

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos - PPGCA

GEISA GABRIELA DA SILVA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE, NEUROPROTETOR E
ANTIACETILCOLINESTERÁSICO DA CASCA E CAROÇO DE *Persea americana***

Belo Horizonte
2020

GEISA GABRIELA DA SILVA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE, NEUROPROTETOR E
ANTIACETILCOLINESTERÁSICO DA CASCA E CAROÇO DE *Persea americana***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestra em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Jacqueline Aparecida Takahashi

Linha de Pesquisa: Química e Bioquímica de Alimentos

Belo Horizonte
2020

S586p Silva, Geisa Gabriela da.
Potencial antioxidante, neuroprotetor e antiacetilcolinesterásico da casca e caroço de *Persea americana* / Geisa Gabriela da Silva. – 2020. 88 f. : il.

Orientadora: Jacqueline Aparecida Takahashi.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Abacate – Teses. 2. Compostos bioativos – Teses. 3. Resíduos agroalimentares – Teses. 4. Resíduos de alimentos – Teses. 5. Alzheimer, Doença de – Teses. 6. Alimentos – Análise – Teses. I. Takahashi, Jacqueline Aparecida. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD: 664.07

Elaborado por Darlene Teresinha Schuler – CRB-6/1759



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPGCA

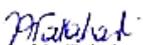
FOLHA DE APROVAÇÃO

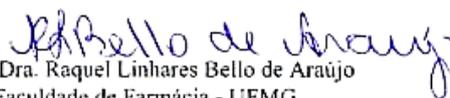
POTENCIAL ANTIOXIDANTE, NEUROPROTETOR E
ANTIACETILCOLINESTERÁSICO DA CASCA E CAROÇO DE *Persea americana*

GEISA GABRIELA DA SILVA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2020, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Dra. Jacqueline Aparecida Takahashi (Orientadora e Presidente da Comissão)
Instituto de Ciências Exatas - UFMG


Prof. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo
Faculdade de Farmácia - UFMG


Prof. Dra. Denise Sande Santos
UNIBH

Belo Horizonte, 19 de fevereiro de 2020.

Dedico esta pesquisa ao povo Latino Americano.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo apoio em todos os momentos.

À minha mãe, por sempre perguntar como vai os estudos e que mesmo sem entender muito bem o que significa estar no mestrado, sempre me apoiou. Te amo, mãe!

Ao meu marido Marcos por estar ao meu lado em tempos de tantos desafios. São fatos que superam essa dissertação, vai para além do acadêmico e me faltam palavras para expressar minha gratidão.

Ao meu irmão Lucas por se preocupar se eu estava “firme e forte” e sempre interessado no que estava/estou fazendo.

À professora Jacqueline Takahashi por ter aceitado a orientação deste trabalho e por acreditar em mim. Por ser um exemplo de profissionalismo, por passar serenidade, tranquilidade e o principal, tranquilizar nossos corações em momentos de desespero.

Aos colegas do Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios, Bruna, Geane, Thamires, Laura, Christiano, Gustavo, Bianca, Isabela, Diego, por compartilhar conhecimento científico, sentimentos e pelas tardes de café.

À Marília por me socorrer em momentos de dúvidas, por compartilhar seu conhecimento, pela vivência, pelas risadas e pelos almoços na bandeirão.

Ao Matheus por deixar meus dias mais animados e por me contagiar com a sua proatividade.

À Ana Luíza Santos minha “miga” que ingressou comigo no Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos e juntas compartilhávamos aflições, reflexões sobre a pós-graduação e sobre publicações para além da vida acadêmica.

Aos meus amigos e movimentos em prol da preservação da nossa biodiversidade. Ao movimento Serra sempre viva, KAIPORA, Resistência Verde, AMAU (Articulação Metropolitana de Agricultura Urbana) e o Mutiró (Núcleo de estudos em agroecologia). São nesses grupos que encontro inspiração para seguir em frente.

Ao programa de Pós-graduação em ciências de alimentos (PPGCA) pela oportunidade.

Aos funcionários do Departamento de Química e da Faculdade de Farmácia, sem eles essa pesquisa não seria possível.

À Dra. Vanny Ferraz e a Mirra Angelina por atender prontamente na Cromatografia gasosa e na Cromatografia líquida de alta eficiência. Ao Gustavo pelos resultados de minerais via absorção atômica.

À Universidade Federal de Minas Gerais por se manter de pé como uma das melhores universidades do país e por fazer a ciência brasileira prosperar.

Agradeço também a mãe natureza por proporcionar meu objeto de trabalho e por ser meu refúgio em momentos de reflexão.

Ao povo brasileiro pagador de impostos que de certa forma contribuiu para realização dessa pesquisa.

À CAPES que mesmo em meio a cortes ou contingenciamentos segue resistente amparando a ciência brasileira.

“ Se a natureza fosse um banco, já teria sido salva. ”

Eduardo Galeano

RESUMO

O abacate *Persea americana* pertence à família Lauraceae, tem origem na América central e o fruto é muito consumido no Brasil. Durante a cadeia produtiva muitos alimentos não são aproveitados em sua integralidade, como o abacate, cujas cascas e caroços são descartados, não sendo utilizado para alimentação. Estima-se que aproximadamente 30% do fruto (cascas e caroços) são jogados no lixo. Assim como o abacate, outros alimentos não são integralmente aproveitados, gerando desperdício e acúmulo de resíduos. Essa situação despertou a atenção de entidades internacionais como a Organização das Nações Unidas (ONU), que propôs 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) para acabar com a fome e desenvolver crescimento sustentável. Além disso, variados resíduos agroalimentares possuem atividade biológica, podendo ser isolados e utilizados para melhorar a qualidade de vida das pessoas. Este estudo teve como objetivo analisar os resíduos oriundos de *P. americana* (cascas e caroços), na forma de extratos hexânicos e etanólicos. Os extratos foram avaliados quanto à capacidade antioxidante, ao perfil lipídico, verificação de alguns fitoconstituintes, atividade antifúngica, avaliação da capacidade antiacetilcolinesterásica e neuroprotetora por meio do ensaio de geotaxia negativa, usando *Drosophila melanogaster* como modelo. O rendimento dos extratos hexânicos das cascas e caroços foi 1,32 e 0,911% respectivamente, para os extratos etanólicos 15,98% para as cascas e 27,75% para os caroços. Alguns minerais foram quantificados por absorção atômica, sendo encontrados $26,78 \pm 2,06$ Ca, $23,87 \pm 3,09$ Mg, $0,20 \pm 0,74$ Cu, $0,72 \pm 2,06$ Fe, $4,23 \pm 10,34$ e $0,67 \pm 7,02$ Zn nas cascas. Nos caroços foram quantificados $41,14 \pm 8,5$ Ca, $31,41 \pm 1,82$ Mg, $0,48 \pm 0,01$ Cu, $1,04 \pm 7,4$ Fe, $1,8 \pm 6,48$ Mn e $1,11 \pm 0,57$ Zn. Em análise do perfil lipídico por cromatografia gasosa, os extratos (hexânico e etanólico) dos caroços apresentaram ácido linoleico como principal constituinte. Os espectros no infravermelho mostraram semelhança entre os extratos, indicando a presença de grupos funcionais pertencentes a ácidos graxos. Os espectros de RMN de ^1H também se mostraram semelhantes para todos os extratos com sinais que corroboram a presença de ácidos graxos. O perfil metabólico por HPLC do extrato etanólico das cascas (CSC-ET) mostrou-se mais complexo que o do extrato etanólico dos caroços (CRÇ-ET), este apresentando um pico intenso no tempo de retenção 16 min. Os extratos etanólicos mostraram-se presença de alcaloides visualizado com o reagente de Dragendorff. O extrato CSC-ET mostrou presença de flavonoides no ensaio com o reagente NP/PEG. Os extratos etanólicos (CSC-ET e CRÇ-ET) apresentaram indicativo de presença de taninos condensados. No ensaio de antioxidantes totais (mmol/g de ácido ascórbico) o extrato CRÇ-H apresentou $770 \pm 0,024$, o extrato CRÇ-ET $697 \pm 0,072$, o extrato CSC-H $669 \pm 0,086$ e o extrato CSC-ET $630 \pm 0,039$. O extrato CSC-ET apresentou maior teor de fenólicos totais ($35,404 \pm 0,599$) estaticamente significativo. No ensaio de poder redutor férrico, o extrato CRÇ-H apresentou, uma porcentagem média de $4,065 \pm 1,213$ e o extrato CRÇ-ET de $2,383 \pm 0,242$; os extratos oriundos das cascas exibiram $4,812 \pm 1,376$ (CSC-H) e $1,113 \pm 0,252$ (CSC-ET). O conteúdo de flavonoides totais dos extratos hexânicos (CSC-H e CRÇ-H) foram maiores do que do que dos extratos etanólicos (CRÇ-ET e CSC-ET). Os extratos também apresentaram atividade antifúngica frente *Aspergillus niger* ($\text{DL}_{100} = 25 \mu\text{g/mL}$). Para atividade antiacetilcolinesterásica todos os extratos apresentaram uma média de inibição acima

de 50%, sendo CSC-ET o mais ativo ($85,6 \pm 11,053$). O extrato etanólico do caroço (CRÇ-ET) obteve melhor desempenho nos ensaios de neuroproteção. Os resultados mostraram que cascas e caroços de abacate contêm compostos bioativos que podem ser reaproveitados, agregando a valor à cadeia produtiva e deixando-a mais sustentável.

Palavras-chave: Compostos bioativos. Resíduo agroalimentar. Alzheimer.

ABSTRACT

The avocado, *Persea americana*, belongs to the Lauraceae family, and was originated in Central America. The fruit is very consumed in Brazil. During the production chain many foods are not used in their integrality, such as avocado, whose barks and seeds are discarded, not being used as food. It is estimated that approximately 30% of avocado fruit are discarded into the trash. Like avocado, other foods are not fully used, generating waste. This has attracted the attention of international entities such as the United Nations, which proposed 17 Sustainable Development Goals (SDGs) to end hunger and develop sustainable growth. In addition, various agri-food residues have biological activity, and can be used to improve people's quality of life. This study aims to analyze residues from *P. americana* (barks and seeds), in the form of hexane and ethanol extracts. The extracts were evaluated for antioxidant capacity, lipid profile, phytoconstituents, evaluation of antiacetylcholinesterase activity and neuroprotective capacity through the negative geotaxia assay, using *Drosophila melanogaster* model. The yields of the hexane extracts of barks and seeds were 1.32 and 0.911% respectively, and 15.98% for barks peels and 27.75% for seeds ethanol extracts. Some minerals were quantified by atomic absorption, with 26.78 ± 2.06 Ca, 23.87 ± 3.09 Mg, 0.20 ± 0.74 Cu, 0.72 ± 2.06 Fe, 4.23 ± 10.34 and 0.67 ± 7.02 Zn in the barks. In the lumps, 41.14 ± 8.5 Ca, 31.41 ± 1.82 Mg, 0.48 ± 0.01 Cu, 1.04 ± 7.4 Fe, 1.8 ± 6.48 Mn and 1.11 ± 0.57 Zn were quantified in the seeds. Analysis of the lipid profile of hexane and ethanol extracts by gas chromatography showed linoleic acid as the main constituent. Infrared spectra showed similarity between the extracts, indicating the presence of functional groups belonging to fatty acids. The ^1H NMR spectra were also similar for all extracts with signs that corroborate the presence of fatty acids. The metabolic profile by HPLC of the ethanol extract from barks (CSC-ET) was more complex than the ethanol extract of the seeds (CRÇ-ET), the latter presenting an intense peak in retention time 16 min. Ethanol extracts were shown to possess alkaloids, as visualized with Dragendorff reagent. CSC-ET extract showed presence of flavonoids according to NP/PEG reaction. Ethanol extracts (CSC-ET and CRÇ-ET) showed indicative of the presence of condensed tannins. In total antioxidant assay (mmol/g of ascorbic acid) CRÇ-H extract presented 770 ± 0.024 , CRÇ-ET extract 697 ± 0.072 , CSC-H extract 669 ± 0.086 and 630 ± 0.039 for CSC-ET extract. CSC-ET extract showed the higher total phenolic content ($35,404 \pm 0.599$) statistically significant. In ferric reducing power assay, CRÇ-H extract presented an average percentage of 4.065 ± 1.213 and CRÇ-ET extract 2.383 ± 0.242 ; extracts from the barks exhibited 4.812 ± 1.376 (CSC-H) and 1.113 ± 0.252 (CSC-ET). The contents of total flavonoids of hexane extracts (CSC-H and CRÇ-H) were higher than those of ethanol extracts (CRÇ-ET and CSC-ET). The extracts also presented antifungal activity against *Aspergillus niger* ($\text{DL}_{100} = 25 \mu\text{g/mL}$). For antiacetylcholinesterase activity all extracts presented an average inhibition above 50%, CSC-ET being the most active one (85.6 ± 11.053). Ethanol extract from the seeds (CRÇ-ET) presented the best performance in neuroprotection assays. The results showed that avocado peels and seeds contain bioactive compounds that can be reused, adding value to the production chain of avocado, making it more sustainable.

Keywords: Bioactive compounds. Agri-food waste. Alzheimer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Produção de abacate no Brasil	23
Figura 2 - Componentes antioxidantes encontrados em alimentos	26
Figura 3 - Reação de redução do DPPH.....	27
Figura 4 - Ilustração da atividade do neurotransmissor acetilcolina e ação da acetilcolinesterase.....	32
Figura 5 - Polpa e caroço do abacate	34
Figura 6 - Fluxograma do processo utilizado para a obtenção dos extratos hexânicos.	35
Figura 7- Cascas (a) e caroços (b) submersos em hexano durante o processo de extração	36
Figura 8 - Extratos hexânicos e etanólicos.....	36
Figura 9 – <i>A. niger</i> cultivado em ágar antibiótico.....	43
Figura 10 - Diluição em placa de 96 poços	44
Figura 11 - Cultivo de <i>D. melanogaster</i>	46
Figura 12 - Espectro no infravermelho	53
Figura 13 - Espectros de RMN de ¹ H dos extratos hexânicos e etanólicos.....	54
Figura 14 - Perfil por HPLC dos extratos etanólicos.....	56
Figura 15 - Detecção de alcaloide com reagente de Dragendorff	57
Figura 16 - Detecção de flavonoide por NP/PEG	58
Figura 17-Mudança de coloração para identificação de taninos	59
Figura 18 – Estrutura genérica de taninos condensados	60
Figura 19 - Atividade antioxidante total detectada para os extratos	61
Figura 20 - Fenólicos totais encontrados nos extratos das cascas e caroços de abacate	62
Figura 21 - Flavonoides totais presentes nos extratos de cascas e caroços de abacate	63
Figura 22 - Poder Redutor férrico encontrado nos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e caroços de abacate	64
Figura 23 - Médias dos extratos etanólicos e hexânicos referentes ao ensaio de DPPH	65
Figura 24 - Controle negativo (meio e fungo) e controle positivo nistatina em placa de 96 poços.....	65
Figura 25 - Atividade antifúngica dos extratos.....	66
Figura 26 – Porcentagem de inibição de AchE promovida pelas cascas e caroços de abacate	67
Figura 27 – Relação de tempo e porcentagem de inibição exibidos pelos extratos hexânicos e etanólicos.....	68
Figura 28 - Relação entre a inibição da AChE e a presença de compostos fenólicos	69
Figura 29 - Gráfico de componentes principais, relacionando os ensaios antioxidantes e o ensaio de AChE	69
Figura 30- Resultados do teste de geotaxia negativa	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição nutricional do abacate	24
Tabela 2 - Dados utilizados para construir a curva de calibração para o ácido ascórbico.....	40
Tabela 3 - Dados utilizados para construir a curva de calibração para o ácido gálico	41
Tabela 4 - Dados utilizados para construir a curva de calibração para quercetina ...	42
Tabela 5 - Dados utilizados para construir a curva de calibração para o ácido ascórbico.....	43
Tabela 6 - Identificação do abacate	47
Tabela 7 - Rendimento dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e caroços de abacate	48
Tabela 8 – Conteúdo de minerais presentes nas cascas e caroços de abacate.....	49
Tabela 9 - Composição de ácidos graxos dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e caroços de abacate.	50
Tabela 10 - Conteúdo de ácido graxo encontrados em outros vegetais.	52
Tabela 11 - Sinais dos ácidos graxos simulados.....	55
Tabela 12 - Ensaio antioxidantes dos extratos provenientes das cascas e caroços de abacate.....	61
Tabela 13 - Inibição da acetilcolinesterase exibida pelos extratos hexânicos e etanólicos em comparação com o controle positivo	67
Tabela 14- Resultados em porcentagem do teste negative geotaxis	71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estrutura dos medicamentos utilizados para o tratamento de Alzheimer.	30
Quadro 2 - Estrutura dos ácidos graxos encontrados nos extratos.....	51

LISTA DE SIGLAS

ANOVA – *Analysis of Variance*

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AChE – Acetilcolinesterase

ATCI – Iodeto de acetiltiocolina

CCD – Cromatografia em camada delgada

DA – Doença de Alzheimer

DMSO – Dimetilsulfóxido

DPPH – 2,2-Difenil-1-picrilidrazil

DTNB – Ácido 5,5'-ditiobis- (2-nitrobenzoico)

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC50 – Concentração inibitória a 50

ODS – Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

ONU – Organização das Nações Unidas

OMS – Organização Mundial de Saúde

P.A. – Para análise

RMN – Ressonância magnética nuclear

UV – Ultravioleta

WHO – *World Health Organization*

δ – Deslocamento químico em partes por milhão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVO GERAL	20
2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO	20
3. REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1 DESPERDÍCIO DE ALIMENTO NO BRASIL E NO MUNDO	21
3.2 CONSUMO E PRODUÇÃO DE ABACATE NO BRASIL.....	22
3.3 ASPECTOS NUTRICIONAIS DO ABACATE	24
3.4 APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS AGROALIMENTARES	25
3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM VEGETAIS.....	26
3.6 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA EM VEGETAIS	28
3.7 ALZHEIMER.....	28
3.8 ATIVIDADE ANTIACETILCOLINESTERÁSICA	31
4. METODOLOGIA	33
4.1 OBTENÇÃO DOS CAROÇOS E DAS CASCAS DE ABACATE	34
4.2 EXTRAÇÕES HEXÂNICA E ETANÓLICA.....	34
4.3 ANÁLISE POR ABSORÇÃO ATÔMICA.....	36
4.4 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA.....	37
4.5 ANÁLISE POR INFRAVERMELHO	37
4.6 ANÁLISE POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	37
4.7 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)	38
4.8 DETECÇÃO DE ALCALOIDE POR CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD) (DRAGENDORFF).....	38
4.9 DETECÇÃO DE FLAVONOIDES EM CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (NP/PEG)	38
4.10 IDENTIFICAÇÃO DE TANINOS.....	39
4.11 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	39
4.11.1 Ensaio de atividade antioxidante total	39
4.11.2 Ensaio de poder redutor férrico	40
4.11.3 Ensaio de fenólicos totais	41
4.11.4 Ensaio de flavonoides totais	41
4.11.5 Ensaio de captura de radicais livres (DPPH)	42
4.12 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	43
4.13 ENSAIO DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE (AChE).....	44
4.14 CULTIVO DE <i>Drosophila melanogaster</i>	45

4.15 ENSAIO DE NEUROPROTEÇÃO.....	45
4. 16 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 IDENTIFICAÇÃO DO ABACATE	47
5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS	47
5.3 ANÁLISE DE MINERAIS.....	49
5.4 COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS	49
5.5 PERFIL POR INFRAVERMELHO	52
5.6 ANÁLISE POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	53
5.7 PERFIL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	55
5.8 DETECÇÃO DE ALCALOIDE POR CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD) (DRAGENDORFF).....	56
5.9 DETECÇÃO DE FLAVONOIDES EM CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (NP/PEG)	58
5.10 IDENTIFICAÇÃO DE TANINOS.....	59
5.11 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	60
5.11.1 Antioxidantes Totais.....	61
5.11.2 Fenólicos totais.....	62
5.11.3 Flavonoides totais	63
5.11.4 Poder redutor férrico	63
5.11.5 Atividade de captura de radicais livres (DPPH)	64
5.12 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	65
5.13 ENSAIO DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE (AChE).....	67
5.14 ENSAIO DE NEUROPROTEÇÃO.....	70
6. CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXO A – Cromatograma (CG) do extrato hexânico do caroço (CRÇ-H) ..	85
ANEXO B – Cromatograma (CG) do extrato etanólico do caroço (CRÇ-ET)...	86
ANEXO C – Cromatograma (CG) do extrato hexânico das cascas (CSC-H) ...	87
ANEXO D – Cromatograma (CG) do extrato etanólico das cascas (CSC-ET) .	87
ANEXO E – Sinais de RMN ¹H presentes nos espectros dos extratos	89

1. INTRODUÇÃO

Alimentar-se é um ato relacionado a vários aspectos e não somente com a necessidade biológica do organismo, pois as dimensões cultural e social estão inseridas no que diz respeito a alimentação. A agricultura é responsável por fornecer a maioria dos alimentos e é primordial para garantia da vida humana na terra. O cultivo e o manejo de alimentos sofreram alterações com o passar dos tempos e as dinâmicas das mudanças sociais acompanharam o desenvolvimento da agricultura. Por exemplo, o surgimento de máquinas facilitou a aeração da terra, enquanto que agroquímicos e fertilizantes sintéticos surgiram em meados dos anos 1960 com a chegada da revolução verde. Com o passar dos anos, foi percebida a necessidade de caminhar sem prejuízos à natureza ou com impactos ambientais mínimos, ou seja, de forma mais sustentável. A sustentabilidade é um conceito que surgiu na tentativa de redução de impactos socioambientais (SHIVA, 2002; MAZOYER e ROUDART, 2008).

Atualmente o Brasil é 3º maior produtor de frutas, mas ainda existem pessoas em situação de vulnerabilidade social chegando no estado de extrema pobreza. Esse cenário mostra a necessidade de um mundo sustentável em que a erradicação da fome e da pobreza são urgentes. Por isso, a Organização das Nações Unidas (ONU), com a participação de diversos países organizaram uma agenda para acabar com a fome e promover a produção e consumo sustentável, surgindo então a agenda 2030. Esse compromisso foi firmado em uma reunião em Nova York no ano de 2015 com chefes executivos de vários países, estabelecendo os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), para alcançar as propostas da agenda.

A redução de perdas e desperdícios de alimentos faz parte da ODS 12 que tem como meta assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis. Então, tendo em vista que na cadeia produtiva de alimentos podem ocorrer várias perdas, surge a necessidade de aprimoramento de técnicas que agreguem valor e reaproveitem o alimento em sua forma integral. A Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura (FAO, 2011) publicou dados que mostram que 1,3 bilhões de toneladas de alimentos são desperdiçadas enquanto que mais de 820 milhões de pessoas passam fome no mundo.

O abacate (*Persea americana*) é um fruto de origem da América central muito consumido no Brasil. A produção desse fruto tem aumentado nos últimos tempos, com expectativa de dobrar a produção nos próximos anos. O México é o maior produtor de

abacate do mundo e os Estados Unidos os maiores consumidores de abacate. Considerando o fruto em sua forma integral, percebe-se uma perda de aproximadamente 30% (cascas e caroços), porcentagem esta que é descartada no lixo como resíduo e que pode conter alguma atividade biológica, como por exemplo, presença de compostos antiacetilcolinesterásicos que agem no combate de doenças neurodegenerativas.

O Alzheimer é uma doença capaz de interromper a sinapse entre os neurônios por ação de uma enzima conhecida como acetilcolinesterase, que impede o neurotransmissor acetilcolina de estabelecer a comunicação entre os neurônios. Essa doença é considerada uma demência e atinge principalmente os idosos. Dados publicados pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2019) estimam que atualmente existem quase 50 milhões de pessoas portadoras da doença de Alzheimer. Ainda não existe cura para a patologia e os fármacos que existem são paliativos, ou seja, amenizam os sintomas da doença. Por isso, propor substâncias alternativas capazes de inibir o mecanismo de ação da enzima acetilcolinesterase é importante para a ciência e conseqüentemente para melhorar a qualidade de vida dos portadores da doença. É sabido que os vegetais possuem atividade antioxidante, antimicrobiana, inibidor de enzimas como acetilcolinesterase e outras descritas na literatura. Muitos estudos estão sendo realizados acerca do reaproveitamento de resíduos, com a abordagem antioxidante, que podem ser aplicados no tratamento de doenças neurodegenerativas.

2. OBJETIVO GERAL

Investigar atividade biológica dos resíduos de abacate visando possível aplicação na indústria farmacêutica e/ou alimentícia.

2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Avaliar a capacidade antioxidante.
- Analisar o perfil lipídico.
- Verificar de forma qualitativa a presença de alguns fitoconstituintes.
- Avaliar a capacidade antifúngica.
- Avaliar a capacidade antiacetilcolinesterásica.
- Avaliar a capacidade neuroprotetora dos extratos etanólico das cascas e caroços oriundos do abacate.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 DESPERDÍCIO DE ALIMENTO NO BRASIL E NO MUNDO

Nos primórdios da sociedade, mais precisamente no período neolítico, surgiu o hábito de comer plantas e também de cultivá-las, sendo então os primeiros passos do surgimento da agricultura (MAZOYER e ROUDART, 2008). Com o passar dos tempos, maquinários foram surgindo com a finalidade de atender as necessidades dos povos e das comunidades. Segundo Ameen (2017), em 1944 a Fundação Rockefeller realizou a introdução de técnicas oriundas da engenharia genética na agricultura, argumentando o aumento da produção de alimentos, o que ficou conhecido como revolução verde. Ameen (2017), Mazoyer e Roudart (2008), Horlings e Marsden (2011) destacaram os diversos problemas sociais e ecológicos causados com a chegada da revolução verde, como por exemplo, a diminuição da biodiversidade e surgimento de doenças causadas pelo uso abusivo de fertilizantes e agroquímicos.

