

Artigo de pesquisa tecnológica / <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v51n1.95598>

Caracterização físico-química da farinha e dos extratos das sementes de abacate (*Persea americana* (Mill.) Lauraceae)

Michele Miotto Peccin, Julia Lisboa Bernardi, Lucas H. Nascimento, Natália Ambrósio, Rogério L. Cansian, Natalia Paroul, Clarice Steffens*

Programa de Engenharia de alimentos, URI Erechim, Av. Sete de Setembro 1621, 99700-910, Erechim-RS, Brasil.

*Autor correspondente correio eletrônico: claristeffens@yahoo.com.br

Recebido: 14 de maio de 2021

Revisado: 24 de julho de 2021

Aceto: 29 de julho de 2021

RESUMO

Introdução: as indústrias de processamento de frutas geram grande quantidade de biomassa residual que poderia ser reaproveitada. Considerando o elevado volume de resíduos produzidos pelo descarte das sementes do abacate e destacando o alto teor de compostos bioativos, é um produto interessante para ser avaliado. **Objetivo:** avaliar a composição centesimal da farinha das sementes de abacate e as propriedades antioxidantes e antimicrobianas dos seus extratos. **Métodos:** os extratos foram obtidos por maceração da farinha do caroço do abacate desidratada em diferentes temperaturas (4,25 e 60 °C) utilizando n-hexano e etanol como solventes. **Resultados:** verificou-se que a farinha é uma excelente fonte de carboidratos, com alto teor de fibras, proteínas e minerais (N, K, Mg e Ca, entre outros). A temperatura da extração influenciou tanto no rendimento como no conteúdo de fenóis totais, atividades antioxidantes e antimicrobianas dos extratos. Os extratos etanoicos obtidos à 60 °C apresentaram maior rendimento (18%) e teor de compostos fenólicos totais (~840 mgEAG/g). Também os extratos etanoicos apresentaram maior atividade antioxidante (IC₅₀= 0,013 mg/mL e 0,018 mg/mL) em temperaturas mais baixas de extração, 4 °C e 25 °C, respectivamente. Já extrato hexanóico obtido à 4 °C apresentou maior atividade antimicrobiana para as quatro bactérias testadas (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. choleraesuis* e *E. coli*). **Conclusão:** a farinha obtida das sementes de abacate, apresentam alto valor biológico e podem ser usadas como suplementos na alimentação humana.

Palavras-chave: Resíduo agroindustrial, atividade antioxidante, antimicrobiana.

SUMMARY

Physic-chemical characterization of flour and extracts from avocado seeds (*Persea americana* (Mill.) Lauraceae)

Introduction: The fruit processing industries generate a large amount of residual biomass that could be reused. Considering the high volume of residues produced by the disposal of avocado seeds and highlighting the high content of bioactive compounds. **Aim:** To evaluate the centesimal composition of avocado seed flour and the antioxidant and antimicrobial properties of its extracts. **Methodology:** The extracts were obtained by macerating the avocado seed flour dehydrated at different temperatures (4, 25 and 60 °C) using n-hexane and ethanol as solvents. **Results:** The flour is an excellent source of carbohydrates, with a high content of fibers, proteins and minerals (N, K, Mg and Ca, among others). The extraction temperature has influence in the yield and the content of total phenols, antioxidant and antimicrobial activities of the extracts. The ethanolic extracts obtained at 60 °C showed high yield (18%) and content of total phenolic compounds (~840 mg GAE/g). In addition, ethanol extracts showed high antioxidant activity (IC₅₀= 0.013 mg/mL and 0.018 mg/mL) at lower extraction temperatures, 4 °C and 25 °C, respectively. Hexanoic extract obtained at 4 °C, on the other hand, showed greater antimicrobial activity for the four tested bacteria (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. choleraesuis* and *E. coli*). **Conclusion:** The flour obtained from avocado seeds has a high biological value and can be used as supplements in human food.

Keywords: Agro-industrial residue, antioxidant, antimicrobial activity.

RESUMEN

Caracterización físico-química de harinas y extractos de semillas de aguacate (*Persea americana* (Mill.) Lauraceae)

