de 5 a 8 µm de diâmetro. Elas consistem em células simples, arredondadas, ovais ou alongadas, com uma parede celular delgada que geralmente se reproduz por brotamento, predominantemente na região polar, onde a célula-mãe origina uma gêmula, também chamada de blastoconídio. Após serem liberadas, essas células podem permanecer independentes ou permanecer unidas, formando células alongadas (pseudo-hifas). Estas se distinguem das verdadeiras hifas por apresentarem constrição nos septos (SILVA et al, 2021).

Segundo De Rossi (2011), os altos índices de doença e morte associados às infecções em pacientes hospitalizados destacam o papel significativo de *C. albicans* como um patógeno humano de importância clínica. Embora o sistema imunológico seja crucial na transição do fungo de um estado comensal para patogênico, fatores de virulência expressos por *C. albicans*, como adesinas, mudança fenotípica, comportamento dimórfico e secreção de enzimas hidrolíticas, podem influenciar a persistência da colonização e o desenvolvimento de sintomas.

Figura 4. Fungo do gênero *Candida albicans*



Fonte: Stepan Khadzhi-www.istockphoto.com.

No entanto, a *C. albicans* em animais é comum no trato gastrointestinal, respiratório e membranas mucosas. A infecção oportunista surge devido a fatores como supressão imunológica e uso prolongado de antibióticos. A resistência aos antifúngicos convencionais torna a candidíase um desafio de saúde pública. Estudos com extratos vegetais visam encontrar tratamentos alternativos, dado o limitado arsenal terapêutico disponível na medicina veterinária, que muitas vezes apresenta efeitos adversos e alto custo (CLEFF, 2012).

De acordo com Vieira e Santos (2016), com o aumento da utilização de medicamentos antifúngicos, tem-se observado um crescente número de relatos de resistência a esses tratamentos, destacando a importância de compreender os mecanismos celulares e moleculares envolvidos nesse fenômeno. Apesar da falta de estratégias definitivas para prevenir e combater a resistência antifúngica, é possível adotar abordagens semelhantes às utilizadas para antibióticos, como o uso apropriado de doses, seleção adequada do antifúngico para cada tipo de fungo, adesão do paciente ao tratamento, aprimoramento dos métodos de diagnóstico e monitoramento da suscetibilidade dos fungos, visando detectar precocemente o surgimento de cepas resistentes.

4.3.2 Tratamentos atuais para *Candida albicans*

No que diz respeito aos tratamentos, atualmente, há uma escassez de opções de medicamentos antifúngicos disponíveis. Devido à semelhança dos fungos com os organismos eucarióticos, desenvolver fármacos para combater infecções fúngicas representa um desafio maior em comparação com os antibióticos destinados a bactérias (RIZZATI, 2022).

Terapias tópicas são recomendadas para casos leves a moderados, enquanto as orais são reservadas para sintomas graves e prevenção de Recidivas da Candidíase Vulvovaginal Recorrente (RVVC) causada pela *Candida albicans*. O tratamento inclui uma terapia de indução com azóis (fluconazol, itraconazol e o clotrimazol), seguida por uma terapia supressiva de seis meses.

O fluconazol oral é comumente utilizado, mas a resistência tem sido relatada devido ao uso indiscriminado. Estudos sugerem que a maioria das mulheres com *Candida albicans* resistente ao fluconazol foi previamente exposta ao medicamento, indicando o quanto é necessário novos fármacos a serem descobertos. (LÍRIO, 2022).

No entanto, diante do aumento crescente de casos de candidíase na Medicina Veterinária, especialmente em cães e gatos, e da semelhança genética entre os isolados de *C. albicans* de humanos e animais, torna-se crucial uma vigilância epidemiológica mais rigorosa.

Essa medida visa preservar a saúde animal e compreender o papel dos animais como possíveis vetores desses microrganismos para os seres humanos, especialmente considerando a resistência observada em algumas cepas de *C. albicans*, isoladas de cães aos antifúngicos azólicos. (BRITO, 2009).

Segundo Moreira (2010), o antifúngico exemplar formalizado no futuro deve ter um amplo espectro de atividade fungicida, tendo um mecanismo que minimize a toxicidade para quem vai está sendo administrado. Para se ter um antifúngico de referência é necessário um alvo decisivo. Portanto, é crucial a descoberta de um antifúngico sem prejudicar as células humanas e animal.

4.4 Fracionamento do bio-óleo

A composição química do bio-óleo apresenta uma elevada complexidade em virtude da grande quantidade e variedade de compostos presentes, sendo que estes podem variar em mais de uma ordem de magnitude.

As técnicas de fracionamento podem ser uma alternativa para diminuir essa complexidade, uma vez que produzem frações com composição química diferente e mais simples. A separação de diferentes frações, com compostos que apresentam características de acordo com a polaridade do solvente empregado no processo, pode, por exemplo, permitir a separação dos hidrocarbonetos, dos compostos oxigenados como fenóis e cetonas. Por sua vez, a fração contendo os hidrocarbonetos pode ser utilizada como biocombustível e a fração contendo os compostos oxigenados, utilizada como matéria-prima para a indústria.

Uma boa técnica de fracionamento deve separar os grupos químicos semelhantes, independente da amostra de bio-óleo analisada, possibilitando uma comparação efetiva entre as amostras de diferentes origens e pirólise.

Dentre as técnicas existentes, diferentes métodos têm sido fontes de pesquisas para fracionar o bio-óleo produzido pela pirólise, pretendendo separação e obtenção de fenóis. Entre esses métodos, destacam-se a corrida cromatográfica usando solventes, a extração líquido-líquido e a destilação (PRIMAZ, 2014).

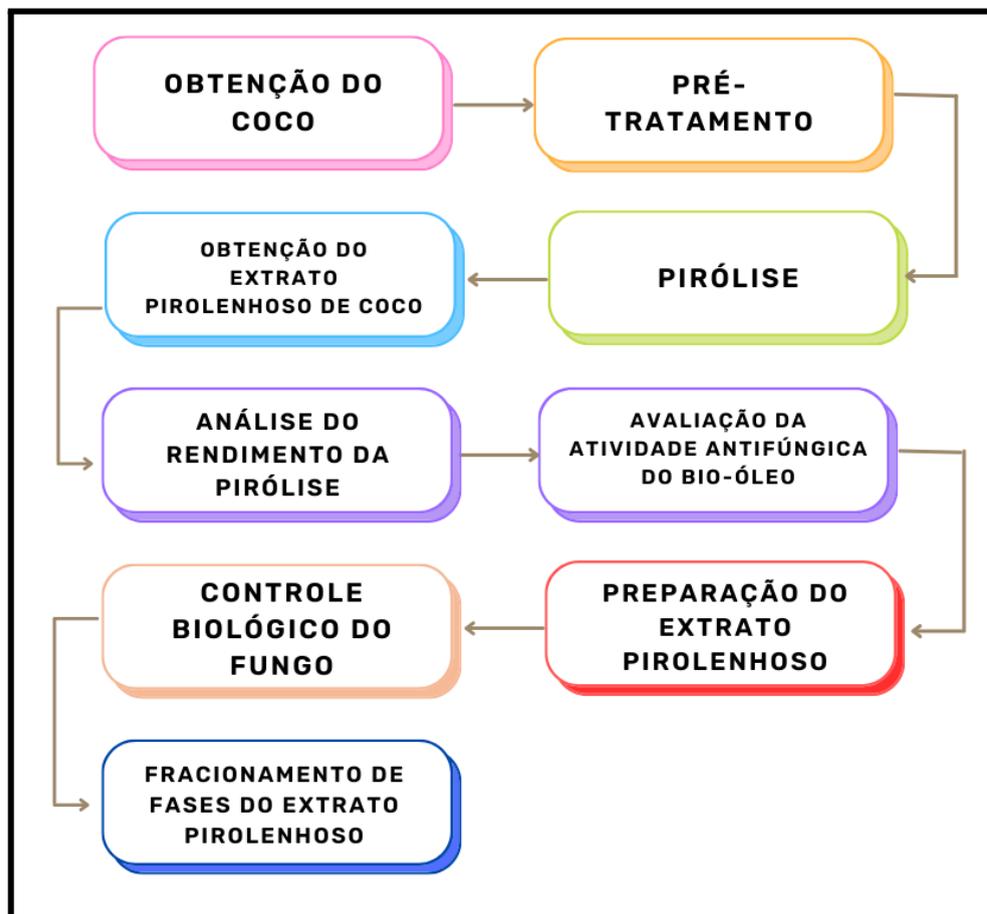
Uma pesquisa feita por Lu et al. (2011) demonstrou resultados promissores ao fracionar o bio-óleo da casca de arroz através do processo de pirólise, em três abordagens distintas: fracionamento direto com base na solubilidade em solventes de diferentes polaridades; fracionamento de acordo com as propriedades ácido-base, gerando frações ácidas, neutras e básicas; e extração em fase sólida com uma coluna C18, considerando a

polaridade durante a separação com metanol, etil acetato e ciclohexano, todos fracionamentos produzindo três frações. As análises foram feitas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas revelaram uma variedade de compostos em cada método de fracionamento, evidenciando a presença de cetonas, fenóis, ácidos e álcoois no fracionamento por solventes, álcoois, cetonas, aldeídos, ácidos orgânicos, fenóis e alcanos no fracionamento ácido-base, e alcanos, cetonas e fenóis no fracionamento com coluna C18.

