

1 **Avaliação dos aspectos antimicrobianos e toxicológicos dos extratos**
2 **brutos secos de *Persea americana* Mill. (abacateiro)**

3
4 Brunna Larissa de Souza Melo Ferreira Maciel^{1*}, Yago Anderson de Lima Rocha¹ &
5 Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo²

6 ¹ Graduandos do curso de Bacharelado em Farmácia do Centro Universitário Tabosa de
7 Almeida (Asces-Unita)

8 ² Doutor em Produtos naturais e sintéticos bioativos pela Universidade Federal da
9 Paraíba (UFPB) e docente do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita)

10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21 **Autor correspondente:**

22 Brunna Larissa de Souza Melo Ferreira Maciel

23 Av. Portugal, 584 - Universitário, Caruaru - PE, 55016-400, Brasil

24 E-mail: 2015107108@app.asces.edu.br

25 Telefone: (87) 9.9811-432

RESUMO

A *Persea americana* Mill., popularmente conhecida como abacateiro, desperta interesse devido as suas propriedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, anti-inflamatória, entre outras. Objetivou-se a realização de um estudo de investigação microbiológica e toxicológica a partir do extrato bruto seco das folhas e do fruto da *Persea americana* Mill. Foram determinadas a atividade antimicrobiana frente a microrganismos patogênicos, mediante a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), determinação da concentração inibitória mínima de aderência (CIMA) e o potencial toxicológico agudo com determinação de CL₅₀ frente à *Artemia salina* Leach e fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) do extrato bruto seco desenvolvido, através de um delineamento laboratorial experimental. Tendo como resultados, nos testes de determinação de atividade antimicrobiana a não formação de halo nas concentrações e condições testadas, nos testes toxicológicos apresentou CL₅₀ 752,141 µg/mL para o extrato das folhas e CL₅₀ 394,567 µg/mL no extrato do fruto, e na FOE o extrato das folhas apresentou hemólise de 29,31% e o extrato do fruto apresentou hemólise de 1,06%, na maior concentração, onde demonstraram moderado percentual de lise das hemácias. Com isso, conclui-se que a *Persea americana* Mill. apresentou um certo grau de toxicidade e nenhuma ação frente à bactéria testadas.

Palavras-chave: Abacate, Medicina Tradicional, Fitoterapia.

51 **ABSTRACT**

52 *Persea americana* Mill., popularly known as avocado, arouses interest due to its
53 antioxidant, antibacterial, antifungal, anti-inflammatory properties, among others. The
54 objective was to carry out a study of microbiological and toxicological investigation
55 based on the dry crude extract of the leaves and fruit of the *Persea americana* Mill. The
56 antimicrobial activity against pathogenic microorganisms was determined by determining
57 the minimum inhibitory concentration (MIC), determining the minimum inhibitory
58 concentration of adhesion (CIMA) and the acute toxicological potential with
59 determination of LC₅₀ against *Artemia salina* Leach and erythrocyte osmotic fragility
60 (FOE) of the crude extract developed, through an experimental laboratory design. As a
61 result, in the antimicrobial activity determination tests, the non-halo formation in the
62 tested concentrations and conditions, in the toxicological tests presented LC₅₀ 752.141 µg
63 / mL for the leaf extract and LC₅₀ 394.567 µg / mL in the fruit extract, and in the FOE the
64 leaf extract showed hemolysis of 29.31% and the fruit extract showed hemolysis of
65 1.06%, in the highest concentration, where they showed a moderate percentage of red cell
66 lysis. With that, it is concluded that the *Persea americana* Mill. showed a certain degree
67 of toxicity and no action against the tested bacteria.

68
69 **Keywords:** Avocado, Traditional Medicine, Phytotherapy.