Introducción: las industrias de procesamiento de frutas generan una gran cantidad de biomasa residual que podría reutilizarse. Considerando el alto volumen de residuos que produce la disposición de semillas de aguacate y destacando el alto contenido de compuestos bioactivos. **Objetivo:** evaluar la composición centesimal de la harina de semilla de aguacate y las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de sus extractos. **Metodología:** los extractos se obtuvieron macerando la harina de semilla de aguacate deshidratada a diferentes temperaturas (4, 25 y 60 °C) utili-

zando n-hexano y etanol como solventes. **Resultados:** la harina es una excelente fuente de carbohidratos, con un alto contenido en fibras, proteínas y minerales (N, K, Mg y Ca, entre otros). La temperatura de extracción influye en el rendimiento y el contenido de fenoles totales, actividades antioxidantes y antimicrobianas de los extractos. Los extractos etanólicos obtenidos a 60 °C mostraron alto rendimiento (18%) y contenido de compuestos fenólicos totales (~ 840 mg GAE/g). Además, los extractos de etanol mostraron una alta actividad antioxidante ($IC_{50} = 0,013$ mg/mL y 0,018 mg/mL) a temperaturas de extracción más bajas, 4 °C y 25 °C, respectivamente. El extracto hexano obtenido a 4 °C, en cambio, mostró mayor actividad antimicrobiana para las cuatro bacterias ensayadas (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. choleraesuis* y *E. coli*). **Conclusión:** la harina obtenida a partir de semillas de aguacate tiene un alto valor biológico y puede ser utilizada como complemento en la alimentación humana.

Palabras clave: Residuo agroindustrial, antioxidante, actividad antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

O abacateiro (Laureaceae) é uma planta nativa do México e algumas regiões da América do Sul, estando distribuído nas regiões tropicais e subtropicais. Existem inúmeras variedades de abacateiros em todo o mundo, de acordo com o clima em que crescem, com diferentes formas dos frutos, sabores, texturas, cores e cheiros [1]. O abacateiro é cultivado em todas as regiões do Brasil, porém a maior parte da produção comercial está concentrada nas regiões sudeste e sul do país, sendo os maiores estados produtores na região sudeste São Paulo e Minas Gerais, e na região Sul o estado do Paraná. Dentre as cultivares mais produzidas no estão a 'Fortuna', 'Geada', 'Quintal' e 'Margarida'.

O fruto (abacate), por possuir vitaminas lipossolúveis, alto teor de ácidos graxos da classe ômega, fitosteróis e tocoferóis, tem sido considerado um dos principais frutos tropicais [2]. Devido a presença de compostos bioativos, além do seu uso como alimento, o abacate é tradicionalmente utilizado para vários fins medicinais como hipotensivo, hipoglicêmico e antiviral, também é aplicado no tratamento de úlceras e doenças cardiovasculares [3].

A indústria de processamento de abacate produz óleos e uma vez processadas as sementes, cascas e polpas desclassificadas são descartadas, o que resulta em uma grande quantidade de resíduos sólidos que representam 21-30% da fruta [4]. Frente a este problema, existe uma grande preocupação em reaproveitamento do resíduo, pois subprodutos não possuem valor comercial, mas apresentam-se como a fonte de compostos fenólicos com atividade antioxidante muito pronunciada. Os resíduos demonstraram ter altos teores

de glicosídeos de quercetina, dímeros de procianidina do tipo A e B, procianidina trímeros do tipo A, catequina, ácido cafeoilquínico e ácido cumaroilquínico entre outros [4, 5]. Esses subprodutos podem ser aproveitados por agroindústrias para a produção de alimentos funcionais, atendendo a interesses socioeconômicos e ecológicos [6-8].

Atividades antifúngicas, antimicrobianas, antioxidantes, antidiabéticas, anti-hipertensivas e hipocolesterolêmicas, bem como a inibição da oxidação lipídica e proteica são as inúmeras atividades biológicas relatadas para extratos de resíduos de indústria de processamento de abacate [9].

Existem vários relatos na literatura de uso de solventes orgânicos para obtenção de extratos [10, 11]. No entanto, o uso de altas temperaturas em conjunto com um solvente orgânico ou água quente podem acelerar a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados, produzindo sabores rançosos. Outro problema está associado a alta instabilidade dos compostos fenólicos presentes nas sementes e casca de abacate frente a variação de pH, presença de íons metálicos, exposição à luz, temperatura, oxigênio e atividades enzimáticas.

Dentro do exposto, o objetivo do estudo foi realizar a caracterização físico química da farinha desidratada obtida das sementes de abacate (*Persea americana* (Mill.) Lauraceae) e avaliar o efeito da temperatura de extração nas propriedades biológicas e antioxidantes dos extratos hexanólico e etanólico.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de material biológico

Os frutos do abacateiro (*Persea americana*) foram colhidos manualmente da mesma planta localizada na região norte do estado Rio Grande do Sul, Brasil de junho a setembro de 2019. Após a colheita os abacates ficaram armazenados em caixas de papelão ao abrigo de luz até o término da maturação da fruta em condições ambientes (~20 °C).

Após a maturação completa do fruto, as sementes de abacate foram removidas, lavadas em água corrente, embaladas em sacos de polietileno a vácuo e armazenados a -18 °C. As sementes apresentavam um teor de umidade de 52%.

