UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

HIAN WILLANS SANTOS TEIXEIRA

REAÇÕES BIOCATALÍTICAS DO EUGENOL COM CÉLULAS ÍNTEGRAS DA ÁGUA DE COCO DA ESPÉCIE COCOS NUCIFERA L.

Barreiras – BA
2025

HIAN WILLANS SANTOS TEIXEIRA

REAÇÕES BIOCATALÍTICAS DO EUGENOL COM CÉLULAS ÍNTEGRAS DA ÁGUA DE COCO DA ESPÉCIE COCOS NUCIFERA L.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Oeste da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Diploma de Graduação no Curso de Farmácia.

Orientadora: Profª. Drª Luciana Lucas Machado

Barreiras – BA

2025

HIAN WILLANS SANTOS TEIXEIRA

REAÇÕES BIOCATALÍTICAS DO EUGENOL COM CÉLULAS ÍNTEGRAS DA ÁGUA DE COCO DA ESPÉCIE COCOS NUCIFERA L.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Oeste da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Diploma de Graduação no Curso de Farmácia.

Aprovado em 24 de fevereiro de 2025.

BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente
gov.br
LUCIANA LUCAS MACHADO
Data: 12/03/2025 14:12:55-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof.ª Drª Luciana Lucas Machado (Orientadora)

Documento assinado digitalmente
gov.br
MAURO ALVES BUENO
Data: 11/03/2025 19:34:26-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof.º Drº Mauro Alves Bueno (Membro)

Documento assinado digitalmente
gov.br
Stefania Neiva Lavorato
Data: 12/03/2025 03:21:39-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof.ª Drª Stefania Neiva Lavorato (Membro)

FICHA CATALOGRÁFICA

T266 Teixeira, Hian Willans Santos.

Reações biocatalíticas do eugenol com células íntegras da água de coco da espécie Cocos Nucifera L. / Hian Willans Santos Teixeira. – 2025.

34f.
Orientador: Profª Dra. Luciana Lucas Machado.
TCC (Graduação) – Bacharelado em Farmácia. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2025.

1. Biocatálise. 2. Química orgânica. 3.Produtos naturais. I. Machado, Luciana Lucas. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia - Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. III. Título.

CDD 615.32

Biblioteca Universitária de Barreiras - UFOB

Dedico este trabalho a Deus, que mesmo em meus momentos de maior dúvida jamais desistiu da minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, pelo apoio e suporte incondicionais durante todos esses anos.

Agradeço excepcionalmente à professora Luciana Lucas Machado, pela paciência, ensino, e por ter me aberto portas que me permitiram muitas conquistas pessoais dentro e fora da universidade.

Agradeço às minhas colegas de laboratório Marta Santos de Jesus e Caroline Reis Teixeira, por me relembrarem diariamente como utilizar o rotoevaporador e onde guardei minhas amostras.

Agradeço ao meu cão Zed que se foi antes que eu chegasse neste momento, e ao meu novo cão Bidu, que hoje está ao meu lado. Obrigado pelo companheirismo.

Agradeço aos meus amigos Alessandro Rodrigues Leite, Eylane dos Santos Feitosa, Izabelle Caires Moreira e Gabriele de Lima Barreto, que foram pessoas que evitaram que essa longa jornada se tornasse cansativa.

Agradeço aos professores da UFOB por todo o conhecimento transmitido durante todos esses anos de curso. Saio uma pessoa muito mais preparada do que entrei graças a vocês.

“Na vida em que teu corpo não se deixa abater, é vergonhoso que nela tua alma se deixe abater antecipando-se a ele.”

Marco Aurélio

RESUMO

O presente estudo explora as propriedades fitoquímicas e biotecnológicas da água de coco (*Cocos nucifera L*.), com foco em sua aplicação na biorredução de compostos orgânicos. Pesquisas presentes na literatura revelam que a água de coco, tanto do tipo verde quanto amarelo, contém uma ampla gama de compostos como álcoois, cetonas, ésteres e ácidos graxos, além de atividade antioxidante. No presente estudo foram detectados produtos derivados de um possível processo de oxidação enzimática na espécie *Cocos nucifera L*., do tipo verde, o que representaria uma atividade enzimático de diferente espectro ao que se espera para a espécie. O reagente utilizado foi o eugenol concentrado, e seus produtos foram isolados por meio de decantação com funil de bromo.

Sob as condições experimentais, foi detectada a oxidação do eugenol para a formação de vanilina como produto primário, 4-((1E)-3-hidroxi-1-propenil)-2-metoxifenol como produto secundário e traços de outros produtos de oxidação, indicando uma ação oxidante catalisada pelas enzimas da água de coco.

Palavras-chave: Biocatálise. Química orgânica. Produtos naturais.

ABSTRACT

This study explores the phytochemical and biotechnological properties of coconut water (*Cocos nucifera L.*), focusing on its application in the bioreduction of organic compounds. Research in the literature reveals that coconut water, both green and yellow, contains a wide range of compounds such as alcohols, ketones, esters and fatty acids, in addition to antioxidant activity. In the present study, products derived from a possible enzymatic oxidation process were detected in the green *Cocos nucifera L.* species, which would represent an enzymatic activity of a different spectrum than that expected for the species. The reagent used was concentrated eugenol, and its products were isolated by decantation with a separatory funnel.

Under the experimental conditions, the oxidation of eugenol to the formation of vanillin as primary product, 4-((1E)-3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol as secondary product and traces of other oxidation products was blocked, placing an oxidizing action catalyzed by coconut water enzymes.

Key words: Biocatalysis. Organic chemistry. Natural products.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-MS	Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massa
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
RPM	Rotações por Minuto
POD	Peroxidase
PPO	Polifenoloxidase
SOD	Superóxido desmutase
GPx	Glutationa peroxidase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do Eugenol 19.

Figura 2 – Provável mecanismo de síntese do acetato de eugenila 20.

Figura 3 – Estrutura da vanilina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído) 20.

Figura 4 – Análise qualitativa por cromatografia em camada delgada 24.

Figura 5 – Estrutura do 2-metoxi-4-propilfenol 25

Figura 6 – Relação dos produtos gerados pela oxidação do Eugenol 28

Figura 7 – Cromatograma da amostra de 72 horas 28.

Figura 8 – Distribuição percentual dos produtos gerados na reação 29.

Figura 9 – Espectro de massa da Vanilina no CG-MS 30.

Figura 10 – Espectro de massa do 4-((1E)-3-Hidroxi-1-propenil)-2-metoxifenol no CG-MS 30.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classes de enzimas e suas respectivas funções 16.

Tabela 2 – Média de colheita entre os cinco principais países produtores de coco da espécie *Cocos nucifera*. 18.

Tabela 3 – Distribuição das amostras por tempo e RPM 23.

Tabela 4 – Resultados da análise das amostras das primeiras 60 horas 25.

Tabela 5 – Compostos presentes naturalmente na água de coco verde 26.