Atualmente, o Brasil se destaca na produção de grãos e a soja é o principal produto com 11.887,672 de toneladas produzidas (IBGE, 2018). A soja é uma monocultura e a maioria da produção é utilizada para exportação. Porém, as monoculturas podem provocar desgastes no solo, fazendo com que a utilização de fertilizantes e agroquímicos se intensifique nestes locais (AMEEN, 2017). Como a necessidade da produção de alimento ecologicamente e economicamente viável é urgente e novas metodologias tem surgido, como por exemplo, a agroecologia. Horlings e Marsden (2011) mencionam a agroecologia como a “real revolução verde”. Shiva destacou, ainda em 2002, a necessidade urgente de resgate e preservação da diversidade, bem como o uso sustentável dos recursos naturais.

Segundo a FAO, dentre os variados processos de produção de alimentos, também é preocupante a trajetória do alimento até a mesa da população. O desperdício de alimentos na cadeia produtiva atinge 46-54%, principalmente no processamento, transporte e distribuição. A FAO (2011) estima ainda que o desperdício atinge cerca de 1,3 bilhões de toneladas de comida, sendo um dos maiores desafios na produção e no consumo de alimentos. Em 2016, a FAO lançou uma campanha em parceria com a Embrapa com o intuito conscientizar sobre os hábitos alimentares e reduzir o desperdício. A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (2011) propôs uma diferenciação entre perda e

desperdício de alimentos, sendo a primeira definição referente ao alimento perdido durante a cadeia produtiva até o mercado, desde a pré-colheita, por exemplo, por infestação de praga, até problemas na embalagem, transporte e mecanismo de preços no mercado. O desperdício acontece quando o consumidor descarta determinado alimento devido ao seu tamanho ou cor, quando está próximo do vencimento e quando realiza compra de quantidade exagerada de alimentos colocando no lixo o que ainda é comestível.

Tendo em vista essa preocupação, a Organização das Nações Unidas (ONU) propôs em 2015 uma agenda para erradicação da pobreza e em prol do desenvolvimento sustentável. Foram propostos 17 Objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS). Destaca-se o ODS 12.3, que preconiza reduzir pela metade, até 2030, o desperdício do consumo final de alimentos *per capita*, bem como reduzir todas as perdas ao longo das cadeias de produção e abastecimento. Também é importante destacar o ODS 12.5 que tem como objetivo reduzir substancialmente a geração de resíduos por meio da prevenção, redução, reciclagem e reuso.

No ano de 2013, o Brasil produziu 268,1 milhões de toneladas de alimentos; desse total 26,3 toneladas foram desperdiçadas, representando quase 10% do total. Alguns produtos apresentam maior número de perda, como por exemplo: abacaxi (20%), mandioca (16%), banana (15%), inhame (12%) e laranja (10%). Outros alimentos também foram registrados como grande perda, como por exemplo, o arroz, milho, tomate e cebola (10%), batata (7%), leite e trigo (5%) e ovos e feijão (3%) (FAO, 2013, Ministério do Desenvolvimento Social, 2017).

3.2 CONSUMO E PRODUÇÃO DE ABACATE NO BRASIL

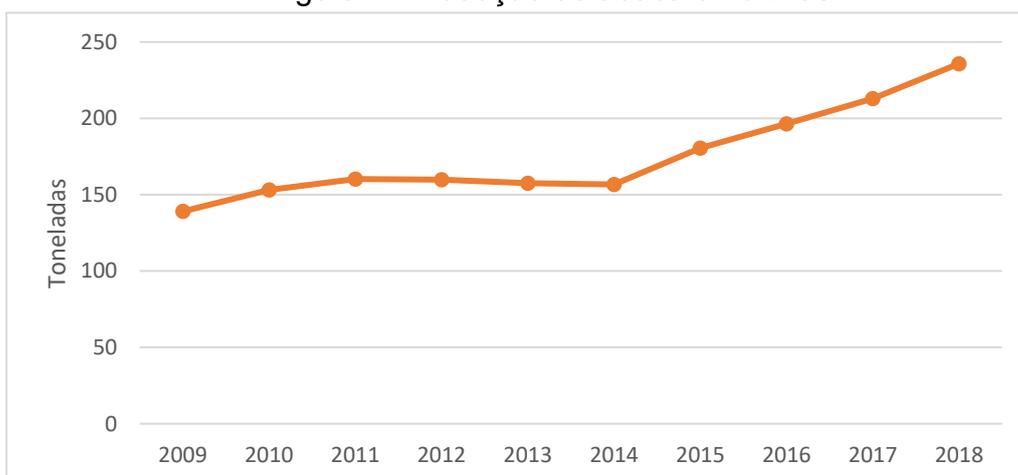
O abacate (*Persea americana*) é um fruto tropical pertencente à família Lauraceae, que tem origem no continente americano, mais especificamente em países como o México, Guatemala, Equador, Venezuela, Colômbia e Peru (FIRMINO, 2016). Existe a hipótese de que o abacate tenha chegado no Brasil pela Amazônia na divisa com o Peru, no período pré-colombiano. Segundo Falcão (2001) atualmente diversas variedades de abacate são cultivadas no Brasil, e devido ao cruzamento, existem muitos frutos híbridos. As variedades de abacate produzidas no Brasil são na maioria híbridas, um cruzamento de Antilhana e Guatemalense, como por exemplo, as variedades Geada e Fortuna. Frutos das variedades, margarida, fortuna, geada, e breia por exemplo, são chamados de abacates tropicais, rotineiramente utilizados em

vitaminas, saladas e em pratos doces. Já o avocado aqui no Brasil é considerado a variedade mexicana, sendo que geralmente é pequeno como o Hass e o Fuerte, com alta concentração de óleo e habitualmente utilizados em pratos salgados.

Os Estados Unidos são os maiores importadores de abacates do mundo, seguido dos Países baixos, França e Reino Unido (ARIAS; MONTOYA e VELÁSQUEZ, 2018). Arias, Montoya e Velásquez (2018), Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) (2016) e a FAO (2018) apontam o México como o maior produtor de abacate do mundo produzindo, em 2016, 1.889.354 toneladas de abacate. Em segundo lugar vem a República Dominicana, com 601.349 toneladas. O Brasil, segundo a CEAGESP, encontra-se na oitava colocação tendo produzido 180.652 toneladas em 2016.

Segundo o Ministério da Agricultura, o Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, ficando atrás da China e da Índia. Dados do IBGE apontam que o Sudeste é a maior região produtora de abacate no país. Em 2018, o Brasil produziu cerca de 235,788 toneladas de abacate e o estado de São Paulo, o maior produtor de abacate do Brasil, contribuiu com 132,017 toneladas para a produção nacional. Minas Gerais é o segundo maior produtor de abacate no país produzindo 63,063 toneladas até 2018. Os dados apresentados na figura 1 apontam o crescimento da produção de abacate no Brasil, observando-se um avanço na quantidade produzida, principalmente a partir de 2014.

Figura 1- Produção de abacate no Brasil



Fonte: IBGE (2018)

De acordo com os dados apresentados pela CEAGESP em 2016, o estado de São Paulo atingiu 53% de participação nas produções, em seguida vem Minas Gerais

com 27%, Paraná (10%), Rio Grande do Sul (2,46%) e Espírito Santo (2,27%). O sul e sudoeste de Minas tem a maior participação (67%) no fornecimento de abacate para CEAGESP de São Paulo entre 2007 a 2015, com um total de 27.331 toneladas na somatória dos anos.

3.3 ASPECTOS NUTRICIONAIS DO ABACATE

O abacate é um fruto muito rico nutricionalmente (Tabela 1), possui vitaminas lipossolúveis A, D e E, ácidos graxos monoinsaturados, além de compostos bioativos como, por exemplo, fitoesteróis (DUARTE *et al.*, 2016).

Tabela 1 - Composição nutricional do abacate

Quantidade por porção (100 g)	
Umidade	83,8(%)
Energia	96 (kcal)
Proteína	1,2 (g)
Lipídeos	8,4 (g)
Carboidrato	6,0 (g)
Fibra Alimentar	6,3 (g)
Cinzas	0,5 (g)
Cálcio	8 (mg)
Magnésio	15 (mg)

Fonte: TACO, 2019.

Ferrari (2015) após um processo de extração da polpa do abacate via centrifugação encontrou quantidades relevantes de ácidos graxos insaturados (12,85% linoleico e 51,24% oleico), sugerindo a possibilidade de utilizar o óleo de abacate na alimentação humana. Muitos estudos citam a utilização da polpa para extração do óleo de abacate, ou seja, eliminando a casca e o caroço, como no trabalho publicado por Salgado (2008) que utilizou a polpa fresca da variedade Margarida.

Algumas informações circulam a respeito dos aspectos nutricionais do abacate, como por exemplo, o termo “superalimento” usado na área de *Marketing*. O uso do termo provocou o aumento do consumo de abacate em várias regiões, em especial nos Estados Unidos (BHUYAN *et al.*, 2019; ARIAS; MONTOYA e VELÁSQUEZ, 2018). Bhuyan *et al.* (2019) fizeram uma revisão de literatura para copilar dados referentes às questões nutricionais tendo em vista o aumento do consumo de abacate e apropriação do termo superalimento (*superfood*). Os autores concluíram que é necessário elevar o número de pesquisas principalmente *in vitro* e *in vivo* para avaliar o potencial frente algumas doenças, como o câncer, diabetes, ação antimicrobiana

dentre outras. Os mesmos autores afirmaram a importância nutricional do abacate e a necessidade de incluir frutas na dieta.

3.4 APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS AGROALIMENTARES

O Brasil está entre os dez maiores países agroexportadores ocupando a terceira posição de acordo com os dados da FAO publicados em 2018. Arante *et al.* (2014) evidenciaram o destaque da produção agrícola no Brasil quando comparada a outros setores da economia. Por se caracterizar como um país agroexportador, o Brasil está envolvido em diversas formas de processamento de alimentos. Esse processamento gera resíduos e, portanto, técnicas para melhorar a cadeia produtiva no processamento de alimentos precisam ser estabelecidas (NASCIMENTO FILHO e FRANCO, 2015). O excesso de lixo e demais resíduos descartados contribuem para o colapso ambiental que está se aproximando, com a possibilidade de esgotamento das fontes naturais, sendo necessário aproveitar ao máximo os alimentos.

Algumas partes descartadas de alimentos podem conter fibras, capacidade antioxidante, vitaminas e minerais importantes na alimentação. Oliveira, Winkelmann e Tobal (2019) desenvolveram uma farinha de resíduos de laranja sanguínea-de-mombuca, e concluíram que o flavedo, o albedo, a semente e bagaço, possuem elevado teor de fibras. Zenni, Helm e Tavares (2018) utilizaram casca de palmito como substrato para o crescimento de cogumelos utilizados na alimentação. Silva *et al.* (2018) fabricaram geleia utilizando resíduos do processamento (despolpadeira industrial) do morango. O produto apresentou alto teor de umidade e atividade de água, colocando em risco a vida de prateleira do produto, entretanto, os autores concluíram que a produção da geleia ainda seria viável. Gonçalves e Magalhães (2018) apresentaram uma alternativa na produção de hambúrguer bovino, substituindo a gordura por farinha da casca de maracujá e não observaram diferença em relação aos atributos característicos da textura.

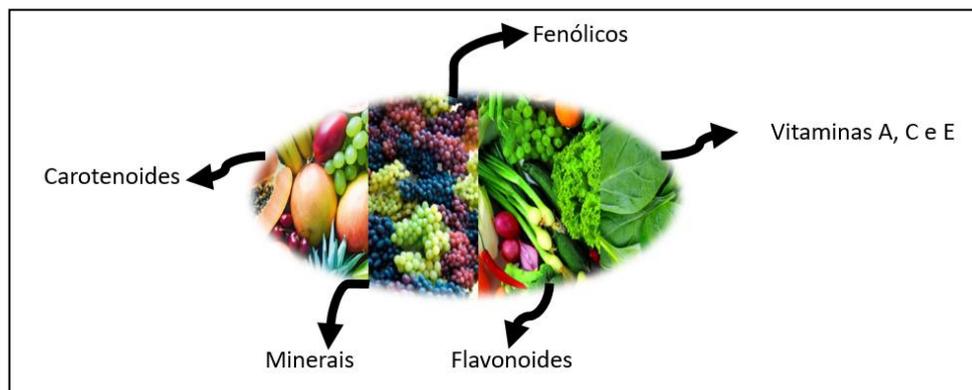
Em outro trabalho sobre aproveitamento de resíduos, Piovesana, Bueno e Klajn (2013) elaboraram biscoitos enriquecidos com farinha de bagaço de uva e aveia e, de acordo com os atributos sensoriais, a farinha de trigo pode ser substituída em até 50%. Mauro, Silva e Freitas (2010) usaram talos de couve e de espinafre para o preparo de farinhas que demonstraram alto teor de fibra alimentar insolúvel e baixa densidade energética. As análises sensoriais do aspecto global, aroma, consistência e sabor,

indicaram a possibilidade de esta farinha substituir a farinha de trigo sem perda da qualidade do produto. A produção de farinhas alternativas é uma constante tentativa de aproveitar integralmente o alimento, como realizado também por Soares *et al.* (2008) que adicionaram bagaço de uva em farinhas e verificaram atividade antioxidante, visto as altas porcentagens de polifenóis encontrada nas cascas de uvas Niágara e Isabel.

3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM VEGETAIS

Os compostos antioxidantes são substâncias que desaceleram o processo de oxidação, por meio da inibição de radicais livres e quelação de metais (Lima *et al.*, 2010). Os antioxidantes podem ser encontrados naturalmente no organismo e em alimentos (Figura 2) e auxiliam no combate de radicais livres, que são moléculas instáveis devido à perda de um elétron em sua camada externa.

Figura 2 - Componentes antioxidantes encontrados em alimentos



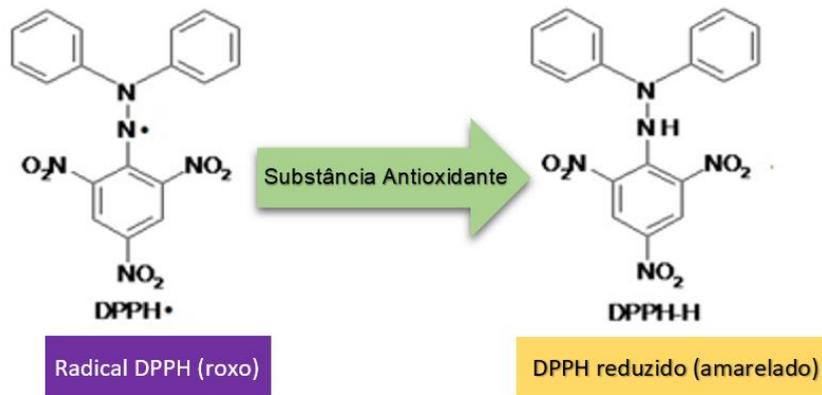
Fonte: Autora, adaptado, 2019.

Radicais livres são moléculas geradas no citoplasma, na membrana e mitocôndrias, que podem reagir com proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA (BIANCHI e ANTUNES, 1999). A formação desses radicais livres possui relação com o metabolismo celular e também com fatores exógenos, como por exemplo, exposição a raios ultravioletas, radiação gama, medicamentos, dieta e tabagismo. A presença de radicais livres pode causar danos ao organismo, como o aparecimento de doenças degenerativas (BIANCHI e ANTUNES, 1999; OLIVEIRA e SHOFFEN, 2010).

A metodologia de redução do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) é muito utilizada e sua ação é rotineiramente citada na literatura para avaliação da atividade antioxidante que utiliza o DPPH, um radical livre (PIRES *et al.*, 2017). A imagem a

seguir apresenta a reação de oxirredução que ocorre na presença de antioxidantes, em que o radical roxo passar a apresentar a coloração amarela (Figura 3).

Figura 3 - Reação de redução do DPPH



Fonte: Autora, 2019, adaptado.

Segundo Lima (2008), antioxidantes como flavonoides, carotenoides e vitaminas C, E e A atuam doando elétrons ou hidrogênio para os radicais livres tornando-os termodinamicamente estáveis e impedindo ataques às bases nitrogenadas do DNA, aminoácidos e outras moléculas com funções importantes no organismo. O processo de autoxidação ocorre por uma série de mecanismos como: ligação de íons metálicos (alteração de valência), captura de oxigênio, complexação de metais, decomposição de hidroperóxidos convertendo-os em não radicais e absorção de radiação ultravioleta (SILVA *et al.*, 2010).

As plantas possuem compostos bioativos capazes de prevenir doenças crônicas degenerativas. Por isso, é importante a ingestão de vegetais, pois neles estão presentes compostos antioxidantes variados, como vitamina C (ácido ascórbico), betacaroteno e compostos fenólicos (flavonoides e ácidos fenólicos) que podem estar presentes em diversas partes, nas folhas, caule, sementes, frutos e raízes. Compostos fenólicos podem ser encontrados facilmente em frutas como laranja, tangerina, limão e também em outros vegetais, como brócolis, pimentão verde, cebola, alho dentre outras fontes. O betacaroteno é um composto que possui atividade de provitamina A, portanto atua como fator antioxidante e pode ser encontrado em vegetais com cores amarelas e alaranjadas como, por exemplo, cenoura, abóbora, manga e mamão.

3.6 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA EM VEGETAIS

Os fungos pertencem ao reino fungi e são organismos eucariontes com característica morfológica variada, levedura, bolor e cogumelos, possuindo capacidade de sobreviver em habitats variados (TAKAHASHI *et al.*, 2017). Segundo Takahashi *et al.* (2019) na indústria, os fungos, tem sido utilizado na produção de alimentos (queijos) e de fármacos (antibiótico). Entretanto também são organismos capazes de provocar doenças que afetam humanos e prejudicam a agricultura. Então é necessário compreender e propor novas alternativas viáveis capazes de reduzir os possíveis prejuízos que os fungos podem causar (BRAUER *et al.*, 2019).

O potencial antifúngico de plantas tem sido estudado por diversos autores no meio científico, como por exemplo, o estudo publicado por Fei hu *et al.* (2019). Neste estudo os autores analisaram e compararam da atividade antifúngica eficaz de canela e cravo, frente a três fungos do gênero *Aspergillus*, sendo *A. niger*, *A. oryzae* e *A. ochraceus*. Assim como as plantas medicinais, outras estruturas presentes nos vegetais são capazes de apresentar atividade antifúngica. Em 1992 Adikaram e colaboradores investigaram compostos antifúngicos presentes nas cascas verdes de abacate e isolaram três compostos antifúngicos promissores. Skenderidis *et al.* (2019) reaproveitaram as cascas de romã para elaboração de extrato com atividade antifúngica. Desta forma, é evidente que resíduos agroalimentares podem ser reaproveitados e utilizados para o controle antimicrobiano, mais especificamente no combate a fungos patogênicos.

3.7 ALZHEIMER

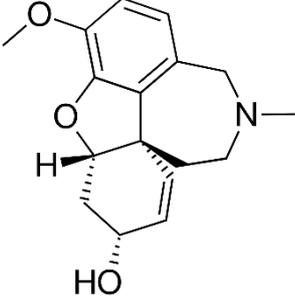
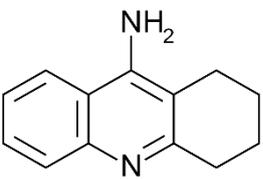
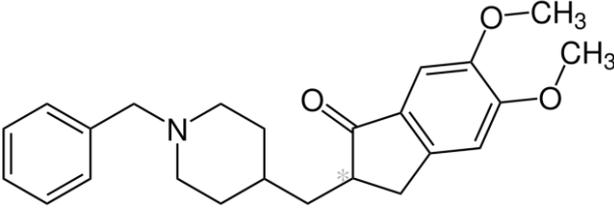
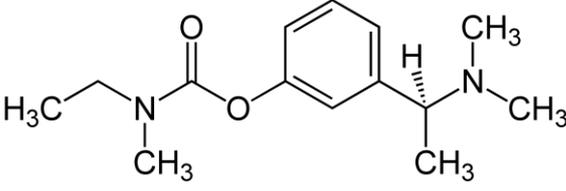
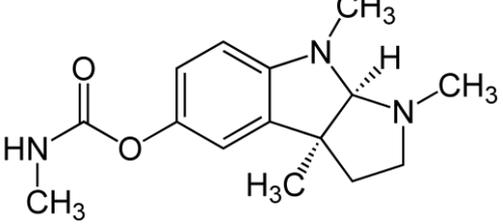
A doença de Alzheimer foi descrita pela primeira vez na literatura científica em 1910 e o nome da patologia faz uma referência ao professor Alois Alzheimer, um psiquiatra alemão, que aprofundou seus estudos nos distúrbios de memória (POIRIER e GAUTHIER, 2011). O Alzheimer é uma doença neurodegenerativa e, portanto, pode gerar a degradação irreversível dos neurônios comprometendo a capacidade psicomotora da pessoa portadora da doença. A doença atinge principalmente os idosos e, no ano de 2019 foram registrados aproximadamente 50 milhões de pessoas com Alzheimer, número que pode aumentar para 82 milhões em 2030 e quase dobrar em 2050, alcançando 152 milhões (OMS, 2019).

A região afetada pela doença de Alzheimer é conhecida como hipocampo, localiza-se no córtex, um local rico em neurônios colinérgicos. Isso tem relação com a deficiência de acetilcolina na região, pois é nesse local onde existe maior atividade desse neurotransmissor. Foi observado que nesta região existe alta atividade de proteína denominada β -amiloide ($A\beta$), um peptídeo insolúvel capaz de formar a placa amiloide que provoca toxicidade e degeneração nos neurônios (MELO e COSTA, 2005). Segundo Melo e Costa (2005) e Falco *et al.* (2015), a proteína precursora amiloide (APP) sofre uma quebra promovida pela β secretase. A proteína TAU em seu estado hiperfosforilado favorece a formação de emaranhados de neurofibrilas neurotóxicas, acarretando a degeneração dos neurônios e conseqüentemente o surgimento ou piora do quadro de doenças neurodegenerativas.

Segundo Poirier e Gauthier (2011), a doença de Alzheimer possui sete estágios diferentes, porém, em outros estudos os estágios são resumidos em apenas três etapas; inicial, moderado e grave (VENTURA *et al.*, 2010). Quando sete estágios são propostos, no primeiro estágio da doença os sintomas não são evidentes e apresenta deterioração cognitiva mensurável. No segundo estágio não tem a deterioração cognitiva mensurável, entretanto são percebidos leves sintomas da patologia. Já no terceiro estágio, os sintomas leves são mantidos, a pessoa apresenta deterioração cognitiva mensurável sem declínio funcional e dificuldades cognitivas leves. No estágio 4 é possível detectar a demência de forma leve e nos estágios 5 e 6 a demência é percebida de forma moderada a grave. O último estágio é o agravamento da doença, no estágio 7, quando a demência se acentua de forma muito grave podendo levar o paciente a óbito; nesse caso considera-se o estágio como terminal (POIRIER e GAUTHIER, 2011).

Para reduzir os efeitos da doença, pois ainda não há cura para Alzheimer, alguns fármacos são utilizados, como Tacrina, Donezepil, Rivastigmina, Galantamina e Eserina, que agem inibindo a enzima acetilcolinesterase. O quadro 1 mostra as estruturas dos fármacos comercializados para o tratamento da doença de Alzheimer.

Quadro 1 - Estrutura dos medicamentos utilizados para o tratamento de Alzheimer.