76 INTRODUÇÃO

77 As plantas medicinais são utilizadas desde a antiguidade, como formas terapêuticas
78 para tratar, curar e prevenir patologias. Esse uso é visto como uma Prática Integrativa e
79 Complementar em saúde (PICS) ofertado e incentivado pelo Sistema Único de Saúde
80 (SUS) no Brasil (Ministério da saúde, 2018). O reconhecimento da importância das
81 plantas no contexto da medicina tradicional e sua integração no setor de saúde pública
82 colaboram para um cuidado mais participativo, contribuindo para o desenvolvimento de
83 fármacos, oficializado pelo lançamento da Política Nacional de Plantas Mediciniais e
84 Fitoterápicos (PNPMF) aprovada por meio do Decreto N° 5.813 em 22 de junho de 2006.

85 A partir dessa PNPMF, foi lançada a Relação Nacional de Plantas Mediciniais de
86 Interesse do SUS (RENISUS). Na RENISUS encontra-se a *Persea americana* Mill,
87 popularmente conhecida como abacateiro. É uma planta pertencente ao gênero *Persea* da
88 família Lauraceae, com cerca de 150 espécies, originário do continente americano,
89 especialmente do México, da América Central e das Antilhas (Almeida et. al., 2018). Seus
90 frutos são comumente conhecidos como abacates e têm uma casca verde-oliva e sua polpa
91 amarela clara espessa é rica em óleos vegetais apreciados por seus atributos nutricionais.

92 O abacate é uma fruta energética que possui elevado teor lipídico e contém níveis
93 elevados de compostos bioativos, bem como β -sitosterol e Glutathione. Sua composição
94 nutricional é capaz de auxiliar na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis
95 (Almeida et. al., 2018). O β -sitosterol age na redução dos níveis de colesterol, ao inibir a
96 absorção intestinal do colesterol e diminuir a síntese de colesterol hepático, além disso,
97 apresenta propriedades bactericidas, antivirais, fungicidas e anti-inflamatórias (Credidio,
98 2010). A glutatoina também é um antioxidante, neutralizando a ação dos radicais livres.

99 Partindo disso, o presente estudo busca estudar novos recursos terapêuticos a base de
100 *Persea americana* Mill. Uma vez que, em outros estudos mostraram que o abacate possui

101 propriedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, anti-inflamatória, entre outras.
102 O Projeto de Pesquisa visa o estudo do potencial toxicológico e a atividade antimicrobiana
103 do extrato bruto seco das folhas e do fruto, confirmando e comparando com valores já
104 existentes na literatura.

105

106 **METODOLOGIA**

107 O presente estudo foi realizado nos laboratórios do Centro Universitário Tabosa
108 de Almeida (Asces-Unita) e teve delineamento do tipo exploratório experimental
109 laboratorial, onde foi avaliada a atividade antimicrobiana, potencial toxicológico agudo e
110 fragilidade eritrocitária do extrato bruto seco de *Persea americana* Mill.

111

112 **Preparação do extrato bruto seco (EBS) das folhas e do fruto da *Persea americana*** 113 **Mill.**

114 As folhas e os frutos da droga vegetal foram colhidos entre 7-9h da manhã, com a
115 parte vegetal com aspecto saudável, eliminando partes manchadas e deterioradas por
116 insetos. Logo após, foram pesadas frescas e lavadas com água corrente limpas e secas
117 com papel toalha, colocadas por um período de 24h a sombra e em seguida retirada na
118 estufa botânica à 40°C para secagem. Posteriormente, foram reduzidas a pó em moinho
119 industrial, encaminhadas à maceração com solução hidroalcolica a 95% v/v durante 7
120 dias. Depois foram filtradas para obtenção do extrato bruto fluido. Este teve a solução
121 extraída em evaporador rotativo à temperatura de 60°C. Após a evaporação de 95% da
122 solução, o extrato foi colocado em um dessecador a vácuo, até a secura total, quando se
123 obteve o extrato bruto seco do vegetal.