5. METODOLOGIA

Para realização deste trabalho, foi seguido as etapas presentes na Figura 5.

Figura 5. Etapas realizadas no trabalho



Fonte: Autora, 2024.

5.1 Obtenção do coco e Pirólise

Para iniciar as práticas experimentais, foi realizado o processo de pirólise para obtenção do bio-óleo de coco, no Laboratório de Sistemas de Separação e Otimização de Processos (LASSOP), situado no Centro de Tecnologia (CTEC) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

O coco foi escolhido para o presente estudo por sua cultura ser bastante influente na região de Alagoas e também para agregar valor aos resíduos gerados pela sua produção, podendo se tornar um subproduto útil.

O coco utilizado na pirólise foi adquirido em um comércio local, próximo ao campus da Universidade, em sua forma seca.

Assim que o material foi obtido, o primeiro passo consistiu na quebra do coco seco seguido da retirada da maior quantidade possível da polpa contida nos endocarpos, conforme mostrado na Figura 6.

Figura 6. Endocarpo de coco para limpeza



Fonte: Autora (2024).

Em posse dos endocarpos sem as polpas, estes foram quebrados com o auxílio de uma morsa, Figura 7a, com o intuito de obter partículas menores, Figura 7b, com aproximadamente 3 cm de granulometria para sua posterior secagem e utilização no reator de pirólise.

A secagem foi realizada com o objetivo de retirar a umidade contida no endocarpo do coco e facilitar a retirada da polpa que ainda ficou fixa em sua casca. A presença dessa polpa no processo de pirólise faz com que uma terceira fase seja formada, aumentando a quantidade de voláteis e diminuindo a eficiência do processo, em outras palavras, do bio-óleo que é o produto de interesse.. Essa secagem foi realizada expondo os endocarpos ao sol por um período de 48h.

Figura 7. Endocarpo do coco: a) Quebra em uma morsa e b) Diminuição de sua granulometria

a)



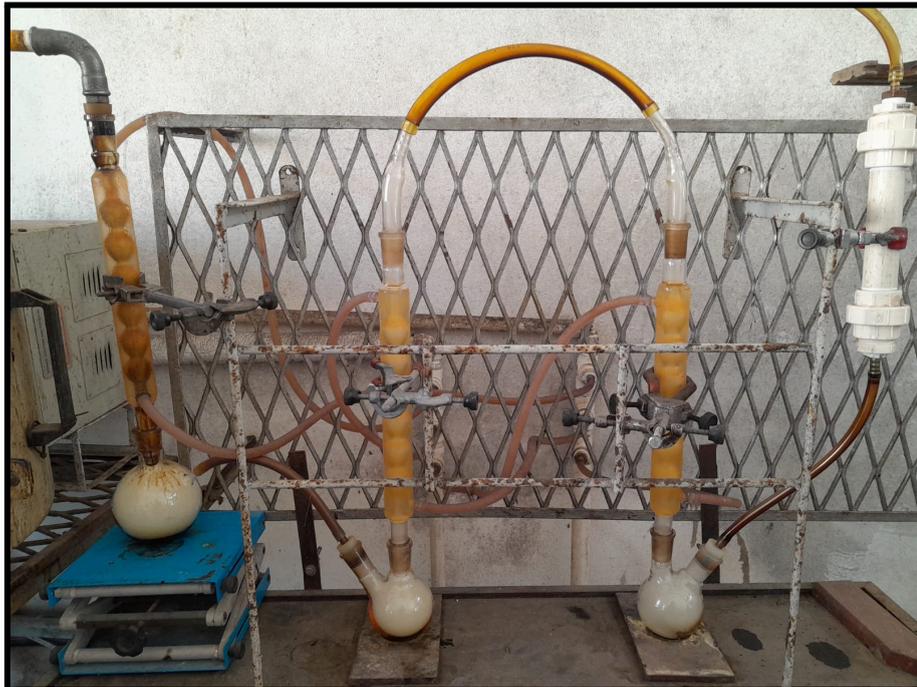
b)



Fonte: Autora, 2024.

Com o produto seco, foi realizado o procedimento de pirólise em escala de bancada, conforme ilustrado na Figura 8.

Figura 8. Equipamento utilizado para o procedimento da pirólise



Fonte: Autora, 2024.

A composição da unidade engloba um reator tubular de aço inoxidável, uma flange e um forno tubular. Para mitigar a perda de calor, o forno é revestido com uma manta térmica, o qual é equipado com um controlador de temperatura e taxa de aquecimento, dotado de 2,5kW de potência.

Para a condensação dos gases o sistema foi composto por três condensadores de vidro conectados em série. Vale mencionar que estes condensadores foram refrigerados por meio de um banho termostático à 5°C, visando a condensação dos produtos gasosos e coletar em balões de fundo redondo com duas juntas angulares de 250mL. Devido à operação em vácuo, o reator foi conectado a uma bomba de vácuo, operando sob pressão negativa de 20kPa. Antes da sucção pela bomba, um filtro de carvão foi instalado para evitar o arraste de gotículas do produto líquido, preservando, assim, a integridade do equipamento.

As condições do processo de aquecimento do forno foram ajustadas para atingir uma temperatura de 500°C, o que foi alcançado após 50 minutos. Após atingir essa temperatura, o sistema manteve-se a 500°C por um período de 2 horas, utilizando uma taxa de aquecimento de 10°C/min. Finalizado o tempo, foi adquirido um líquido escuro, chamado bio-óleo ou extrato pirolenhoso. Obtido o bio-óleo do coco, este foi utilizado para os testes como agente antifúngico, descrito no item 5.2.

5.1.1 Análise do rendimento da pirólise

Para analisar a eficiência da pirólise do endocarpo de coco, foram utilizadas três equações para determinar a quantidade dos produtos obtidos, sendo eles: bio-óleo, biocarvão e biogás.

Inicialmente, foi calculada a densidade da biomassa com o auxílio da massa utilizada para o processo de pirólise e o volume final obtido após o procedimento, sendo-a expressa em g/mL.

$$\rho = \frac{Massa}{Volume} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde, a massa é a quantidade de endocarpo introduzido no reator para o procedimento de pirólise e o volume é a quantidade de bio-óleo obtida no fim da pirólise.

Com o valor da densidade já calculada pela equação 1, foi possível calcular o volume de cada produto obtido, fazendo-se uso das massas obtidas ao final do processo de pirólise, conforme descrito na Equação 2.

$$Volume(mL) = \frac{Massas\ obtidas}{Densidade} \quad (\text{Equação 2})$$

O volume total do biogás é obtido somando os volumes do bio-óleo e do biocarvão. No entanto, a fração restante consiste principalmente em gases formados durante o processo, incluindo metano, dióxido de carbono, hidrogênio, monóxido de carbono, entre outros.

Para calcular o rendimento de cada produto, pode-se utilizar a Equação 3.

$$Rendimento(\%) = \frac{Massa\ Teórica}{Massa\ Total} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde, a massa teórica é o valor das massas de cada produto sob a massa total de endocarpos de coco utilizados no processo de pirólise.

5.2 Avaliação da atividade antifúngica do bio-óleo

Para avaliar se o bio-óleo produzido possuía ação antifúngica, foi escolhido um fungo para ser utilizado como teste, sendo utilizado o do gênero da *Candida albicans*, causador da candidíase. A candidíase é uma infecção que atinge tanto os seres humanos, principalmente as mulheres, como os animais, causando lesões que provocam coceiras, inchaços e vermelhidão. É responsável por cerca de 80% das principais infecções fúngicas sistêmicas.