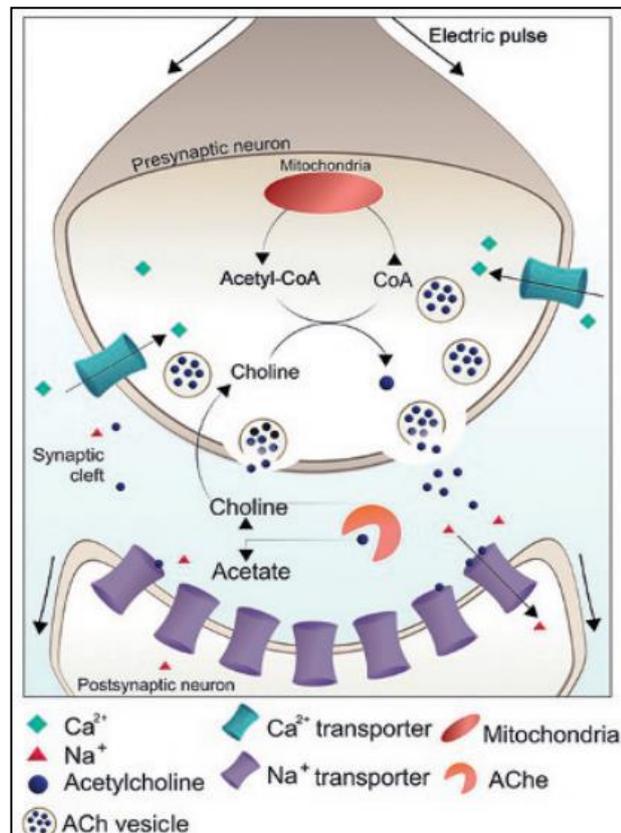
Galantamina	 <p>The chemical structure of Galantamine is a complex polycyclic molecule. It features a central bicyclic core with a piperidine ring fused to a bicyclic system. A methoxy group (-OCH₃) is attached to the benzene ring of the bicyclic system. A hydroxyl group (-OH) is attached to the bicyclic system with a dashed bond, indicating it is in the S configuration. A hydrogen atom is also attached to the bicyclic system with a wedged bond, indicating it is in the R configuration.</p>
Tacrina	 <p>The chemical structure of Tacrine is a tricyclic molecule consisting of a benzene ring fused to a pyridine ring, which is further fused to a piperidine ring. An amino group (-NH₂) is attached to the pyridine ring at the 8-position.</p>
Donezepil	 <p>The chemical structure of Donepezil is a complex molecule. It features a piperidine ring attached to a benzene ring. The piperidine ring is further attached to a chain that leads to a bicyclic system. This bicyclic system has two methoxy groups (-OCH₃) attached to its benzene ring. A carbonyl group (-C=O) is also present in the structure.</p>
Rivastigmina	 <p>The chemical structure of Rivastigmine is a complex molecule. It features a central benzene ring. One side of the benzene ring is attached to a carbonyl group (-C=O) which is further attached to a nitrogen atom bonded to two methyl groups (-N(CH₃)₂). The other side of the benzene ring is attached to a carbon atom bonded to a hydrogen atom and a nitrogen atom bonded to two methyl groups (-N(CH₃)₂). The hydrogen atom is shown with a dashed bond, indicating it is in the S configuration.</p>
Eserina	 <p>The chemical structure of Eserine is a complex molecule. It features a central benzene ring. One side of the benzene ring is attached to a carbonyl group (-C=O) which is further attached to a nitrogen atom bonded to a methyl group (-N(CH₃)H). The other side of the benzene ring is attached to a carbon atom bonded to a hydrogen atom and a nitrogen atom bonded to two methyl groups (-N(CH₃)₂). The hydrogen atom is shown with a dashed bond, indicating it is in the S configuration.</p>

3.8 ATIVIDADE ANTIACETILCOLINESTERÁSICA

Os neurotransmissores são armazenados nas vesículas neurais localizadas nas terminações nervosas dos neurônios pré-sináptico e são mensageiros químicos responsáveis por mediar ações químicas no sistema nervoso central e desencadear reações bioquímicas nas células. A acetilcolina é formada por um éster do ácido acético e tem sua ação mediada por receptores nicotínicos e muscarínicos. A catálise da colina e da acetilcoenzima A (Acetil-CoA) é realizada pela enzima acetiltransferase (FLÔRES e QUARANTINI, 2011). A acetilcolina atua no sistema nervoso periférico e na junção neuromuscular, estando envolvida em atividades de aprendizagem e memória, ou seja, uma função importante no sistema cognitivo. A acetilcolina é secretada nos neurônios pós e pré-ganglionares presentes no sistema parassimpático e nos neurônios pré-ganglionares do sistema simpático pelas fibras colinérgicas, sendo importante no sistema nervoso central e autônomo (ARAÚJO *et al.*, 2016; VALLIANATOU *et al.*, 2019).

A liberação acontece na fenda sináptica e, em seguida, o neurotransmissor liga-se ao receptor na membrana pós-sináptica. O esquema ilustrado na figura 4 mostra o neurotransmissor na fenda sináptica e a AChE é representada hidrolisando a acetilcolina. Após transmitir a informação, a acetilcolina é geralmente clivada com a ação da enzima acetilcolinesterase, mantendo o equilíbrio na fenda sináptica (SADAVA *et al.*, 2011). Depois de um tempo na fenda sináptica, a acetilcolina é degradada, por uma hidrólise que ocorre com a participação dos resíduos de histidina. A acetilcolina se liga em um sítio ativo da acetilcolinesterase, liberando um acetato e colina. Com a saída da colina, a AChE fica acetilada e assim a enzima volta a atuar novamente. Durante esse processo é formado ácido acético, liberando um resíduo de serina e, com isso, a enzima volta a ter atividade (ARAÚJO *et al.*, 2016). Quando a ação da enzima acetilcolinesterase fica descontrolada pode hidrolisar a acetilcolina antes de transmitir a mensagem no receptor pós-sináptico. A inibição da ação enzima AChE tem sido usada para tratar doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson (XIA *et al.*, 2012).

Figura 4 - Ilustração da atividade do neurotransmissor acetilcolina e ação da acetilcolinesterase



Fonte: Takahashi *et al.*, 2019.

Alguns fármacos são usados para inibir a ação da AChE, nos quais ocorre, por exemplo, uma reação em que a carbonila de um carbamato ocupa o sítio catalítico da AChE, impedindo então que a hidrólise da acetilcolina aconteça. Extratos oriundos das folhas de *Citrus limon*, plantas do bioma Caatinga e *Banisteriopsis anisandra* A. Juss foram capazes de inibir AChE *in vitro* (CARVALHO *et al.*, 2013; BORBA *et al.*, 2012; FRIAS *et al.*, 2011).

Efeitos neuroprotetores também são promissores, uma vez que podem retardar a neurodegeneração dos neurônios e assim amenizar os sintomas de doenças, como o Alzheimer. Morzelle *et al.* (2016) propuseram um estudo em que casca oriunda de romã apresentou efeito neuroprotetor, mostrando o uso de resíduos como fonte de compostos bioativos. Outros estudos como o publicado por Ortega *et al.* (2019) analisaram atividade neuroprotetora de resíduos, demonstrando que cascas de *Persea americana* da variedade Colinred exibiram efeito neuroprotetor.

4. METODOLOGIA

Para o preparo de extratos foram utilizados os solventes grau P.A, hexano adquirido da Nox Lab Solutions e álcool etílico da empresa Emfal. As diluições dos extratos foram realizadas em clorofórmio e metanol (Neon). O metanol grau HPLC foi adquirido da empresa Aldrich. O dimetilsulfóxido foi adquirido da Sigma, tween 80 da empresa Nuclear e éter etílico utilizado no teste de geotaxia negativa foi adquirido da Nox Lab Solutions.

Para os testes antioxidantes foram utilizados como padrão ácido ascórbico e ácido gálico (Neon), e quecertina (Sigma). Ácido sulfúrico foi adquirido da empresa Anidrol, ácido tricloroacético e o cloreto de alumínio da empresa Neon, cloreto férrico, molibdato de amônio e persulfato de potássio da empresa Synth. O ferrocianeto de potássio foi adquirido da Química Moderna, o fosfato bibásico de sódio da empresa Vetec Química Fina, os cloretos de magnésio e de sódio foram obtidos da marca Dinâmica. Para o ensaio de inibição de acetilcolinesterase foram utilizados os reagentes eserina, iodeto de acetiltiocolina, ácido 5,5'-dithiobis- (2-nitrobenzoico), albumina sérica bovina e a enzima acetilcolinesterase adquiridos da empresa Sigma. O tris hidrocloreto ultrapuro foi adquirido da empresa Invitrogen. No cultivo das moscas *Drosophila melanogaster*, foram utilizados ágar em pó bacteriológico da empresa Vetec, Ácido propiônico; fermento biológico (Fleischmann) e Nistatina suspensão oral (Germed). No ensaio de geotaxia negativa foi utilizada a Rotenona (Sigma) para indução da toxicidade.

A cromatografia gasosa, os espectros no infravermelho e a absorção atômica foram realizados no departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais. A cromatografia de camada delgada foi realizada em silicagel 60 F254 cromatofolha 20 x 20 cm p/ TLC Merck placa em alumínio 0,2 mm. Os equipamentos serão descritos junto o desenvolvimento das respectivas metodologias. Os demais equipamentos utilizados na pesquisa foram a balança Shimadzu, pipetas automáticas (LabMate), rotaevaporador (Buchi R-114/ B-480) centrífuga (Centribio TBL80-2B), cuba ultrassônica (Cristófoli) e autoclave (Phoenix).

4.1 OBTENÇÃO DOS CAROÇOS E DAS CASCAS DE ABACATE

O abacate *Persea americana* foi adquirido em estabelecimento comercial no município de Ibirité- MG, no mês de maio. Os frutos (Figura 5) foram higienizados, secados minuciosamente com o auxílio de papel toalha e posteriormente foi retirada a polpa e utilizados o caroço e a casca. As cascas e caroços utilizados foram referentes a cinco abacates com peso médio de $517 \pm 15,11$ g; a massa média somente das cascas foi $53,233 \pm 6,531$ g e os caroços apresentaram peso médio de $103,431 \pm 13,842$ g.

Figura 5 - Polpa e caroço do abacate



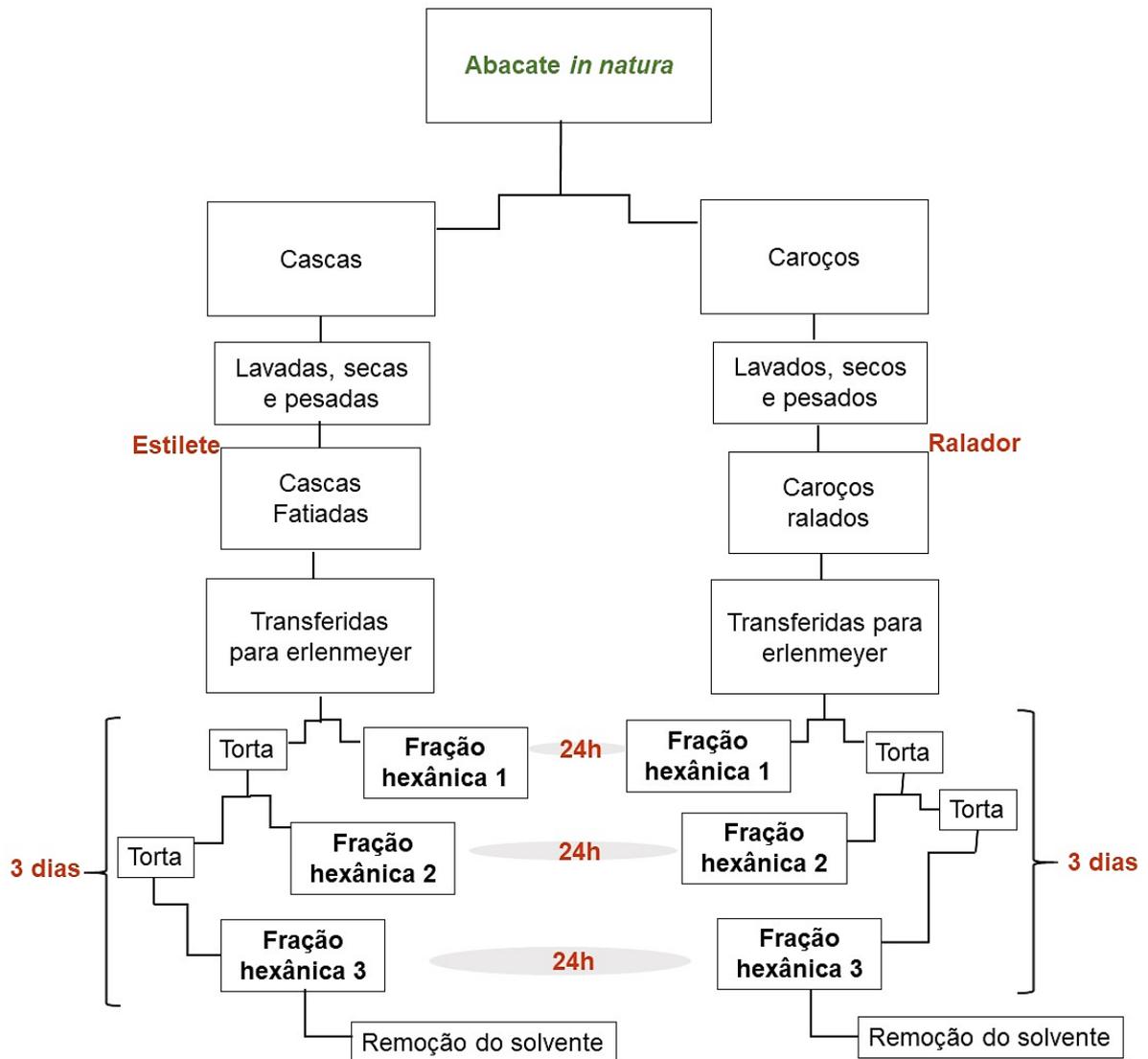
Para identificação da variedade de abacate, foi utilizada a ficha de identificação da Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) e o boletim publicado pela EMBRAPA (2014). Os aspectos avaliados seguiram o estabelecido quanto ao formato do fruto (piriforme), coloração da casca (verde), textura da casca (lisa), espessura (fina), coloração da polpa (amarelada) e textura da polpa (poucas fibras).

4.2 EXTRAÇÕES HEXÂNICA E ETANÓLICA

As cascas *in natura* foram recortadas com auxílio de um estilete em pequenas partes e submetidas à extração a frio com hexano (600 mL) por três dias, retirando-se uma fração a cada 24 horas. Os caroços *in natura* foram integralmente (juntamente com a película que envolve o caroço) ralados e em seguida realizou-se extração hexânica a frio. A cada 24 horas, o solvente extrator foi removido, a fração orgânica foi armazenada em frasco âmbar à 4 °C e nova quantidade de solvente era adicionada

no erlenmeyer de cada amostra. O solvente foi retirado em rotaevaporador obtendo-se, posteriormente, os respectivos extratos. A figura 6 apresenta um fluxograma do processo de extração realizado com as cascas e caroços do abacate.

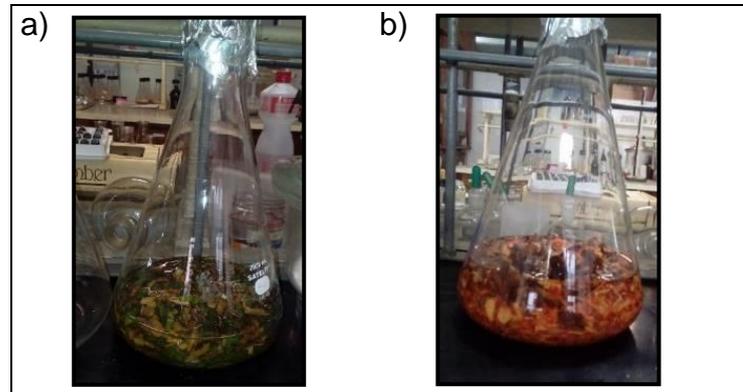
Figura 6 - Fluxograma do processo utilizado para a obtenção dos extratos hexânicos.



Fonte: Própria autora.

Ao término da extração hexânica, seguiu-se com a extração etanólica. Para isso, mantiveram-se as tortas e acrescentou-se etanol 96% às mesmas deixando os materiais vegetais submersos. A cada 24 horas, durante três dias, foi retirado o solvente extrator, seguindo a mesma metodologia utilizada na extração hexânica. O aspecto do material durante a extração é mostrado na Figura 7.

Figura 7- Cascas (a) e caroços (b) submersos em hexano durante o processo de extração

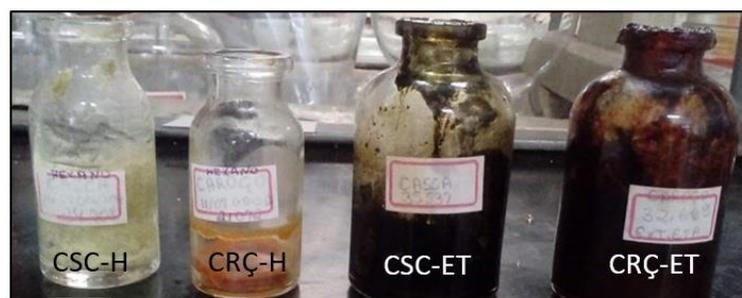


Fonte: Própria autora.

As fases hexânicas e etanólica foram submetidas a rotaevaporação para retirada dos respectivos solventes. Após secura, os resíduos foram solubilizados e transferidos para frascos previamente identificados. Para a solubilização dos extratos hexânicos, utilizou-se clorofórmio e para recolher os extratos etanólicos utilizou-se metanol, devido à diferença de polaridade dos mesmos.

Os extratos hexânicos foram nomeados CRÇ-H (caroço) CSC-H (casca). Já os extratos realizados posteriormente com etanol foram nomeados com a seguinte sigla, CRÇ-ET para o caroço e CSC-ET para a casca.

Figura 8 - Extratos hexânicos e etanólicos.



Fonte: Própria autora.

4.3 ANÁLISE POR ABSORÇÃO ATÔMICA

As cascas e caroços (3 g) *in natura* após o processamento foram submetidos à chama em bico de gás utilizando cadinho de porcelana como suporte, até que a completa carbonização ocorresse e não apresentasse fumaça. Posteriormente foram

encaminhadas para uma mufla pré-aquecida a 550 °C até que as amostras apresentassem coloração esbranquiçada. Em seguida pesou-se 0,05 mg das amostras em frascos de vidro devidamente identificados, acrescentando-se 2 mL de ácido nítrico. Estes materiais foram submetidos a aquecimento gradativo até atingir aproximadamente 100 °C. Logo em seguida, as amostras foram vertidas em balão volumétrico, acrescentando água até atingir o volume de 5 mL (AOAC, 2012). Estas amostras foram encaminhadas para análise no Departamento de química da Universidade Federal de Minas Gerais e analisadas em Espectrômetro VARIAN AA240FS com atomizador por chamas para quantificar os elementos Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn.

4.4 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA

Os extratos hexânicos e etanólicos foram pesados (10 mg) e posteriormente foi realizada a hidrólise dos lipídios e posterior metilação (SANDE *et al.*, 2017). As análises foram realizadas no laboratório de cromatografia gasosa da UFMG, em Cromatógrafo a Gás HP5890 equipado com detector de ionização de chamas. Utilizou-se uma coluna Supelcowax-10 (30 m x 0,2 mm x 0,2 µm) (Supelco) com gradiente de temperatura: 150 °C, 0 min, 10 °C /min até 240 °C; injetor (split de 1/50) a 250 °C e detector a 250 °C. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste (4 mL/min) e volume de injeção de 1 µL. A identificação dos picos foi feita por comparação com padrões de ácidos graxos metilados FAME C14-C22.

4.5 ANÁLISE POR INFRAVERMELHO

Os extratos hexânicos e etanólicos foram pesados (10 mg) em *ependorf*. Os espectros no infravermelho foram obtidos na região 400-5000 usando KBr como suporte. O espectrômetro utilizado foi o VARIAN AA240FS com atomizador de chamas no Departamento de Química da UFMG.

4.6 ANÁLISE POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Foram pesados 20 mg de cada extrato em frascos de vidro previamente identificados. Os extratos foram mantidos em capela de exaustão por doze horas para certificar a completa ausência de solvente. Subsequentemente, as amostras foram encaminhadas para análise por ressonância magnética nuclear (RMN) (Departamento

de química da UFMG). Os extratos hexânicos (CSC-H e CRÇ-H) foram solubilizados em clorofórmio deuterado (CDCl_3) e os extratos etanólicos (CSC-ET e CRÇ-ET) foram solubilizados em $\text{DMSO-}d_6$.

4.7 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

O aparelho utilizado foi um cromatógrafo líquido Shimadzu acoplado ao detector UV-Vis SPD-20A. A coluna analítica utilizada foi C18 (250 mm x 4,6 mm x 5 μm), com comprimento de onda utilizado foi 280 a 330 nm. O método utilizou metanol (A) e Ácido trifluoroacético (TFA) 0,01% em água milli Q (B) da seguinte forma: 0 min 20% de A e 80% de B, 50 min 68% de A e 32% de B, 60 min 80% de A e 20% de B, 65 min 80% de A e 20% de B, 68 min 60% de A e 40% de B, 70 min 20% de A e 80% de B e 80 min 20% de A e 80% de B. Os extratos hexânicos não solubilizaram no solvente utilizado para as análises por HPLC, no caso, o metanol. Portanto, somente os extratos CRÇ-ET e CSC-ET (2 mg/mL) foram utilizadas para visualização do perfil cromatográfico. Após a diluição em metanol, as amostras foram filtradas em filtro de seringa (0,45 μm).

4.8 DETECÇÃO DE ALCALOIDE POR CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD) (DRAGENDORFF)

Os extratos foram solubilizados em clorofórmio (CRÇ-H e CSC-H) ou metanol (CRÇ-ET e CSC-ET). Em seguida, as amostras foram aplicadas em uma placa de CCD de alumínio coberta com sílica gel, com auxílio de capilar. Posteriormente a placa foi eluída com acetato e metanol (1:1). Com a placa eluída e seca, uma solução do reagente de Dragendorf (nitrato de bismuto, ácido acético e iodeto de potássio) foi borrifada. Subseqüentemente aguardou-se a secagem da placa para avaliação das possíveis manchas em amarelo alaranjado indicando a presença de alcaloides (WAGNER e BLADT, 1996).

4.9 DETECÇÃO DE FLAVONOIDES EM CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (NP/PEG)

Os extratos CRÇ-H e CSC-H foram solubilizados em clorofórmio e os extratos etanólicos CRÇ-ET e CSC-ET solubilizados em metanol. Amostras dos mesmos foram aplicadas em placa de CCD de sílica com auxílio de um capilar. Em seguida foram eluídas em acetato e metanol (1:1). Foram preparadas duas soluções, a primeira com

2 amenioetil difenilborinato (1%) e uma solução etanólica de polietilenoglicol (5%). Posteriormente as soluções foram misturadas (1:1) para o preparo do reagente NP/PEG, e em seguida o reagente foi borrifado. Após secagem foram visualizadas em luz UV 365 nm para detecção de flavonoides (WAGNER e BLADT, 1996).

4.10 IDENTIFICAÇÃO DE TANINOS

Amostras de CRÇ-ET e CSC-ET (500 mg) foram preparadas em 2 mL de água destilada e novamente diluídas em 10 mL de água destilada. Em seguida foram adicionadas 3-4 gotas de cloreto férrico 5% preparado em metanol. A análise ocorre de forma qualitativa observando a mudança de coloração, sendo a coloração azul indicadora de taninos hidrolisáveis ou gálicos e a coloração verde-preto para taninos condensados ou catéquicos (ANVISA, 2010).

4.11 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os extratos CRÇ-H, CSC-H, CRÇ-ET e CSC-H foram submetidos a ensaios de atividade antioxidante, sendo: antioxidante total, poder redutor férrico, ensaio de fenólicos totais, ensaio de flavonoides totais e ensaio de captura do radical DPPH. Todas as amostras foram preparadas em quadruplicada e o software *Microsoft Excel 2013* foi utilizado para análise dos dados.

4.11.1 Ensaio de atividade antioxidante total

Para o ensaio de atividade antioxidante total, os extratos CRÇ-H, CRÇ-ET, CSC-ET, CSC-H e o padrão (ácido ascórbico) foram solubilizados em etanol na concentração 500 µg/mL. A metodologia utilizada foi descrita por Prieto *et al.* 1999. Para análise dos resultados foi construída uma curva de calibração com os dados descritos na tabela 3.

Tabela 2 - Dados utilizados para construir a curva de calibração para o ácido ascórbico.

Pontos	Concentração (mmol/L)	Quantidade de padrão (μL)	Quantidade de água (μL)
1	0,094	10	290
2	0,282	30	270
3	0,564	60	240
4	1,128	120	180
5	1,692	180	120
6	1,974	210	90

Primeiramente foram preparados 100 mL do reativo de trabalho contendo 3,22 mL de ácido sulfúrico, 0,397 g de fofato bibásico e 0,494 g de molibdato de amônio. O ensaio foi realizado pela adição de 0,3 mL de extrato/padrão em tubos de ensaio seguidos por 3,0 mL do reativo de trabalho. A solução contendo os extratos foi incubada em estufa a 95 °C por 90 min. Em seguida, as amostras e as absorbâncias foram lidas em 695 nm. Preparou-se um branco substituindo 0,3 mL de extrato/padrão por 0,3 mL do solvente utilizado no preparo das amostras. Usou-se o branco para zerar o aparelho. O teste foi realizado em quadruplicata, tanto para as amostras quanto para a curva de calibração do padrão. Cálculos dos resultados foram feitos com base na equação da reta substituindo o “y” pela absorbância e dividindo pela massa pesada (equivalente a 1 g de extrato). Expressou-se o resultado em mmol de ácido ascórbico por g de extrato.

4.11.2 Ensaio de poder redutor férrico

A metodologia para esse ensaio foi descrita por Oyaizu *et al.* (1986). Os extratos foram dissolvidos em etanol 96% na concentração 500 $\mu\text{g/mL}$, seguindo-se o mesmo procedimento para o preparo da solução padrão utilizando ácido ascórbico. Foi adicionado 1 mL de padrão/extrato a 2,5 mL de tampão fosfato pH 6,6 e 2,5 mL de solução ferricianeto de potássio 1% (p/v). Em seguida a mistura foi homogeneizada e encaminhada para estufa a 50 °C por 20 min. Após a incubação, adicionaram-se 2,5 mL de solução de ácido tricloroacético 10% (p/v) e centrifugou-se a mistura a 300 rpm por 10 min. Coletaram-se 2,5 mL de sobrenadante, aos quais adicionaram-se 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de solução de cloreto férrico 0,1% (p/v). Posteriormente foi realizada leitura das absorbâncias em 700 nm. Os resultados

foram convertidos em porcentagem de poder redutor férrico comparado ao padrão, ácido ascórbico.