Tabela 6 – Principais produtos gerados na amostra de 72 horas 27.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS **5**
RESUMO **7**
ABSTRACT **8**
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS **9**
LISTA DE FIGURAS **10**
LISTA DE TABELAS **11**
1 INTRODUÇÃO **13**
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA **15**
2.1 BREVE CONTEXTUALIZAÇÃO ACERCA DA BIOTECNOLOGIA 15
2.2 ENZIMAS: UMA VISÃO HISTÓRICA E SUA IMPORTÂNCIA NA QUÍMICA VERDE 15
2.3 COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES DA ÁGUA DE COCO 17
2.4 POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO 18
2.5 COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES DO EUGENOL 19
3 OBJETIVOS **21**
3.1 Objetivo geral 21
3.2 Objetivos específicos 21
4 MATERIAIS E MÉTODOS **22**
4.1 Materiais 22
Rotoevaporador 22
Cromatógrafo Shimadzu QP2020 22
4.2 Métodos 23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO **25**
6 CONCLUSÃO **31**
REFERÊNCIAS **32**

1 INTRODUÇÃO

A água de coco (*Cocos nucifera L*.) é amplamente consumida no Brasil como uma bebida ou matéria-prima na indústria alimentícia para a produção de derivados nutricionais (LUVIELMO, M. de M, 2004), porém também desperta interesse na comunidade científica devido ao seu potencial biotecnológico, que pode torná-la uma alternativa barata e biossustentável para os processos industriais que requerem a redução de compostos orgânicos. O suco da *Cocos nucifera* possui uma composição rica em carboidratos, aminoácidos, vitaminas, minerais e outros compostos bioativos. Essa composição não só a torna uma boa fonte nutricional, mas também um recurso valioso para diversas aplicações industriais (FONSECA, Aluísio, 2009).

Nos últimos anos, um número cada vez maior de pesquisas tem se voltado para as propriedades bioquímicas da água de coco, com foco em seu potencial antioxidante, antimicrobiano e enzimático. Uma de suas propriedades particularmente interessantes é o seu uso em reações de biorredução, um processo no qual compostos orgânicos, como cetonas e aldeídos, são reduzidos a álcoois por meio da ação de enzimas naturais presentes na água de coco. Esse tipo de reação é útil em várias etapas da síntese orgânica, especialmente na produção de fármacos e outros compostos bioativos, e o uso de uma fonte natural como a água de coco para catalisar essas reações representa uma alternativa mais sustentável e eficiente do que os métodos tradicionais (FONSECA, Aluísio, 2009). Essas enzimas, são, portanto, o objeto central dos estudos reacionais envolvendo a espécie.

Enzimas podem ser definidas como proteínas complexas capazes de atuar como catalisadores biológicos naturais em processos orgânicos vivos. Suas características físico-químicas garantem propriedades de alto valor biotecnológico, como a redução na energia necessária para dar início a uma reação química, alta especificidade na geração de enantiômeros e permissibilidade de processos de engenharia de proteínas, como modificações estruturais por via de evolução dirigida (TEIXEIRA; MILAGRE; 2020).

A eficácia das enzimas presentes na água de coco já foi demonstrada em uma série de experimentos que mostraram rendimentos elevados nas reações de biorredução, variando de 34% a 99%, com uma produção elevada de enantiômeros (FONSECA, Aluísio, 2009). Essas características tornam a água de coco uma excelente candidata para aplicações em biocatálise verde, alinhando-se com a crescente demanda por processos industriais mais

sustentáveis e menos dependentes de reagentes químicos tóxicos.

É importante destacar que existem dois principais tipos de coco, o verde e o amarelo, e ambos apresentam perfis químicos distintos (SANTOSO, et. Al., 1996). O coco verde é principalmente consumido como bebida devido ao seu sabor doce, e é geralmente associado a uma maior concentração de compostos bioativos benéficos. Já o coco amarelo é menos utilizado como bebida devido ao seu sabor menos açucarado, mas também possui uma imensa diversidade de compostos quimicamente ativos, o que sugere um potencial significativo para aplicações tecnológicas, especialmente em processos de biocatálise (FONSECA, Aluísio, 2009).

Outro aspecto de destaque da água de coco é o seu potencial antioxidante, que está relacionado à presença de compostos como a vitamina C e polifenóis. Esses antioxidantes desempenham um papel crucial na inibição de radicais livres, oferecendo proteção celular contra o estresse oxidativo. Pesquisas já demonstraram que o consumo de água de coco pode ter efeitos hepatoprotetores e antioxidantes. Essa propriedade antioxidante a coloca como uma alternativa promissora tanto para a indústria alimentícia quanto para a farmacêutica, com possíveis aplicações no desenvolvimento de suplementos e produtos de saúde (MANTENA et. Al., 2003).

Além de sua atividade antioxidante e de biorredução, a água de coco também tem sido investigada por suas propriedades enzimáticas em processos como esterificação e acetilação de álcoois e compostos fenólicos, como ocorre na biocatálise sintética da quinina, que apresentou um resultado consideravelmente alto de enzimas imobilizadas (DALLA-VECCHIA, NASCIMENTO e SOLDI, 2004). A imobilização enzimática é muito útil em processos industriais, e o setor está sempre buscando novas alternativas, mais baratas e mais biossustentáveis.

Portanto, o presente trabalho visa explorar as propriedades biocatalíticas da água de coco cultivada no oeste da Bahia, na cidade de Barreiras, com foco na sua capacidade de agir como biocatalisador em reações de oxidação de compostos orgânicos, fornecendo alternativas de menor custo e impacto biológico para o meio industrial.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 BREVE CONTEXTUALIZAÇÃO ACERCA DA BIOTECNOLOGIA

Produtos naturais têm sido amplamente utilizados pelos mais diversos setores da indústria como uma alternativa para os sintéticos clássicos, uma vez que seu otimizado custo-benefício pode gerar uma economia significativa na cadeia produtiva. Essa característica, associada à crescente demanda por alternativas biossustentáveis que produzam menor impacto ambiental, transformaram os recursos *in natura* em um amplo mercado em crescimento, de forma que os investimentos em pesquisas do setor cresceram significativamente no decorrer dos últimos anos (PINTO et al., 2002).

2.2 ENZIMAS: UMA VISÃO HISTÓRICA E SUA IMPORTÂNCIA NA QUÍMICA VERDE

As enzimas desempenham papéis fundamentais na regulação e aceleração da maior parte das reações bioquímicas em organismos vivos, seja ela animal ou vegetal. Com o advento de novos processos industriais e o aumento da demanda por novos produtos em essencialmente todos os setores, a necessidade por novas soluções biossustentáveis tem crescido consideravelmente, uma vez que os reagentes químicos industriais atualmente utilizados tendem a gerar contaminantes e poluentes desde o momento inicial de sua produção até o seu uso final dentro de uma cadeia produtiva (TEIXEIRA; MILAGRE; 2020), surge então, a partir da Química Verde, uma ampla gama de novos estudos voltados ao uso dessas proteínas naturais como agentes catalíticos para a indústria.