5.2.1 Cultivo do fungo

A cepa utilizada foi isolada de fontes clínicas e caracterizada como *Candida albicans* após análises macro e microscópicas. Uma vez confirmada que se tratava do fungo causador da candidíase, esse microrganismo foi cultivado em meio ágar sabouraud dextrose com cloranfenicol a 300µg/mL, um meio de cultura recomendado para o crescimento e isolamento de leveduras.

O meio foi vertido manualmente em placas de Petri (90x15mm) e, após solidificação, foi realizado um estriamento simples utilizando uma alça bacteriológica estéril. Em seguida,

as placas foram vedadas com papel filme para evitar contaminação externa e incubadas a 30°C - 35°C por 48 horas.

5.2.2 Preparação do extrato pirolenhoso

O extrato pirolenhoso obtido na pirólise foi colocado em uma placa estéril com 96 poços em formato de "U", Figura 9, de modo a iniciar o contato deste com o fungo estudado e facilitar a visualização do crescimento microbiano.

Para isto, foi utilizado a técnica de microdiluição, onde esse método serve para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato pirolenhoso, ou seja a concentração mínima de extrato pirolenhoso que inibe o crescimento do fungo.

Inicialmente, foram adicionados 100µL de um meio de cultura específico (Sabouraud) nos primeiros seis poços (sextuplicata), onde no primeiro poço foi adicionado uma quantidade maior para realizar as micro diluições seriadas. Sendo assim, nos primeiro poços foram adicionados, além dos 100µL, mais 80µL de meio e 20µL do extrato pirolenhoso de coco, fazendo um total de 200µL, ou seja, uma concentração de 10%. Após isso, foram adicionados 20µL de inóculo padronizado, preparado no item 5.2.1, em todos os poços.

Figura 9. Poços utilizados na técnica de microdiluição



Fonte: Autora, 2024.

É importante mencionar que, a fim de determinar a eficiência do extrato pirolenhoso, foi necessário compará-lo com algo já utilizado e consolidado no mercado para combate da infecção fúngica causada pela candidíase. Sendo assim, foi utilizado o cetoconazol a 50 mg/mL, onde o poço contendo essa substância foi chamado de controle positivo.

Em contrapartida, foi deixado um poço sem o extrato pirolenhoso de modo a saber o comportamento do fungo sem nenhum agente antifúngico, onde esse poço foi chamado de controle negativo.

Após as microdiluições, as microplacas foram incubadas a 35°C por 22 horas, seguindo a metodologia descrita por Rozatto (2012) ao longo da dissertação.

5.2.3 Crescimento dos fungos

Passado às 22 horas, foi analisado o crescimento dos fungos presentes em cada poço. Para isso, foi adicionado 20µL de uma solução indicadora de Cloreto de 2,3,5-Trifeniltetrazolio (TTC) a 1% em cada poço, inclusive nos poços contendo os controles positivos e negativos, seguido de mais 2 horas de incubação.

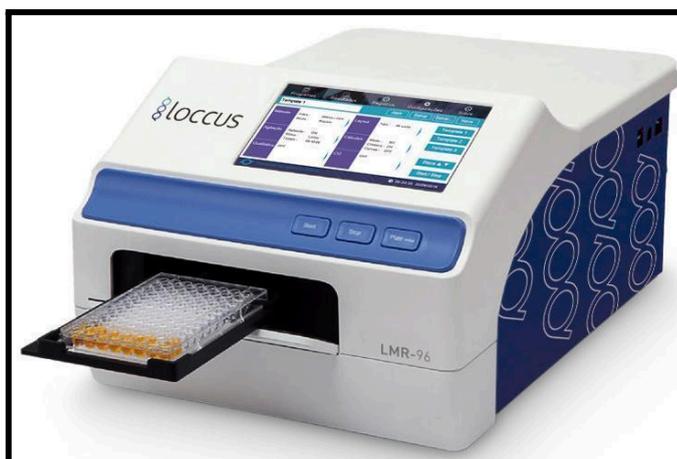
O cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) é um corante utilizado na contagem de colônias microbianas em meios de cultura para análise microbiológica. Na forma oxidada, é incolor, mas quando reduzido, torna-se vermelho. Microrganismos vivos reduzem o TTC por atividade enzimática, formando formazan, que se acumula em grânulos intracelulares, conferindo uma coloração vermelha às células.

O crescimento do fungo *Candida Albicans* foi avaliado com base na sua capacidade de se multiplicar e formar colônias, onde foi observado tanto visualmente quanto através do método de contagem microbiológica.

De forma visual foi possível observar a mudança de coloração (cor branca para turva ou rosa), indicando o crescimento fúngico. Para o método de contagem, foi utilizado o leitor de microplacas LMR-96 FLEX - Loccus, conforme apresentado na Figura 10.

O leitor de microplacas LMR-96 FLEX - Loccus foi escolhido devido à sua capacidade de automatizar o processo de contagem, garantindo uma maior precisão em suas leituras. Sua versatilidade permite ajustes conforme os requisitos específicos do experimento, enquanto sua capacidade de processamento de várias amostras simultaneamente acelera o tempo de análise. Essas características tornam o LMR-96 FLEX uma opção ideal para estudos que exigem contagem rápida e precisa de microrganismos.

Figura 10. Leitor de microplacas utilizado para contagem microbiológica



Fonte: Loccus - www.loccus.com.br

Essa metodologia permitiu avaliar o efeito do extrato pirolenhoso testado contra *Candida albicans* e determinar sua eficácia em cepas clínicas do fungo.

5.3 Fracionamento de fase

O bio-óleo é formado por várias substâncias, dentre as quais pode-se citar os fenóis, aldeídos, cetonas, álcoois etc. Alguns desses produtos, ou a sinergia entre eles, são capazes de agir positivamente em vários tipos de fungos, devendo dar importância a descoberta de qual princípio ativo que realiza tal função. Sendo assim, foi realizado o fracionamento de fases do bio-óleo de modo a separar várias frações a diferentes temperaturas e pressões e analisá-las para estudo do controle dos agentes antifúngicos.

O bio-óleo, proveniente da pirólise, item 5.1, foi colocado em um funil de separação para separar o óleo de alguma substância mais pesada existente na mistura, como por exemplo o alcatrão. Em seguida, foi realizado seu fracionamento em um destilador, conectado a uma bomba de vácuo, como ilustrado na Figura 11.

Figura 11. Equipamento utilizado para fracionar o bio-óleo



Fonte: Autora, 2024.

A destilação foi iniciada a uma temperatura de 200 °C. O aquecimento do óleo foi realizado em um banho, utilizando um recipiente contendo glicerina misturada a óleo. Devido à ausência de equipamentos específicos como calorímetro, não foi possível controlar precisamente a temperatura interna do balão. Com a ausência deste equipamento pode ser uma fonte potencial de erro pois a temperatura é uma variável importante em muitas reações químicas e processos de extração. Sem um controle preciso da temperatura, os resultados podem ser afetados de várias maneiras, incluindo a taxa de reação, a pureza do produto e a eficiência da extração.

Dessa forma, a rotação do destilador foi mantida em 22 rpm e o vácuo da extração foi realizado aumentando gradualmente, ou seja, a extração foi realizada sob vácuo progressivo. A extração sob vácuo progressivo foi realizada para ajudar na remoção de gases ou vapores indesejados do sistema. O vácuo pode facilitar a remoção de componentes voláteis ou gases residuais que possam estar presentes no sistema, permitindo assim uma extração mais eficiente dos componentes desejados. Além disso, o vácuo progressivo pode ajudar a garantir que a pressão interna do sistema seja reduzida gradualmente, minimizando o risco de implosão ou formação de bolhas indesejadas durante o processo.

Foram coletadas quatro amostras com o vácuo medido em centímetros de mercúrio (cmHg), sendo a primeira amostra coletada sem vácuo (vácuo zero) e as subsequentes à 20, 50 e 70 (cmHg), respectivamente. Após cada extração, o processo era reiniciado para seguir para as próximas amostras.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Essa seção consiste em apresentar os resultados obtidos neste trabalho, seguindo a ordem exposta na metodologia.