124

125 **Análise toxicológica**

126 *Determinação da CL₅₀ frente à Artemia salina Leach*

127 A determinação da CL₅₀ seguiu a metodologia descrita por Meyer et al., (1982).
128 Os ovos de *A. salina* Leach foram incubados em solução marinha em um recipiente de
129 plástico, sendo mantido sob iluminação artificial (lâmpada de 40 W), temperatura
130 constante de 28°C, por um período de 48 horas. Após este procedimento, se obteve o
131 estágio de metanúplio, modelo padrão para testes de toxicidade devido a sua maior
132 sensibilidade.

133 Foram utilizados 50 mg do extrato bruto seco de *Persea americana* Mill., nos
134 quais foram utilizados 1 mL de Tween 80 a 5% para ajudar a solubilização do mesmo. As
135 soluções foram homogeneizadas e o volume completado para 5mL com água salinizada
136 a pH = 8,0. Destas soluções retirou-se alíquotas de 500, 375, 250, 125, 50 e 25 µL que
137 foram transferidas para tubos de ensaio que já contenham 5mL de solução salina,
138 obtendo-se concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50 µg/mL para cada amostra. O
139 teste foi feito em triplicata. As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante
140 24 horas. Após esse período, foi realizada contagem do número de larvas vivas e mortas
141 e os dados tabulados utilizando o programa MicrocalOrigin 4.1.

142

143 *Estudo da fragilidade osmótica de eritrócitos*

144 O teste de fragilidade osmótica de eritrócitos tem por objetivo mensurar a
145 resistência dos glóbulos vermelhos à hemólise, frente a extratos de plantas da caatinga
146 (Rodrigues, 2009; Sant'ana, 2001). O teste foi baseado na técnica descrita por Darcie &
147 Lewis (1975), onde o sangue de carneiro foi mantido sobre refrigeração em recipiente
148 com esferas, para evitar sua coagulação.

149 Foram utilizados 50mg do extrato bruto seco de *Persea americana* Mill. diluído
150 com soro fisiológico a 0,9%, homogeneizado e o volume completado para 5mL com soro

151 fisiológico 0,9%. Dessas soluções retirou-se alíquotas de 500, 375, 250, 125, 50 e 25 µL
152 que foram transferidos para tubos de ensaio que já contenham 5mL de soro fisiológico
153 0,9%, obtendo-se as concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50 µg/mL para cada
154 extrato e adicionando-se em todos os tubos com 25µL de sangue de carneiro. As amostras
155 foram submetidas à centrifugação 3300g durante 15min em temperatura ambiente, após
156 o processo, a absorbância do sobrenadante de cada tubo foi mensurada em
157 espectrofotômetro bioplus 545nm. A obtenção da curva do percentual de fragilidade
158 osmótica se baseou no valor de absorbância da hemoglobina do sobrenadante
159 multiplicado pelo percentual total e dividido pelo valor de absorbância médio da hemólise
160 completa dos eritrócitos.

161

162 **Análise antimicrobiana**

163 *Concentração Inibitória Mínima (CIM)*

164 A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato de *Persea*
165 *americana* Mill. foi feita a partir da técnica de poços, conforme metodologia determinada
166 por Koneman (2008). Foram preparados inóculos dos respectivos patógenos em solução
167 salina, a partir de semeio por esgotamento feito anteriormente. Para controlar a
168 concentração bacteriana foi utilizada a escala 0,5 de Marc-Farland. Com o auxílio do
169 swab, foram semeadas com o inóculo toda a extensão das placas de Petri contendo Ágar
170 Mueller-Hinton (para bactérias) e Ágar Sabouraud (para fungos).

171 Em cada placa semeada foram confeccionados quatro poços de 6 mm de diâmetro,
172 para a inserção de 50µL do extrato em diferentes concentrações, a partir de diluições em
173 50%, 25%, 12,50% e 6,25% com relação à amostra inicial de cada extrato bruto seco da
174 planta, o procedimento foi realizado em duplicata.