Historicamente, o primeiro registro conhecido do reconhecimento da existência de enzimas como biocatalisadores de sistemas orgânicos surgiu no século XIX, quando a diastase foi isolada pela primeira vez por Jean-François Persoz e Anselse Payen (HECKMANN; PARADISI, 2020). O fenômeno da fermentação já era conhecido e utilizado por milhares de anos até então, mas a partir deste ponto da história, uma proteína específica foi finalmente apontada como a responsável pelo processo. A descoberta, no entanto, não foi o suficiente para desmitificar a teoria do vitalismo, modelo teórico químico predominante anteriormente que afirmava que toda reação química de um sistema orgânico necessitava de uma célula viva para ocorrer, a qual era chamada de “força vital” (BHATIA, Saurabh, 2018).

Em 1878, Wilhelm Kühne definiu, pela primeira, o termo “enzima”, cuja

etiologia se originava do grego *en zýmē*, ou “no fermento”, separando, pela primeira vez, a ação de reações entre intracelulares (enzimas) e extracelulares (fermentos). Porém, foi apenas no final do século XIX que a teoria do vitalismo foi de fato derrubada por Eduard Buchner, que demonstrou que mesmo uma levedura morta, sem células vivas funcionais, eram capazes de fermentar açúcares através da ação de catalisadores autônomos, independentes da força vital (HECKMANN; PARADISI, 2020). A descoberta garantiu a Buchner o Prêmio Nobel de Química em 1907.

As enzimas podem ser, conforme demonstrado na Tabela 1, classificadas em seis grandes classes, cada qual com sua propriedade predominante e de maior interesse para exploração (ENGEL, Paul, 2020):

Tabela 1 – Classes de enzimas e suas respectivas funções.

Classe	Função	Exemplo
Oxirredutases	Transferência de elétrons	Peroxidases
Transferases	Transferência de grupos funcionais	Aminotransferases
Hidrolases	Quebra de ligações contendo água (H_2O)	Pepsina
Liases	Adição e remoção de grupos funcionais a duplas ligações	Fumarase
Isomerases	Formação de isômeros	Epimerase
Ligases	Formação de ligações moleculares	Sintetases

Fonte: O próprio autor (2025)

O mecanismo de interação entre enzimas e substratos se baseiam em dois modelos complementares: “chave-fechadura”, proposto por Emil Fischer em 1894, e “encaixe induzido”, proposto por Daniel Koshland em 1958. De acordo com o modelo de chave-fechadura, a enzima possui uma estrutura sólida e pouco maleável, de forma que em sua estrutura haja um encaixe perfeito para um substrato específico (MONTEIRO; DO NASCIMENTO SILVA, 2009). Esse modelo explica a alta especificidade de enzimas para determinados substratos, como a lactase-lactose, mas falha em explicar como substratos ligeiramente diferentes conseguiam catalisar a mesma ação de uma enzima. Surge então, em 1958, o modelo do “encaixe induzido”, proposto por Koshland. De acordo com este modelo, as enzimas são, na verdade, ligeiramente flexíveis, o que as tornam

capazes de se adaptar às variações morfológicas dos substratos do organismo, sem comprometer sua especificidade (MOTTA, Valter, 2011).

O desenvolvimento técnico-científico levou as enzimas a serem estudadas mais profundamente devido à sua alta especificidade, o que faz com que elas sejam poderosos agentes na formação de enantiômeros específicos, os quais são muitas vezes buscados pela indústria. Esse fator que se soma à sua importância dentro da medicina, visto que a esmagadora maioria dos processos metabólicos são mediados por elas (HECKMANN; PARADISI, 2020). Dentro das técnicas industriais, o cenário tem se tornado ainda mais promissor, com a engenharia de proteínas avançando cada vez mais rápido e novas ferramentas, como a Inteligência Artificial, auxiliando na leitura e compreensão das interações enzima-substrato em cadeias reacionais (DHAKAL, Ashwin, 2022).

2.3 COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES DA ÁGUA DE COCO

A *Cocos nucifera* é uma espécie extremamente rica em enzimas naturais e moléculas com alto potencial de reações químicas. Em seu suco é possível encontrar compostos orgânicos de variadas classes, como álcoois, ácidos carboxílicos, cetonas, ésteres, tiolatos e fenóis (FONSECA, Aluísio, 2009). Predominante no litoral nordestino, seu uso recorrente é maior como uma bebida natural açucarada, especialmente nas praias da região nordeste, porém é amplamente importada ao interior do país devido às suas aplicações culinárias. Segundo Siriphanich et al. (2011) (Tabela 2), em 2008 o Brasil figurava entre os cinco principais países exportadores de cocos da espécie, ao lado da Indonésia, Filipinas, Índia e Sri Lanka (Tabela 2). Essa distribuição geográfica se dá pelas condições tropicais necessárias para o crescimento da espécie, com temperaturas variando entre 27°C ± 7ºC (SIRIPHANICH et al., 2011).

Tabela 2 – Média de colheita entre os cinco principais países produtores de coco da espécie *Cocos nucifera*.

	País	1961-68	1969-78	1979-88	1989-98	1999-2008
Área Colhida (1000Ha)	Indonésia	1096	1446	1952	2426	2717
	Filipinas	1527	2265	3218	3179	3333
	Índia	856	1074	1198	1670	1893
	Brasil	196	182	166	227	276
	Sri Lanka	5571	7074	9455	13224	16846
Produção (1000 tons)	Indonésia	5571	7074	9455	13224	16846
	Filipinas	6541	8526	8942	11008	14097
	Índia	3748	4359	4831	8587	9239
	Brasil	372	362	356	740	2657
	Sri Lanka	1992	1791	1783	1880	2075
Colheita (Tons/Ha)	Indonésia	5.1	4.9	4.8	5.5	6.2
	Filipinas	4.3	3.6	2.8	3.5	4.3
	Índia	4.4	4.1	4.0	5.1	4.9
	Brasil	1.9	2.0	2.1	3.2	9.6
	Sri Lanka	4.3	3.9	4.2	4.4	5.0

Fonte: Siriphanich et al. (2011)

2.4 POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Entre as aplicações biotecnológicas da água de coco, destaca-se o seu uso como biocatalisador em reações químicas, especialmente em processos de biorredução e oxidação. A biorredução se trata da conversão de alguns compostos orgânicos, como cetonas e aldeídos, em álcoois por meio da ação de enzimas naturais. A água de coco tem se mostrado particularmente eficaz nesse tipo de reação, com rendimentos elevados e a produção de enantiômeros, essenciais para a indústria farmacêutica (FONSECA et al., 2006).