4.11.3 Ensaio de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi avaliada por meio do método Folin-Ciocalteu (GAO *et al.*, 2000). Os extratos foram preparados com etanol 96% na concentração de 500 µg/mL, sendo a mesma metodologia utilizada para o preparo do padrão (ácido gálico). Uma curva de calibração (tabela 4) foi construída variando a concentração de ácido gálico.

Tabela 3 - Dados utilizados para construir a curva de calibração para o ácido gálico

Ponto	Quantidade padrão (µL)	Quantidade água (µL)	Concentração (µg/mL)
1	10	490	10
2	20	480	20
3	40	460	40
4	60	440	60
5	80	420	80
6	100	400	100

Foram adicionados 0,5 mL de solução do padrão/extrato a 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (solução I). Em seguida, agitou-se a mistura, esperaram-se 3 min em temperatura ambiente. Após esse período, adicionou-se 0,3 mL de solução saturada de carbonato de sódio (solução II). Incubou-se a 25 °C por 20 min e leu-se a absorbância a 760 nm. Preparou-se um branco substituindo 0,5 mL de extrato/padrão por 0,5 mL do solvente. O teste foi realizado em quadruplicata, tanto para as amostras quanto para obtenção de dados para realização da curva.

Na equação da reta, "y" foi substituído pela absorbância e dividido pela massa pesada. O resultado foi expressado em mg ác. gálico/g de extrato.

4.11.4 Ensaio de flavonoides totais

Os extratos foram solubilizados em etanol 96% para obter soluções na concentração de 500 µg/ mL, enquanto o padrão (quercetina) foi utilizado na concentração de 1000 µg/ mL (YANG *et al.*, 2007). Uma curva de calibração (tabela 5) foi construída variando a concentração de quercetina.

Tabela 4 - Dados utilizados para construir a curva de calibração para quercetina

Ponto	Quantidade padrão (mL)	Quantidade água (mL)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
1	2,4	1,6	600
2	1,8	2,2	450
3	1,6	2,4	400
4	1,5	2,5	375
5	1,4	2,6	350

O ensaio foi realizado pela adição de 2,5 mL de padrão/extrato em tubo falcon, seguido por 0,3 mL de nitrato de sódio, com posterior agitação em vórtex por 5 min, e posterior adição de 0,3 mL de cloreto de alumínio. Agitou-se a mistura brevemente em vórtex e deixou-se a mistura em repouso por 6 min. Em seguida, adicionaram-se 2,0 mL de hidróxido de sódio e deixou-se em repouso por 10 min, fazendo-se então a leitura das absorvâncias em 510 nm. O branco foi preparado substituindo 2,5 mL de extrato/padrão por 2,5 mL de etanol solvente utilizado para o preparo das amostras. Expressou-se o resultado em μg quercetina por g de extrato.

4.11.5 Ensaio de captura de radicais livres (DPPH)

Seguiu-se o método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Para realização deste ensaio os extratos e o padrão (ácido ascórbico) foram preparados na concentração 500 $\mu\text{g/mL}$ em etanol 96%. Em placa de 96 poços, foram adicionados em quadruplicata do padrão/extratos em diferentes volumes, sendo 100 μL nos primeiros quatro poços, depois 75 μL , 50 μL e 25 μL respectivamente. Acrescentaram-se 175 μL da solução de DPPH em todos os poços e em seguida, agitou-se a mistura levemente e incubou-se por 30 min no escuro. Após esse período, foi realizada a leitura das absorvâncias em 490 nm. O branco foi preparado em quadruplicata, substituindo 100 μL de extrato/padrão por 100 μL do solvente utilizado para o preparo das amostras.

Tabela 5 - Dados utilizados para construir a curva de calibração para o ácido ascórbico

Pontos	Concentração ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)	Volume da amostra (μL)	Volume de solvente (μL)
1	1000	100	0
2	750	75	25
3	500	50	50
4	250	25	75
5	100	10	90

O resultado foi utilizado para a construção de um gráfico de porcentagem de inibição x concentração ($\mu\text{g/mL}$), que incluiu o desvio padrão. A porcentagem de inibição de DPPH (%) foi calculada da seguinte forma: % inibição de DPPH = (Absorbância do controle – Absorbância da amostra) / Absorbância do controle x 100.

4.12 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

O fungo utilizado neste estudo foi o *Aspergillus niger* (Figura 9) armazenado no Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios do Departamento de Química da UFMG.

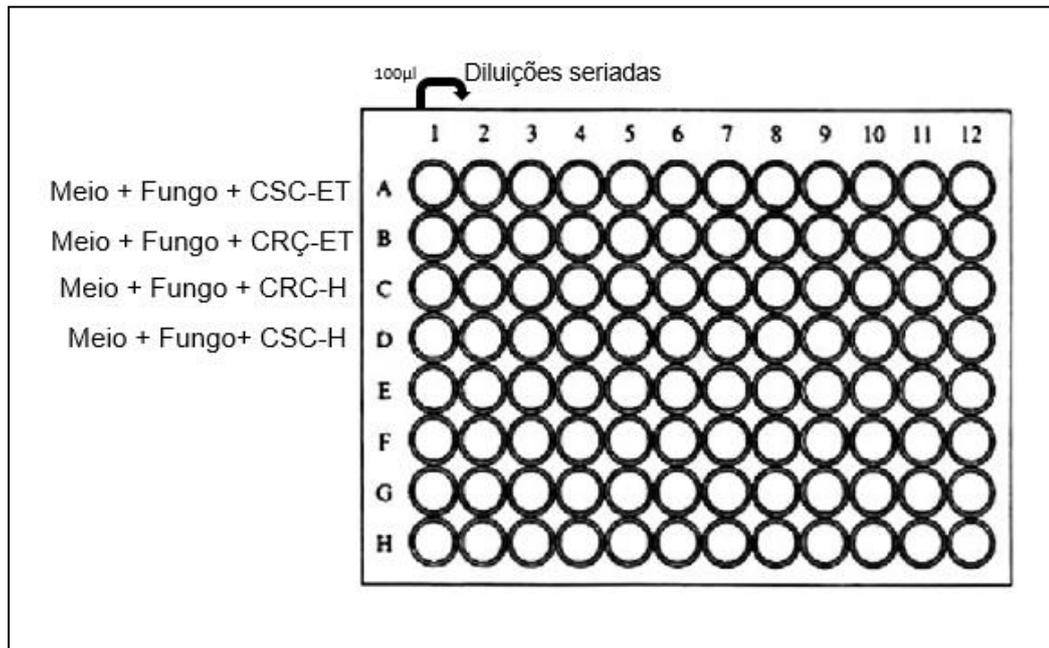
Figura 9 – *A. niger* cultivado em ágar antibiótico.



Após sete dias de cultivo em meio sólido ágar antibiótico, foi realizada a coleta de esporos em água destilada previamente autoclavada com adição de Tween 0,5% e posteriormente realizada a contagem de esporos em câmara de Neubauer. Após o procedimento, a suspensão fúngica correspondente a $2,2 \times 10^5$ esporos/mL, foi reservada em erlenmeyer para posterior inoculação na placa de 96 poços. Os extratos

e a nistatina (controle positivo) foram solubilizados em dimetilsulfóxido e em seguida pipetados para uma placa de 96 poços para atingir uma concentração inicial de 100 μ L, seguindo diluições seriadas até o poço 12, de acordo com a figura 10.

Figura 10 - Diluição em placa de 96 poços



Placas de 96 poços controle também foram preparadas contendo somente o meio de cultura (caldo batata dextrose), o meio de cultura e nistatina e o meio de cultura e extratos, sem adição a suspensão fúngica. A placa foi incubada em temperatura ambiente por sete dias, para observar o desenvolvimento do fungo *A. niger* cujo resultado é verificado visualmente.

4.13 ENSAIO DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE (AChE)

Para o ensaio de inibição de acetilcolinesterase utilizou a metodologia *Ellman* com modificações (ELLMAN *et al.*, 1961 e RHEE *et al.*, 2001). Para solubilização dos extratos foi utilizado dimetilssufóxido (DMSO) e *Tween* 80 como emulsificante e como controle positivo foi utilizada a eserina. O tampão Tris/HCl (50 mM) foi preparado em água destilada (pH 8,0). A solução de iodeto de acetilcolina ATCl (15 mM) também foi preparada em água destilada. Para preparo do 5, 5'-*dithio-bis* (2-nitrobenzoic acid) (DTNB, 3 mM) foi utilizado o tampão previamente preparado, sendo adicionados os sais NaCl (0,1 M) e MgCl₂.6H₂O (20 mM). A enzima acetilcolinesterase foi preparada

na concentração 0,22 U/mL, utilizando o tampão e adição de 0,1% (p/v) de albumina sérica bovina.

Em placa de 96 poços foram adicionados 25 uL dos extratos, os controles, positivo (eserina) e negativo. Neste último caso utilizou-se somente o solvente. Os ensaios foram realizados em quintuplicata. Posteriormente foram adicionados 25 uL de iodeto de acetilcolina (ATCI), 125 uL da solução de DTNB e 50 uL de tris/HCl contendo albumina sérica bovina. Seguiu-se o procedimento medindo-se a absorbância a 405 nm a cada 1 minuto por 8 vezes. Logo em seguida, adicionaram-se 25 uL de acetilcolinesterase em cada poço e homogeneizou-se. A absorbância foi medida novamente a 405 nm a cada 1 minuto por 10 vezes. O cálculo seguinte foi utilizado para verificar a porcentagem de inibição:

$$\% I = \frac{(A_b - A_a) \times 100}{A_b}$$

4.14 CULTIVO DE *Drosophila melanogaster*

As moscas foram obtidas no estoque do Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios. O meio de cultura (alimento) utilizado para manutenção das moscas foi preparado com 400 g de banana prata (*Musa sp.*, subgrupo Prata), 4 g de ágar bacteriológico e 350 mL de água destilada. Essa mistura foi homogeneizada em liquidificador e aquecida, para adquirir textura mais densa. Em seguida foi acrescentada 3,5 g de levedura fermento biológico. Logo após, o preparado foi autoclavado a 120 °C por 15 min. Depois o meio foi retirado da autoclave e adicionaram-se 0,6 mL de ácido propiônico e 2,5 mL de Nistatina. O alimento foi transferido para os frascos previamente autoclavados para os quais, após resfriamento, as moscas foram transferidas (JIMÉNEZ *et al.*, 2017).

4.15 ENSAIO DE NEUROPROTEÇÃO

As moscas *D. melanogaster* foram mantidas nos frascos contendo alimento anteriormente preparado, por 7 dias, obedecendo o ciclo reprodutivo. Após este período, as moscas foram transferidas para outro frasco contendo novo alimento deixando as pupas nos frascos anteriores. Após 4 dias, as moscas saíram da fase de pupa e, a partir desse momento, foram contados 6-8 dias de vida para a realização do ensaio de neuroproteção. As moscas foram paralisadas com auxílio de pequena

quantidade de éter etílico para que ocorresse a seleção de moscas macho. Após a separação manual, 12 moscas macho foram separadas e utilizadas para realização do ensaio. O ensaio foi realizado em triplicata, os frascos (Figura 11) foram divididos em três contendo somente o alimento, três frascos com alimento e extrato e mais três com alimento e rotenona.

Figura 11 - Cultivo de *D. melanogaster*.



Fonte: Própria autora.

Após 7 dias, as moscas que estavam no frasco contendo alimento + rotenona foram transferidas para o frasco contendo alimento + extrato e vice versa; as moscas que estavam nos frascos contendo somente alimento não foram trocadas de frasco. No final de 15 dias completos, as moscas foram transferidas para tubos falcon, que foram acoplados em um suporte de madeira e colocados em uma superfície plana. Uma câmera fotográfica foi posicionada a aproximadamente 30 cm de distância. Em seguida, a caixa foi submetida a três batidas contra uma superfície plana, sendo registradas dez fotos dos tubos com as moscas. A foto de número seis foi utilizada para análise e contabilizou-se o número de moscas que conseguiram sobrevoar acima da metade do tubo após a movimentação do mesmo.

4. 16 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O software *GraphPad Prism* 5.0 foi utilizado para análises dos testes estatísticos, aplicando-se análise de variância (ANOVA). Para avaliar as médias entre as amostras foi usado o teste *Tukey* com nível de significância de 5% ou $p < 0,05$. O *Kruskal-Wallis* (não paramétrico) e o pós-teste de *Dunn's*, com significância de 5% ou $p < 0,05$, foi utilizado para avaliar os dados no ensaio de neuroproteção. Para análise de componentes principais foi utilizado o software *SensMaker* 1.61.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 IDENTIFICAÇÃO DO ABACATE

O cultivar do abacate utilizado foi identificado seguindo a tabela publicada pela Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP, 2015). Além disso, também foi utilizado o boletim publicado em 2014 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), para assegurar a identificação quanto ao período de maturação, que neste caso refere-se ao mês de maio.

Tabela 6 - Identificação do abacate

Cultivar	Formato	Coloração da casca	Textura da casca	Espessura da casca	Coloração da polpa	Textura da polpa
Breda	Elíptico	Verde	Lisa	Fina	Amarela	Sem fibras
Fortuna	Piriforme	Verde	Rugosidade média	Média	Amarela	Sem fibras
Fucks	Piriforme	Verde	Lisa	Fina	Amarela	Com fibras
Geadá	Piriforme	Verde	Lisa	Fina	Amarela	Poucas fibras
Hass	Piriforme	Verde	Muito rugosa	Grossa	Amarela	Sem fibras
Margarida	Esferoide	Verde	Rugosa	Grossa	Verde clara	Sem fibras
Ouro verde	Elíptico	Verde escura	Levemente rugosa	Média	Amarela	Sem fibras
Quintal	Piriforme	Verde	Rugosidade média	Média	Amarela	Sem fibras

Fonte: CEAGESP (2015).

De acordo com as características analisadas, os dados sugerem que a variedade em questão seja o abacate fortuna, devido ao período de compra (maio) e demais características morfológicas citadas na tabela.

5.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

O fruto do abacateiro mostrou ser constituído por 10,2% de casca, 69,9% de polpa e 19,9% de caroço. Esses dados corroboram com o trabalho publicado por Salgado *et al.* (2008) que obtiveram rendimento de 11,2% de cascas e 22,8% de caroço. Com os dados relatados tanto por Salgado *et al.* (2008) quanto neste presente trabalho, percebe-se que o desperdício do consumo de abacate chega a

aproximadamente 30%, surgindo, portanto, oportunidades para um destino viável em seu reaproveitamento.

Os rendimentos dos extratos etanólicos foram mais elevados em comparação com os extratos hexânicos. Neste trabalho foi utilizada maceração em hexano e extração etanólica, ambas extrações ocorreram durante um período de três dias, sem utilizar aquecimento no processo de extração. Rengifo *et al.* (2015) utilizaram a técnica de soxhlet para obtenção de azeite das sementes de abacate. O uso da técnica resultou em um rendimento médio de 6,14% \pm 0,14 utilizando 5 g da farinha da semente do abacate. Piazza *et al.* (2018) realizou extração proveniente das cascas do abacate, por soxhlet e sistema ultrassônico com etanol no qual obtiveram rendimentos de 3,64% com o sistema ultrassônico e 6,02% com soxhlet. Os resultados de rendimentos deste presente estudo estão apresentados na Tabela 7 e mostraram-se superiores aos obtidos por Pizza *et al.* (2018) e por Rengifo *et al.* (2015), em relação à extração etanólica.

Tabela 7 - Rendimento dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e caroços de abacate

Solvente extrator	Parte extraída	Rendimentos (%)
Hexano	Casca	1,32
Etanol	Casca	15,98
Hexano	Caroço	0,91
Etanol	Caroço	21,75

Ruiz *et al.* (2018) realizaram extração por maceração de variedades de abacate Hass e Fuerte, durante 48 horas sob agitação. Os autores obtiveram rendimento de 11,95% com as sementes de Hass e 12,30% com as sementes de abacate Fuerte, em solvente etanol como as sementes secas e moídas. Já neste estudo tanto as cascas quanto as sementes foram utilizadas *in natura* raladas/fatiadas em pequenos fragmentos.

5.3 ANÁLISE DE MINERAIS

As amostras foram avaliadas quanto ao conteúdo mineral (mg/100 g) e os resultados obtidos foram expressos na tabela 8.

Tabela 8 – Conteúdo de minerais presentes nas cascas e caroços de abacate.

Minerais	Casca (mg/g)	Caroço (mg/g)
Cálcio	26,78 ± 2,06	41,14 ± 8,50
Magnésio	23,87 ± 3,09	31,41 ± 1,82
Cobre	0,20 ± 0,74	0,48 ± 0,01
Ferro	0,72 ± 2,06	1,04 ± 7,40
Manganês	4,23 ± 10,34	1,80 ± 6,48
Zinco	0,67 ± 7,02	1,11 ± 0,57

Os minerais mais abundantes encontrados tanto nas cascas quanto nos caroços foram o cálcio e o magnésio. A ingestão de cálcio recomendada pela OMS varia entre 1.000 e 1.400 mg por dia. A OMS e a ANVISA recomendam a ingestão de 260 mg/dia de magnésio. Este fato é interessante, pois a polpa do fruto possui teor elevado de ambos minerais. O estudo aponta que as cascas e os caroços também podem ser fonte promissora de minerais, principalmente de cálcio.

Outros resíduos são citados na literatura como fontes promissoras de minerais, como no estudo de Marques *et al.* (2010) em que analisaram minerais presentes na casca de manga da variedade Tommy (*Mangifera indica L*), detectando elevado teor de cálcio (74,06 mg/g), e um resultado similar ao obtido neste estudo para o conteúdo de magnésio (22,38 mg/g). Nwaokobia *et al.* (2018) analisaram a polpa e a semente de abacate e encontraram conteúdo inferior de cálcio nos caroços (36,78 ± 0,03) quando comparado a este estudo. O conteúdo de cálcio é maior nos caroços, tanto no estudo citado, quanto nos dados revelados nesta pesquisa.

5.4 COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Nos extratos da casca foi detectada maior quantidade de ácido palmítico, um ácido graxo saturado com 16 carbonos. De acordo com Santos *et al.* (2013), o ácido palmítico geralmente é o mais abundante nos alimentos. Os ácidos graxos saturados têm influência no aumento do colesterol sanguíneo, exceção para o ácido esteárico, considerado com ação neutra, porque ele é convertido em ácido oleico (MOREIRA; CURI e MANCINI FILHO, 2002). Isso acontece devido à rápida desidrogenação

catalisada por enzimas dessaturases, convertendo o ácido esteárico em ácido oleico. Os extratos etanólicos dos caroços e das cascas exibiram maior quantidade de ácido esteárico do que os extratos hexânicos, como pode ser observado na tabela 9.

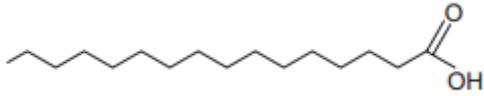
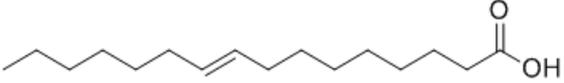
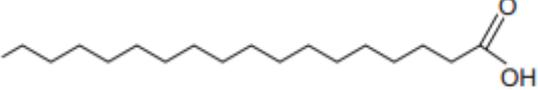
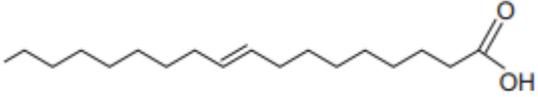
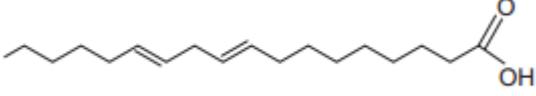
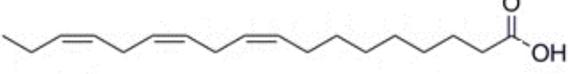
Tabela 9 - Composição de ácidos graxos dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e caroços de abacate.

Extratos	Ácidos graxos (%)						
	14:0 (Mirístico)	16:0 (Palmítico)	16:1 (Palmitoleico)	18:0 (Esteárico)	18:1 (Oleico)	18:2 (Linoleico)	18:3 (Linolênico)
CRÇ-H	0,7	23,0	2,9	4,1	17,3	34,8	3,0
CRÇ-ET	1,5	22,2	3,2	14,7	16,2	27,4	1,6
CSC-H	0,7	42,5	2,7	7,0	18,2	4,5	1,0
CSC-ET	1,7	47,9	1,8	22,2	2,5	0,7	0,4

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa para determinar o perfil de ácidos graxos. O extrato hexânico e etanólico do caroço apresentaram maior porcentagem de ácido linoleico (18:2) (ômega 6), como observado no quadro 2. Os valores foram superiores ao encontrado no azeite de oliva e em estudos com outras variedades de abacate, como o de Tango *et al.* (2004), que pesquisaram variedades diferentes de abacate relatando teores inferiores de ácido linoleico variando de 9,3% a 21,2%. Salgado *et al.* (2008) e Almeida *et al.* (2018) estudaram a polpa de variedades de abacates e encontraram quantidades inferiores de ácido linoleico 14,9 e 14,8% respectivamente, ou seja, quase a metade da quantidade encontrada nos extratos CRÇ-H e CRÇ-ET.

O teor de ácido linoleico dos extratos deste estudo foi maior do que o valor relatado por estudos coletados na bibliografia (tabela 10). É inclusive maior do que a quantidade encontrada por Monterroza (2014) e por Méndez-Zúñiga (2019) em variedades diferentes de *Persea americana*. O ácido linoleico possui 18 carbonos e duas ligações duplas e é considerado essencial, pois não é produzido pelo organismo, portanto, é necessário adquiri-lo por meio da alimentação.

Quadro 2 - Estrutura dos ácidos graxos encontrados nos extratos.

Palmítico	
Palmitoleico	
Estearico	
Oleico	
Linoleico	
Linolênico	

Marangoni *et al.* (2019) relataram a importância do ácido graxo linoleico no desenvolvimento fetal e infantil, pois é precursor do ácido araquidônico e desempenha papel fundamental quanto às funções neurais e ao crescimento infantil. Os autores também mencionam os efeitos positivos na diminuição de riscos de desenvolvimento de doenças cardíacas e efeitos benéficos com relação a processos inflamatórios.

Tabela 10 - Conteúdo de ácido graxo encontrados em outros vegetais.

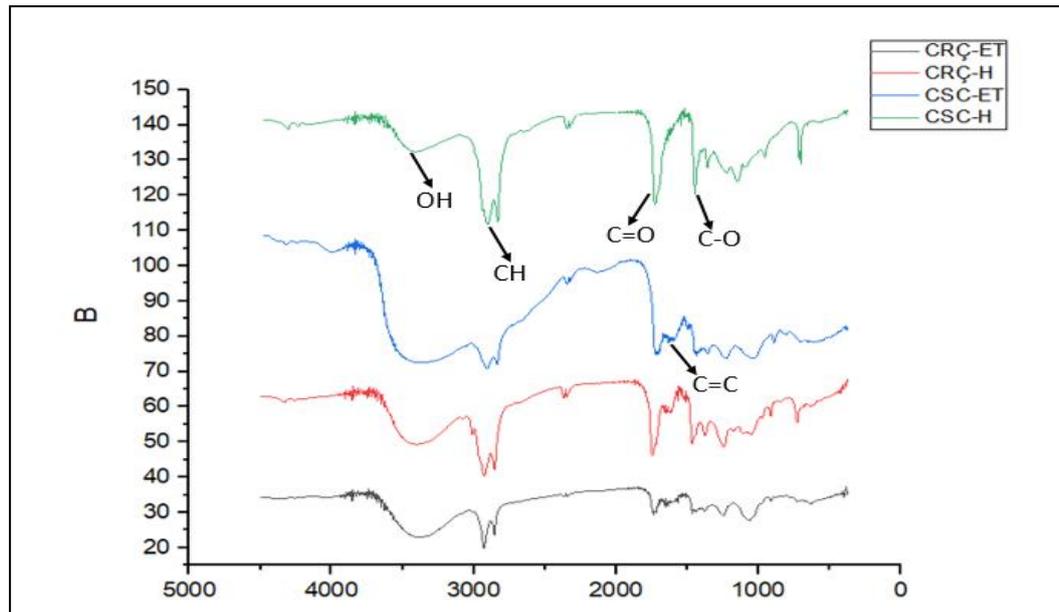
Fonte	16:0 (Palmítico)	16:1 (Palmitoleico)	18:0 (Esteárico)	18:1 (Oleico)	18:2 (Linoleico)	Referência
<i>Persea americana</i> var. Hass	15,51±0,03	9,69±0,02	1,81±0,01	57,3±0,02	14,2±0,02	Monterroza <i>et al.</i> (2014)
<i>P.americana</i> var. Drymifolia	14,69-22,68	0,23 -3,64	0,18 -0,07	74,19 -56,58	16,85 -5,62	Méndez- Zúñiga <i>et al.</i> (2019)
Óleo de soja	4,6-10,5	0,0-0,1	4,4-3,1	68,9-22,6	51,0-11,9	Raatz <i>et al.</i> (2018)
Óleo de Canola	3,6-4,3	0,2-0,2	2,1-2,0	71,8-61,7	19,0-13,4	Raatz <i>et al.</i> (2018)
Óleos de Girassol	6,2	0,2	2,8	28,0	62,2	Orsavova <i>et al.</i> (2015)
Óleos de Amêndoa	6,8	0,53	2,3	67,2	22,8	Orsavova <i>et al.</i> (2015)
Óleo de Oliva	16,5	1,8	2,3	66,4	16,4	Orsavova <i>et al.</i> (2015)
Óleo de chia	7,04	0,03	2,84	7,30	18,89	Nitrayová <i>et al.</i> (2014)
Óleo de linho	6,14	0,05	4,23	22,43	14,47	Nitrayová <i>et al.</i> (2014)
Óleo de girassol	5,26±0,04	-	2,38±0,10	28,78±0,10	51,49±0,13	Ghosh <i>et al.</i> (2018)
Óleo de gergelim	10,76±0,12	-	5,85±0,03	41,54±0,22	38,42±0,18	Ghosh <i>et al.</i> (2018)

Todos os extratos apresentaram teores de ácidos graxos promissores, uma vez que se tratam de resíduos, podendo ser utilizados como alternativa para a obtenção de alguns ácidos graxos importantes para a alimentação humana.