Secagem das sementes de abacate

Antes de começar o processo da secagem o tamanho das sementes foi reduzido até aproximadamente 2 cm, por meio do corte dos caroços com a utilização de uma faca doméstica. A desidratação foi realizada em liofilizador (Edwards, Modulyo) em três

etapas: congelamento do material fracionado até a formação dos cristais do líquido presente nas amostras, secagem primária por sublimação do gelo formado no congelamento e secagem secundária que remove o restante de água por evaporação a vácuo. A perda de umidade das amostras foi acompanhada em intervalo de tempo de 1 hora até atingir o peso constante.

Após a secagem, as sementes foram moídas em moinho de facas (micromoinho tipo Willye, MA048) para obtenção de farinha com diâmetro médio de partículas de 0,3 mm e armazenadas em sacos de polietileno ao abrigo de luz em refrigerador doméstico (Bras-temp Frost Free Duplex) a temperatura de 4 °C.

Caracterização físico-química das farinhas de semente de abacate

A farinha das sementes de abacate foi avaliada em relação a umidade, cinzas, proteína, lipídeos, fibra bruta e carboidratos de acordo com a metodologia [12]. Além de caracterização de minerais e cor. A análise de umidade foi determinada por secagem em estufa (Fanem®, modelo 320-SE) a 105 °C. Para avaliar teor de cinzas as amostras foram pré-carbonizadas em chapa de aquecimento e levadas ao forno mufla a 550 °C por 6 h. A determinação das proteínas foi realizada segundo método de Kjeldahl. O conteúdo de proteína foi calculado multiplicando-se o resultado obtido de nitrogênio pelo fator de 6,25. A determinação de lipídeos foi realizada por extração com solvente em extrator Soxhlet. A determinação de fibra bruta foi elaborada pela metodologia gravimétrica enzimática. O teor de carboidratos totais foi determinado pela diferença dos demais constituintes da composição físico-química. Onde o valor de carboidratos foi obtido pela subtração do valor 100 a somatória dos teores de umidade, cinzas, proteína, fibra bruta e lipídeos.

A determinação dos componentes minerais (N, K, Mg, Ca, Na, Zn, Fe, Mn, e Cu) foi feita em espectrômetro de absorção atômica (Varian® modelo *spectra* 55), pela metodologia do Instituto Adolfo Lutz [12]. A determinação da cor foi realizada em colorímetro Hunter-Lab (modelo MiniScan EZ 4500L). Os resultados foram expressos como L*: luminosidade; a*: direção da cor do verde para o vermelho e b*: direção da cor do azul para o amarelo.

Obtenção dos extratos

Os extratos foram preparados por maceração em diferentes temperaturas (4, 25 e 60 °C) usando 80 mL (3 x) de n-hexano (Merck) e 80 mL (3 x) de etanol (99,8%, Merck) na sequência a partir de 20 g de farinha de sementes de abacate desidratada. Para evitar a saturação, os solventes foram trocados cada 12 h, totalizando tempo de extração em 36 h para cada solvente. Todas as extrações foram realizadas ao abrigo de luz em agitador orbi-

tal (Shaker) à 140 rpm. Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo (modelo 802, Fisatom) até atingir peso constante para cálculo de rendimento (equação 1).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa final}}{\text{Massa total}} \cdot 100 \quad (1)$$

Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada em triplicata, pelo método espectrofotométrico avaliando a extinção da absorbância do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) em 515 nm. Para isso 500 μL da amostra, contendo concentrações crescentes de extrato etanólico (0,00015 a 0,025 mg/mL) e de extrato hexanólico (0,0015 a 1,000 mg/mL) das sementes de abacate, foram incubados por 10 min com 500 μL de solução etanólica (0,1 mM) de DPPH. A preparação da solução “controle”, procedeu-se da mesma forma substituindo 500 μL da solução dos extratos por 500 μL de etanol puro. As soluções denominadas “branco” foram preparadas usando as mesmas concentrações de extratos usadas para a análise em etanol, sem a adição da solução de DPPH. O percentual de captação do radical DPPH foi calculado em termos da porcentagem de atividade antioxidante (AA%), conforme a equação 2:

$$\text{AA\%} = 100 - \frac{(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco})}{\text{Abs. controle}} \cdot 100 \quad (2)$$

Onde Abs. é absorbância.

A determinação da atividade antioxidante das amostras foi realizada em espectrofotômetro UV-Visível (Agilent Technologies, 8453E) em 515 nm. Após a avaliação da faixa de concentração ideal, calculou-se a concentração de extrato necessária para capturar 50% do radical livre DPPH (IC_{50}) por análise de regressão linear.

Determinação da concentração inibitória mínima

Para os testes da concentração inibitória mínima (CIM) foram selecionados 4 micro-organismos, duas bactérias Gram-positivas, *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e duas bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella choleraesuis* (ATCC 10708) obtidas da American Type Culture Collection. As cepas foram crescidas previamente em meio Lúria Bertani (LB) (10 g/L de triptona, 5 g/L de extrato de levedura e 5 g/L de NaCl) durante 24 h a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica (J. Prolab, modelo JP 101). Após esse período a suspensão bacteriana correspondia a 108 células/mL.