6.1 Pirólise do coco

Na obtenção de partículas menores com aproximadamente ± 3 μ m de granulometria, os endocarpos do coco previamente foram separados, onde 426,5g foi destinado ao processo de pirólise. O bio-óleo obtido através da pirólise pode ser visto conforme Figura 12.

Figura 12. Bio-óleo obtido



Fonte: Autora, 2024.

Após o processo, foi obtido 500mL do produto final, sendo este armazenado à temperatura ambiente para ser utilizado nos testes com os fungos e realizado seu fracionamento.

6.1.1 Análise do rendimento na produção do bio-óleo

Para o presente trabalho, a análise de rendimento foi determinada como parte necessária da avaliação da eficiência da reação química pela pirólise. Este rendimento indicou a eficácia com que os reagentes foram convertidos nos produtos desejados.

Conforme mencionado anteriormente, uma quantidade de 426,5g de biomassa foi utilizada no processo de pirólise, resultando em 500 mL do produto final. Com esses dados, foi possível utilizar as equações 1, 2 e 3, conforme descritas no item 5.1.1, de modo a calcular os resultados destacados na Tabela 1 para o valor de densidade, na Tabela 2 para os volumes de cada produto gerado e na Tabela 3 para os rendimentos dos três produtos obtidos.

Tabela 1. Densidade da biomassa

Biomassa	Massa Total (M_t)	Densidade (ρ)
Endocarpo do Coco	426,5g	0.853g/mL

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 2. Volume dos produtos obtidos

Produtos Obtidos	Volume (mL)
Bio-óleo	279,2
Biocarvão	163,3
Biogás	57,5

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 3. Rendimento dos produtos obtidos através da pirólise do endocarpo do coco

Produtos Obtidos	Massa Teórica (g)	Percentual (%)
Bio-óleo	237,8	55,8
Biocarvão	139,2	32,6
Biogás	49,5	11,6

Fonte: Autora, 2024.

Essa análise do rendimento dos produtos da pirólise foi importante para determinar a finalidade que será dada ao produto obtido. O rendimento do biocarvão está relacionado a parte da biomassa transformada em carvão sólido, sendo-o, atualmente, utilizado como produto de várias pesquisas científicas, como por exemplo como materiais adsorventes de

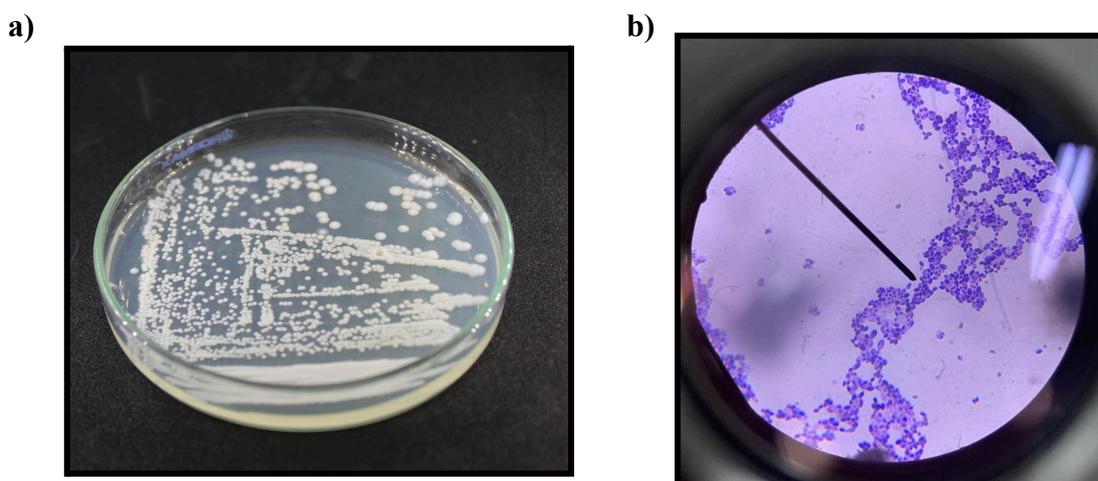
corantes. Já o rendimento dos gases reflete a quantidade de gases produzidos durante o processo, sendo os principais metano ou hidrogênio, que podem ser aproveitados como fontes de energia. O rendimento do bio-óleo indica a proporção de óleo líquido produzido a partir da biomassa. O valor obtido para esse produto, 55,8%, sugere uma pirólise eficiente, convertendo a maior parte da biomassa em produto de interesse para este trabalho.

6.2 Avaliação da atividade antifúngica do bio-óleo

A Figura 13a apresenta o cultivo do fungo *C. albicans* na placa e a Figura 13b apresenta a análise microscópica deste. É possível perceber a presença de células de brotamento elípticas que podem formar filamentos multicelulares elaborados e bem desenvolvidos, característica da morfologia deste fungo.

Os resultados indicaram um crescimento satisfatório da cultura sem a presença de micro-organismos indesejados, ou seja, sem interferência de outros fungos.

Figura 13. Fungo *candida albicans*: a) em uma placa e b) análise microscópica



Fonte: Autora, 2024.

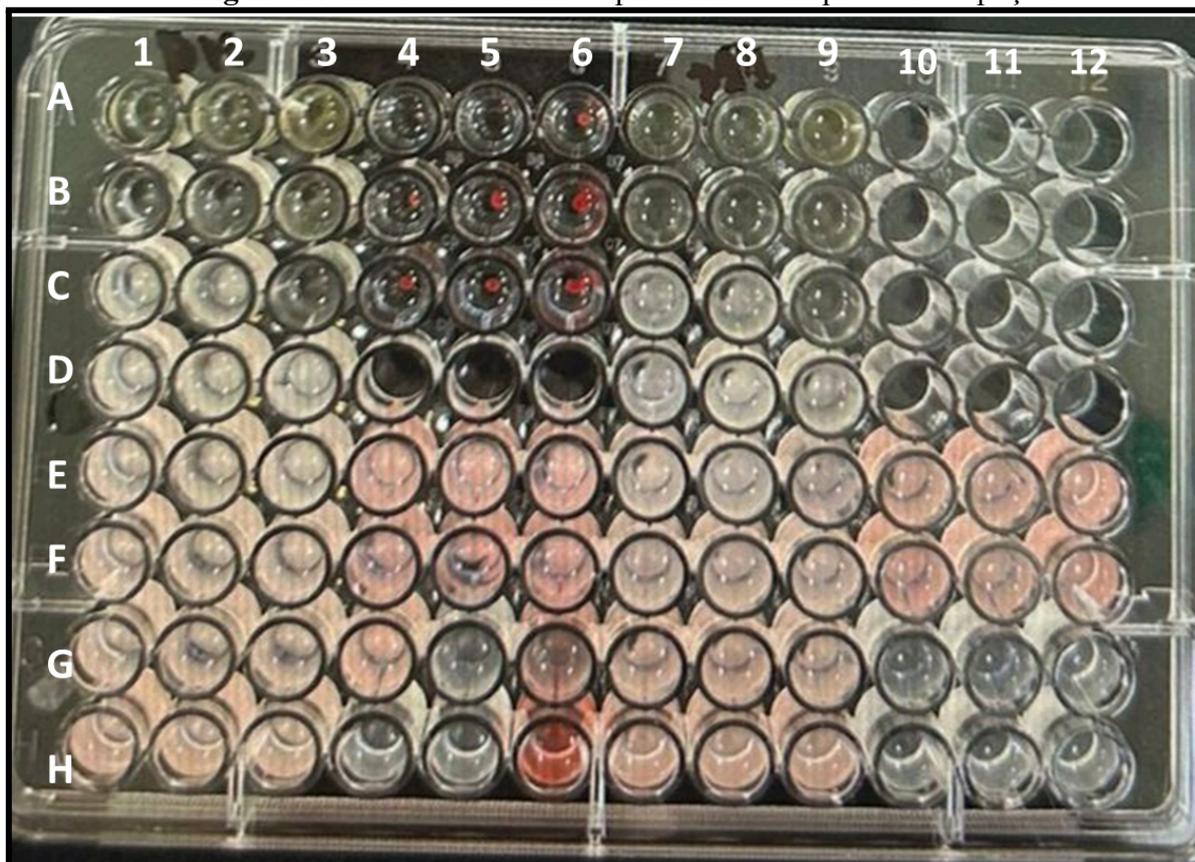
As atividades do extrato pirolenhoso de coco foram examinadas em uma placa de 96 poços, o qual possibilitou a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), ou seja, a quantidade mínima de produto (nesse caso, bio-óleo) que inibe o crescimento do fungo.