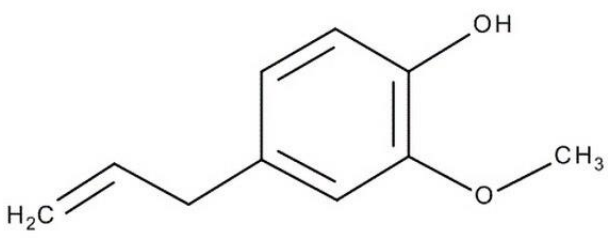
Outro aspecto importante é o potencial oxidante detectado em estudos recentes. Embora a água de coco seja conhecida principalmente por sua atividade antioxidante e biorredutora, resultados experimentais indicam que, sob condições específicas, ela também pode facilitar reações de oxidação, como a transformação do eugenol em vanilina, demonstrada no presente estudo. A vanilina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído) é um composto de alto valor agregado,

muito utilizado na indústria de alimentos e de cosmética, o que reforça o potencial da água de coco como catalisador em processos químicos verdes (DAUGSCH; PASTORE, 2005).

2.5 COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES DO EUGENOL

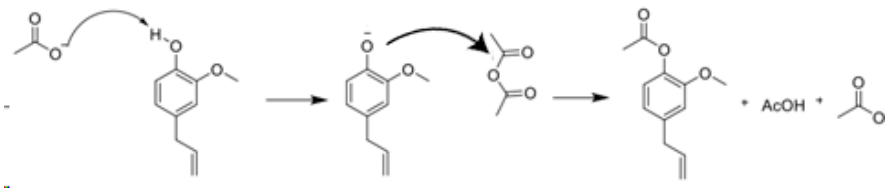
O eugenol é um hidroxifenil propeno comumente encontrado em óleos essenciais de plantas das famílias *Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae* e *Myristicaceae* (MARCHESE et al., 2017). No Brasil, ele é geralmente encontrado em plantas comumente utilizadas, como o cravo-da-índia e gengibre, além de especiarias como a canela e pimenta-do-reino (OLIVEIRA, Rosilene de et al., 2009). Seu odor adocicado e textura suave o tornam particularmente útil para fins culinários, mas suas propriedades também se estendem para a fitoterapia medicinal e farmacêutica, apresentando propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas (BARBOZA, Joice et al., 2018). O potencial do eugenol, no entanto, não se limita à sua estrutura elementar. Por possuir uma estrutura composta por um anel aromático ativado por uma hidroxila e uma cadeia lateral alil contendo uma dupla ligação (Figura 1), o eugenol é altamente suscetível a modificações pontuais em sua molécula, produzindo derivados que podem alterar, ampliar ou reduzir as propriedades físico-químicas presentes no eugenol elementar, como o acetato de eugenila, já recorrente na literatura (Figura 2).

Figura 1 – Estrutura do eugenol



Fonte: XAVIER, Francisco José Seixas et al. *(2018)*

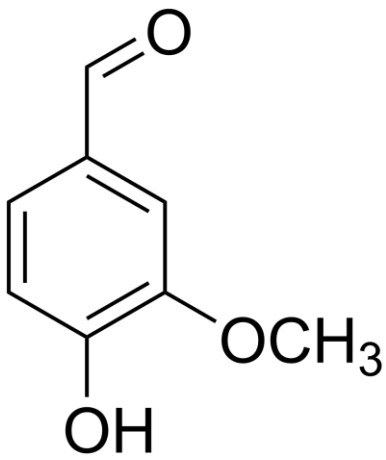
Figura 2 – Provável mecanismo de síntese do acetato de eugenila



Fonte: DA CUNHA LIMA, Josefa Aqueline et al. (2018)

A vanilina é outro derivado do eugenol de interesse para este estudo, pois a mesma é formada a partir da oxidação da hidroxila, gerando uma carbonila no sítio de ataque, e foi o principal produto encontrado durante os experimentos deste projeto (Figura 3). A busca por alternativas de menor custo em relação à vanilina sintética é constante na indústria, visto que este produto é rico em propriedades flavorizantes, antioxidantes, conservantes, antimicrobianas e antimutagênicas, gerando um amplo espectro de aplicações nos mais diversos setores (DAUGSCH; PASTORE, 2005).

Figura 3 – Estrutura da vanilina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído)



Fonte: PubChem

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo desta pesquisa é estudar o potencial biocatalitico da água de coco da espécie *Cocos nucifera* em reações com efeito oxidante, mais especificamente do coco verde, utilizando o eugenol como substrato principal.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar, por meio da literatura conhecida, os possíveis compostos bioativos responsáveis pelo processo de oxidação.
- Determinar o tempo ideal de reação para o eugenol utilizando a água de coco.
- Quantificar com o auxílio do CG-MS os produtos primários, secundários e traço gerados pela reação.
- Relacionar a importância dos produtos obtidos, assim como a sua via biotecnológica de obtenção, com aplicações práticas e úteis na indústria farmacêutica e cosmética.
- Avaliar possíveis fatores determinantes para o favorecimento da reação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Para a presente pesquisa foi utilizado eugenol concentrado, água de coco verde da espécie *Cocos nucifera* obtido na cidade de Barreiras, Bahia, através de comerciantes locais; clorofórmio, acetato de etila, hexano, sulfato de potássio anidro (K_2SO_4), funil de separação, mesa agitadora, incubadora tipo SHAKER, cromatógrafo a gás acoplado à espectrometria de massas (CG-MS), além das vidrarias disponibilizadas pela Universidade Federal do Oeste da Bahia, campus Reitor Edgard Santos, no laboratório de Química Orgânica nº 111, no endereço situado na Rua da Prainha, nº 1326, bairro Morada Nobre.

Rotoevaporador

Para evaporação do solvente orgânico dos produtos das reações obtidos por via química ou por biocatálise utilizou-se o rotaevaporador de marca SOLAB, modelo SL-126 do laboratório 111 de Química Orgânica da Universidade Federal do Oeste da Bahia - UFOB.

Cromatógrafo Shimadzu QP2020

Os cromatogramas e espectros de massa foram obtidos em um equipamento Shimadzu modelo QP2020, equipado com coluna DB-5 5% fenil, 95 % metilsiloxano (30m x 0,25 mm id x 0,25 µm, film). Utilizou-se o gás hélio como gás de arraste e as seguintes condições experimentais: temperatura do injetor inicial = 80 °C até 300 °C, fluxo = 1mL. min-1 com velocidade linear de 47,4 cm.s-1 em um tempo total de 1 min. Utilizou-se a biblioteca espectral NIST que possui um banco de dados com tempo de retenção, massa molecular e fragmentação de massas de muitos compostos orgânicos. Os valores de conversão das reações de redução por via química e das reações biocatalíticas foram determinados a partir da integração da área do pico dos reagentes residuais e dos produtos obtidos ao final das reações.

4.2 Métodos

Para a realização das reações enzimáticas com células integras, foram preparadas amostras em duplicatas contendo 200 mL de água de coco verde da espécie *Cocos nucifera* e 300 mg de eugenol concentrado. Para uma análise mais precisa do potencial enzimático da água de coco, não houve a adição de catalisadores ou outros reagentes externos. As amostras foram submetidas a diferentes tempos de agitação, visando avaliar o tempo ideal de reação entre o eugenol e os componentes presentes na água de coco. Para isso, elas foram colocadas em frascos de vidro erlenmeyer e dispostas em uma mesa agitadora orbital tipo shaker da Tecnal, mantida a uma velocidade constante de aproximadamente 140 RPM. Os tempos de agitação de cada amostra variaram entre 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas (Tabela 3).