175 Após essa etapa, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, para posterior
176 mensuração dos halos em milímetros (mm) e determinação da Concentração Inibitória
177 Mínima (CIM), sendo esta entendida como a menor concentração do extrato capaz de
178 inibir o crescimento bacteriano.

179

180 *Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA)*

181 A avaliação da menor concentração de extrato, em meio de sacarose, necessária
182 para inibir a aderência dos microrganismos ao tubo do vidro, é denominada como
183 Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA). A Concentração Inibitória
184 Mínima de Aderência foi determinada na presença de 5% de sacarose, usando-se
185 concentrações crescentes e dobradas das soluções diluídas do extrato bruto seco, onde as
186 linhagens foram sub-cultivadas a 37°C em caldo Müller-Hinton (DIFCO), em
187 microaerofilia, por um período de 24 horas, para obtenção de um inóculo de 10⁶ UFC/mL,
188 sendo os tubos inclinados a 30° (Koneman, 2008).

189

190 *Potencial Inibitório*

191 O Poder Inibitório foi realizado pela técnica de difusão em poços onde foi
192 observada a formação ou não de halos inibitórios ao redor dos poços que foram
193 preenchidos com o extrato do meio Ágar Muller-Hinton contendo a bactéria semeada. Foi
194 realizada a pesagem de 500 mg do extrato bruto seco da amostra em comparação com os
195 halos ocorridos no antibiótico padrão utilizado, no caso, Amoxicilina, encaminhada na
196 mesma pesagem de 500 mg. Após este processo, as duas amostras foram devidamente
197 diluídas nas mesmas concentrações, posteriormente, foi verificado o diâmetro dos halos
198 que se formaram ao redor dos poços contendo os extratos e avaliado se a concentração

199 presente nos mesmos caracteriza a bactéria como sensível, intermediária ou resistente
200 para determinadas concentrações (Koneman, 2008).

201

202 *Caracterização do rendimento dos extratos*

203 Para a realização do cálculo de rendimento do *Persea americana* Mill. foram pesadas
204 suas folhas e seus frutos frescos (1kg) e documentado todo procedimento de secagem,
205 trituração, extração e para a realização do extrato puro.

206 Retirou-se uma alíquota representativa de 500 mg que foi colocada em um vidro-
207 relógio encaminhado à estufa a 100°C durante 1 hora, para evaporação de resquícios de
208 água presentes no composto. Posteriormente, após documentação dos dados obtidos, o
209 conjunto vidro-relógio + material vegetal foi submetido a estufa 100°C durante 30 minutos
210 até alcançar 3 valores consecutivos. Após esse processo, foi realizado uma regra de 3
211 simples resultando no rendimento das folhas e frutos de *Persea americana* Mill.

212 O cálculo de rendimento do extrato bruto seco foi realizado através da equação:

$$213 \quad \text{Rendimento do EBS (\%)} = \frac{\text{Peso EBS (g)}}{\text{peso do material vegetal fresco}} \times 100\%$$

214 Onde, o peso da droga vegetal seca foi determinado na hora da coleta e o peso do
215 EBS foi determinado por:

$$216 \quad \text{Peso do EBS (g)} = (\text{Becker} + \text{extrato bruto seco}) - \text{Becker}$$

217

218

219

220 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

221 **Análise toxicológica**

222 *Determinação da CL₅₀ frente à Artemia salina Leach*

223 A avaliação toxicológica de extratos é frequentemente avaliada contra o crustáceo
224 *Artemia salina*, visto que esse teste é simples, rápido e de baixo custo. As substâncias
225 testadas, quando tem uma CL₅₀ abaixo de 1000 µg/mL são consideradas tóxicas (Sousa,
226 2017). Para determinação da toxicidade de extratos de plantas, é importante analisar
227 critérios como natatória e mortalidade dos metanaúplios (Wang et al., 2017). Enquanto
228 que a mortalidade é definida como ausência total de movimento por aproximadamente 10
229 segundos de observação, a locomoção ou natatória dos animais é um parâmetro utilizado
230 como indicador de estresse em bioensaios (Libralato et al., 2016).