A Figura 14 apresenta a placa que foi utilizada para análise dos crescimentos microbiológicos. Essas placas possuem identificações numéricas na horizontal que vão de 1 a 12 e identificações alfabéticas na vertical que vão das letras A até H.

As soluções dos produtos com o fungo foram distribuídas da seguinte forma:

- Colunas 1, 2, 3, 7, 8 e 9: utilização do bio-óleo como agente antifúngico;
- Colunas 4, 5, 6, 10, 11 e 12 nas linhas E e F: controle negativo, ou seja, sem nenhum agente antifúngico (apenas o fungo);
- Colunas 4, 5, 6, 10, 11 e 12 nas linhas G e H: controle positivo, ou seja, com o uso do cetoconazol como agente antifúngico.

Figura 14. Atividade do extrato pirolenhoso em placa de 96 poços



Fonte: Autora, 2024.

Analisando as colunas dos poços onde foram utilizados o bio-óleo, foi possível perceber uma diferença gradual de coloração, onde foi esta diferença que diz se existiu crescimento de fungos ou não. Quando não se tem um crescimento microbiológico, a cor da solução deve-se manter inalterada, ou seja, permanecer incolor. Caso tenha crescimento, essa coloração vai mudando para turvo até a cor rosa.

No primeiro poço (1A - coluna 1, linha A), foi colocado uma concentração de 1,25% do extrato, sendo essa quantidade fracionada para os outros poços, ou seja, 0,625% para o poço 1B, 0,312% para o poço 1C, 0,156% para o poço 1D, 0,070% para o poço 1E, 0,039% para o poço 1F, 0,019% para o poço 1G e 0,009% para o poço 1H. Essas quantidades foram

exatamente as mesmas para os poços 2, 3, 7, 8 e 9, já que esse experimento foi realizado em sextuplicata.

Os poços 1A e 1B, bem como todas as outras réplicas, se mantiveram incolores, indicando uma eficiente inibição microbiológica, ou seja, não houve crescimento do fungo quando aplicado o bio-óleo produzido nessas concentrações iniciais.

A partir do terceiro poço (1C), começou a perceber uma diferença na coloração, ficando-o um pouco turvo. Então, analisando de forma visual, ou seja, macroscópica, considerou-se a concentração de 0,625% (concentração do poço B) como sendo a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato que fornece uma resposta efetiva ao crescimento. Em outras palavras, quando utilizado a quantidade de 6,25 mg/mL de bio-óleo o crescimento do fungo *candida albicans* é controlado e, conseqüentemente, inibido.

Após esse poço, 1B, as quantidades de bio-óleos utilizados podem não ter sido eficazes para o tratamento da cepa causadora da candidíase, o qual as colorações existentes indicaram crescimento bacteriano. No entanto, para obter uma avaliação mais precisa desse resultado, os poços da placa de microdiluição foram analisados quanto às suas absorbâncias. A leitura precisa proporcionada pelo leitor de microplacas foi essencial para determinar a concentração mais eficaz do extrato pirolenhoso como agente antifúngico.

No caso dos poços presentes com as soluções contendo apenas os fungos, ou seja, os controles negativos, foi possível perceber a coloração rosa em todos os poços, indicando o crescimento do mesmo. Esse comportamento já era esperado devido a ausência de qualquer agente antifúngico que impedisse tal ação.

Já os poços contendo o cetoconazol, ou seja, os controles positivos, foi observado que a maioria dos poços apresentaram ausência de coloração. Esse comportamento já era esperado devido a comprovada eficácia desse medicamento no fungo da *cândida albicans*. No entanto, foi possível perceber que os poços 4G, 6G e 6H, apresentaram uma coloração rosa, a qual foi atribuída a algum erro de procedimento. Isso comprova a importância de, ao se trabalhar com fungos, realizar experimentos com uma grande quantidade de réplicas.

De forma a avaliar quantitativamente os poços, foi realizada análise de contagem no leitor de microplacas, conforme descrito no item 5.2.3. Essas leituras foram realizadas com um comprimento de onda de 540 nm, estando os resultados presentes nas Tabelas 4 e 5. É importante mencionar que o leitor de microplacas realiza uma leitura instantânea de todos os poços ao mesmo tempo. Porém, para ficar mais fácil a visualização e entendimento, esses dados foram separados em duas tabelas, sendo-as: Tabela 4, resultados da absorbância dos controles negativos e positivos e Tabela 5, resultados das absorbâncias das soluções com

bio-óleo. Nessas tabelas foram acrescentados os valores médios das absorvâncias, pois as amostras foram feitas em sextuplicata, algumas absorvâncias tiveram que ter seus valores desconsiderados por estarem fora de um padrão, estando-as destacadas na cor vermelha.

Tabela 4. Absorvâncias dos controles negativos e positivos

	4	5	6	10	11	12	Média das absorvâncias
Controle negativo							
E	0,717	0,706	0,775	0,551	0,507	0,535	0,635
F	0,761	0,77	0,794	0,538	0,48	0,48	
Controle positivo							
G	0,738	0,076	0,331	0,041	0,003	0,045	0,034
H	0,03	0,03	0,555	0,016	0,034	0,039	

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 5. Absorvâncias das soluções utilizando bio-óleo como agente antifúngico nas diferentes concentrações

	1	2	3	7	8	9	Média das absorvâncias
A (1,250%)	0,146	0,006	0,180	0,227	0,111	0,104	0,154
B (0,625%)	0,141	0,058	0,013	0,239	0,27	0,176	0,206
C (0,312%)	0,536	0,553	0,024	0,314	0,388	0,168	0,447
D (0,156%)	0,606	0,609	0,545	0,37	0,534	0,409	0,573
E (0,070%)	0,699	0,664	0,639	0,627	0,516	0,581	0,621
F (0,039%)	0,676	0,668	0,663	0,472	0,487	0,583	0,647
G (0,019%)	0,670	0,673	0,668	0,697	0,643	0,664	0,669
H (0,009%)	0,675	0,694	0,68	0,66	0,664	0,666	0,673

Fonte: Autora, 2024.

A identificação da absorvância para análise do controle microbiológico é de suma importância, pois a partir dela que se determina, de forma quantitativa, a real atividade do produto estudado, onde, absorvâncias que possuem seus valores próximos de 0, indicam um

melhor controle bacteriano.

Dessa forma, através da análise da Tabela 4, percebeu-se que ao não utilizar nenhum agente antifúngico, controle negativo, os fungos cresceram de forma excessiva, obtendo-se, assim, um alto valor da absorvância, na faixa de 0,635. Já para o controle positivo, a absorvância se aproximou de 0, identificando a eficiência no cetoconazol no controle deste microrganismo.

Esses controles foram utilizados para se basear no comportamento do bio-óleo no fungo, ou seja, o quanto o bio-óleo age como inibidor do crescimento desse microrganismo. Os valores de absorvância perto do valor obtido pelo controle positivo, no caso 0,034, indica um produto extremamente eficiente. Porém, valores de absorvância maiores ou iguais ao valor obtido pelo controle negativo, no caso 0,635, indica que o extrato pirolenhoso não agiu como controlador bacteriano. Dessa forma, avaliou-se as absorvâncias das soluções com bio-óleo nas diferentes concentrações.

Os resultados obtidos quando utilizado o bio-óleo como agente antifúngico mostraram uma coerência entre os valores das absorvâncias obtidas e as concentrações dos extratos utilizados. Foi possível perceber, assim como na análise visual apresentada e já discutida na Figura 14, que à medida que a concentração de extrato ia diminuindo (1,25 a 0,009%), um crescimento microbiológico era aparecido, podendo ser comprovado pelo aumento dos valores de absorvância (0,154 a 0,673) e da mudança da coloração de incolor para rosa.

Considerando os resultados obtidos, para a maior concentração estudada (A=1,25%), obteve-se um valor de absorvância de 0,154. Esse valor, mesmo sendo um valor maior do que o valor do controle positivo (0,034), foi bastante satisfatório, visto que o presente estudo utilizou uma biomassa de origem natural e o controle positivo tratou-se de um medicamento comercial sintético.