Tabela 3 – Distribuição das amostras por tempo e RPM

Amostra	Tempo (h)	Velocidade (RPM)
A1	12	140
A2	24	140
A3	36	140
A4	48	140
A5	60	140
A6	72	140

Fonte: O próprio autor (2025)

Repetidamente, ao término de cada período de agitação, as amostras foram submetidas a um processo de extração para isolar os produtos da reação entre o eugenol e os componentes da água de coco. O isolamento dos compostos foi realizado por partição líquido-líquido utilizando um funil de separação. O sistema de partição consistiu em uma fase aquosa, composta pela própria água de coco, e uma fase orgânica, composta por clorofórmio.

A separação das fases foi realizada em três etapas de lavagem consecutivas para garantir a completa extração dos compostos da fase oleosa. Após cada lavagem, o clorofórmio foi recolhido e reunido para processamento posterior. Esse procedimento foi repetido três vezes para cada amostra.

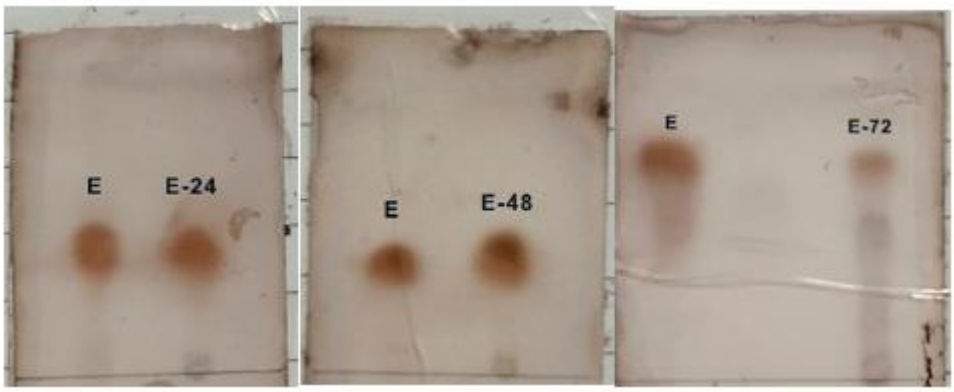
O clorofórmio coletado da fase orgânica foi transferido para um béquer e tratado com sulfato de potássio anidro (K_2SO_4), que atuou como agente dessecante, removendo traços de umidade remanescente. Após a secagem, o

clorofórmio foi deixado em repouso à temperatura ambiente para evaporação espontânea do solvente. A evaporação permitiu a recuperação dos compostos orgânicos isolados, os quais foram direcionados para a etapa de análises químicas.

A confirmação qualitativa das reações foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de alumínio e silica-gel. A vanilina foi utilizada como agente revelador, e a corrida foi realizada em mistura de hexano:acetato de etila na proporção de 8:2. As placas foram aquecidas a 250º C em chapa aquecedora revestida com papel alumínio.

Os produtos isolados em cada amostra foram analisados utilizando um sistema de cromatografia a gás acoplado à espectrometria de massas (CG-MS). As análises por CG-MS permitiram a identificação e quantificação dos compostos resultantes da interação do eugenol com a água de coco ao longo dos diferentes tempos de reação.

Figura 4 – Análise qualitativa por cromatografia em camada delgada (CCD).
[E-24 – Placa de 24 horas; E-48 – Placa de 48 horas; E-72 – Placa de 72 horas]



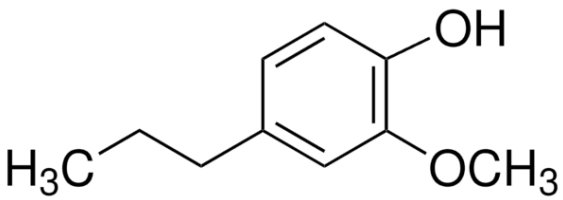
Fonte: O próprio autor (2025)

A análise dos produtos foi realizada utilizando o *software* GCSolution, da Shimadzu. Para a determinação qualitativa dos componentes e sua predominância percentual foi interpretado o pico dos sinais em relação ao tempo de retenção da amostra, e a confirmação dos produtos foi feita através da leitura de espectrometria de massas. Para aferição quantitativa percentual utilizou-se a área dos picos de sinais do cromatógrafo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos pela análise das amostras por CG-MS revelaram uma possível ação enzimática oxidativa em curso, contrária às reações biorredutoras inicialmente esperadas na pesquisa, as quais apontavam a formação do 2-metoxi-4-propilfenol como o produto mais provável (Figura 5) (FONSECA, Aluísio, 2009). Foram analisadas as amostras agitadas por períodos de 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas, e os resultados revelaram uma variação significativa de produtos a partir das 72 horas.

Figura 5 – Estrutura do 2-metoxi-4-propilfenol



Fonte: PubChem

As amostras referentes aos tempos de agitação de 12, 24, 36, 48 e 60 horas não apresentaram sinais de biorredução ou oxidação do eugenol pela água de coco verde. A análise por CG-MS não detectou produtos significativos derivados de transformações químicas do eugenol nesses períodos, indicando que a interação entre o eugenol e os componentes da água de coco, nesse intervalo de tempo, foi insuficiente para promover reações químicas detectáveis no reagente. Fica evidente que, ainda que o coco possua atividade biorredutora, esta não foi forte o suficiente para reduzir o eugenol sob as condições experimentais estabelecidas. A partir das 48 horas moléculas traço foram detectadas na amostra, mas insuficientes para gerar qualquer correlação clara com a atividade enzimática de interesse na água de coco (Tabela 4). No entanto, foi o suficiente para sinalizar que uma possível cadeia reacional estava em curso, ainda que em estágios iniciais.

Tabela 4 – Resultados da análise das amostras das primeiras 60 horas

Amostra	Produto Principal	Produto Secundário
A1	Eugenol	N/A
A2	Eugenol	N/A
A3	Eugenol	N/A
A4	Eugenol	Traços (Diversos)
A5	Eugenol	Traços (Diversos)

Fonte: O próprio autor (2025)

Os resultados da amostra submetida a 72 horas de agitação foram surpreendentemente positivos. A **A6** apresentou diversos constituintes derivados da oxidação do eugenol, ao invés de produtos oriundos de uma biorredução. Essa reação enzimática oxidativa é um resultado pouco conhecido e explorado na literatura da *Cocos nucifera L.*, muito mais conhecida por suas propriedades biorredutoras.

Para a confirmação de que os produtos não faziam parte do pool enzimático natural da água de coco, utilizou-se a tabela qualitativa da análise do branco do fruto, desenvolvida por Aluísio Fonseca (2009) (Tabela 5).