Os testes foram realizados em microplacas de Elisa através de microdiluições seriadas dos extratos das sementes de abacate em caldo LB para um volume final de 300 μL . Após, 10 μL de bactérias selecionadas foram inoculadas, fazendo a leitura do tempo inicial (0 h) em leitor de microplaca de Elisa (BioTek Instruments, EL 800), no comprimento de onda de 490 nm. Em seguida, as placas foram incubadas por um período de 24 h a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica e as leituras das microplacas foram realizadas novamente, verificando o aumento da turbidez, causada pelo crescimento microbiano após 24 h de incubação. A CIM foi definida como a menor concentração do extrato em mg/mL, capaz de inibir o crescimento microbiano.

Determinação do teor de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais presente nos extratos das sementes de abacate foi realizada segundo a metodologia descrita por Singleton [13], por meio do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, sendo utilizado como padrão de referência o ácido gálico.

Para os testes, 0,5 mL das amostras de extratos nas concentrações de 1 mg/mL para os extratos hexanólicos e 0,1 mg/mL para os etanólicos foram misturadas com 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído com água destilada na proporção de 1:10 v/v e 2,0 mL de carbonato de sódio 4% (m/v), agitadas em vórtex por 1 min. e mantidas ao abrigo de luz por 2 h a temperatura ambiente. A água destilada foi usada para a solução denominada “branco”.

A determinação do teor de fenóis totais foi realizada em espectrofotômetro UV-Visível (Agilent Technologies, 8453E) em 760 nm, sendo os resultados expressos como equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g) e calculados segundo a equação (3), a partir da curva padrão, construída com diferentes concentrações de ácido gálico que variaram entre 1 e 100 $\mu\text{g/mL}$.

$$\text{Compostos fenólicos} \left(\frac{\text{mg EAG}}{\text{g}} \right) = \frac{(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco} - \text{Coef. linear}) \cdot Df}{\text{Concentração inicial} \cdot \text{Coef. angular}} \quad (3)$$

Onde: Abs. é a absorvância da amostra e Df é o fator de diluição.

Análise estatística

As determinações analíticas foram realizadas em triplicata e os resultados foram avaliados estatisticamente pela análise Anova seguida do teste de *T Student* e Tukey com auxílio do *software* Statistic 5.0, ao nível de 95% de confiança.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição centesimal da farinha de semente de abacate

Os resultados das análises físico-químicas da farinha do caroço de abacate em relação a umidade, proteína bruta, lipídeos, cinzas, fibra bruta, carboidratos totais e cor (L^* , a^* , e b^*) são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises físico-químicas da farinha da semente de abacate.

Análises		Valores (%)
Umidade		4,52±0,217
Proteína		3,63±0,224
Lipídeos		2,20±0,166
Cinzas		2,15±0,060
Fibra bruta		4,25±0,010
Carboidratos		83,25±1,000
Valor calórico (Kcal)		367,343
Cor	L^*	90,44±1,049'
	a^*	4,61±0,141
	b^*	14,67±0,461

L^* : luminosidade; a^* : direção da cor do verde para o vermelho e b^* : direção da cor do azul para o amarelo.

O teor de umidade de farinha de semente de abacate foi de 4,52% atendendo o parâmetro preconizado pela RDC nº 263, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que estabelece um percentual máximo de umidade de até 15% para armazenamento e conservação de farinhas [14]. O teor de umidade de um pó seco por pulverização deve ser inferior a 5% para ser classificado como microbiologicamente seguro e estável durante o armazenamento (para evitar aglomeração) [15], dessa forma farinha de semente de abacate se enquadra neste quesito, sendo que a mesma foi desidratada por liofilização.

Verificou-se que na farinha de semente do abacate o constituinte que se destaca em maior quantidade é o carboidrato (83%), sendo uma excelente fonte energética. O alto conteúdo de carboidratos é uma indicação de elevado teor de amido.

Quanto ao teor de proteína, pode se considerar a farinha de sementes de abacate como fonte de aminoácidos essenciais de acordo com a FAO [16], tais como a leucina, treonina, lisina e valina. Os resultados de proteína corroboram com os encontrados por Medeiros [17] onde obtiveram 3,78% de proteína em farinha de semente de abacate (*Persea americana* Mill., cultivar manteiga).

Os valores de lipídeos encontrados no presente trabalho (2,20%) também são semelhantes aos encontrados na literatura de 2,48% [17] e 3,32% [18] em farinha de caroço de abacate. As fibras desempenham um importante papel na alimentação, pois auxiliam no bom funcionamento do intestino. A farinha da semente de abacate indica a presença delas, com um percentual de 4,25%. De acordo com a Portaria N.º 33 de 1998 [19] referente à informação nutricional complementar, que um alimento pode ser considerado fonte de fibra alimentar quando no produto acabado apresentar 3 g/100g (3%) de fibras. Considerando assim, a farinha da semente do abacate como um alimento rico em fibras.