Foi possível avaliar que para as concentrações A, B, C, D e E, os valores da absorvância foram menores que o valor obtido para o controle negativo (0,635). Esse resultado indica que o bio-óleo estudado tem a capacidade de inibir o crescimento do fungo. Já para concentrações mais baixas, como no caso da F, G e H foram obtidos valores maiores que o do negativo, porém esses valores não foram tão altos, podendo indicar que o bio-óleo, mesmo não tendo um maior inibição bacteriana como nos outros, ainda possui a capacidade de controlar esse crescimento.

Esses valores de absorvância comprovaram a importância dessa análise para determinação de crescimento microbiológico e não apenas observar a coloração, visto que os valores obtidos através do leitor de placas mostraram que, até a concentração de 0,070%, ou

0,70 mg/mL do bio-óleo, obteve-se resultados satisfatórios. Em outras palavras, essa concentração de 0,70 mg/mL pode ser, de fato, considerada como a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e não a de 0,625% ou 6,25 mg/mL como definido de forma visual através da coloração.

Concluindo esse estudo, a baixa concentração de bio-óleo de coco utilizada (0,070 mg/mL) mostrou ser funcional o poder antifúngico deste produto.

6.3 Fracionamento de fases

Diante os resultados satisfatórios de ação antifúngica do extrato pirolenhoso, decidiu-se realizar seu fracionamento de modo a separar o bio-óleo por diferentes fases e analisar cada uma delas de modo separado. O propósito disto foi avaliar em qual fracionamento, ou seja, em quais condições de pressão e temperatura, estão presentes os princípios ativos que possuem essa ação de inibição bacteriana.

Sabe-se que o bio-óleo, independente da biomassa gerada, é uma mistura de vários compostos, onde cada uma tem uma determinada função. Porém, é importante descobrir qual composto possui a ação de controle bacteriano para facilitar sua obtenção, do ponto de vista comercial, e também produzir um antifúngico com mais agentes ativos possíveis.

Após o procedimento de pirólise, foi realizado o fracionamento das fases do extrato pirolenhoso de óleo de coco, conforme metodologia explicada no item 5.3.

Como não foi possível controlar a temperatura interna do bio-óleo, foi controlado o vácuo, através do vacuômetro presente na própria bomba, retirando frações nas seguintes pressões: Vácuo zero, 20, 50 e 70 cmHg. A pressão em vácuo zero, foi utilizada como ponto de partida para comparação, possibilitando a análise dos efeitos das pressões subsequentes sobre os diferentes fracionamentos do extrato pirolenhoso.

Inicialmente, foi colocado no balão volumétrico 300 mL do bio-óleo de coco. O banho foi ligado, bem como agitação, mantendo-a a uma rotação de 22 rpm. A temperatura foi controlada baseada na temperatura do banho, a qual foi mantida a 200 °C.

A primeira fração retirada foi à vácuo zero onde esperou-se o tempo necessário para começar a destilar algum líquido e ficou nessa espera até perceber que a destilação havia sido encerrada, ou seja, até não destilar mais nada. Esse processo durou cerca de 1 hora e foi obtido uma fração com 250 mL. Encerrada a destilação, a fração foi retirada e colocada em um frasco de vidro.

Em seguida, iniciou novamente o processo, aumentando gradualmente a pressão.

Colocou vácuo a 10 cmHg e esperou um tempo para obtenção de algum líquido. No entanto, após 40 min de nada ter sido extraído, aumentou o vácuo para 20 cmHg, retirando mais uma fração, de 13 mL, após 40 min nessa pressão. A amostra foi retirada e guardada em outro frasco de vidro.

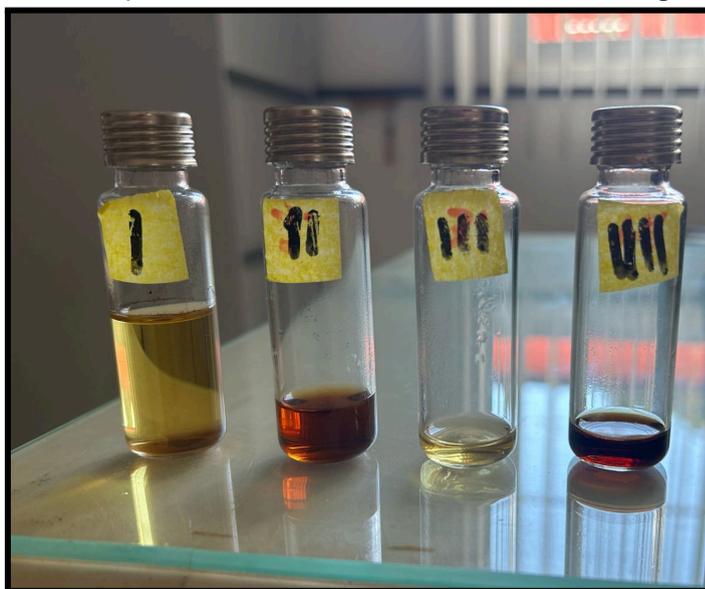
Dessa forma, foi realizado o procedimento novamente, conseguindo retirar mais frações nos vácuos 50 e 70 cmHg, sendo as quantidades de 7 e 10 mL, respectivamente, conseguindo, assim, destilar uma fração bastante considerável do bio-óleo.

O valor de 70cmHg foi o valor máximo atingido devido a característica da bomba de vácuo que havia no laboratório. Dessa forma, todos os fracionamentos feitos foram até essa pressão. Após 1 hora, percebeu-se que nada mais havia saído, então o experimento foi parado e retirado a fração destilada.

Porém, no balão que estava no bio-óleo inicial, ficou uma pequena quantidade de bio-óleo, onde, devido sua aparência mais viscosa, ficou evidente que se tratava do alcatrão, substância com característica bem semelhante ao petróleo.

A Figura 15 apresenta uma parte das frações que foram retiradas durante o processo de destilação. Essas frações estão em ordem de retirada, sendo I para vácuo 0, II para vácuo de 20 cmHg, III para vácuo de 50 cmHg e IV para vácuo de 70 cmHg.

Figura 15. Frações obtidas no fracionamento do extrato pirolenhoso



Fonte: Autora, 2024.

É importante perceber a diferença de coloração obtida nas frações. Essa diferenciação está associada aos diferentes compostos presentes no bio-óleo de coco, onde, a depender do tipo de substância existente, a cor da fração se torna característica do composto destilado.

Sendo assim, percebe-se a variação de componentes nesse produto e a importância em conseguir separá-los, mesmo sabendo que ainda possa existir uma sinergia em cada fração, mas pelo menos consegue subtrair uma quantidade menor de compostos de forma a facilitar sua identificação.

Infelizmente, esta identificação não foi possível neste trabalho, mas sua análise encontra-se em andamento para posterior utilização do grupo de pesquisa do Laboratório de Sistemas de Separação e Otimização de Processos (LASSOP).

No entanto, mesmo não tendo conseguido dar continuidade a identificação destes, algo bastante promissor e incentivador foi obtido: a separação de frações do bio-óleo de coco pelo método de destilação. Atualmente, a grande maioria dos artigos presentes na literatura a respeito desse processo é por separação em coluna aplicando solventes orgânicos com diferentes polaridades.

Dessa forma, conclui-se que é viável fracionar o extrato pirolenhoso por meio do processo de destilação a vácuo.

7. CONCLUSÃO

A pirólise do óleo de coco se mostrou uma técnica promissora para a produção de extrato pirolenhoso com propriedades antifúngicas. Os resultados indicaram uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de bio-óleo que se deve utilizar para conseguir controlar o crescimento bacteriano. Essa concentração foi de 0,70 mg/mL, evidenciando sua capacidade de inibir o crescimento de *Candida albicans*, ou seja, com uma pequena quantidade de bio-óleo já obteve um resultado bastante satisfatório e promissor para esse controle bacteriano. Além disso, o fracionamento do extrato por destilação a vácuo mostrou possibilidades para investigações futuras sobre suas propriedades e aplicações potenciais.

Esse estudo ressalta o potencial do extrato pirolenhoso como uma alternativa sustentável para o controle de doenças fúngicas, representando um avanço significativo na utilização de resíduos orgânicos na indústria e para novos fármacos. A eficácia demonstrada contra *Candida albicans* sugere possíveis aplicações terapêuticas e agrícolas desse extrato, contribuindo para a saúde humana, saúde veterinária e otimização de operações agrícolas.