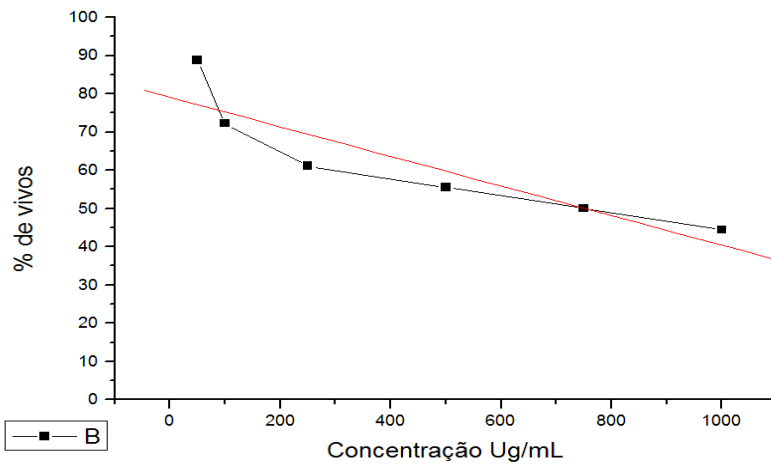
231 As Concentrações Letais Médias deste estudo foram obtidas pelo cálculo dos
232 parâmetros A e B, que são gerados automaticamente quando os dados de mortalidade são
233 plotados no Microcal Origin® 4.

234 Tomando como parâmetro que quanto mais próximo de zero for a CL₅₀, mais
235 tóxica é a planta e quanto mais próximo de 1000 µg/mL, menor a toxicidade da planta, o
236 extrato das folhas de *Persea americana* Mill. mostrou-se pouco tóxico para a *Artemia*
237 *salina* Leach nas concentrações e condições testadas, apresentando CL₅₀ 752,141 µg/mL,
238 e a natatória dos animais testados mostrou-se lenta. Enquanto que o extrato do fruto
239 mostrou-se muito tóxico para a *Artemia salina* Leach, apresentando uma CL₅₀ 394,567
240 µg/mL, tendo também a natatória dos animais testados lenta. Os gráficos abaixo são
241 gerados pelo programa utilizado e demonstram a curva de vivos levando em consideração
242 as concentrações de extrato que o microcrustáceos foram submetidos.

243

244 Figura 1 - Percentual de vivos relacionado as concentrações do EBS das folhas de
245 *Persea americana* Mill.

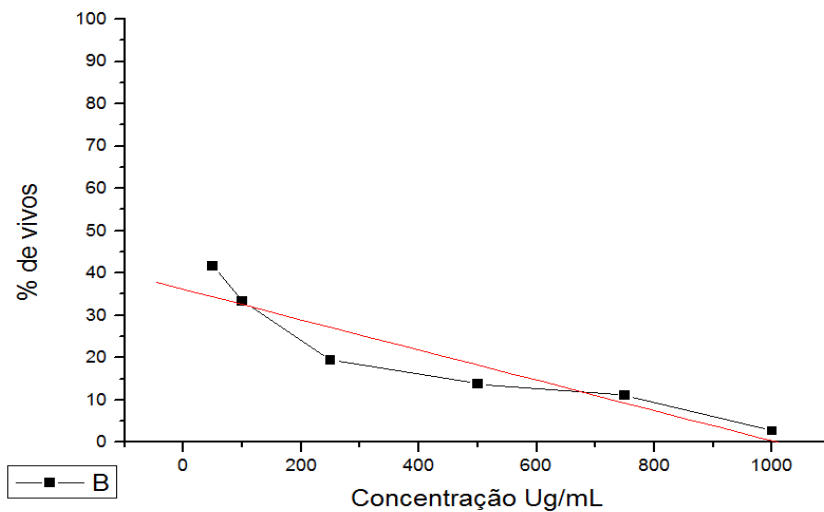
1



246

247 Figura 2 - Percentual de vivos relacionado as concentrações do EBS do fruto de *Persea*
248 *americana* Mill.

1



249

250 Souza (2015), em seu estudo testando também a toxicidade do abacate, observou
251 que na concentração de $1200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ quando exposta ao extrato do caroço não restaram
252 artemias sobreviventes, tendo como CL_{50} do extrato do caroço encontrado de 452,57 ppm.
253 Sendo assim compatível com os resultados obtidos no teste realizado nesse estudo.