Verifica-se que os teores de proteínas e lipídeos do presente estudo são menores que aos reportados na literatura em farinha de semente de abacate (*Persea americana* V. Hass) com rendimento de 46,3%; e teores de 6,7% de proteína; 3,4% de lipídeos e 2,7% de cinzas [20]. Em farinha de semente de abacate da Ásia foram encontrados teores de 7,75% de proteína; 4,91% fibras; 0,71% lipídeos, 74,65% carboidratos; 2,83% cinzas e 14,05% umidade [21]. As diferenças obtidas em relação aos constituintes da farinha são devido ao tipo de variedade do fruto, a região de produção de abacate, clima, altitude, precipitação, genética e outros, fazendo com que a qualidade nutricional de cada variedade possua diferenças.

Em relação a cor, o valor L^* indica uma baixa luminosidade. A cromaticidade a^* indica uma cor verde e está relacionada com a quantidade de pigmentos presentes na farinha de abacate. O valor da cor b^* demonstra uma farinha com menor intensidade de cor amarela. Desta forma a farinha obtida é caracterizada como tons leves de marrom. Como a farinha foi obtida de sementes desidratadas a baixa temperatura isso favoreceu a preservação de cor, indicando que o produto não sofreu oxidação (escurecimento enzimático). Os estudos mostram que quando a semente é submetida a moagem a temperatura ambiente (25°C) ocorre oxidação formando uma cor laranja estável [22]. Alissa *et al.* [3] obtiveram valores L^* , a^* e b^* do pó seco por liofilização de semente de abacate (*Persea Americana* Mill.) de 41,05; 7,25 e 15,17, respectivamente. Esses valores foram inferiores para L^* e superiores para a^* e b^* aos encontrados no presente estudo, pois as amostras já estavam com coloração laranjada antes da secagem.

A farinha da semente de abacate desidratada em liofilização teve um rendimento médio de 89%. Esse valor é considerado alto, uma vez que uma operação é considerada bem-sucedida quando tem pelo menos 50% de rendimento [15].

O conteúdo de minerais em base seca, da farinha de semente de abacate está apresentado na tabela 2.

Tabela 2. Resultados do conteúdo de minerais da farinha da semente de abacate.

Mineral	Símbolo	Farinha de semente de abacate
Macrominerais (mg/100 g)		
Nitrogênio	N	11937±42,50
Potássio	K	1960±20,00
Microminerais (mg/100 g)		
Magnésio	Mg	40,64±0,03
Cálcio	Ca	18,13 ±0,08
Sódio	Na	10,00±0,01
Zinco	Zn	1,97±0,09
Ferro	Fe	1,12±0,15
Manganês	Mn	0,87±0,05
Cobre	Cu	0,84±0,02

O elemento que apresentou maior teor (tabela 2) foi o nitrogênio (~11937 mg/100 g), o que pode ser atribuído ao fato da adubação do solo rico neste elemento, contribuindo com maior concentração desse elemento nos tecidos da planta, já que o nitrogênio é responsável pela formação dos tecidos do fruto e semente. Potássio foi o segundo macromineral com maior quantidade (1960 mg/100 g) encontrada na farinha. Este mineral desempenha um papel vital na manutenção do equilíbrio ácido-básico e na estimulação e função nervosas normais do corpo humano, em conjunto com o sódio, é fundamental para a bomba sódio-potássio. O magnésio, microelemento encontrado em maior quantidade (40,6 mg/100 g), desempenha um papel fundamental em várias reações biológicas, sendo ativador de sistemas enzimáticos que controlam o metabolismo de carboidratos, lipídeos, proteínas e eletrólitos [23].

Os demais microelementos encontrados na farinha das sementes de abacate tais como cobre, ferro e zinco são considerados minerais essenciais pois participam de diversas reações metabólicas diretamente ou como cofatores de enzimas [18].

Dessa forma, por apresentar altos teores de proteínas, carboidratos, fibras e minerais o produto gerado a partir da farinha da semente de abacate poderia ser usado como uma excelente fonte de nutrientes ou suplementos com potencial de uso em alimentação humana e animal.

Rendimento da extração

Os resultados de rendimentos das extrações obtidos por maceração em diferentes temperaturas (4, 25 e 60 °C) usando a sequência dos solventes n-hexano e etanol estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Rendimento dos extratos da farinha da semente de abacate usando os solventes n-hexano e etanol com diferentes temperaturas de extração.