5.5 PERFIL POR INFRAVERMELHO

As análises por infravermelho e ressonância magnética nuclear foram conduzidas com o intuito de se obter um perfil dos extratos como um todo. Os espectros no infravermelho apresentaram picos de absorção em regiões semelhantes em todos os extratos. Os grupos funcionais associados a essas regiões são característicos de ácidos graxos (Figura 12) presentes no extrato na forma saturada ou insaturada.

Figura 12 - Espectro no infravermelho

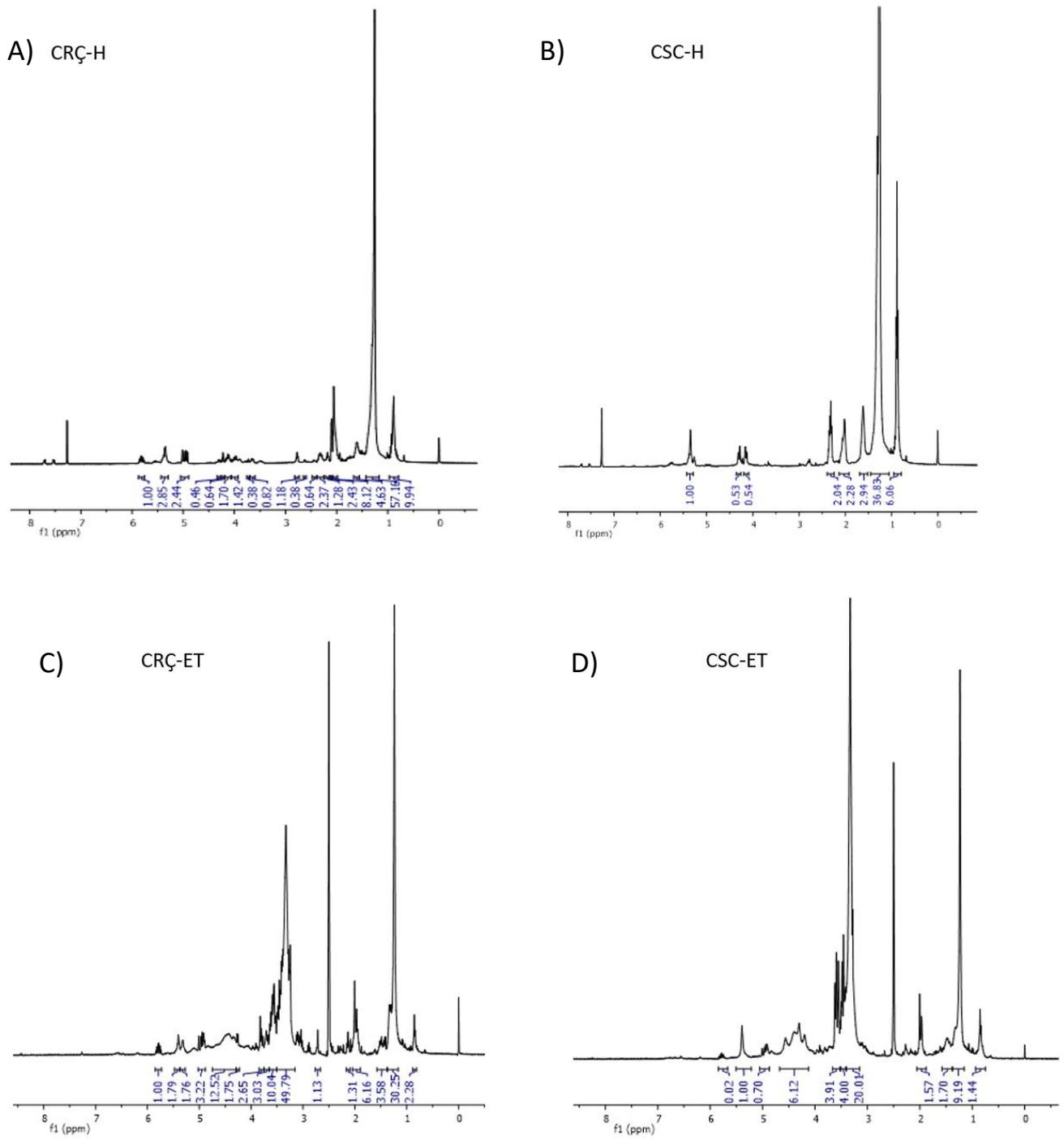


Os extratos hexânicos e etanólicos dos caroços e das cascas apresentaram bandas características de grupos éster, ácidos carboxílicos, carbonila de ácidos e grupos alifáticos típicas de ácidos graxos. Bandas de ligação dupla ($1667\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$) corroboram com a presença de ácidos graxos insaturados (oleico, linoleico e linolênico), que podem gerar efeitos benéficos à saúde (SILVERSTEIN; BASSLER e MORRILL, 1991).

5.6 ANÁLISE POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Os espectros dos extratos obtidos por RMN de ^1H a 400 MHz (Figura 13) foram comparados aos espectros da literatura e aos espectros traçados com base no perfil lipídico. A Tabela 11 mostra o deslocamento químico bem como a multiplicidade de sinais presentes nos extratos. Sunday *et al.* (2019) e Cai *et al.* (2016) também utilizaram a metodologia de RMN para descrever a composição de ácido graxos em plantas e em animal respectivamente. Vlahov, Chepkwony e Ndalut (2002) utilizaram a técnica de RMN para caracterizar óleo de semente de moringa, método se mostrou eficaz, capaz de mostrar os sinais químicos correspondentes aos ácidos graxos.

Figura 13 - Espectros de RMN de ^1H dos extratos hexânicos e etanólicos



Espectro de RMN de ^1H (A) do extrato hexânico do caroço; (B) do extrato hexânico da casca; (C) do extrato etanólico do caroço e (D) do extrato etanólico da casca.

Os espectros de RMN de ^1H (400 MHz) dos extratos hexânicos e etanólicos mostraram-se bastante semelhantes, com um sinal intenso em δ_{H} 1,3 ppm e sinais em δ_{H} 0,9 e 2,2 ppm, típicos de ácidos graxos de cadeia longa. O sinal predominante em δ_{H} 1,3 ppm refere-se a átomos de hidrogênio de carbono metilênico (CH_2) das cadeias carbônicas de ácidos graxos. Sinais na região entre δ_{H} 5-6 ppm, são típicos de hidrogênios olefínicos, corroboram com a presença de ácidos graxos insaturados (SILVERSTEIN; BASSLER e MORRILL, 1991), conforme indicado nas análises por cromatografia gasosa (pag 45).

Nos espectros de RMN de ^1H dos extratos CRÇ-H e CSC-H nota-se a presença de sinais pouco intenso na região entre δ_{H} 7-8 ppm, que podem estar relacionados à presença de grupos fenólicos, já que esta região é típica de átomos de hidrogênio aromáticos. A tabela 11 apresenta os sinais dos ácidos graxos simulados no software ChemDraw Ultra 12.0, com finalidade de compará-los com os sinais dos espectros de RMN de ^1H dos extratos.

Tabela 11 - Sinais dos ácidos graxos simulados

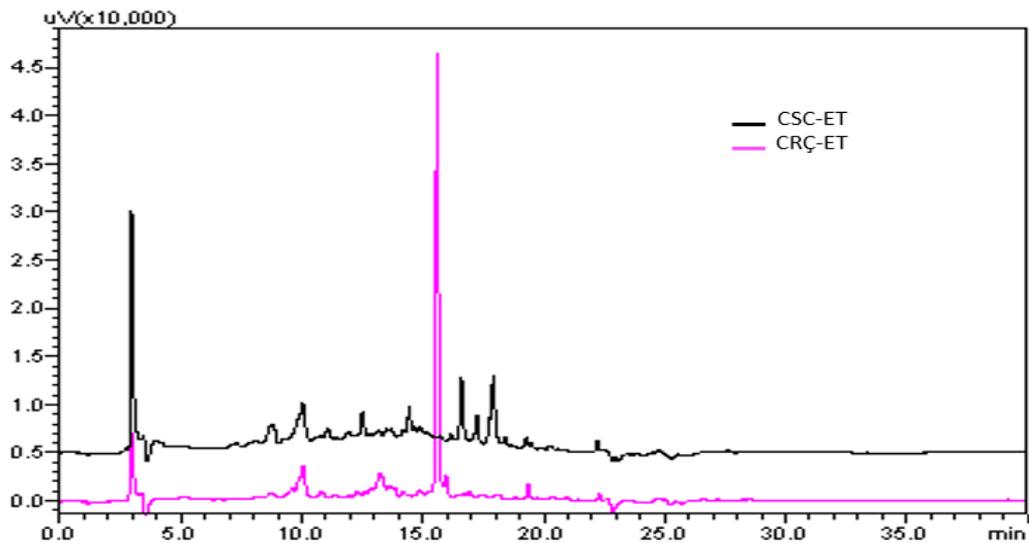
Sinal	δ (ppm)	18:1	18:2	18:3	14:0	16:0	18:0
1	5,6-5,4	m	m	m	-	-	-
2	2,8-2,7	-	t	-	-	-	-
3	2,6-2,5	-	-	m	-	-	-
4	2,2-2,4	t	t	t	t	t	t
5	2,1	-	m	-	-	-	-
6	1,4-1,5	m	m	m	m	m	m
7	1,3	s	s	s	-	-	-
8	1,1-1,2	s	-	t	s	s	S
9	0,9	m	m	-	m	m	m

Sinal: m= multipletto, s=simpleto, d=dupletto e t=tripletto.

5.7 PERFIL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

O perfil metabólico (Figura 14) das cascas de abacate mostrou-se mais complexo do que o dos caroços, com maior número de picos na região entre 12 e 20 min. O extrato dos caroços pode ser diferenciado das cascas por um pico característico com tempo de retenção (TR) em 16 min.

Figura 14 - Perfil por HPLC dos extratos etanólicos



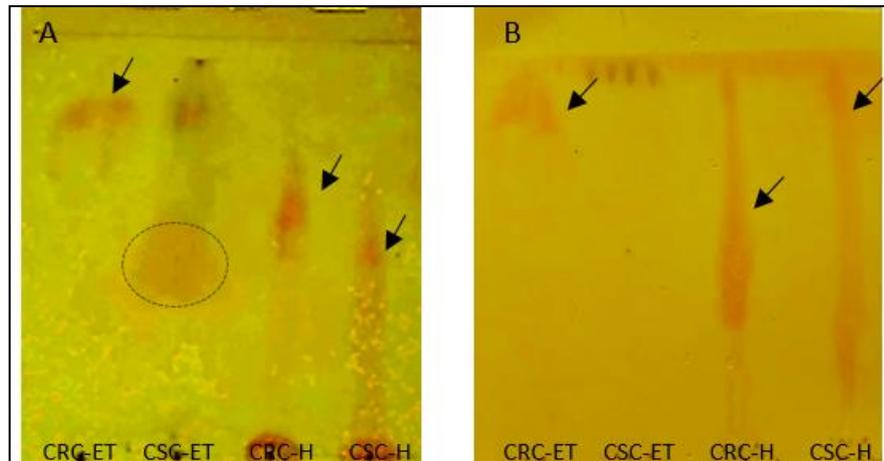
Raju *et al.* (2014) analisando o perfil de catequina e epicatequina em chocolates em condições semelhantes às deste estudo, porém, com solventes diferentes (ácido fosfórico e acetonitrila), detectaram um pico com TR 16,2 min correspondente à catequina. Portanto, o pico de retenção apresentado neste estudo mais evidente no extrato etanólico do caroço (CRÇ-ET), poderia corresponder à catequina, uma vez que existe relato na literatura (RENGIFO *et al.*, 2015) citando a presença de catequina em espécies de *P. americana*.

5.8 DETECÇÃO DE ALCALOIDE POR CROMATOLOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD) (DRAGENDORFF)

A reação de Dragendorff com alcaloide ocorre com a formação de produtos de cor amarelo alaranjado que podem ser visualizados por CCD. Os alcaloides são substâncias nitrogenadas divididas em várias classes, mas nesse ensaio não é possível definir a classe dos compostos, sendo utilizada somente para identificar ausência ou presença. Estes compostos possuem característica básica (alcalina) e a reação ocorre em meio ácido com a ligação covalente de íons metálicos de potássio com o átomo de nitrogênio (PARBUNTARI *et al.*, 2018).

Os extratos foram aplicados na placa e eluídos com dois eluentes, acetato e metanol 7: 3 (A) e MeOH e clorofórmio 1:1 (B). Em seguida foi borrifada a solução de Dragendorff, sendo possível visualizar (Figura 15) as manchas com cores alaranjadas formadas pelo precipitado oriundo da reação mostrando ser positivo para a presença de alcaloides.

Figura 15 - Detecção de alcaloide com reagente de Dragendorff



As setas indicam manchas alaranjadas sendo positivo para presença de alcaloides.

Tanto na placa A quanto na B foi possível verificar o teste positivo para alcaloides, entretanto, a placa A apresenta uma visualização menos nítida quando comparada com a B. O extrato CSC-ET apresentou uma mancha discreta amarela/laranjada na placa A.

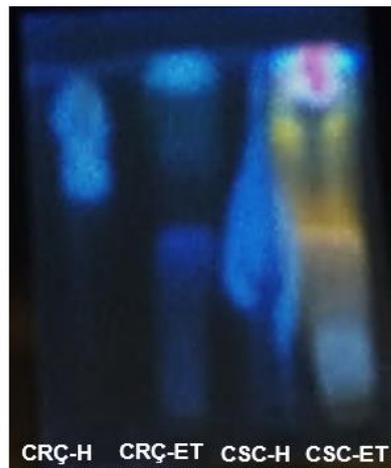
As plantas produzem alcaloides como mecanismo de defesa e, portanto, são considerados metabólitos secundários. Alcaloides são citados muitas vezes como substâncias tóxicas e alucinógenas. Talabi *et al.* (2016) citaram a presença de alcaloide e taninos em sementes *P. americana*, como fatores antinutricionais. Essa relação ocorre porque o alcaloide pode formar complexos ocasionando interferência na absorção de nutrientes. Por outro lado, muitos alcaloides são usados pela indústria farmacêutica. A morfina é um exemplo de alcaloide que deu origem a um medicamento amplamente conhecido e utilizado principalmente em pacientes com câncer (HUGHES e SHANKS, 2001). Estudos destacaram a presença de alcaloides como isoquinolina em plantas da família Lauraceae, a mesma família do abacate (CUSTÓDIO e VEIGA JÚNIOR, 2014).

A galantamina é um alcaloide isolado de plantas que possui atividade antiacetilcolinesterásica sendo utilizada no tratamento da doença de Alzheimer (MELO e COSTA, 2005). Osuntokun *et al.* (2017) também mencionaram a presença de alcaloides em subprodutos do abacate, o óleo essencial. Silva (2011) verificou a presença de alcaloides em *Senna multijuga* (Rich.) relacionada com a atividade anticolinesterásica.

5.9 DETECÇÃO DE FLAVONOIDES EM CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (NP/PEG)

Após eluir a placa com os extratos CRÇ-H, CRÇ-ET, CSC-H e CSC-ET foi borrifado o reagente revelador NP/PEG e a placa foi visualizada em UV 365 nm. O extrato etanólico das cascas CSC-ET (Figura 16) apresentou uma mancha com fluorescência alaranjada (flavonoides) e o extrato etanólico do caroço CRÇ-ET apresentou fluorescência azul (fenóis). O reagente polietilenoglicol possui a capacidade de intensificar a fluorescência dos compostos quando submetidos à luz ultravioleta e as colorações visualizadas dependem da estrutura do composto. Fluorescência alaranjada correspondente a flavonoides glicosilados e a coloração laranja a flavonóis e flavonas (WAGNER e BLADT, 1996). A fluorescência azul é indicativa da presença de compostos fenólicos (WAGNER e BLADT, 1996; SIVARAMAN, 2014).

Figura 16 - Detecção de flavonoide por NP/PEG



CRÇ-H: Extrato hexânico do caroço, CRÇ-ET: Extrato etanólico do caroço, CSC-H: Extrato hexânico da casca e CSC-ET: Extrato etanólico da casca.

Chil-Núñez *et al.* (2019) mencionaram a presença de flavonoides em cascas e sementes de abacate e citam também a presença de fenólicos derivados de catequinas. Esses compostos são conhecidos por serem bioativos e desempenharem atividade antioxidante, sendo relacionados como substâncias anticâncer (AHMED *et al.*, 2016).

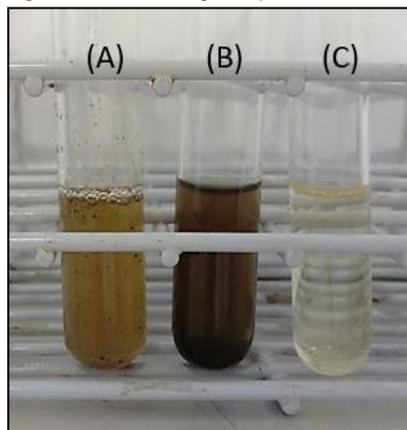
5.10 IDENTIFICAÇÃO DE TANINOS

Os extratos CRÇ-ET e CSC-ET foram submetidos a um teste para a identificação de taninos. Os demais não foram ensaiados devido ao rendimento insuficiente e baixa solubilidade dos extratos hexânicos em água.

Após a adição de cloreto férrico nos extratos foi possível observar a coloração verde/preto (Figura 17), que indica a presença de taninos condensáveis.

Os taninos condensados são proantocianidinas formadas por compostos por unidades de flavan-3-ol ou flavan 3,4-diols encontradas em vegetais. Conferem atividade antioxidante a alguns alimentos, por exemplo, vinhos, sucos e chás. Os taninos também são apontados por conter alguns fatores antinutricionais em animais (SCHOFIELD; PELL e MBUGUA, 2001). Apesar disso, podem ser benéficos ao organismo.

Figura 17-Mudança de coloração para identificação de taninos

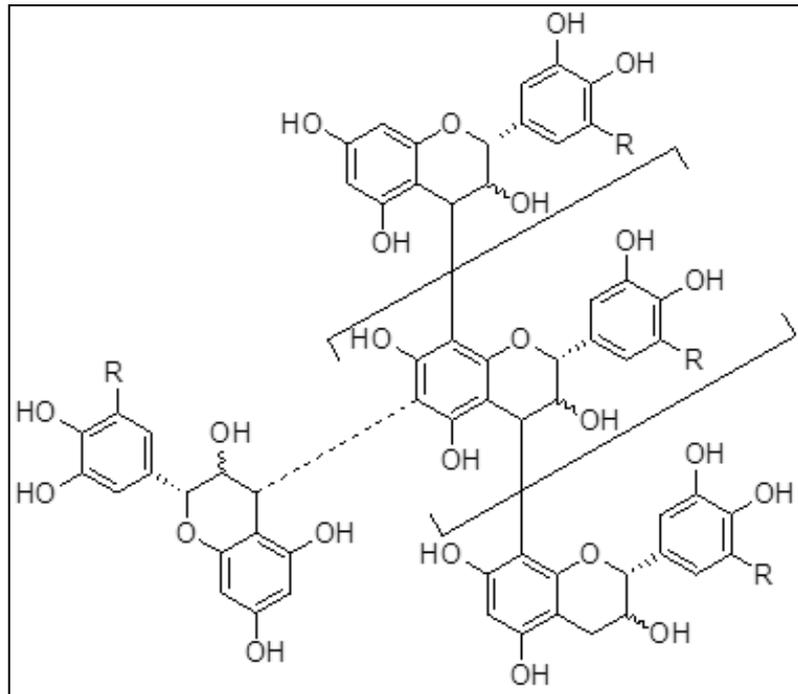


A) Extrato CRÇ-ET, B) Extrato CSC-ET e C) Água destilada

Chai *et al.* (2019) relatam que taninos condensáveis isolados de *Vigna angularis* (feijão azuki) possuem ação anti-melanogênica atuando com a inibição da tirosinase e atividade antioxidante por reduzir o radical DPPH. Chai e Yang *et al.* (2019), relatou que taninos condensáveis extraídos de *Clausena lansium* (Lour.) induziram apoptose em células precursoras de melanoma em camundongos e inibiram a enzima α -glucosidase importante para diminuição da absorção da glicose.

Os taninos condensáveis (Figura 18) são estruturas consideradas complexas e apresentam resistência à reação de hidrólise.

Figura 18 – Estrutura genérica de taninos condensados



Fonte: Carneiro,2009.

As catequinas e epicatequinas são monômeros e a condensação desses compostos forma os taninos condensados (EFRAIM; ALVES e JARDIM, 2011). Portanto, esse dado corrobora com encontrado no item 3.1 relacionando o pico de HPLC sendo uma provável catequina detectada no extrato etanólico do caroço CRÇ-ET, esse composto é amplamente citado na literatura com atividade antioxidante.

5.11 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A Tabela 12 apresenta os resultados dos testes antioxidantes realizados de acordo com as metodologias previamente descritas. A atividade antioxidante pode ser averiguada por diferentes testes e pode variar devido a diferentes solventes utilizados para obtenção dos extratos (FOLASADE *et al.*, 2016).

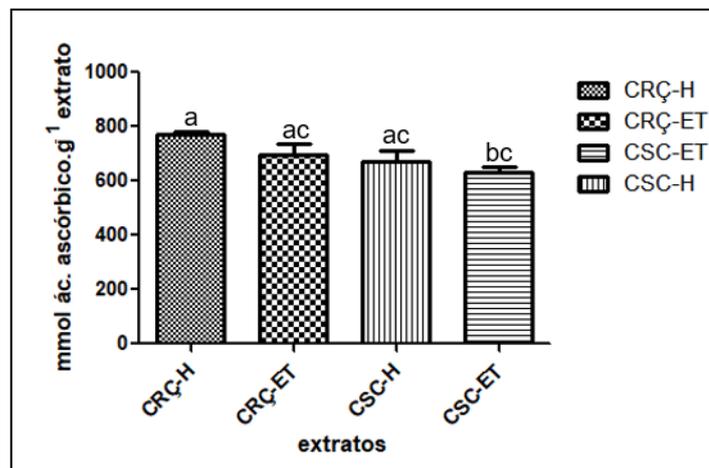
Tabela 12 - Ensaio antioxidantes dos extratos provenientes das cascas e caroços de abacate

Extratos	Antioxidantes totais (mmol/g de ácido ascórbico)	Fenólicos totais (mg ác. gálico/g de extrato)	Poder Red. Férico média (%)	Flavonoides totais (EQ quercetina /g extrato)	DPPH (%)
CRÇ-H	770,01 ± 0,02 ^a	32,48 ± 2,00 ^b	4,07 ± 1,21 ^{ab}	1199,04 ± 49,39 ^b	35,89 ± 1,59 ^b
CRÇ-ET	697,74 ± 0,07 ^{ac}	32,15 ± 0,39 ^{cb}	2,38 ± 0,24 ^{bc}	640,72 ± 9,30 ^c	37,60 ± 1,67 ^b
CSC-H	669,73 ± 0,08 ^{ac}	26,33 ± 0,48 ^d	4,81 ± 1,37 ^a	1243,78 ± 32,33 ^a	7,77 ± 1,44 ^c
CSC-ET	630,23 ± 0,04 ^{bc}	35,40 ± 0,60 ^a	1,11 ± 0,25 ^c	694,06 ± 1,50 ^c	52,20 ± 1,05 ^a

5.11.1 Antioxidantes Totais

No ensaio de atividade antioxidante total (expressa em mmol/g de ácido ascórbico) ($R^2 = 0,9339$), os extratos CRÇ-H, CRÇ-ET e CSC-H não apresentaram diferenças significativas (Figura 19). Houve diferença significativa entre o extrato hexânico dos caroços e o extrato etanólico das cascas, sendo esse último com menor atividade, o que possivelmente possa estar relacionado ao efeito do solvente extrator.