Tabela 5 – Compostos presentes naturalmente na água de coco verde

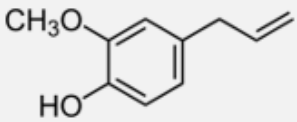
Compostos	Método de Extração
Etanoato n-propila	Hidrodestilação e Éter de Petróleo
Metanoato de 1-metilpropila	Éter de Petróleo
3-hidroxi-butan-2-ona	Éter de Petróleo
4-metil-pentan-2-ona	Hidrodestilação e Éter de Petróleo
2-hidroxipropanoato de etila	Éter de Petróleo
Butano-1,3-diol	Éter de Petróleo
Butano-1,2-diol	Éter de Petróleo
Butano-2,3-diol	Éter de Petróleo
Carbonato de etila	Hidrodestilação
Etanoato de n-butila	Hidrodestilação
Furfural	Hidrodestilação
4-hidroxi-4-metilpentan-2-ona	Hidrodestilação
2-hidroxi-2-metilpentano	Hidrodestilação
Acetato de p-ment-8-en-1-ol	Hidrodestilação
Adipato de dioctila	Hidrodestilação

Fonte: FONSECA, Aluísio (2009)

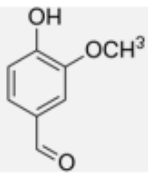
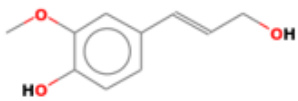
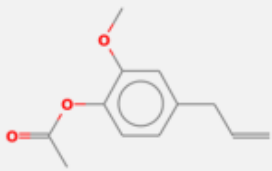
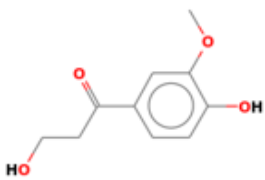
Entre os compostos detectados na amostra de 72 horas, a vanilina foi identificada como o principal produto da oxidação do eugenol pela água de coco verde. A vanilina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído) (Figura 3) é

comumente formada a partir da oxidação do grupo alilico do eugenol, resultando na conversão da cadeia lateral em um grupo aldeído. Além disso, também foi detectada em CG-MS a presença de 4-((1E)-3-hidroxi-1-propenil)-2-metoxifenol como produto secundário. A estrutura dessa molécula também possui um grupo hidroxipropenil, sugerindo a modificação estrutural do eugenol por oxidação parcial da sua cadeia lateral. Outras moléculas traço também foram detectadas em menor escala (Tabela 6).

Tabela 6 – Principais produtos gerados na amostra de 72 horas

Constituinte de Partida	Estrutura
Eugenol	

PRINCIPAIS PRODUTOS

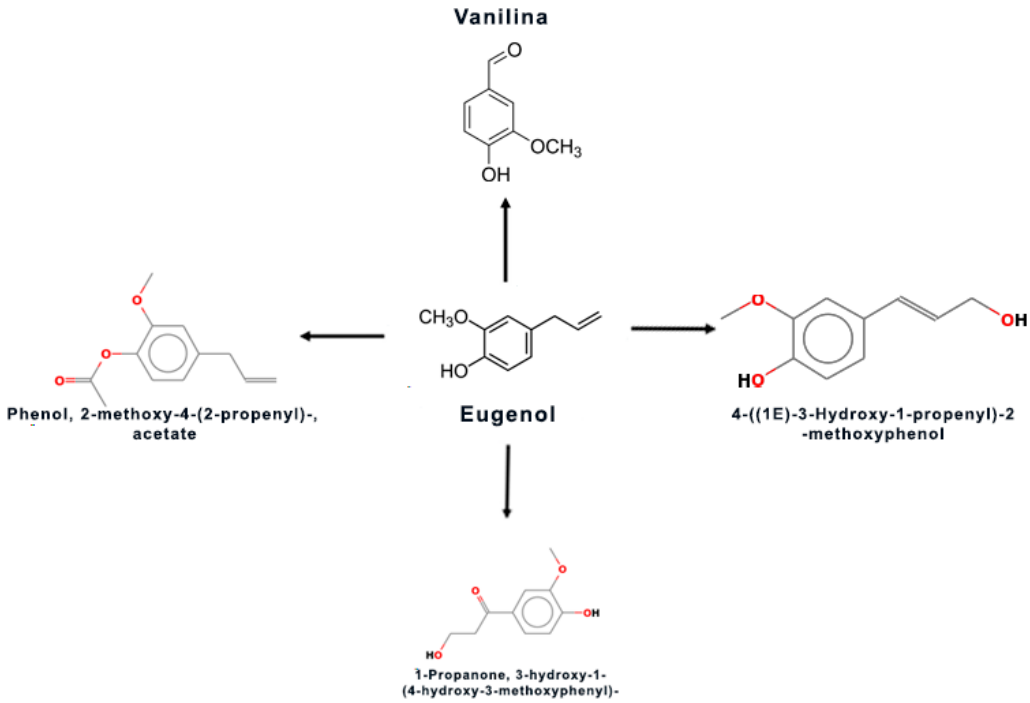
Constituinte	Tempo de Retenção (min)	Área (%)	Estrutura
Vanilina	10.765	48.56	
4-((1E)-3-Hidroxi-1-propenil)-2-metoxifenol	13.965	47.11	
Fenol, 2-metoxi-4-(2-propenil)-, acetato	12.140	0.86	
1-Propanona, 3-hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-	12.475	1.71	

Fonte: O próprio autor (2025)

Ainda que os produtos traço tenham sido gerados em proporções menores, eles podem nos dar indicativos dos tipos de reações enzimáticas que ocorreram nas amostras de 48 – 72 horas para alterar a estrutura do eugenol. A partir do cromatograma é possível visualizar a diferença entre os picos dos

produtos primários e produtos traço, com variação visível na intensidade dos sinais. (Figura 6, Figura 7).

Figura 6 – Relação dos produtos gerados pela oxidação do Eugenol.
Biocatalisador: Água de coco | Temperatura ambiente | 48 h – 72 h

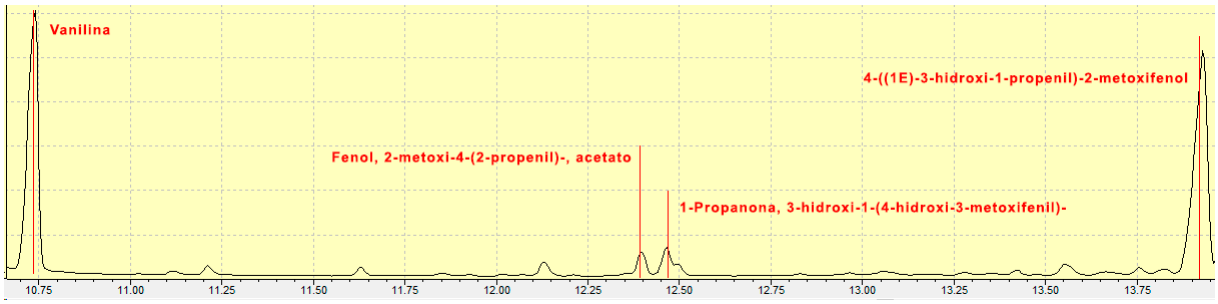


Fonte: O próprio autor (2025)

I - **Fenol, 2-metoxi-4-(2-propenil)-acetato**, um derivado oxigenado do eugenol com a adição de um grupo acetato.