Solvente	Rendimento (%)		
	4 °C	25 °C	60 °C
Hexano	16,50 ^{a,A} ± 1,243	18,35 ^{a,A} ± 1,850	8,23 ^{b,B} ± 0,024
Etanol	2,77 ^{b,B} ± 0,094	2,70 ^{b,B} ± 1,042	18,37 ^{a,A} ± 0,011
Rendimento total	19,27	21,05	26,60

Média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferença estatística ao nível de 5% pelo teste de Tukey e t student, respectivamente.

Como pode ser observado (tabela 3) os extratos hexanóicos apresentaram maior rendimento nas temperaturas mais baixas (4 °C e 25 °C), já o rendimento do extrato etanólico foi maior a temperatura mais elevada. Esse fato pode ser explicado pelo fato que a extração a 60 °C foi realizada em sistema aberto, usando condensador de bolas e em virtude de alta volatilidade do hexano, uma parte do extrato acabou sendo volatilizada, o que não aconteceu com extrato etanólico mais polar, tendo rendimentos 8,2% e 18,4% respectivamente. O maior rendimento total obtido a 60 °C, se deve ao aumento da solubilidade do soluto no solvente, aumentando a taxa de difusão e promovendo um aumento na taxa de transferência de massa.

Verifica-se também que as extrações a 4 e 25 °C com ambos solventes não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$), contudo as mesmas diferiram da extração a temperatura mais elevada (60 °C) ($p < 0,05$).

Teor de fenóis totais

A tabela 4 apresenta os resultados referentes ao teor de compostos fenólicos totais encontrados nos extratos preparados a partir de semente de abacate com hexano e etanol à 4 °C, 25 °C e 60 °C.

Tabela 4. Teor de fenóis totais de extrato usando os solventes n-hexano e etanol para a farinha de semente de abacate.

Solventes	Fenóis totais (mgEAG/g)		
	4 °C	25 °C	60 °C
Hexano	52,79 ^{C,b} ± 0,59	69,63 ^{B,b} ± 3,26	86,03 ^{A,b} ± 1,90
Etanol	454,41 ^{C,a} ± 18,02	483,82 ^{B,a} ± 8,41	838,97 ^{A,a} ± 33,80
Total	507,20 ± 8,74	553,45 ± 2,59	925,00 ± 15,95

Média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferença estatística ao nível de 5% pelo teste de Tukey e t student, respectivamente.

*Estes resultados foram estimados pela extrapolação da curva padrão de ácido gálico para a determinação do teor de compostos fenólicos.

Devido à alta polaridade dos polifenóis e seus derivados, os extratos etanoicos apresentaram alto teor de fenóis totais quando comparados com extratos hexanoicos, a maior concentração foi encontrada em extratos obtidos a 60 °C, para os dois solventes testados com valor total 925 mg EAG/g (tabela 4). O conteúdo de fenóis totais encontrado no presente estudo foi três vezes superior ao encontrado por Pahu-Ramos *et al.* [24] e 18 vezes maior ao encontrado por Wang *et al.* [25]. O local da coleta, época do ano e a variedade da fruta podem influenciar no teor de compostos bioativos. Além disso em pesquisa realizada por Pahu-Ramos *et al.* [24] foram usadas as sementes de abacate secas em estufa à 40 °C por 48 h, já no presente trabalho a desidratação das sementes foi realizada por liofilização. De acordo com Chan *et al.* [26] as temperaturas da secagem e da extração podem influenciar diretamente na concentração de compostos fenólicos totais. Por outro lado, até um certo ponto, o aumento da temperatura da extração favorece a liberação de metabólitos secundários graças a danificação das paredes celulares que levam ao aumento da permeabilidade da membrana celular além de aumentar a transferência de massa, da solubilidade e da difusão do soluto e solvente [27].

A literatura traz informações sobre altos teores de ácido protocatéquico, caempferida, ácido vanílico, ácido clorogênico, ácido seringico e rutina, considerados excelentes agentes antioxidantes além de apresentar atividade hipocolesterolêmica [24]. Assim, as suas

propriedades como os compostos fenólicos e seus derivados são tem alto potencial e já são amplamente usados nas áreas farmacêutica, nutricional e em aplicações veterinárias.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos hexanóico e etanoico obtidos nas diferentes temperaturas de extração (4, 25 e 60 °C) estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Atividade antioxidante dos extratos hexanóico e etanoico obtidos da farinha de semente de abacate em diferentes temperaturas, expressa em valores de IC₅₀.

Solvente	IC ₅₀ (mg/mL)		
	4 °C	25 °C	60 °C
Hexano	0,607 ^{a,A} ± 0,003	0,374 ^{a,B} ± 0,025	0,099 ^{a,C} ± 0,001
Etanol	0,013 ^{b,B} ± 0,002	0,018 ^{b,B} ± 0,003	0,077 ^{b,A} ± 0,009

*Estes resultados foram estimados pela extrapolação da curva de atividade antioxidante.