Figura 19 - Atividade antioxidante total detectada para os extratos



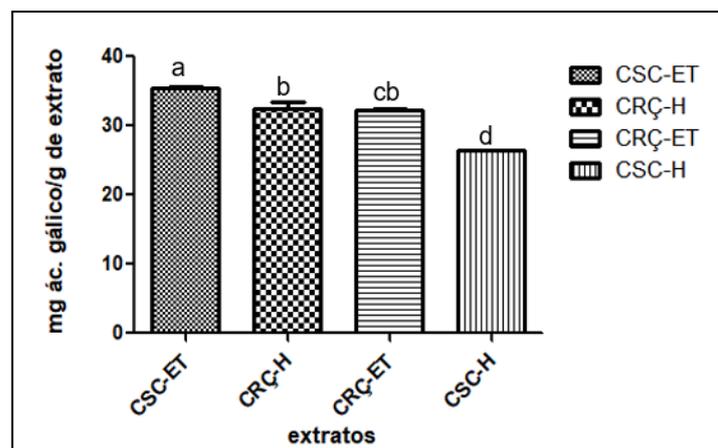
Salla *et al.* (2016) utilizaram a mesma metodologia para atividade antioxidante dos extratos metanólico e hexânico de sementes de mamão, que também são alvo de descarte. A atividade antioxidante total encontrada nos extratos metanólicos destas sementes ($2485,53 \pm 23,21$) foi maior do que os resultados relatados para os extratos etanólicos de caroços e cascas de abacate neste trabalho ($697 \pm 0,072$ e $630 \pm 0,039$). Por outro lado, o conteúdo antioxidante total encontrado para os extratos hexânicos

pelos autores foi inferior ($568,46 \pm 9,72$) ao encontrado no presente trabalho para o extrato hexânico dos caroços de abacate ($770 \pm 0,024$).

5.11.2 Fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais foi expresso em mg de ácido gálico/g de extrato ($R^2 = 0,9291$). O extrato etanólico das cascas apresentou resultados estatisticamente significativos, sendo diferente de todos os demais extratos (Figura 20). Já os extratos CRÇ-H e CRÇ-ET, ambos oriundos dos caroços, não apresentaram diferença estatística quando comparados entre si. O extrato CSC-H apresentou diferença estatística, exibindo resultado inferior quando comparado aos demais.

Figura 20 - Fenólicos totais encontrados nos extratos das cascas e caroços de abacate



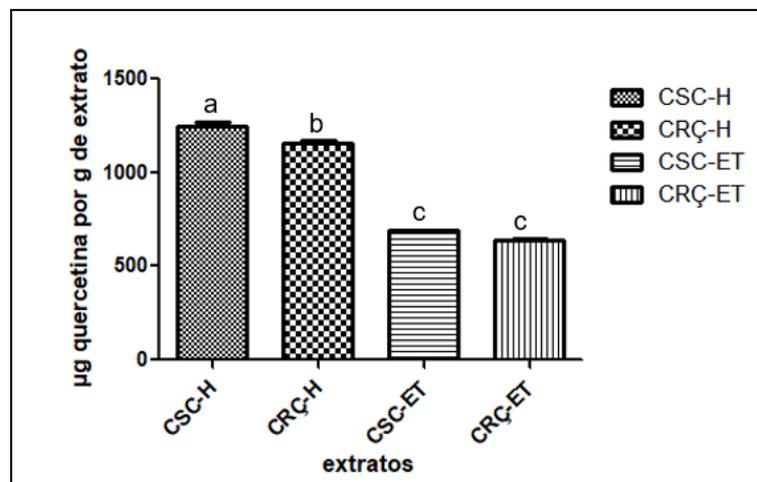
Vinha, Moreira e Barreira (2013) relataram conteúdo de fenólicos totais em cascas e caroços de abacate que corroboram com este estudo. Apesar de o solvente de extração ter água e as variedades de abacate terem sido diferentes, a metodologia utilizada foi a mesma (Folin-Ciocalteu). Os melhores resultados para fenólicos totais também foram para as cascas ($47,9 \pm 2,7$). O conteúdo encontrado pelos autores foi superior a este estudo ($35,404 \pm 0,599$), essa diferença pode ter relação com a variedade do abacate ou com o solvente extrator.

Amado *et al.* (2019) também avaliaram o conteúdo de fenólicos totais para extratos etanólicos de diferentes variedades de abacate, inclusive a variedade do presente estudo (fortuna), encontrando resultados inferiores ($10,71 \pm 0,15$).

5.11.3 Flavonoides totais

O extrato hexânico das cascas apresentou teor de flavonoides significativamente maior do que o extrato hexânico do caroço (Figura 21). Não houve diferença significativa entre os extratos etanólicos CSC-ET e CRÇ-ET. Apesar de o extrato CSC-ET apresentar fluorescência indicativa de flavonoides no teste NP/PEG, não apresentou conteúdo significativo no ensaio de flavonoides totais.

Figura 21 - Flavonoides totais presentes nos extratos de cascas e caroços de abacate

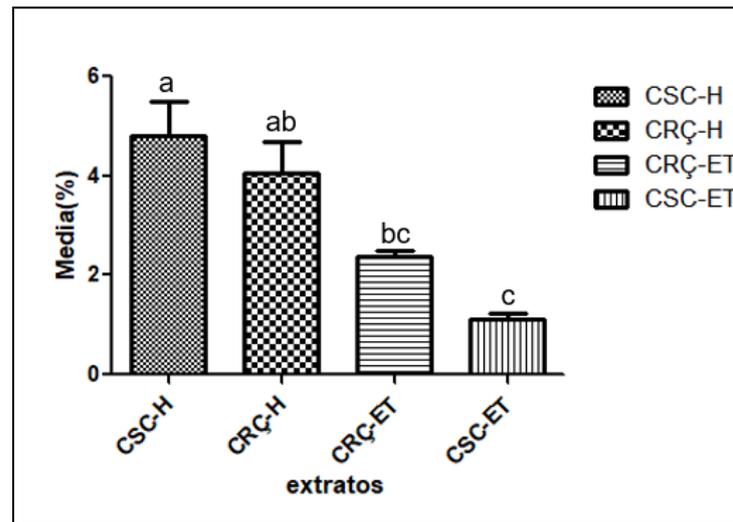


O presente estudo corrobora com Moraes *et al.* (2015) que determinaram o conteúdo de flavonoides totais em cascas e sementes de *P. americana* e também encontraram maior atividade nas cascas *in natura* do fruto. Derakhshan *et al.* (2018) avaliaram o teor de flavonoides totais (em mg / g de rutina) em cascas e sementes de três variedades de romã. O teor de flavonoides encontrado pelos autores também foi superior nas cascas nas três variedades avaliadas.

5.11.4 Poder redutor férrico

No ensaio de poder redutor férrico utilizou-se o ácido ascórbico como padrão, promovendo a redução do íon ferricianeto a ferrocianeto formando o azul de Prússia. Os resultados (Figura 22) revelaram que não houve diferença significativa entre os extratos hexânicos e etanólicos. O extrato etanólico da casca (CSC-ET) se diferenciou do CSC-H e do CRÇ-H, também foi encontrada diferença significativa entre os extratos CSC-H e CRÇ-ET.

Figura 22 - Poder Redutor férrico encontrado nos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e caroços de abacate

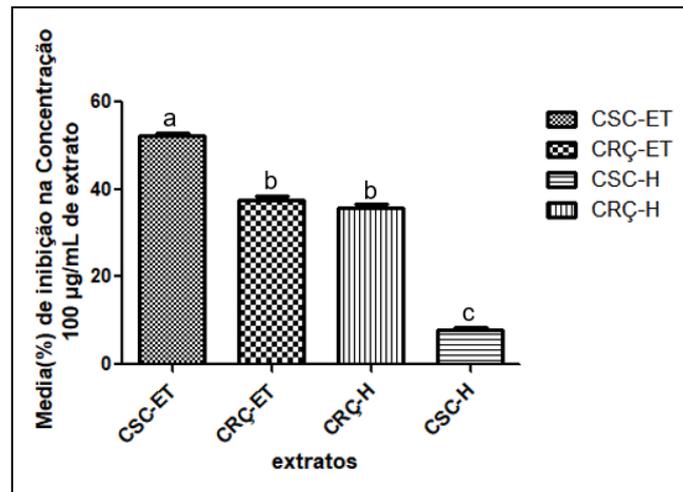


Amado *et al.* (2019) também avaliaram a presença de redutores férricos em extratos etanólicos de cascas e caroços de abacate. Os resultados revelaram maior atividade (FRAP) nas cascas, assim como no presente estudo, embora o extrato seja diferente (hexânico). Permal *et al.* (2020) analisaram cascas e caroços de abacate da variedade Hass. As amostras foram previamente liofilizadas e submetidas ao ensaio de poder redutor férrico com metodologia diferente da relatada neste estudo, no qual a maior atividade encontrada também foi nas cascas liofilizada do fruto ($13,7 \pm 0,76$).

5.11.5 Atividade de captura de radicais livres (DPPH)

Os extratos dos caroços tanto hexânico quanto etanólico não apresentaram diferença significativa no teste *Tukey* ($P > 0,005$) (Figura 23). Já o extrato hexânico das cascas CSC-H apresentou inibição baixa quando comparado aos demais. Somente o extrato etanólico (CSC-ET) das cascas de *P. americana* conseguiu atingir o IC_{50} ($92,557 \mu\text{g/mL}$), que é a capacidade necessária de extrato para inibir de 50% dos radicais DPPH ($R^2 = 0,995$).

Figura 23 - Médias dos extratos etanólicos e hexânicos referentes ao ensaio de DPPH

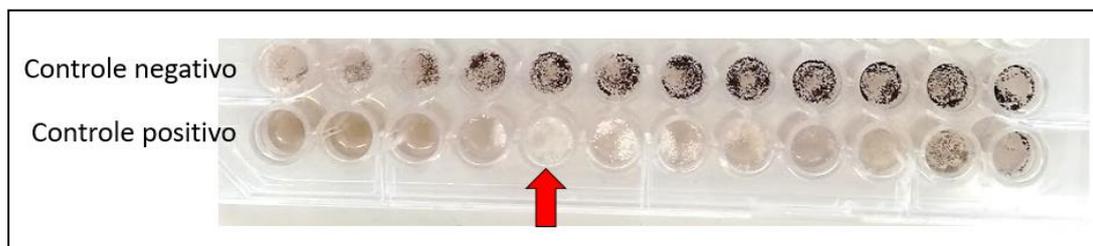


Outros autores estudaram as cascas de *P. americana* e submeteram ao ensaio de DPPH. Amado *et al.* (2019) e Antasionas (2017) relataram melhores resultados para cascas do abacate no ensaio de DPPH. Entretanto os autores citados utilizaram metodologias diferentes de extração em comparação com o presente trabalho.

5.12 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Os extratos foram submetidos à análise da capacidade antifúngica frente o fungo fitopatogênico *A. niger*. Os resultados neste ensaio são observados visualmente. Os extratos hexânicos e os extratos etanólicos exibiram atividade antifúngica, como $DL_{100} = 25 \mu\text{g/mL}$. Já a nistatina, controle positivo utilizado, apresentou uma inibição com $DL_{100} = 12,5 \mu\text{g/mL}$ (Figura 24).

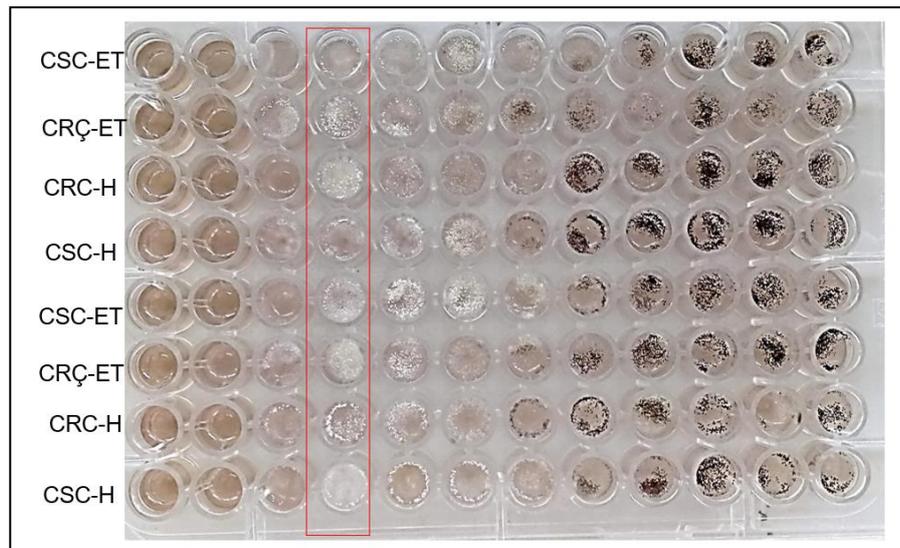
Figura 24 - Controle negativo (meio e fungo) e controle positivo nistatina em placa de 96 poços



A nistatina é um fármaco já conhecido com o princípio ativo para atividade antifúngica. Nos poços com o controle negativo foi observado, como esperado, crescimento do fungo *A. niger*. Foi possível perceber que a partir do sétimo poço os

esporos fúngicos tornam-se mais evidentes. Essa situação não foi observada nos poços contendo o controle positivo (nistatina), que só apresentou esporos no penúltimo poço. Na Figura 25 foram destacados os poços com crescimento inicial dos esporos correspondente ao fungo *A.niger*. Os extratos de *P. americana* mostraram-se interessantes para estudos posteriores, uma vez que tratam-se de extratos nos quais o princípio ativo está diluído.

Figura 25 - Atividade antifúngica dos extratos.



A. niger é um fungo filamentosso conhecido por ser produzir ácido cítrico, ácidos glucônico e fumárico que são ácidos alimentícios. O *A. niger* produz esses ácidos durante o processo de fermentação, e por isso é um microrganismo usado na agroindústria (SCHUSTER *et al.*, 2002). Entretanto esse fungo é capaz de causar contaminação em uva (*Vitis vinifera*) induzindo a produção de uma micotoxina, denominada ocratoxina A, que pode provocar o apodrecimento das frutas. A ocratoxina A é dificilmente removida durante o processamento da uva e ou seus derivados e, se caso for ingerida, pode causar danos à saúde do indivíduo, como: danos hepáticos, nefropatia e câncer (HOELTZ *et al.*, 2012).

Estudos recentes também mencionaram a capacidade antifúngica (*C. gloeosporioides* e *M. fructicola*) encontrada em extratos de caroços de abacate da variedade brenda e margarida (FAGUNDES *et al.*, 2018). Portanto, os extratos de cascas e caroços oriundos de *P. americana* podem ser uma possível alternativa no combate a contaminação provocada por *A. niger*.

5.13 ENSAIO DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE (AChE)

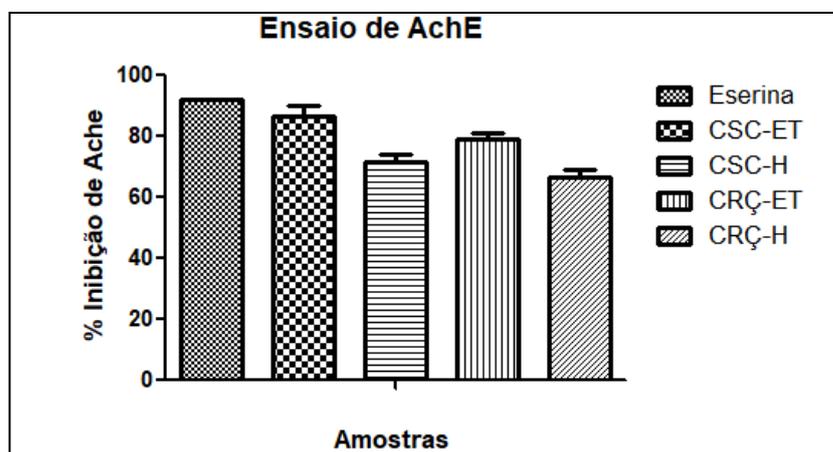
Os extratos hexânicos (CRÇ-H e CSC-H) e etanólicos (CRÇ-ET e CSC-ET) foram submetidos ao ensaio de inibição de acetilcolinesterase. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) e as diferenças das médias apresentadas pelos extratos são mostradas na Tabela 13, considerando a significância de 95% ($p < 0,05$).

Tabela 13 - Inibição da acetilcolinesterase exibida pelos extratos hexânicos e etanólicos em comparação com o controle positivo

Controle e extratos	(%) Inibição
Eserina	91,5 ± 1,6 ^a
CSC-ET	85,6 ± 11,1 ^{ab}
CRÇ-ET	78,0 ± 6,8 ^{bc}
CSC-H	70,8 ± 9,7 ^{cd}
CRÇ-H	65,0 ± 8,9 ^d

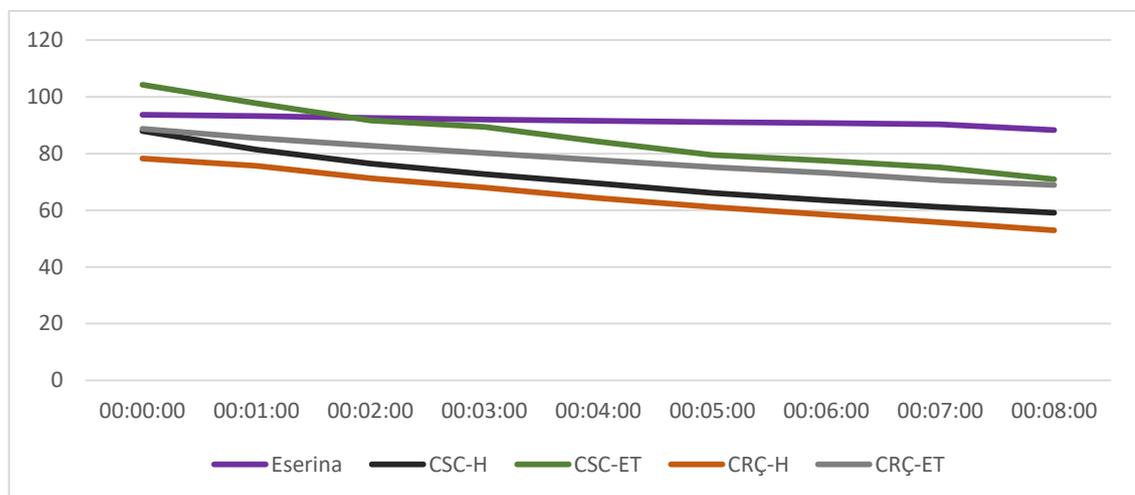
Dentre os extratos testados, CSC-ET apresentou a maior inibição da enzima AChE e não apresentou diferença significativa em relação ao padrão eserina ($p < 0,05$). Observaram-se diferenças significativas entre os extratos etanólicos e hexânicos, os primeiros apresentando maior atividade. Em geral, todos os extratos apresentaram uma média de inibição acima de 50% conforme pode ser visualizado na Figura 26. Esse resultado é promissor, pois tratam-se de extratos, em que a substância ativa encontra-se diluída, enquanto o controle eserina é um composto puro, com potente atividade anticolinesterásica.

Figura 26 – Porcentagem de inibição de AChE promovida pelas cascas e caroços de abacate



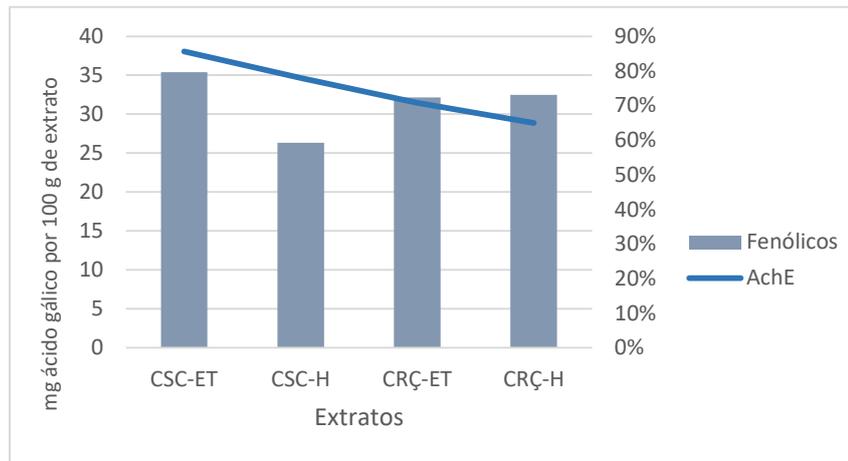
Na figura 27 apresenta-se a relação entre o tempo de reação e a porcentagem de inibição. Por meio do gráfico é possível perceber que o padrão eserina consegue manter inibição acima de 90% por mais tempo. O extrato CSC-ET, apesar de iniciar com inibição acima da porcentagem estabelecida pelo padrão, vai perdendo um pouco de sua capacidade inibidora com o passar do tempo. Os demais extratos também mostraram atividade inicial de aproximadamente 90%, mas também não conseguiram manter a alta atividade até o final das leituras.

Figura 27 – Relação de tempo e porcentagem de inibição exibidos pelos extratos hexânicos e etanólicos



Stasiuk *et al.* (2011) produziram extratos metanólicos da casca interna de castanhas de caju e isolaram compostos para avaliar quanto a capacidade de inibir AChE. Nesse estudo os autores encontraram ácido gálico, um composto fenólico, nas peles da castanha, e atribuíram a atividade anticolinesterásica a esse composto. Na figura 28 a presença de compostos fenólicos foi relacionada com o ensaio de inibição de acetilcolinesterase. Para o extrato CSC-ET foi observada relação diretamente proporcional entre quantidade de compostos fenólicos totais e inibição de AChE. Tal fato não foi detectado para os outros extratos, sendo percebida relação inversa para os extratos hexânicos e etanólicos do caroço. Compostos fenólicos, já conhecidos por sua capacidade antioxidante, também estão envolvidos com a atividade anticolinesterásica.

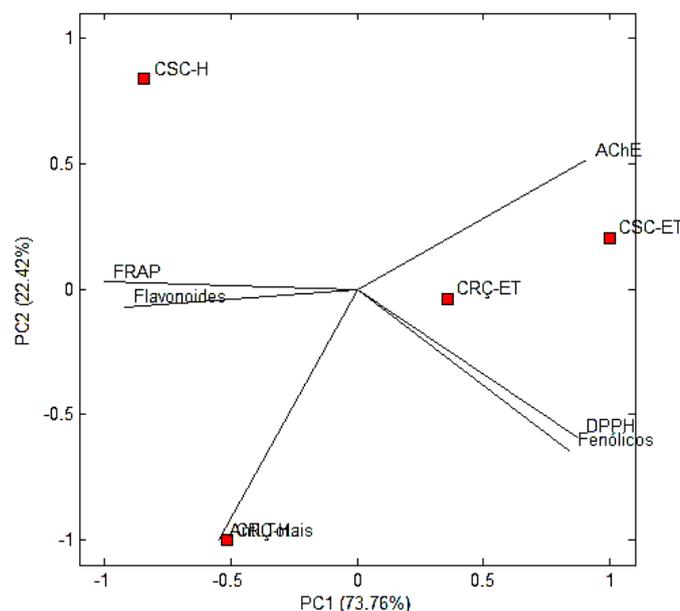
Figura 28 - Relação entre a inibição da AChE e a presença de compostos fenólicos



Nos testes preliminares em CCD, foi detectada a presença alcaloides (Dragendorff), flavonoides e fenóis (NP/PEG) nos extratos. Os testes são qualitativos, porém corroboram com estudos que relacionam a presença de compostos fenólicos com a capacidade de inibição de AChE. Além disso, alcaloides são usados em medicamentos durante o tratamento de doenças neurodegenerativas, como no caso da galatamina. A presença de alcaloides pode estar ligada à alta capacidade de inibição da AChE encontrada nos extratos.

O gráfico de componentes principais (PCA) permite uma visualização mais resumida de forma qualitativa dos resultados obtidos nos ensaios. Em análise PCA (Figura 29), o PC1 explica melhor a técnica utilizada correspondendo a 73,76%.

Figura 29 - Gráfico de componentes principais, relacionando os ensaios antioxidantes e o ensaio de AChE



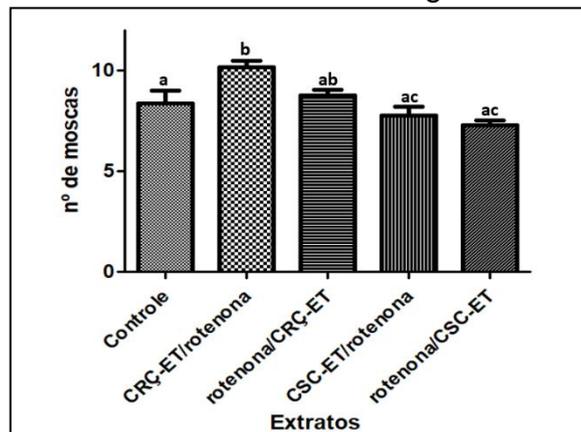
No gráfico de PCA observou-se que os extratos etanólicos estão associados à presença de compostos fenólicos, com ensaio de DPPH e atividade antiacetilcolinesterásica. O extrato CSC-ET possui a associação mais próxima com o ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase. O extrato CRÇ-H está mais relacionado com o teor de antioxidante totais, assim como o extrato CSC-H está associado com FRAP e flavonoides totais. Os extratos hexânicos CRÇ-H e CSC-H estão mais distantes do ensaio de AChE e possuem menor atividade para anticolinesterásica, observada no estudo.

5.14 ENSAIO DE NEUROPROTEÇÃO

O efeito dos extratos nas moscas foi avaliado e os resultados foram submetidos ao teste estatístico de normalidade *Shapiro-Wilk*, apresentando $p < 0,05$ indicando que a distribuição não é normal. Portanto seguiu-se utilizando o teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* identificando diferença significativa e posteriormente foi utilizado o teste *Dunn's* que identificou diferença significativa $p < 0,05$ entre as amostras.