Além disso, a pirólise do coco destaca-se como uma técnica viável para valorizar resíduos orgânicos, fornecendo uma fonte renovável de energia e compostos úteis. Portanto, este estudo não apenas oferece uma nova abordagem para o controle de doenças fúngicas, mas também destaca o papel crucial da pirólise na busca por soluções sustentáveis e inovadoras principalmente para a indústria farmacêutica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, Jasd; Rovida, Afd; Pamphile, Ja. **FUNGOS DE INTERESSE: APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS. Revisão Revista Uningá**, [S. l.], v. 1, 2015. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/1613>. Acesso em: 29 Ago. 2023.

ANDRADE, A. M. de, Passos, P. R. de A., Marques, L. G. da C., Oliveira, L. B., Vidaurre, G. B., Rocha, J. das D. de S., et al. (2004). **Pirólise de Resíduos Do Coco-Da-Baía (Cocos Nucifera Linn) e Análise Do Carvão Vegetal**. 28(5), 707–714. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622004000500010>.

ARAÚJO, Larissa Ferreira. **Plantas Medicinais no Controle de Fungos Patogênicos Humanos**. 2018, 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/25301>. Acesso em: 13 Març. 2024.

BARROS, Simone Regina Alves De Freitas. **Cocoicultura: Produção, Comercialização E Exportação Nacional E No Estado De Alagoas**. Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental, v.11, n. 4, p. 333–343, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.59306/rgsa.v11e42022333-343>. Acesso em: 29 Ago. 2023.

BELOTI, V., Barros, M. A. F., Freitas, J. C., Nero, L. A., Souza, J. A., Santana, E. H. W., & Franco, B. D. G. M. (1999). **Frequency of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) non-reducing bacteria in pasteurized milk**. Food Microbiology, 30(2). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0001-37141999000200009>. Acesso em 14 Març. 2024.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília, DF. v.1 e 2, 2019.pdf. Atualizada em 27 de Fevereiro de 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acesso em: 11 de Març. 2024.

BRIDGWATER, A.V.; Peacocke, G.V.C. **Fast pyrolysis processes for biomass. Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Volume 4, Issue 1, 2000, Pages 1-73, ISSN 1364-0321. DOI:10.1016/S1364-0321(99)00007-6. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032199000076>. Acesso em 14 Jan. 2024.

BRITO, E. H. S. de, Fontenelle, R. O. dos S., Brilhante, R. S. N., Cordeiro, R. de A., Sidrim, J. J. C., & Rocha, M. F. G. (2009). **Candidose na medicina veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico**. Ciência Rural, 39(9), 2655-2664. ISSN 0103-8478. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20210916>.

BROCHINI, Claudia B.; LAGO, João Henrique G.. **Aplicação de técnicas cromatográficas e**

espectrométricas como ferramentas de auxílio na identificação de componentes de óleos voláteis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 266-270, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000200022>.

CARAMELO, C. dos S.; Paz, Jr; Figueiredo, Am Da C. De; Gibbert, Lf; Eburneo, L.; Magalhães, A.; Silva, ZMD Efeito do extrato pirolenhoso no desenvolvimento in vitro de *Rhizoctonia Solani* em Alta Floresta – MT / Efeito do extrato pirolenhoso no desenvolvimento in vitro de *Rhizoctonia Solani* em Alta Floresta - MT. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, [S. L.], v. 6, pág. 48168–48179, 2022. DOI: 10.34117/bjdv8n6-359. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/49717>. Acesso em: 29 Set. 2023.

CELESTINO, Sonia Maria Costa. **Princípios de Secagem de Alimentos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 51 p. (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111, ISSN online 2176-5081; 276). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77765/1/doc-276.pdf>. Acesso em: 11 de Març. 2024.

CLEFF, M. B.; Meinerz, A. R. M.; Madrid, I.; Fonseca, A. O.; Alves, G. H.; Meireles, M. C. A.; Rodrigues, M. R. A. (2012). Perfil de suscetibilidade de leveduras do gênero *Candida* isoladas de animais ao óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 14(1). DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000100007>.

CUENCA, M. A. G., Martins, C. R., & Jesus Junior, L. A. (2021). Importância Socioeconômica. Embrapa Clima Temperado. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/coco/pre-producao/importancia-socioeconomica>. Acesso em: 1 de Ago. 2023.

DEGANI, Ana Luiza G.; CASS, Quezia B.; VIEIRA, Paulo C. Cromatografia: um breve ensaio. **Acari**, v. 2, n. 7, p.21-25, 1998. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc07/atual.pdf>. Acesso em: 2 Ago. 2023.

DE ROSSI, T., Lozovoy, M. A. B., Silva, R. V. da, Fernandes, E. V., Geraldino, T. H., Costa, I. C., Saridakis, H. O., Watanabe, M. A. E., & Felipe, I. (2011). **Interações entre *Candida albicans* e Hospedeiro**. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, 32(1), 15-28. DOI: 10.5433/1679-0367.2011v32n1p15.

DRECHSLER-SANTOS, E. R. Material complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos: baseado no capítulo original de Paulo Antunes Horta Junior. Florianópolis, UFSC, 2015. Disponível: <https://antigo.uab.ufsc.br/biologia//files/2020/08/Fungos.pdf>. Acesso em: 13 Març. 2024.

DUKU, M. H., Gu, S., & Hagan, E. B. (2011). Biochar production potential in Ghana—A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 15(8), 3539-3551. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.05.010>. Acesso em: 11 de Març. 2024.

FAO. Food and agriculture data. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/OCL>. Acesso em: 11 de Març. 2024.

FARIAS, Sara Padilha de; Almeida, Alison Van Der Linden De; Nascimento, Everton Sebastião Do; Soletti, João Inácio; Balliano, Tatiane Luciano; Filho, Gilson Moura; Muniz, Maria De Fátima Silva. In vitro and in vivo control of yam dry rot nematodes using pyroligneous extracts from palm trees. **Revista Ceres**, v. 67, n. 6, p. 482-490, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0034-737X202067060008>.

FÉLIX, Camila Ribeiro de Oliveira, Azevedo Júnior, Aroldo Félix De; Freitas, Carolina Costa; Pires, Carlos Augusto De Moraes; Teixeira, Víctor; Frety, Roger; Brandão, Soraia Teixeira. Pirólise Rápida de Biomassa de Eucalipto na Presença de Catalisador Al-MCM-41. **Matéria (Rio de Janeiro)**, vol. 22, n.1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-707620170005.0251>.

FIGUEIREDO, Aneliése Lunguinho. **Pirólise termoquímica de pós da fibra de coco seco em um reator de cilindro rotativo para produção de bio-óleo**. 2011. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Engenharia do Petróleo, Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

GONZALEZ, E., Adhamann, I., Yamaji, F. M., Nakashima, G., Euán Chi, I., Jacques, J., & Durango Padilla, E. R. (2017). **BIOCHAR GERADO A PARTIR DA PIRÓLISE LENTA DE BIOMASSA DE Cocos nucifera (L.)**. In: Anais do Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia da Madeira, 2017. Anais eletrônicos... Campinas, Galoá. Disponível em: <https://proceedings.science/cbctem/trabalhos/biochar-gerado-a-partir-da-pirolise>. Acesso em: 10 Mar. 2024.

GOMEZ, Edgardo Olivares, CORTEZ, Luís Augusto Borbosa, PEREZ, Juan Miguel Mesa et al . **Projeto de pirólise rápida contínua de biomassa com ar em reator de leito fluidizado atmosférico**. In: ENCONTRO DE ENERGIA NO MEIO RURAL, 3., 2000, Campinas.

GOULART, Daniel Silva. **Aplicações Das Técnicas De Cromatografia No Diagnóstico Toxicológico**. 2012. 37 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

GUEDES, Raquel Escrivani; Luna, Aderval S.; Torres, Alexandre Rodrigues. Operating parameters for bio-oil production in biomass pyrolysis: A review. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, Volume 129, 2018, Pages 134-149. ISSN 0165-2370. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2017.11.019>. Acesso em: 25 Jul. 2023.

IBGE. “Produção Agropecuária|IBGE.” Www.ibge.gov.br, 2021, Disponível

em: www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/coco-da-baia/br. Acesso em: 25 Jul. 2023.