254 Já Amado (2019), obteve um resultado de CL₅₀ de 204,95 mg mL⁻¹ do extrato,
255 sendo considerado um extrato não tóxico, no entanto foi um teste realizado a partir de
256 uma variedade diferente do abacateiro, sendo esse resultado do extrato da casca do
257 abacateiro da variedade Quintal.

258 No entanto, no decorrer do estudo e analisando também outras pesquisas, os
259 extratos do abacate em sua maioria são apresentados como pouco tóxicos ou tóxicos,
260 logo, estão de acordo com esse estudo.

261

262 *Estudo da fragilidade osmótica eritrocitária (FOE)*

263 A FOE fornece informações acerca de interações entre compostos químicos
264 presentes nos extratos de espécies vegetais e entidades biológicas a nível celular *in vitro*.
265 Este parâmetro avalia a sensibilidade de lise celular em eritrócitos ocasionados por
266 alterações ácido-base (Carvalho et al., 2017).

267 O extrato das folhas de *Persea americana* Mill. apresentou hemólise de 29,31%
268 na maior concentração, de 1000 µg/mL, já o extrato do fruto apresentou hemólise de
269 1,06% na maior concentração, de 1000 µg/mL, onde demonstraram moderado percentual
270 de lise das hemácias. Os valores mediante as absorvâncias foram obtidos por
271 espectrofotometria e são apresentados na tabela a seguir:

272

273 Tabela 1 - Percentual de hemólise das folhas de *Persea americana* Mill.

Concentrações	Absorbância 1	Absorbância 2	Absorbância média	Percentual de homólise (%)
1000 µg/mL	0,356	0,418	0,387	29,31
750 µg/MI	0,264	0,337	0,301	22,80

500 µg/mL	0,201	0,220	0,211	15,98
250 µg/mL	0,127	0,114	0,121	9,16
100 µg/mL	0,071	0,068	0,070	5,30
50 µg/mL	0,033	0,032	0,033	2,50
	Controle 1		0,005	
	Controle 2		0,006	

274

275 Tabela 2 - Percentual de hemólise do fruto de *Persea americana* Mill.

Concentrações	Absorbância 1	Absorbância 2	Absorbância média	Percentual de homólise (%)
1000 µg/mL	0,014	0,014	0,014	1,06
750 µg/mL	0,013	0,012	0,012	0,90
500 µg/mL	0,009	0,010	0,009	0,68
250 µg/mL	0,007	0,007	0,007	0,53
100 µg/mL	0,006	0,007	0,006	0,45
50 µg/mL	0,007	0,005	0,006	0,45
	Controle 1		0,008	
	Controle 2		0,006	

276

277 Amado (2019), em seu teste de toxicidade com a casca e sementes de abacateiro
 278 com a variedade Quintal, obteve como resultado em concentrações mais altas, com
 279 61,07% para a concentração de 300 mg mL⁻¹. Entretanto, em concentrações de até 150
 280 mg mL⁻¹, os valores de hemólise foram considerados baixos a moderados, e no LC₅₀,
 281 a concentração causando 50% de hemólise foi de 229,22 mg mL⁻¹. Levando em

282 consideração que, a ação hemolítica deve ser considerada elevada quando a hemólise
283 excede 40% e baixa quando esse valor é inferior a 10%.