O extrato da casca não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) do controle, mostrando que o mesmo não gerou toxicidade as moscas. O efeito nas moscas expostas primeiramente ao extrato CRÇ-ET e depois à rotenona diferiu do controle, e também foi diferente ($p < 0,05$) em relação às moscas expostas primeiramente ao extrato das cascas e posteriormente à rotenona (vice-versa). Esse resultado indica que o extrato etanólico do caroço (CRÇ-ET) obteve melhor efeito neuroprotetor, uma vez que a maioria das moscas expostas primeiramente ao extrato conseguiu sobrevoar normalmente depois de ficar em contato com alimento suplementado com o composto neurotóxico. Na figura 30 apresenta-se a quantidade de moscas que conseguiram sobrevoar acima da metade do comprimento do tubo falcon, limite proposto no teste.

Figura 30- Resultados do teste de geotaxia negativa



A maior taxa de mortalidade durante o ensaio ocorreu com as moscas expostas primeiramente à rotenona. Além disso, o extrato CRÇ-ET obteve resultado significativo quando comparado com o controle, apresentando maior número de moscas vivas e capazes de sobrevoar acima do limite determinado, o que sugere maior eficiência do que o controle (alimento não suplementado com extratos ou rotenona) (Tabela 14).

Tabela 14- Resultados em porcentagem do teste geotaxia negativa

Extratos e controle	(%) Moscas
rotenona/CRÇ-ET	72,9 ^b
CRÇ-ET/rotenona	84,7 ^c
rotenona/CSC-ET	60,4 ^{ab}
CSC-ET/rotenona	64,6 ^a
controle	69,4 ^{ab}

O modelo utilizando *Drosophila melanogaster* também foi usado por Jiménez *et al.* (2017), demonstrando capacidade neuroprotetora para o extrato metanólico de *Solanum ovalifolium*. Ortega *et al.* (2019) testaram extratos metanólicos de cascas de *P. americana*. A técnica utilizada por eles tenha sido diferente daquela utilizada neste trabalho, pois os autores cultivaram *D.melanogaster* e depois os machos foram submetidos a análise via *Western Blotting*. Ainda assim, aquelas análises também comprovaram que o extrato testado tem potencial neuroprotetor.

6. CONCLUSÕES

Todos os extratos apresentaram atividade biológica, sendo os extratos etanólicos mais promissores para extração de compostos bioativos.

Os extratos hexânicos e etanólicos do caroço exibiram maior concentração de ácido linoleico, o que provavelmente está associado à destacada atividade neuroprotetora observada no respectivo extrato etanólico. Ambos extratos etanólicos das cascas e caroços exibiram maior quantidade de ácido esteárico.

Os extratos da casca de abacate analisados no estudo mostraram-se mais rico em substâncias com atividade antioxidante independente do solvente extrator. O extrato etanólico das cascas mostrou-se mais promissor para o desenvolvimento de nutraceutico rico em compostos fenólicos, com potencial para ser utilizado em pacientes portadores de Alzheimer.

REFERÊNCIAS

- ADEMOYEGUN, O. Antioxidant Properties of *Persea Americana* M. Seed as Affected by Different Extraction Solvent. **Journal of Advances in Food Science & Technology**, v. 3-2, p. 101-106, 2016. DOI <10.13140/RG.2.1.1714.2165> acesso em 28 de novembro de 2019.
- ADIKARAM, N.K.B.; EWING, D.F.; KARUNARATNE, A.M.; WIJERATNE, E.M.K. Antifungal Compounds From Immature Avocado Fruit Peel. **Phytochemistry**, v. 31-1, p. 93-96, 1992. DOI <https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83013-B> acesso em 21 fevereiro de 2020.
- AHMED, S. I.; HAYAT, M.Q.; MUHAMMAD, Q.; TAHIR, M.; MANSOOR, Q.; ISMAIL, M.; KECK, K.; BATES, R. B. Pharmacologically Active Flavonoids From The Anticancer, Antioxidant and Antimicrobial Extracts of *Cassia angustifolia* Vahl. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.16-460, p. 1-9, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1443-z> acesso em 20 de outubro de 2019.
- ALMEIDA, G. V. B. **O Abacate no Mundo**, no Brasil e na Ceagesp de São Paulo, CEAGESP. São Paulo, 2018. Acesso em 20 de março de 2019.
- AMADO, D. A. V.; HELMANN, G. A. B.; DETONI, A. M.; CARVALHO, S. L. C.; AGUIAR, C. M.; MARTIN, C. A.; TIUMAN; T. S.; COTTICA, S. M. Antioxidant and Antibacterial Activity and Preliminary Toxicity Analysis of Four Varieties of Avocado (*Persea americana* Mill.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22- e2018044, p. 1-11, 2019. DOI <https://doi.org/10.1590/1981-6723.04418> acesso em 14 de novembro de 2019.
- ANTASIONAS, I.; RIYANTO, S.; ROHMAN, A. Antioxidant Activities and Phenolics Contents of Avocado (*Persea americana* Mill.) Peel *in vitro*. **Research Journal of Medicinal Plants**, v.11, p. 55-61, 2017. Disponível em <https://scialert.net/abstract/?doi=rjmp.2017.55.61> acesso em 25 de novembro de 2019.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, v. 2. 5ª Ed. Brasília, 2010. Acesso em 20 de março de 2019.
- AQUINO, C. F.; SALOMÃO, L. C.C.; SANT'ANA, H.M.P.; RIBEIRO, S. M. R.; SIQUEIRA, D. L.; CECON, P.R. Carotenoids in The Pulp and Peel of Bananas From 15 Cultivars in Two Ripening Stages. **Revista Ceres**, v. 65-3, p. 217-226, 2018. DOI <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737x201865030001> acesso em 24 de setembro de 2019.
- ARANTES, A. E. M. A.; TEIXEIRA, F. A.; ANDRADE, J. J.; SILVA, M. O.; COSTA, M. E. Perfil Agroexportador Brasileiro, 2003-2014: Crescimento Econômico Com Desenvolvimento Social. **Revista de Economia Mackenzie**, v. 15-2, p. 132-157, 2018. Disponível em: <http://editorarevistas.mackenzie.br/index.php/rem/article/view/11573> acesso em 30 de novembro de 2019.

ARIAS, F.; MONTOYA, C.; VELÁSQUEZ, O. Dinámica del Mercado Mundial de Aguacate. **Revista Virtual Universidad Católica del Norte**, v. 55, p. 22 -35, 2018. DOI <10.35575/rvucn.n55a2> acesso em 4 de dezembro de 2019.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Gaithersburg: Published by AOAC International, 2012. Acesso em 8 de outubro de 2019.

AUGUSTA, I. M.; RESENDE, J.M.; BORGES, S.V.; MAIA, M. C. A.; COUTO, M. A. P. G. Caracterização Física e Química da Casca e Polpa de Jambo Vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry). **Food Science and Technology**, v. 30-4, p. 928-932, 2010. DOI <<https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000400014>> acesso em 30 de novembro de 2019.

BHUYAN, D.J.; ALSHERBINY, M.A.; PERERA, S.; LOW, M.; BASU, A.; DEVI, O. A.; BAROOAH, M.S.; LI, C.G.; PAPOUTSIS, K. The Odyssey of Bioactive Compounds in Avocado (*Persea americana*) and Their Health Benefits. **Antioxidants**, v. 8-10, p. 1-50, 2019. DOI <10.3390/antiox8100426> acesso em 20 de novembro de 2019.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12- 2, p. 123-130, 1999. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52731999000200001>> acesso em 21 de novembro de 2019.

BRASIL - Desperdício de Alimentos: Questões Socioambientais, Econômicas e Regulatórias. (Boletim Legislativo nº 41, fevereiro de 2016) **Núcleo de Estudos e Pesquisas / CONLEG / Senado**, Brasília. Fevereiro de 2016. Disponível em: <www.senado.leg.br/estudos> acesso em 25 de novembro de 2019.

BRASIL - Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Executiva. **Plano Nacional De Desenvolvimento Da Fruticultura**. Brasília: SPI, 2018. 43 p. Acesso em 8 de outubro de 2019.

BRASIL - Ministério do Desenvolvimento Social. Câmara intersectorial de segurança alimentar e nutricional. **Intersectoral Strategy for the Reduction of Food Loss and Waste in Brazil**. Brasília: CAISAN, 2017. 40 p. Acesso em 8 de outubro de 2019.

BRAUER, V.S.; REZENDE, C.P.; PESSONI, A.M.; DE PAULA, R.G.; RANGAPPA, K.S.; NAYAKA, S.C.; GUPTA, V.K.; ALMEIDA, F. Antifungal Agents in Agriculture: Friends and Foes of Public Health. **Biomolecules**, v 9-10, p. 1-21, 2019. DOI <<https://doi.org/10.3390/biom9100521>> acesso em 21 fevereiro de 2020.

CAI, H.; LIN, L.; DING, S.; CUI, X.; CHEN, Z. Fast Quantification of Fatty Acid Profile of Intact Fish by Intermolecular Double-Quantum Coherence ¹H-NMR Spectroscopy. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.118-8, p. 1150–1159, 2016. DOI <<https://doi.org/10.1002/ejlt.201500309>> acesso em 8 de outubro de 2019.

CARNEIRO, A. C.O.; VITAL, B.R.; FREDERICO, P. G. U.; CARVALHO, A. M. M. L.; VIDAURRE, G. B. PROPRIEDADES de chapas de aglomerado fabricadas com adesivo tânico de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) e uréia-

formadeído. **Revista Árvore**, v. 33-3, p. 521-531, 2009. DOI <<https://doi.org/10.1590/S0100-67622009000300014>> acesso em 13 de outubro de 2019.

CARVALHO, R.B. F.; ALMEIDA, A. A. C.; FREITAS, R.M.; LIMA, L. S.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M.; FEITOSA, C. M. Composição Química e Atividade Anticolinesterásica de uma Fração Ativa do Extrato de Folhas de *Citrus limon (L.) Burm.* **Química Nova**, v. 36 -9, p. 1375-1379, 2013. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422013000900017>> acesso em 1 de outubro de 2019.

CEAGESP, **Normas de classificação**. Programa Brasileiro para a Modernização da horticultura. v. 13, n.1, São Paulo, 2015. Acesso em 10 de maio de 2019.

CHAI, W.M.; WEI, Q.M.; DENG, W.L.; ZHENG, Y.L.; CHEN, X.Y.; HUANG, Q.; YANG, C.O.; PENG, Y.Y. Anti-melanogenesis Properties of Condensed Tannins From *Vigna Angularis* Seeds With Potent Antioxidant and DNA Damage Protection Activities. **Journal of Food Function**, v.10, p. 99–111. 2019. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/fo/c8fo01979g#!divAbstract>> acesso em 5 de dezembro de 2019.

CHAI, W.; YANG, C. O.; MA, Z.; SONG, S.; HUANG, Q.; WEI, Q.; PENG, Y. Anti- α -glucosidase and Antityrosinase Activity of Condensed Tannins From the Bark of *Clausena lansium (Lour.) Skeels* with antiproliferative and Apoptotic Properties in B16 Mouse Melanoma Cells. **Process Biochemistry**, v. 86, p. 205-214, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.08.005>. 2019. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511319308025>> acesso em 26 de novembro de 2019.

CHIERRITO, T.P.C. **Síntese de potencial inibidor de acetilcolinesterase para tratamento da Doença de Alzheimer**. 2016. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016. Acesso em 02 de outubro de 2019.

CHIL, I.; MOLINA, S.; ORTIZ, L.; DUTOK, C.; SOUTO, R. Estado del Arte de la Especie *Persea americana Mill* (aguacate). **Amazonia-investiga**, v. 8-21, p. 73-86, 2019. Disponível em <<http://www.udla.edu.co/revistas/index.php/amazonia-investiga>> acesso em 27 de novembro de 2019.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R.; SALGADO, H.R.N. Radicais Livres e Antioxidantes: Conceitos Fundamentais Para Aplicação em Formulações Farmacêuticas e Cosméticas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88-3, p. 113-118, 2006. Disponível em: <http://rbfarma.org.br/files/PAG_113a118_RADICAIS.pdf> acesso em 11 de outubro de 2019.

CUSTÓDIO, D. L.; JUNIOR, V. F. V. Lauraceae alkaloids. **Royal Society of Chemistry**, v. 4, p. 1-12, 2014. DOI <10.1039/C4RA02516D> acesso em 4 de outubro de 2019.

DEMENTIA- Key facts. **World Health Organization**, 19 set. 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>> acesso em 5 de dezembro de 2019.

DERAKHSHAN, Z.; FERRANTE, M.; TADI, M. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Ethanolic Extract of Pomegranate Peels, Juice and Seeds. **Food And Chemical Toxicology**, v. 114, p. 108-111, 2018. DOI <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.023>> acesso em 4 de dezembro de 2019.

DHANASEKARAN, S.; PALAYYAN, M.; PANNEERSELVAM, P. Isolation, Characterization and in Silico Pharmacological Screening of Medicinally Important Bioactive Phytoconstituents From the Leaves of *Ipomoea aquatica* Forsk. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6-2, p. 262-267, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/282820989_Isolation_characterization_and_in_silico_pharmacological_screening_of_medicinally_important_bioactive_phytoconstituents_from_the_leaves_of_Ipomoea_aquatica_forsk> acesso em 20 de novembro de 2019.

DUARTE, P. F.; CHAVES, M. A.; BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. B. Avocado: Characteristics, Health Benefits and Uses. **Ciência Rural**, v.46-4, p. 747-754. 2016. DOI <<https://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20141516>> acesso 20 de setembro de 2019.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRESS J.R.V.; FEATHERSTONE, R. M. A. New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7-2, p. 88-90, 1961. DOI <[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)> acesso em 20 de maio de 2019.

FAGUNDES, M.C.P.; OLIVEIRA, A.F.; CARVALHO, V. L.; RAMOS, J. D.; SANTOS, V. A.; RUFINI, J. C. M. Alternative Control of Plant Pathogen Fungi Through Ethanolic Extracts of Avocado Seeds (*Persea Americana Mill.*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61- e18180052, 2018. <<https://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2018180052>> acesso em 27 de novembro de 2019.

FALCÃO, M. A.; PARALUPPI, N.D.; CLEMENT C. R.; KERR W. E.; SILVA M. F. Fenologia e produtividade do Abacate (*Persea americana Mill.*) na Amazônia Central1. **Acta Amazonica**, v. 31-1, p. 3-9, 2001. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/1809-43922001311009>> acesso em 1 de outubro de 2019.

FALCO, A.; CUKIERMAN, D.S.; HAUSER-DAVIS, R. A.; REY, N. A. Doença de Alzheimer: Hipóteses Etiológicas e Perspectivas de Tratamento. **Química Nova**, v. 39-1, p. 63-80, 2016. DOI <<http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150152>> acesso em 21 de setembro de 2019.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Bananas and Major Tropical Fruits in Latin America and the Caribbean**, The significance of the region to world supply, Special Features. 2019. Acesso em 27 de novembro de 2019.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food losses and waste in the context of sustainable food systems**. A report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security, Rome 2014. Acesso 10 de setembro de 2019.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention**, Rome. 2011. Acesso 8 de setembro de 2019.

FERRARI, R. A. Nota Científica: Caracterização Físico-Química do Óleo de Abacate Extraído por Centrifugação e dos Subprodutos do Processamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18-1, p. 79-84, 2015. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.4014>> acesso em 28 setembro de 2019.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais Livres: Conceitos, Doenças Relacionadas, Sistema de Defesa e Estresse Oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43-1, p. 61-68, 1997. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>> acesso em 30 de setembro de 2019.

FLÔRES, D. G.; QUARANTINI, L.C. Delirium e Deficiência Colinérgica, **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.10-3, p. 231-235, 2011. DOI: <<http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v10i3.5882>> acesso em 21 de setembro de 2019.

FRIAS, U. A.; COSTA, M.C. M.; TAKAHASHI, J. A. Caracterización Fitoquímica y de las Actividades Antibacterianas y Anticolinesterasa de *Banisteriopsis Anisandra* A. Juss. (Malpighiaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 16-1, p. 60-71, 2011. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000100007&lng=es&nrm=iso> acesso em 1 de outubro de 2019.

GHOSH, M.; UPADHYAY, R.; MAHATO, D. K.; MISHRA, H.N. Kinetics of lipid Oxidation in Omega Fatty Acids Rich Blends of Sunflower and Sesame Oils Using Rancimat, **Food Chemistry**, v. 272-2019, p. 471-477, 2018. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.072>> acesso em 20 de novembro de 2019.

GONÇALVES, L.D.A.; MAGALHÃES, G. L. Hambúrguer Bovino com Substituição da Gordura por Farinha da Casca de Maracujá. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 13-4, p. 489-494, 2018. DOI: <<http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v13i4.5773>> acesso em 22 de setembro de 2019.

HOELTZ, M.; MONEZZI, L. P.; MANFROI, V.; NOLL, I.; DOTTORI, H. A. Ocratoxina A: Análise da Qualidade de Vinhos Brasileiros e Importados. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15(spe), p. 58-63, 2012. Disponível em <<https://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232012005000039>> acesso em 27 de novembro de 2019.

HORLINGS, L.G.; MARSDEN, T.K. Towards The Real Green Revolution? Exploring The Conceptual Dimensions of a New Ecological Modernisation of Agriculture That Could 'Feed The World'. **United Kingdom**, v. 21, p. 441-452, 2011. Acesso em 19 de setembro de 2019.

HU, F.; TU, X-F.; THAKUR, K.; HU, F.; LI, X-L.; ZHANG, Y-S.; ZHANG, J-G.; WEI, Z-J. Comparison of Antifungal Activity of Essential Oils From Different Plants Against Three Fungi. **Food and Chemical Toxicology**, v.134, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110821>> Acesso em 21 fevereiro de 2020.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**. 2018. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. Acesso em 26 de setembro de 2019.

INGLETT, G. E.; CHEN, D. Contents of Phenolics and Flavonoids and Antioxidant Activities in Skin, Pulp, and Seeds of Miracle Fruit. **Journal of Food Science**, v. 76-3, 2011. DOI <<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02106.x>> acesso 28 de novembro de 2019.

JIMENEZ, P.E.; TOVAR, J.; MOSQUERA, O.M.; CARDOZO, F. Actividad Neuroprotectora de *solanum ovalifolium* (solanaceae) Contra la Toxicidad Inducida Por Rotenona en *Drosophila melanogaster*. **Revista Facultad de Ciencias Básicas**, v. 13, p. 26-34, 2017. DOI <10.18359/rfcb.2751> acesso em 20 de novembro de 2019.

KIM, J.H.; CHOI, G.N.; KWAK, J.H.; JEONG, H. R.; JEONG, C.H.; HEO, H.J. Neuronal Cell Protection and Acetylcholinesterase Inhibitory Effect of the Phenolics in Chestnut Inner Skin. **Food Sci. Biotechnol**, v. 20-2, p. 311-318, 2011. DOI <10.1007/s10068-011-0044-3> acesso em 24 de novembro de 2019.

MARANGONI, F.; AGOSTONI, C.; BORGHI, C.; CATAPANO, A. L.; CENA, H.; GHISELLI, L. V.; LERCKER, G.; MANZATO, E.; PIRILLO, A.; RICCARDI, G.; RISÉ, P.; VISIOLI, F.; POLI, A. Dietary linoleic acid and human health: Focus on cardiovascular and cardiometabolic effects. **Atherosclerosis**, v. 292, p. 90-98, 2020. DOI <<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.11.018>>__acesso em 28 de novembro de 2019.

MARQUES, A.; CHICAYBAM, G.; ARAUJO, M. T.; MANHÃES, L. R.T.; SABAA-SRUR, A. U. O. Composição Centesimal e de Minerais de Casca e Polpa de Manga. (*Mangifera indica* L.) Cv. Tommy Atkins. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32-4, p. 1206-1210, 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v32n4/AOP%2012410.pdf>> acesso em 21 de outubro de 2019.

MAURO, A. K.; SILVA, V. L. M.; FREITAS, M.C.J. Caracterização Física, Química e Sensorial de Cookies Confeccionados com Farinha de Talo de Couve (FTC) e Farinha de Talo de Espinafre (FTE) Ricas em Fibra Alimentar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30-3, p. 719-728, 2010. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000300024>> acesso em 19 de setembro de 2018.

MAZOYER, M.; ROUDART, L. **História das Agriculturas no Mundo: do Neolítico à Crise Contemporânea** [tradução de Cláudia F. Falluh Balduino Ferreira]. – São Paulo: Editora UNESP; Brasília, DF: NEAD, 2010. Acesso em 10 de maio de 2019.

MELO, G.O.; COSTA, S.S. Produtos Naturais Para o Tratamento da Doença de Alzheimer: Promessa e Desafio. **Revista Fitos**, v. 1-2, p. 41-47, 2005. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19135>> acesso em 1 de outubro de 2019.

MONTERROZA, E. J. P.; CARDOZO, C.J. M.; VELÁSQUEZ, H.J. C. Rheological Behavior of Avocado (*Persea americana* Mill, cv. Hass) Oleogels Considering the

Combined Effect of Structuring Agents, LWT. **Food Science and Technology**, v. 59-2, p. 673-679, 2014. DOI <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.020>> acesso em 5 de dezembro de 2019.

MORAIS, D. R.; ROTTA, E. M.; SARGI, S. C.; SCHMIDT, E. M.; BONAFE, E.G.; EBERLIN, M. N.; SAWAYA, A. C.H.F.; VISENTAINER, J. V. Antioxidant Activity, Phenolics and UPLC–ESI(–)–MS of Extracts From Different Tropical Fruits Parts and Processed Peels. **Food Research International**, v. 77-3, p. 392-399, 2015. DOI <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.036>> acesso em 25 de novembro de 2019.

MOREIRA, N.X.; CURI, R.; MANCINI F. J. Ácidos Graxos: Uma Revisão. *Nutrire. Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, v.24, p. 105-123, 2002. Disponível em <http://sban.cloudpainei.com.br/files/revistas_publicacoes/47.pdf> acesso em 20 de novembro de 2019.

MOUCO, M. A. C.; LIMA, M. A. C. **Reguladores Vegetais no Manejo da Produção e Qualidade de Abacate no Semiárido Brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semiárido - Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 2014. 23 p. Acesso em 13 de abril de 2019.

NASCIMENTO FILHO, W.B.; FRANCO, C. R. Avaliação do Potencial dos Resíduos Produzidos Através do Processamento Agroindustrial no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 7-6, p.1968-1987, 2015. DOI <10.5935/1984-6835.20150116> acesso em 27 de novembro de 2019.

NITRAYOVÁ, S.; BRESTENSKÝ, M.; HEGER, J.; PATRÁŠ, P.; RAFAY, J.; SIROTKIN, A. Amino Acids and fatty Acids Profile of Chia (*Salvia hispanica L.*) e Flax (*Linum usitatissimum L.*) Seed. *Potravinárstvo Slovak. Journal of Food Sciences*, v. 8-1, p. 72-76, 2014. DOI <<https://doi.org/10.5219/332>> acesso em 24 de novembro de 2019.

NWAOKOBIA, K.; OGUNTOKUN, M. O.; OKOLIE, P. L.; OGBORU, R. O.; IDUGBOE, O. D. Evaluation of the Chemical Composition of *Persea americana* (Mill) Pulp and Seed. **Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery**, v. 3-4, p. 83-89, 2018. DOI <<https://doi.org/10.31248/JBBD2018.071>> acesso em 28 de novembro de 2019.

OLIVEIRA, N.A.S; WINKELMANN, D. O. V; TOBAL, T. M. Farinhas e Subprodutos da Laranja Sanguínea-de-Mombuca: Caracterização Química e Aplicação em Sorvete. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. 1-8, 2019. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.24618>> acesso em 30 de novembro de 2019.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **Demência: Prioridade da Saúde Pública**, Genebra. 2012. Acesso em 10 de dezembro de 2019.

ONU. Organização das Nações Unidas Para a Alimentação. **Desperdício de alimento**, convenção ABRAS 2017, São Paulo Brasil. 2017. Acesso em 24 de maio de 2019

ORSAVOVA, J.; MISURCOVA, L.; AMBROZOVA, J.V.; VICHA, R.; MLCEK, J. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and

Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16-6, p. 12871-12890, 2015. DOI <10.3390/ijms160612871> acesso em 24 de novembro de 2019.

ORTEGA, A.H.F.; JIMENEZ, D.R.M.; VELEZ, P. C. Neuroprotective Effects of Methanolic Extract of Avocado *Persea americana* (var. Colinred) Peel on Paraquat-Induced Locomotor Impairment, Lipid Peroxidation and Shortage of Life Span in Transgenic knockdown Parkin *Drosophila melanogaster*. **Neurochem Research**, v. 44, p. 1986-1998, 2019. DOI <<https://doi.org/10.1007/s11064-019-02835-z>> acesso em 4 de dezembro de 2019.

OSUNTOKUN, O. T.; AKINOLA, M.O.; ALADEJANA, O.M.; OGUNLADE, A.O. Efficacy of Essential Oils from *Persea americana* Stem Bark and Seed Extracts. **Journal of Applied Microbiology and Biochemistry**, v.1-3:12, p.1-6, 2017. <DOI: 10.21767/2576-1412.100012> acesso em 20 de outubro de 2019.

PARBUNTARI, H. Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (*Theobroma Cacao* L.). **Eksakta**, v. 19, p. 40-45, 2018. DOI <10.24036/eksakta/vol19-iss02/142> acesso em 29 de novembro de 2019.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Dietary Antioxidants: Chemical and Biological Importance. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 34-3, p. 231-247, 2009. Disponível em <http://sban.cloudpainei.com.br/files/revistas_publicacoes/263.pdf> acesso em 25 de novembro de 2019.