Média ± desvio padrão; letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferença estatística ao nível de 5% pelo teste de Tukey e t student, respectivamente.

Como todos os extratos etanoicos apresentaram maiores teores de compostos fenólicos totais, a maior atividade antioxidante também foi encontrada para os mesmos extratos (tabela 5). Pode-se verificar também que os extratos obtidos com etanol a 4 °C e 25 °C apresentaram a melhor atividade antioxidante (IC₅₀ de 0,013 mg/mL e 0,018 mg/mL respectivamente) diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) do extrato obtidos e 60 °C. Quanto ao aumento da atividade antioxidante do extrato hexanoico obtido à 60 °C podemos supor que alguns compostos fenólicos de polaridade intermediária se solubilizaram em hexano por causa de aumento da temperatura e dessa forma contribuíram para o aumento de atividade antioxidante desse extrato, o que corrobora com os resultados obtidos para fenóis totais apresentados na tabela 4.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração do extrato em mg/mL, capaz de inibir o crescimento microbiano mostrada na tabela 6.

Tabela 6. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos usando os solventes n-hexano e etanol para a farinha de semente de abacate em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Bactérias Gram-positivas	Concentração inibitória mínima (mg/mL)					
	Hexano 4 °C	Hexano 25 °C	Hexano 60 °C	Etanol 4 °C	Etanol 25 °C	Etanol 60 °C
<i>L. monocytogenes</i>	1,40	18,80	20,00	8,40	11,30	22,50
<i>S. aureus</i>	2,80	6,30	10,00	5,60	16,90	11,30
Bactérias Gram-negativas						
<i>S. choleraesuis</i>	1,60	6,30	15,00	11,30	16,90	16,90
<i>E. coli</i>	3,80	9,40	20,00	8,40	11,30	22,50

Todos os extratos obtidos em temperaturas mais baixas apresentaram melhor atividade antimicrobiana, sendo os extratos hexanólicos mais biologicamente ativos quando comparados com os extratos etanólicos (tabela 6). O extrato hexanólico obtido a 4 °C apresentou maior atividade antimicrobiana para todas as bactérias testadas.

Muitos estudos têm sido realizados para verificar a atividade antimicrobiana de extratos de abacate. Chia *et al.* [28] demonstraram que a atividade antimicrobiana em extratos de etanol de sementes de abacate (125-250 mg/mL) foram efetivas para as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (*Salmonella enteritidis*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter aerogenes*).

CONCLUSÕES

As sementes de abacate, que são um resíduo da indústria alimentícia, podem ser reaproveitadas e usadas como suplementos na alimentação humana e animal porque apresentam uma importante fonte de energia, fibras, sais minerais e compostos com propriedades antimicrobianas e antioxidantes. A temperatura da secagem e da extração, assim como o solvente escolhido pode influenciar nas propriedades biológicas dos extratos, sendo as temperaturas mais baixas mais adequadas. Os extratos etanólicos, obtidos à 4 °C e 25 °C apresentaram maior atividade antioxidante e o extrato hexanólico apresentou as menores concentrações inibitórias mínimas para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas avaliadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Finance Code 001 e a Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões URI Erechim pela infraestrutura.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não tem nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. R.G. Araújo, R.M. Rodriguez-Jasso, H.A. Ruiz, M.M.E. Pintado, C.N. Aguilar, Avocado by-products: Nutritional and functional properties, *Trends Food Sci. Technol.*, **80**, 51-60 (2018).
2. P.F. Duarte, M.A. Chaves, C.D. Borges, C.R.B. Mendonça, Avocado: characteristics, health benefits and uses, *Ciência Rural*, **46**, 747-754 (2016).
3. K. Alissa, Y.-C. Hung, C.Y. Hou, G.C.W. Lim, J.-Y. Ciou, Developing new health material: the utilization of spray drying technology on avocado (*Persea Americana* Mill.) seed powder, *Foods*, **9**(2), 139 (2020).
4. A. López-Cobo, A.M. Gómez-Caravaca, F. Pasini, M.F. Caboni, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part and by-products of avocado, *LWT - Food Sci. Technol.*, **73**, 505-513 (2016).
5. J.G. Figueroa, I. Borrás-Linares, J. Lozano-Sánchez, A. Segura-Carretero, Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS, *Food Res. Int.*, **105**, 752-763, (2018).
6. J.F.F. Macena, J.C.A. de Souza, G.P. Camilloto, R.S. Cruz, Physico-chemical, morphological and technological properties of the avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass) seed starch, *Ciência e Agrotecnologia*, **44**, e001420 (2020).