284 Os resultados encontrados na literatura científica acabam por demonstrar o certo
285 grau de toxicidade da espécie, cooperando com os resultados obtidos no atual estudo.
286 Mas, vale ressaltar que são resultados obtidos através do estudo do extrato bruto, não
287 descartando a importância da espécie para uso medicinal, desde que utilizada de outras
288 formas.

289

290 **Análise antimicrobiana**

291 Diante dos três testes realizados, sendo eles o Potencial Inibitório, a Concentração
292 Inibitória Mínima e Concentração inibitória mínima de aderência, ambos os extratos não
293 apresentaram potencial antibiótico diante dos microrganismos testados, tendo sido eles:
294 *S. mutans*; *S. aureus*; *L. casei*; *C. albicans*.

295 Para os testes de Concentração inibitória mínima e Potencial inibitório as amostras
296 não apresentaram uma formação de halo, que representa que os extratos analisados não
297 apresentam ação antibiótica nas concentrações e condições testadas. Resultados
298 semelhantes foram encontrados na literatura, de acordo Castañeda et al. (2018) houve
299 formação de halo, porém, nenhuma atividade antimicrobiana efetiva foi demonstrada.
300 Enquanto na Concentração inibitória mínima de aderência, os extratos não inibiram a
301 formação do biofilme, considerando que para um bom resultado e comprovação de ação,
302 não deve ter formação de biofilme.

303 Salazar et al. (2017) investigaram a atividade antimicrobiana de extratos de
304 sementes de abacate enriquecido com acetogenina contra *L. monocytogenes* e relataram
305 inibição do crescimento a 37 °C e 4 °C com valores de CIM de 15,6 e 7,8 mg / L,

306 respectivamente. Outros estudos também comprovam a ação antibacteriana dos extratos
307 do abacate, mas ainda se faz necessários outros estudos, tendo em vista que ainda há
308 grande discordância entre os estudos realizados, tanto com resultados positivos como
309 negativos. Mas deve também ser levado em consideração que existem vários fatores que
310 podem alterar tais resultados, como a variedade do abacate, o solvente que está sendo
311 utilizado, dentre outros.

312

313 **CONCLUSÃO**

314 Diante dos resultados encontrados, podemos dizer que a *Persea americana* Mill.
315 nas preparações que foram elaboradas, não tiveram resultados satisfatórios, uma vez que
316 obtiveram certo grau de toxicidade e nenhuma ação frente as bactérias testadas. No
317 entanto, não podemos descartar a possibilidade de o abacateiro possuir essas atividades,
318 fazendo-se necessário comparações com outros testes já realizados anteriormente e
319 também realização de novos estudos. Mesmo assim, o abacateiro é uma planta medicinal
320 de extrema importância, tendo ação comprovada para tratamento de diversas doenças,
321 como por exemplo a Diabetes *mellitus*. Desta forma, é possível concluir que o estudo em
322 questão contribui para a sociedade científica com informações especiais e importantes a
323 respeito de uma planta medicinal bastante conhecida e consumida pela população, mas
324 que é carente de pesquisas e análises voltadas a ela. Mostrando novamente a necessidade
325 de mais estudos sobre a *Persea americana* Mill. e seu potencial medicinal.

326

327

328

329

330

331 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

332

333 ALMEIDA CAN de, UED FV, ALMEIDA CCJN de, et al. Perfil nutricional e benefícios
334 do azeite de abacate (*Persea americana*): uma revisão integrativa. *Brazilian Journal of*
335 *Food Technology*, Campinas, v. 21, e2017214, 2018.

336

337 AMADO DAV, et al. Antioxidant and antibacterial activity and preliminary toxicity
338 analysis of four varieties of avocado (*Persea americana* Mill.). *Braz. J. Food*
339 *Technol.* [online]. 2019, vol.22, e2018044. Epub Apr 01, 2019. ISSN 1981-6723.

340

341 Brasil. Ministério da Saúde. Glossário temático: práticas integrativas e complementares
342 em saúde. Brasília; Ministério da saúde, 2018.