PERMAL, R.; CHANG, W. L.; SEALE, B. Converting Industrial Organic Waste from the Cold-Pressed Avocado Oil Production Line Into a Potential Food Preservative. **Food Chemistry**, v. 306, p. 125635-125637, 2020. DOI <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125635>> acesso em 29 de dezembro de 2019.

PÉREZ-MONTERROZA, E. J.; MÁRQUEZ-CARDOZO, C. J.; CIRO-VELÁSQUEZ, H. J. Rheological Behavior of Avocado (*Persea americana* Mill, cv. Hass) Oleogels Considering the Combined Effect of Structuring Agents. **Food Science and Technology**, v. 59-2, p. 673-679, 2014. DOI <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.020>> acesso em 10 de outubro de 2019.

PIAZZA, S.P.; DUARTE, P. F.; WANDERLEY, L. A.S., MURARO, K.; VERLINDO, R.; SECCO, M.C.; CANSIAN, R.L.; PAROUL, N. Avaliação da Atividade Antioxidante dos Extratos da Casca de Abacate (*Persea Sp.*). **Perspectiva**, v. 42-159, p. 89-96, 2018. Disponível em <http://www.uricer.edu.br/site/pdfs/perspectiva/159_726.pdf> acesso em 19 de setembro de 2019.

PIOVESANA, A.; BUENO, M. M.; KLAJN, V. M. Elaboração e Aceitabilidade de Biscoitos Enriquecidos com Aveia e Farinha de Bagaço de Uva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16-1, p. 68-72, 2013. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232013005000007>> acesso em 19 de novembro de 2019.

PIRES, J.; TORRES, P. B.; SANTOS, D.Y.A.C. FUNGYI, C. Ensaio em Microplaca do Potencial Antioxidante Através do Método de Sequestro do Radical Livre DPPH Para Extratos de Algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, p. 1-6, 2017. Disponível em

<http://www2.ib.usp.br/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=72&Itemid=98> acesso em 20 de novembro de 2019.

POIRIER, J.; GAUTHIER, S. **Doença de Alzheimer: o Guia Completo**. São Paulo: MG Editores, 2016. 176 p. Traduções de Janaína Marcoantonio. Disponível em: <<https://bit.ly/2tqH5qN> > acesso em 25 de agosto de 2019.

RAATZ, S.K.; CONRAD, Z.; JAHNS, L.; BELURY, M.A.; PICKLO, M. J. Modeled Replacement of Traditional Soybean and Canola Oil With High-Oleic Varieties Increases Monounsaturated Fatty Acid and Reduces Both Saturated Fatty Acid and Polyunsaturated Fatty Acid Intake in the Us Adult Population. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 108-3, p. 594–602, 2018. DOI <<https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy127>> acesso em 4 de dezembro de 2019.

RAJU, V. S. S. G.; NARESHRAJU, N.; KANNABABU, S.; GOTTUMUKKALA, V. S. Determination of Catechin and Epicatechin Content in Chocolates by High-Performance Liquid Chromatography. **International Scholarly Research Notices**, v. 2014, p. 1-5, 2014. DOI <<https://doi.org/10.1155/2014/628196>> acesso 21 de outubro de 2019.

RHEE, I. K.; MEENT, M. V.; INGGANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for Acetylcholinesterase Inhibitors From Amaryllidaceae Using Silica Gel Thin-Layer Chromatography in Combination with Bioactivity Staining. **Journal Of Chromatography A**, v. 915-1/2, p. 217-223, 2001. DOI <[http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)00624-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673(01)00624-0)> acesso em 05 de outubro de 2018.

RENGIFO, P.; CARHUAPOMA, M.; ARTICA, L.; CASTRO, A.; LÓPEZ, S. Caracterización Y Actividad Antioxidante del Aceite de la Semilla de *Palta Persea americana mill.* **Ciencia e Investigación**, v.18-1, p. 33-36, 2015. Disponível em <<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13603>> acesso em 20 de setembro de 2019.

RUIZ, S.K.T. **Caracterización bromatológica de la semilla de aguacate (Persea americana) y extracción e identificación de la fracción con mayor actividad antimicrobiana y antioxidante**. 2018. 121 f. TCC (Graduação) - Curso de Química de Alimentos, Universidad Central del Ecuador, Quito, 2018. Acesso em 10 de setembro de 2019.

SADAVA, D.; HELLER, C.; BERENBAUM, M. R. **LIFE: The Science of Biology**. 9. ed. United States of America: Sinauer, 2011. 1392 p. Disponível em: <<https://archive.org/details/LifeTheScienceOfBiology9thEd./page/n3>> acesso em 19 de dezembro de 2019.

SALGADO, J. M.; DANIELI, F.; D'ARCE, M.A.B.R.; FRIAS, A.; MANSI, D.N. O Óleo de Abacate (*Persea americana Mill*) como Matéria-Prima Para a Indústria Alimentícia. **Ciencia e tecnologia de alimentos**, v. 28, p. 20-26, 2008. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000500004>> acesso 1 de outubro de 2019.

SALLA, S.; SUNKARA, R.; OGUTU, S.; WALKER, L.T.; VERGHESE, M. Antioxidant Activity of Papaya Seed Extracts Against H₂O₂ Induced Oxidative Stress in HepG2 cells, LWT. **Food Science and Technology**, v. 66, p. 293-297, 2016. DOI <[10.1016/j.lwt.2015.09.008](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.008)> acesso em 20 de novembro de 2019.

SANDE, D.; COLEN, G.; SANTOS, F. G.; FERRAZ, P.V.; TAKAHASHI, A. J. Production of Omega 3, 6, and 9 Fatty Acids From Hydrolysis of Vegetable Oils and Animal Fat with Colletotrichum Gloeosporioides Lipase. **Food Science and Biotechnology**, v. 27-2, p. 537-545, 2017. DOI < <https://doi.org/10.1007%2Fs10068-017-0249-1> > acesso em 19 de junho de 2019.

SCHUSTER, E.; DUNN, C. N.; FRISVAD, J.; VAN, D.P. On The Safety of Aspergillus Niger – A Review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 426–435, 2002. DOI <[10.1007/s00253-002-1032-6](https://doi.org/10.1007/s00253-002-1032-6)> acesso em 28 de novembro de 2019.

SHCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.; PELL, A.N. Analysis of Condensed Tannins: A Review. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, p. 21-40, 2001. DOI <[https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0)> acesso em 19 de outubro de 2019.

SHIVA, V. **Monoculturas da Mente: Perspectiva da Biodiversidade e da Biotecnologia**. [Tradução de Dinah de Abreu Azevedo]. São Paulo: Editora Gala, 2003. 240 p. Acesso em 13 de maio de 2019.

SILVA, M. R. **Análise da Distribuição de Alcalóides Piridínicos em Diferentes Fases Fenológicas de Senna Multijuga (Rich.) Irwin Et Barn**. 2011. 82 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2011. Acesso em 24 de setembro de 2019.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C.; **Spectrometric Identification of Organic Compounds**, 5th. ed., John Wiley & Sons: New York, 1991.

SKENDERIDIS, P., MITSAGGA, C., GIAVASIS, I. The in Vitro Antimicrobial Activity Assessment of Ultrasound Assisted Lycium Barbarum Fruit Extracts and Pomegranate Fruit Peels. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v 13, p. 2017–2031, 2019. DOI < <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00123-6>> acesso em 21 fevereiro de 2020.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante da Casca de Uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30-1, p. 59-64, 2008. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452008000100013>> acesso em 30 de setembro de 2019.

SUNDAY, A.; GILLIAN, I.; IGOLI, J. Fatty Acid Composition of Seed Oil from *Pachira aquatica* Grown in Nigeria. **Journal of Agriculture and Ecology Research International**, p.1-9, 2019. DOI <10.9734/jaeri/2019/v18i430065> acesso em 8 de outubro de 2019.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.- Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p. Acesso em 13 de maio de 2019.

TAKAHASHI, J. A.; LIMA, G. S.; DOS SANTOS, G. F.; LYRA, F. H.; DA SILVAHUGHES, A. F.; GONÇALVES, F. A. G. Fungos Filamentosos e Química: Velhos Conhecidos, Novos Aliados. **Revista Virtual de Química**. v. 9-6, 2017. < <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/TakahashiNoPrelo.pdf>> acesso em 21 de fevereiro de 2020.

TAKAHASHI, J.A.; SANDE, D.; LIMA, G. S.; MOURA, M.A.F.; LIMA, M.T.N.S. Fungal Metabolites as Promising New Drug Leads for the Treatment of Alzheimer's Disease. In: Atta-ur-Rahman. (Org.). **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 62, p. 1-39, 2019. DOI < <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64185-4.00001-0> > acesso em 21 de fevereiro de 2020.

TALABI, J. Y.; OSUKOYA, O. A.; AJAYI, O. O.; ADEGOKE G. O. Nutritional and Antinutritional Compositions of Processed Avocado (*Persea americana Mill*) Seeds. **Asian Journal of Plant Science and Research**, v. 6-2, p. 6-12, 2016. Disponível em <<http://www.imedpub.com/articles/nutritional-and-antinutritional-compositions-of-processed-avocado-persea-americana-mill-seeds.pdf>> acesso em 26 de outubro de 2019.

TANGO, J.S.; CARVALHO, C.R.L.; SOARES, N.B. Caracterização Física e Química de Frutos de Abacate Visando seu Potencial Para Extração de Óleo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26-1, p. 17-23, 2004. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452004000100007>> acesso em 10 de setembro de 2019.

THYBERG, K.; TONJES, D. Drivers of food waste and their implications for sustainable policy development. **Resources Conservation and Recycling**, v.106, p. 110-123, 2015. DOI <10.1016/j.resconrec.2015.11.016> acesso em 19 de novembro de 2019.

VALLIANATOU, T.; SHARIATGORJI, M.; NILSSON, A.; FRIDJONSDOTTIR, E.; KÄLLBACK, P.; SCHINTU, N.; SVENNINGSSON, P.; ANDRÉN, P.E. Molecular Imaging Identifies Age-Related Attenuation of Acetylcholine In Retrosplenial Cortex in Response to Acetylcholinesterase Inhibition. **Neuropsychopharmacology**, v. 44, p. 2091–2098, 2019. DOI: <10.1038 / s41386-019-0397-5> acesso em 20 de setembro de 2019.

VENTURA, A. L. M.; ABREU, P. A.; FREITAS, R.C.C.; SATHLER, P.C.; LOUREIRO, N; CASTRO, H. C. Cholinergic System: Revisiting Receptors, Regulation and The Relationship With Alzheimer Disease, Schizophrenia, Epilepsy and Smoking. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 37-2, p. 66-72, 2010. DOI <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-60832010000200007>> acesso em 13 de outubro de 2019.

VINHA, A.F.; MOREIRA, J.; BARREIRA, S. V. P. Physicochemical Parameters, Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of the Algarvian Avocado (*Persea americana Mill.*). **Journal of Agricultural Science**, v. 5-12, p. 100-109, 2013. DOI:<10.5539/jas.v5n12p100> acesso em 20 de novembro de 2019.

VLAHOV, G.; CHEPKWONY, P.K.; NDALUT, P. K. ¹³C NMR Characterization of Triacylglycerols of Moringa oleifera Seed Oil: An “Oleic-Vaccenic Acid” Oil. **ACS Publications**, v. 50-5, p. 970-975, 2002. DOI <<https://doi.org/10.1021/jf011054a>> acesso em 15 de novembro de 2019.

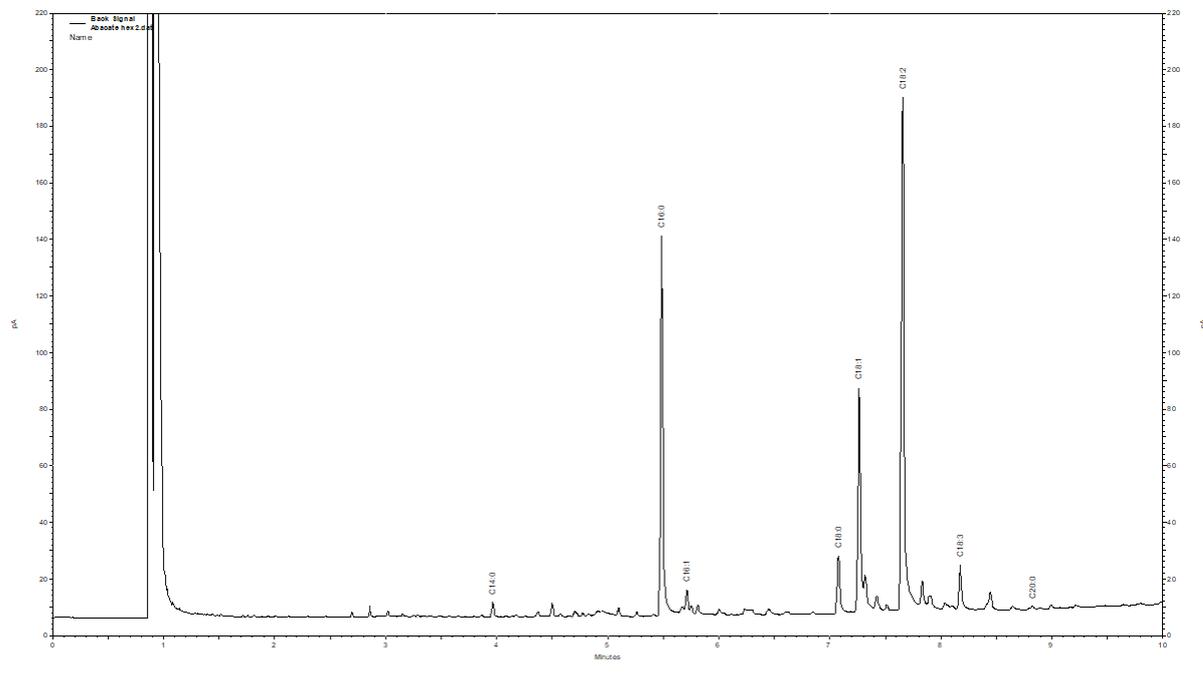
WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography Atlas**. Berlin Heidelberg London, New York. Springer-Verlag, 1996. 349-354 p.

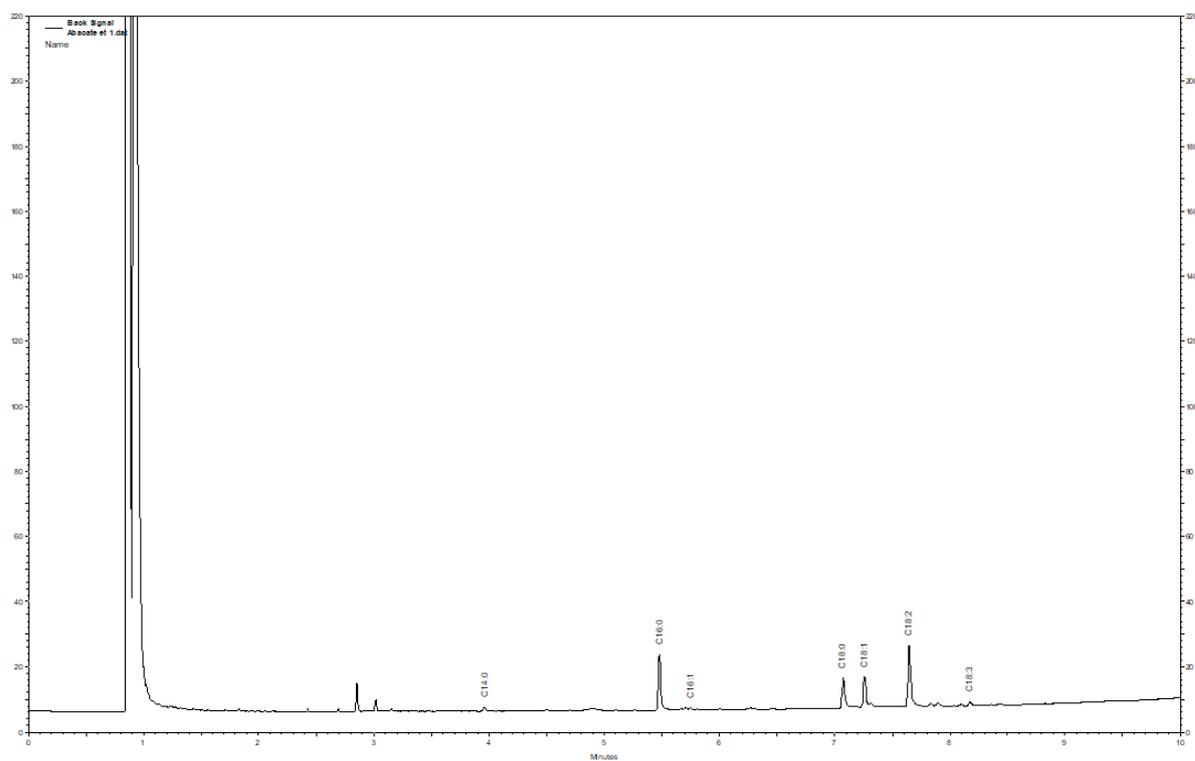
XIA, Y.; WANG, Q.; XU, Y.; YAN, J.; ZHOU, P.; LI, J.; GAO, H. Neurotransmitter Receptors and Cognitive Dysfunction In Alzheimer’s Disease and Parkinson’s Disease. **Progress in Neurobiology**, v. 97, p. 1-13, 2012. DOI <10.1016/j.pneurobio.2012.02.002> acesso em 5 de outubro de 2019.

ZENNI, R. S.; HELM, C. V.; TAVARES, L.B.B. Cascas Do Processamento de Palmito Para Uso na Alimentação Humana: Uma Abordagem Socioambiental. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 7-2, p. 279-299. 2018. Disponível em <<https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1095171/cascas-do-processamento-de-palmito-para-uso-na-alimentacao-humana-uma-abordagem-socioambiental>> acesso em 11 de outubro de 2019.

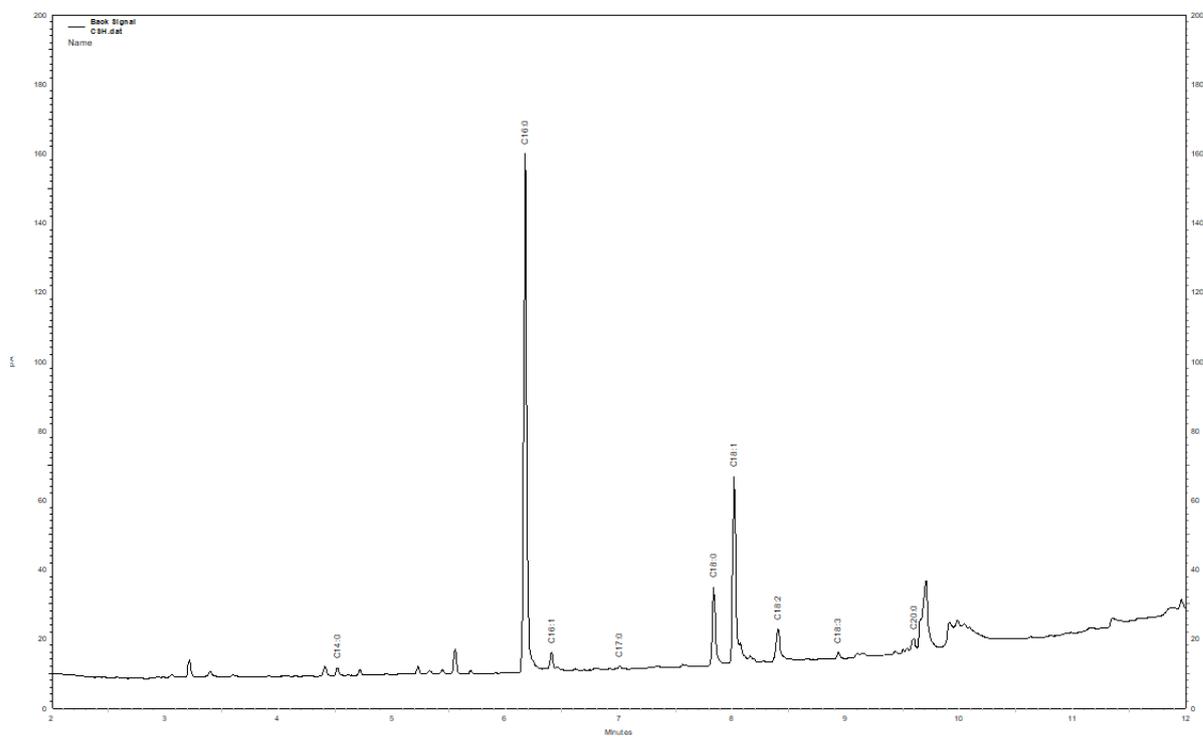
ZÚÑIGA, S.M.M.; GARCÍA, J.E.C.; GRIJALVA, E.P.G; MATEOS, R.G.; RUBIO, V. P.; HEREDIA, J. B. Fatty Acid Profile, Total Carotenoids, and Free Radical-Scavenging from the Lipophilic Fractions of 12 Native Mexican Avocado Accession. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74-4, p. 501-507, 2019. DOI <<https://doi.org/10.1007/s11130-019-00766-2>> acesso em 30 de novembro de 2019.

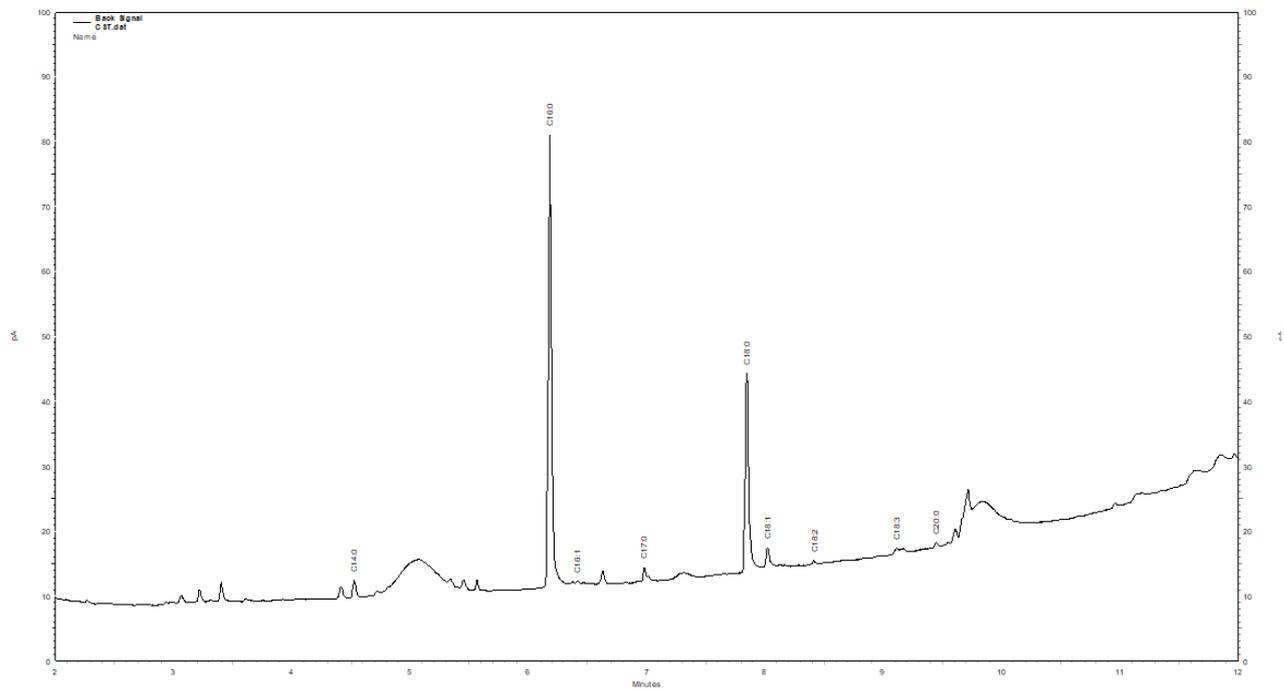
ANEXO A – Cromatograma (CG) do extrato hexânico do caroço (CRÇ-H)



ANEXO B – Cromatograma (CG) do extrato etanólico do caroço (CRÇ-ET)

ANEXO C – Cromatograma (CG) do extrato hexânico das cascas (CSC-H)



ANEXO D – Cromatograma (CG) do extrato etanólico das cascas (CSC-ET)

ANEXO E – Sinais de RMN ¹H presentes nos espectros dos extratos

Sinal	δ (ppm)	CRÇ-H	CRÇ-ET	CSC-H	CSC-ET
1	7,7-7,5	-	-	m	-
2	6,2	m	-	-	-
3	5,9 – 5,7	-	m	-	m
4	5,4-4,9	m	m	s	s
5	4,4	-	-	m	-
6	4,3-4,1	m	d	m	
7	3,9	-	m	-	m
8	3,8	-	-	-	m
9	3,6	d	-	-	-
10	3,3	-	-	-	s
11	2,9	-	t	-	-
12	2,8-2,7	m	m	-	-
13	2,4	-	-	-	m
14	2,1-2,0	-	m	-	-
15	1,3	-	t	-	-
16	1,2	-	s	-	s
17	0,8-0,9	-	m	-	m

Sinal: m= multipletto, s=simpleto, d=dupletto e t=tripletto.