JESUS, Amanda Rosa de ; Alves, Dione Ferreira; Lima, Rodrigo Alves. **Procedimentos De Manejo Dos Resíduos Do Coco Verde: Um Estudo De Caso Na Usina De Triagem De Resíduos Sólidos Do Município De Pinheiros - Es.** Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Montanha, Montanha, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ifes.edu.br/handle/123456789/2408?show=full>. Acesso em: 25 Jul. 2023.

LACERDA, M. S.; LEITÃO, F. O. **Desafios E Oportunidades Da Economia Circular: O Caso Dos Resíduos Do Coco Verde / Challenges And Opportunities Of The Circular Economy: The Case Of Green Coconut Residues.** Informe GEPEC, [S. l.], v. 25, n. 2, p. 164–181, 2021. DOI: <https://doi.org/10.48075/igepec.v25i2.26824>. Disponível em: <https://e-revista.unioeste.br/index.php/gepec/article/view/26824>. Acesso em: 04 Ago. 2023.

LÍRIO, J., Giraldo, P.C., Sarmiento, A.C., Costa, A.P.F., Cobucci, R.N., Saconato, H., Júnior, J.E., Gonçalves, A.K. **Antifungal (oral and vaginal) therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review and meta-analysis.** Rev. Assoc. Med. Bras. 2022;68(2): 261-267. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20210916>. Acesso em: 13 de Març. 2024.

LU, R.; Sheng, G.; Hu, Y.; Zheng, P.; Jiang, P.; Tang, Y.; **Fractional Characterization Of A Bio-Oil Derived From Rice Husk.** Biomass And Bioenergy, 2011, 35, 671-678. Disponível em: [10.1016/j.biombioe.2010.10.017](https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.10.017).

MARTINS, T. S. (2019). **Identificação De Espécies De Fungos Leveduriformes Em Meios De Preservação Para Transplante De Córnea A Partir Da Técnica De Maldi-Tof.** Trabalho de conclusão de especialização, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/220643>. Acesso em: 14 Març. 2024.

MONTORO, Arthur Vieira da Silva. **Produção, Otimização e Análise de Briquetes de Biocarvão Oriundos da Pirólise.** 2023. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Maceió, 2021. Primeiro orientador: João Inácio Soletti. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/handle/123456789/10515>. Acesso em: 14 Març. 2024.

MOREIRA, Maria Inês de Macedo Carrilho Gonçalves. **Azóis: Farmacologia e Interações Medicamentosas.** Tese de Bacharelado, [sn], 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10284/3250>. Acesso em: 14 Març. 2024.

OLIVEIRA, Elvio Nascimento de. **Adsorção da Cafeína em Carvão Ativado da Folha de Coqueiro (Cocos Nucifera L.).** 2020. 81 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química,

Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2021. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/handle/riufal/7558>. Acesso em: 10 Mar. 2024.

OLIVEIRA, Mara L. de; Cabral, Lucianna L.; Leite, Marcia C. A. M.; Marques, Mônica R. C. **Pirólise de Resíduos Poliméricos Gerados Por Atividades Offshore. Polímeros**, vol. 19, 2009, pp. 297–304. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000400009>.

PRIMAZ, C. T. **Caracterização Dos Compostos Presentes No Bio-Óleo Obtido A Partir Da Pirólise Da Borra Residual De Café**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/142204>. Acesso em: 10 Mar. 2024.

REIS, Edclea do N. “Biocarvão E Bio-Óleo de Cascas de Coco (Cocos Nucifera L.) Sob Diferentes Temperaturas de Pirólise.” 1 Jun. 2020, pp. 15–21.

RIZZATI, Olívia. **A crescente resistência de Candida spp. e seus desafios em ambientes hospitalares**. 2022. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams>. Acesso em: 12 de Març. 2024.

ROZATTO, Mariana Rodrigues. **Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de Arrabidaea brachypoda**. 2012. 100 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2012. Disponível em: <https://acervodigital.unesp.br/handle/11449/94817>. Acesso em: 12 de Mar. 2024.

SANTANA, Isabelle; Silva, Thayná Tales Da; Mulder, Alessandra Pinheiro. **Coqueiro (Cocos Nucifera L.) E Produtos Alimentícios Derivados: Uma Revisão Sobre Aspectos De Produção, Tecnológicos E Nutricionais**. In: **Tecnologia De Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos E Biológicos - Volume 2**. Capítulo 5. Publicado em 19/09/2020. Páginas 80-101. DOI: 10.37885/200800949.

SANTOS, Joana Marcos dos. **Determinação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos em vinhos produzidos a partir de castas autóctones da região do Algarve por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massa (LC-MS)**. <http://hdl.handle.net/10400.1/19451>. 2022.

SILVA, K. G. V., Pires, K. G. R., Furtado, H. L. A., Araújo, B. L., Motta, B. L. A., & Firmo, W. C. A. (2021). Morfologia, Epidemiologia e Virulência de Espécies do Gênero Candida. **Tópicos Nas Ciências Da Saúde**, v7, p42. DOI: <https://doi.org/10.46420/9786581460099>.

SILVA, Sarah Inglid dos Santos. **Aproveitamento da Biomassa de Coco Verde Para Produção de Biocombustíveis Sustentáveis**. 2019, 74p (Dissertação de Mestrado),

Universidade Federal da Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente. João Pessoa-PB.

SILVEIRA, Alberto Jorge da Mota. **Viabilidade Técnica da Pirólise da Biomassa de Coco: Produção de Bioóleo, Biocarvão e Biogás.** 2018, 62p (Dissertação de Mestrado), Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo-AL.

SILVEIRA, César Martoreli da. **Influência do Extrato Pirolenhoso No Desenvolvimento e Crescimento De Plantas De Milho: Extrato Pirolenhoso.** 2010, 93p. (Tese de Doutorado) Universidade Estadual Paulista. São Paulo - SP.

SOUZA, Maria Eduarda Santos de; Silva, José Ramon Afonso Da; Santos, Carlos Christiano Lima Dos; Silva, Henrique Cesar Da; Lima, Poliana Sousa Epaminondas. Obtenção De Celulose A Partir Do Aproveitamento De Resíduos De Coco (Cocos Nucifera Linnaeus, 1753) Para A Produção De Papel. **Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB, João Pessoa, v. 60, n. 1, p. 1-20, mar. 2023.** Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18265/1517-0306a2021id5876>.

TOGORO, Alúcio Hideki. **Uso Do Extrato Pirolenhoso Efeito No Solo E Nas Plantas De Tomate.** 2012. 87 f. pág. 21. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Ciências Agrárias e Veterinárias., Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal - SP, 2012.

VIEIRA, A. J. H.; Santos, J. I. **Mecanismos De Resistência de Candida Albicans aos Antifúngicos Anfotericina B, Fluconazol e Caspofungina.** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2016. DOI: 10.21877/2448-3877.201600407.

VIEIRA, G. E. G.; Nunes, A. P.; Teixeira, L. F.; Colen, A. G. N. Biomassa: Uma Visão Dos Processos De Pirólise. **Revista Liberato, [S. l.], v. 15, n. 24, p. 167–178, 2014.** Disponível em: <http://old.liberato.com.br/index.php/revista/article/view/319>. Acesso em: 14 mar. 2024.

VIEIRA, Wedja Timóteo. **Caracterização Cromatográfica e Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Extrato Pirolenhoso Obtido a Partir de Biomassa Residuais.** 2019. 140 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Centro de Tecnologia - Ctec, Universidade Federal de Alagoas - Ufal, Maceió-AL, 2019. Disponível em: <http://www.repositorio.ufal.br/jspui/handle/riufal/6051>. Acesso em: 04 Ago. 2023.

XIU, S.; Shahbaz, A. Bio-Oil Production and Upgrading Research: A Review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 16, n. 7, p. 4406–14, 2012.** DOI: 10.1016/j.rser.2012.04.028. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032112003036>. Acesso em 18 Jan. 2024.

YAHAYU, M.; Mahmud, Kn; Mahamad, Mn; Ngadiran, S.; Lipeh, S.; Ujang, S.; Zakaria,. Eficácia do Ácido Pirolenhoso da Biomassa De Resíduos De Abacaxi Como Conservador De Madeira. **Jurnal Teknologi**, v. 79, n. 4, 2017

ZEFERINO, Indiara; LIMA, Edson Alves de; VIEIRA, Elisa Serra Negra. Uso do extrato pirolenhoso como adjuvante de herbicida. **Embrapa: Comunicado técnico 429**, Colombo - Pr, v. 1, n. 1, p. 1-5, dez. 2018.