II - **1-Propanona, 3-hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenol)-**, o que sugere uma modificação adicional da cadeia lateral do eugenol, possivelmente devido a uma oxidação enzimática mais intensa.

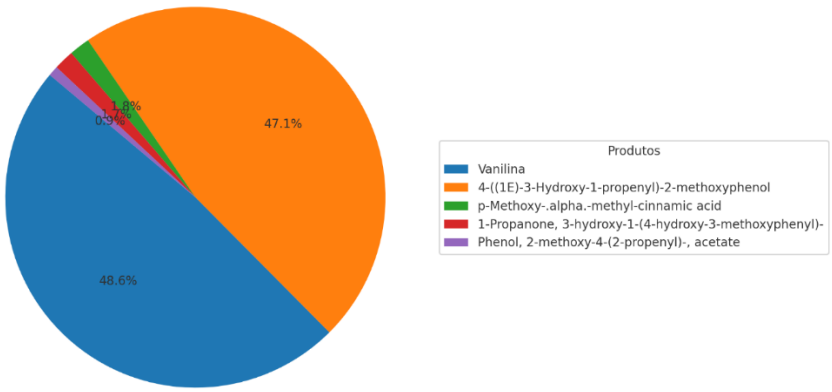
Figura 7 – Cromatograma da amostra de 72 horas.



Fonte: O próprio autor (2025)

Na figura 08, evidenciamos o percentual dos produtos gerados na reação de transformação biocatalitica utizando a água de coco como biocatalisador e como substrato o eugenol.

Figura 8 – Distribuição percentual dos produtos gerados na reação



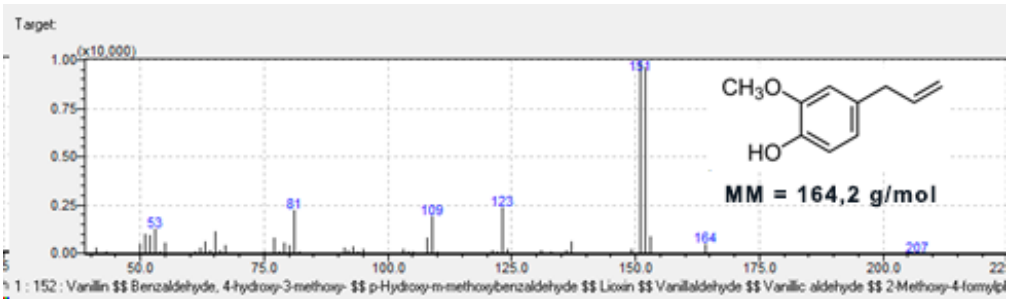
Fonte: O próprio autor (2025)

Os produtos gerados indicam que sob períodos mais elevados de reação sob agitação, as reações de oxidação da água de coco verde podem ser favorecidas sobre sua atividade biorredutora. Um amplo espectro de possibilidades pode justificar essa alteração do perfil de ativação enzimática da água de coco verde, como a inativação das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e glutationa peroxidase (GPx) após longos períodos de reação, o que favoreceria a ação das enzimas oxidantes presentes na espécie, como a polifenoloxidase (PPO) (TEIXEIRA, Tayná, 2019). Fatores complementares também devem ser levados em consideração, como as variações de temperatura, estágio de maturação, concentração enzimática do coco e pH natural pré e pós reacional (FONSECA, Aluísio, 2009).

A vanilina (3-metoxi-4-hidroxibenzaldeído) foi o principal produto gerado pela oxidação do eugenol com a água de coco verde, e se trata de um produto de alto valor biotecnológico por suas diferentes aplicações, como na aromatização de alimentos e bebidas, atividade anti-inflamatória, antioxidante e antitumoral (SILVA, Welligton, 2023).

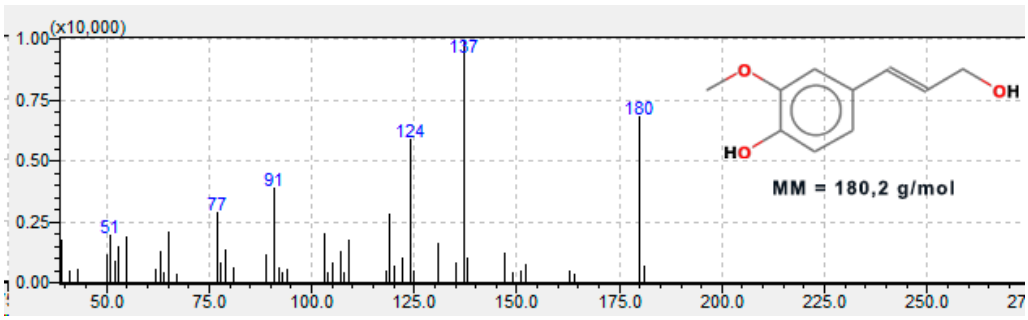
Os resultados apresentados nesse estudo podem indicar uma alternativa de síntese para a molécula, que atualmente é produzida em escala industrial por síntese química do guaiacol. A biossíntese da Vanilina e do 4-((1E)-3-hidroxi-1-propenil)-2-metoxifenol por via de reação entre a água de coco verde e eugenol foi confirmada através do espectro de massas do produto (Figura 9 e 10).

Figura 9 – Espectro de massa da Vanilina no CG-MS



Fonte: O próprio autor (2025)

Figura 10 – Espectro de massa do 4-((1E)-3-Hidroxi-1-propenil)-2-metoxifenol no CG-MS



Fonte: O próprio autor (2025)

As condições ideais para a reprodutibilidade da oxidação enzimática ainda não foram completamente elucidadas, de forma que mais estudos são necessários para compreender as características físico-químicas ideais para favorecer a atividade oxidante sobre a biorredutora. Os resultados indicaram no entanto que a *Cocos nucifera* pode atuar como um excelente catalisador de reações oxidantes.

Os produtos traço apresentados neste estudo corresponderam a uma parcela muito pequena da área total da amostra, de forma que a relação sinal-ruído destes não foi o suficiente para caracterizá-los de forma conclusiva. Desta forma, o grau de importância atribuído a eles foi menor do que os dois produtos majoritários, devido à sua baixa confiabilidade.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou através de práticas laboratoriais a capacidade enzimática da água de coco verde da espécie *Cocos nucifera* de catalisar processos oxidativos complexos. Os resultados revelaram que além das propriedades biorredutoras, anti-inflamatórias e antimicrobianas, além do seu alto valor nutricional, a espécie também pode ser utilizada como uma alternativa biossustentável e de menor custo em relação aos agentes oxidantes sintéticos utilizados pela indústria.