7. A.M. Dahmer, A.A. Rigo, E. Valduga, J. Steffens, C. Steffens, M.C. Carrão-Panizzi, Quality characteristics of rotative-type biscuits free of gluten prepared with soya flour and cassava starch, *Curr. Nutr. Food Sci.*, **16**(2), 176-184 (2020).
8. A.M. Dahmer, A.A. Rigo, J. Steffens, C. Steffens, M.C. Carrão-Panizzi, Thermal treatment for soybean flour processing with high-quality color and reduced Kunitz trypsin inhibitor, *J. Food Process Eng.*, **41**(8), e12925 (2018).
9. D. Dabas, R. Shegog, G. Ziegler, J. Lambert, Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals, *Curr. Pharm. Des.*, **19**(34), 6133-6140, (2013).
10. F. Segovia, G. Hidalgo, J. Villasante, X. Ramis, M. Almajano, Avocado seed: a comparative study of antioxidant content and capacity in protecting oil models from oxidation, *Molecules*, **23**(10), 2421 (2018).
11. P.R.S. Páramos, J.F.O. Granjo, M.L. Corazza, H.A. Matos, Extraction of high value products from avocado waste biomass, *J. Supercrit. Fluids*, **165**, 104988 (2020).
12. O. Zenebon, N.S. Pascuet, P. Tiglea, *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*, 4a ed., Instituto Adolfo Lutz (IAL), São Paulo, 2008.
13. V.L. Singleton, R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventós, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods Enzymol.*, **299**, 152-178 (1999).
14. Brasil, RDC N.o 263, de 22 de setembro de 2005, *Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos*, 2005.
15. I. Tontul, A. Topuz, Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties, *Trends Food Sci. Technol.*, **63**, 91-102 (2017).
16. FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, *Amino-acid content of foods*, 1981. URL: <http://www.fao.org/3/ac854t/AC854T40.htm#-chI.I>, acessado 20-Jul-2021.
17. J.M. Medeiros, *Caracterização físico-química e funcional da farinha da semente de abacate e sua viabilidade para elaboração de produto alimentício*, trabalho de grado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Santa Cruz, 2017.

18. É.R. Daiuto, M.A. Tremocoldi, S.M. de Alencar, R.L. Vieites, P.H. Minarelli, Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'Hass, *Rev. Bras. Frutic.*, **36**(2), 417-424 (2014).
19. Brasil, Portaria n.33 SVS/MS, de 13 de janeiro de 1998, *A Secretária de Vigilância Sanitária do MS adota a Ingestão Diária Recomendada (IDR) para vitaminas, minerais e proteínas*, Diário Oficial da União, 1998.
20. G. Rivera-González, C.A. Amaya-Guerra, J. Rosa-Millán, Physicochemical characterisation and *in vitro* starch digestion of avocado seed flour (*Persea americana* V. Hass) and its starch and fibrous fractions, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **54**(7), 2447-2457 (2019).
21. M.A. Mahawan, M. Tenorio, J. Gomez, R.A. Bronce, Characterization of flour from avocado seed kernel, *Asia Pacific J. Multidiscip. Res.*, **3** (4), 34-40 (2015).
22. D. Dabas, R. J. Elias, J. D. Lambert, G. R. Ziegler, A colored avocado seed extract as a potential natural colorant, *J. Food Sci.*, **76**(9), C1335-C1341 (2011).
23. J.A.M. Gondim, M.d.F.V. Moura, A.S. Dantas, R.L.S. Medeiros, K.M. Santos, Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas, *Ciência e Tecnol. Aliment.*, **25**(4), 825-827 (2005).
24. M.E. Pahlua-Ramos, A. Ortiz-Moreno, G. Chamorro-Cevallos, M.D. Hernández-Navarro, L. Garduño-Siciliano, H. Necochea-Mondragón, M. Hernández-Ortega, Hypolipidemic effect of avocado (*Persea americana* Mill) seed in a hypercholesterolemic mouse model, *Plant Foods Hum. Nutr.*, **67**(1), 10-16, (2012).
25. W. Wang, T.R. Bostic, L. Gu, Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars, *Food Chem.*, **122**(4), 1193-1198 (2010).
26. E.W.C. Chan, Y.Y. Lim, S.K. Wong, K.K. Lim, S.P. Tan, F.S. Lianto, M.Y. Yong, Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species, *Food Chem.*, **113**(1), 166-172 (2009).
27. D.R. Pompeu, E.M. Silva, H. Rogez, Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology, *Bioresour. Technol.*, **100**(23), 6076-6082 (2009).

28. T.W.R. Chia, G.A. Dykes, Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars, *Pharm. Biol.*, **48**(7), 753-756 (2010).

COMO CITAR ESTE ARTIGO

M. Miotto-Peccin, J. Lisboa-Bernardi, L.H. Nascimento, N. Ambrósio, R.L. Cansian, N. Paroul, C. Steffens, Caracterização físico-química da farinha e dos extratos das sementes de abacate (*Persea americana* (Mill.) Lauraceae), *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **51**(1), 369-386 (2022).