343

344 CARVALHO LAL, et al. Avaliação eritrocitária através da biotecnologia de citometria
345 de fluxo. *Investigação*. 16(8):44-49; 2017.

346

347 CREDIDIO EV. *Estudos do efeito do abacate nos lipídeos sanguíneos em humanos*.
348 2010. Campinas, SP. 165p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.
349 Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, São Paulo.

350

351 DACIE JV & LEWIS SM. *Practical Hematology*. 5th Edition. Churchill Livingstone.
352 London. 629 pp. 1975.

353

354 DUARTE PF, CHAVES MA, BORGES CD & MENDONCA CRB. Avocado:
355 characteristics, health benefits and uses. *Cienc. Rural* [online]. vol.46, n.4, pp.747-754;
356 2016. ISSN 1678-4596.

357

358 CASTAÑEDA LAF, CANDAMIL HA, TORRES, BZ & CASTAÑEDA, MPA.
359 Avaliação da capacidade antimicrobiana do extrato de semente de abacate Hass (*Persea*
360 americana) para possível aplicação na carne indústria. *DYNA*, 85 (207), pp. 346-350,
361 outubro - dezembro, 2018.

362

363 KONEMAN EW, et al. Koneman, diagnostico microbiológico: texto e atlas colorido. 6^a
364 edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

365

366 LIBRALATO G, et al. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia*
367 spp. *Ecological indicators*. 69(1):35-49; 2016.

368

369 MEYER BN; FERRIGNI NR; PUTNAM JE; JACOBSEN LB; NICHOLS DE &
370 MCLAUGHLIN JL. Brineshrimp: a convenient general bioassay for active plant
371 constituents. *Planta Médica*, v. 45, [s.n.], p. 31, 1982.

372

373 OMS. Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal
374 medicines. A worldwide review, Geneva, 1998.

375

376 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Traditional medicine: definitions. 2008.

377

378 PAZ M, GÚLLON P, BARROSO M ET AL. Brazilian fruit pulps as functional foods and
379 additives: Evaluation of bioactive compounds. *Food Chemistry* , 172, 462-468, 2015.
380

381 RODRIGUES HG; BATISTA MTA; FONSECA LC & AVERSI-FERREIRA TA.
382 Efeitos de pesticidas sobre a fragilidade osmótica de eritrócitos – Uma breve revisão.
383 *Biotemas*, 22 (1): 7-16, mar. 2009.
384

385 SALAZAR CS, BRENES CH, SÁNCHEZ DGR, CASTILLO EC, SILVA JMN &
386 PACHECO A. Inhibitory Activity of Avocado Seed Fatty Acid Derivatives
387 (Acetogenins) Against *Listeria Monocytogenes*. *J. Food Sci.* 82, 134–144, 2017.
388

389 SANT’ANA VAC; BIRGEL EH; MOURÃO GB & MIRANDOLA RMS. Fragilidade
390 osmótica dos eritrócitos de bovinos das raças holandesa, girolando e gir, criados no estado
391 de são paulo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.4, p.609-614, 2001.
392

393 SOUSA IJO; PEREIRA RNS; LIMA RP; ROSA GS; GONÇALVES RLG & NETO
394 MPL. Análise da toxicidade do extrato hidroalcoólico da poupa do fruto seco de *luffa*
395 *operculata* frente a náuplios de *artemia salina* e meristemas de *allium cepa*. *Rev. Eletr.*
396 *Farm.*, Goiânia, v. 14, n. 4, p. 66-75, 2017.
397

398 SOUZA EA. *Caracterização física, química e avaliação da toxicidade do caroço do*
399 *abacate (Persea americana Mill)*. 2015, Cuité-PB. 41p. Monografia (bacharel em
400 nutrição). Universidade Federal de Campina Grande.
401

402 WANG C et al. Toxicity of α -Fe₂O₃ nanoparticles to *Artemia salina* cysts and three
403 stages of larvae. *Science of the Total Environment*. 598(1):847-855, 2017.