Esses achados podem ser uma contribuição importante à compreensão e exploração do potencial biotecnológico da espécie, além de ressaltar a importância de mais estudos sobre a rica flora dos biomas do nordeste do país, que cada vez mais vêm se revelando um amplo reservatório de espécies vegetais com potencial de serem exploradas como alternativas aos produtos, reagentes e medicamentos sintéticos atualmente já estabelecidos pela indústria, que sempre vem buscando novas alternativas para suas cadeias produtivas.

Dessa forma, este trabalho busca abrir novos caminhos e interesses para futuras pesquisas na área, explorando o potencial biotecnológico da *Cocos nucifera L.* e dos produtos naturais.

REFERÊNCIAS

BARBOZA, Joice Nascimento et al. *An overview on the anti-inflammatory potential and antioxidant profile of eugenol*. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, n. 1, p. 3957262, 2018.

BELL, Elizabeth L. et al. Biocatalysis. **Nature Reviews Methods Primers**, v. 1, n. 1, p. 1-21, 2021.

BHATIA, Saurabh; BHATIA, S. Introduction to enzymes and their applications. **Introduction to pharmaceutical biotechnology**, v. 2, p. 1-29, 2018.

CANILHA, L.; DE CARVALHO, W.; SILVA, J. B. *Uso de células e enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos*. **Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento**, v. 36, p. 48-57, 2006.

CARDOSO, Fernanda Dias. *A atividade enzimática da peroxidase submetida a diferentes pHs e temperaturas no Butia catarinenses e Butia yatay*. 2017.

DA CUNHA LIMA, Josefa Aqueline et al. ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA REAÇÃO DE ACETILAÇÃO DO EUGENOL (ACETATO DE 4-ALIL-2-METOXIFENIL).

DALLA-VECCHIA, Roberto; NASCIMENTO, Maria da Graça; SOLDI, Valdir. *Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros*. **Química Nova**, v. 27, p. 623-630, 2004.

DAUGSCH, Andreas; PASTORE, Gláucia. *Obtenção de vanilina: oportunidade biotecnológica.* **Química Nova**, v. 28, p. 642-645, 2005.

DE SOUZA ANDRADE, Jerusa; MAEDA, Roberto Nobuyuki. *Caracterização e inativação térmica da peroxidase em frutos de cubiu (solanum sessilijlorum dunal)*. 1998.

DHAKAL, Ashwin et al. Artificial intelligence in the prediction of protein–ligand interactions: recent advances and future directions. **Briefings in Bioinformatics**, v. 23, n. 1, p. bbab476, 2022.

DUARTE, A. C. P.; COELHO, M. A. Z. *Identification of peroxidase and tyrosinase in green coconut water*, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 3, 5, p. 266, 2002.

EJEDEGBA, B. O.; ONYENEKE, E. C.; OVIASOGIE, P. O*. Characteristics of lipase isolated from coconut (Cocos nucifera linn) seed under different nutrient treatments*, **African Journal of Biotechnology**, v. 6(6), p. 723-727, 2007.

ENGEL, Paul C. **Enzymes: A Very Short Introduction**. Oxford University Press, 2020.

FENNEMA, O. R. **Química dos Alimentos**. Zaragoza: Acribia S.A., p. 1095, 1993.

FONSECA, A. M.; BIZERRA, A. M. C.; SOUZA, J. S. N.; MONTE, F. J. Q.; OLIVEIRA, M. C. F.; MATTOS, M. C.; CORDELL, G. A.; BRAZ-FILHO, R.; LEMOS, T. L. G., *Constituents and Antioxidant Activity of Two Varieties of Coconut Water (Cocos nucifera L.)*, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, FG 656, 2009.

FONSECA, A. M.; DE MATTOS, M. C.; MONTE, F. J. Q.; LEMOS, T. L. G., *Uso da água-de-coco, Cocos nucifera L. em reações de biotransformações*, **Sociedade Brasileira de Química- 29ª Reunião Anual**, PN 136, 2006.

FONSECA, Aluísio Marques da. *Contribuição ao Conhecimento Fitoquímico e Biotecnológico da água-de-coco (Cocos nucifera L.)*. 2009.

HAUER, Bernhard. Embracing nature's catalysts: a viewpoint on the future of biocatalysis. **Acs Catalysis**, v. 10, n. 15, p. 8418-8427, 2020.

HECKMANN, Christian M.; PARADISI, Francesca. Looking back: a short history of the discovery of enzymes and how they became powerful chemical tools. **ChemCatChem**, v. 12, n. 24, p. 6082-6102, 2020.

KARSTEN, Juliane et al. *Papel e caracterização da polifenoloxidase em hastes de ave-do-paraíso (Strelitzia reginae Ait.)*. **Ornamental Horticulture**, v. 19, n. 2, p. 161-171, 2013.

LUVIELMO, M. de M. et al. *Influência do processamento nas características sensoriais da água-de-coco*. 2004.).

MIZOBUTSI, Gisele Polete et al. *Efeito do pH e da temperatura nas atividades da peroxidase e polifenoloxidase do pericarpo de lichia*. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 2, p. 213-217, 2010.

MONTEIRO, Valdirene Neves; DO NASCIMENTO SILVA, Roberto. Aplicações industriais da biotecnologia enzimática. **Revista processos químicos**, v. 3, n. 5, p. 9-23, 2009.

MOTTA, Valter T. Bioquímica básica. **Medbook: Rio de Janeiro, Brasil**, p. 69-101, 2011.

PINTO, Angelo C. et al. *Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas*. **Química nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

SILVA, Welligton et al. *Biotecnologia da vanilina: Uma revisão sobre suas características e atividades biológicas*. **Estrabão**, v. 4, p. 112-124, 2023.

SIRIPHANICH, J. et al. *Coconut (Cocos nucifera L.).* **Postharvest biology and technology of tropical and subtropical Fruits**. Woodhead Publishing, 2011. p. 8-35e.

SOUZA, Pahlevi Augusto et al. *Influência da temperatura e do ph sobre a atividade da enzima peroxidase em dois genótipos de manjericão (Ocimum sp)*. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 1, 2008.

TEIXEIRA, Iris S.; MILAGRE, Cintia DF. Evolução dirigida de enzimas: pequenas modificações, melhores biocatalisadores. **Química Nova**, v. 43, n. 6, p. 773-786, 2020.

TEIXEIRA, Tayná. et al. *Estudo cinético dinâmico da degradação enzimática da água de coco submetida a termosonificação*. 2019.

WANDREY, Christian; LIESE, Andreas; KIHUMBU, David. Industrial biocatalysis: past, present, and future. **Organic process research & development**, v. 4, n. 4, p. 286-290, 2000.

XAVIER, Francisco José Seixas et al. Síntese e avaliação in vitro da atividade Leishmanicida de novos adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) híbridos com os constituintes Eugenol-Carvacrol e timol. 2018.