



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

ANA PAULA MUNIZ SEREJO

Estudo químico e biológico de sementes de *Persea americana* Mill e *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum.

POTENCIAIS BIOPRODUTOS NO CONTROLE DE ARBOVIROSES

São Luís

2021

ANA PAULA MUNIZ SEREJO



Estudo químico e biológico de sementes de *Persea americana* Mill e *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum.

POTENCIAIS BIOPRODUTOS NO CONTROLE DE ARBOVIROSES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Denise Fernandes
Coutinho

Área de concentração: Saúde das Populações

São Luís

2021

São Luís
2021

ANA PAULA MUNIZ SEREJO

Estudo químico e biológico de sementes de *Persea americana* **Mill** e *Theobroma grandiflorum* (**Willd. ex Spreng.**) **K. Schum.**

POTENCIAIS BIOPRODUTOS NO CONTROLE DE ARBOVIROSES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Aprovada em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Denise Fernandes Coutinho
(Orientador)Doutorado em Química (USP)
Universidade Federal do Maranhão

Prof.^a Dr.^a Flavia Maria Mendonça do Amaral
Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos
Bioativos- UFPB
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr.^a Mariana Arruda
Doutora em Biotecnologia pelo RENORBIO- UFMA
Faculdade Uninassau (São Luís)

Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall'Agnol
Doutorado em Química Sustentável pela
Universidade Nova de Lisboa (Portugal)

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir essa oportunidade e não me fazer desistir, sempre esteve do meu lado.

Ao meu Marido, Wesley Serejo, por acreditar em mim, muito mais do que eu mesma, ser minha fortaleza diária.

A minha mãe, por ao longo da vida, ser meu exemplo de vida e vitória.

Aos meus filhos, que são meu combustível de vida.

A minha orientadora por acreditar no meu trabalho.

Agradeço a toda minha família por todo apoio nesse período.

Aos amigos de turma, que foram grandes incentivadores e parceiros, em especial ao Gustavo Oliveira.

A Capes e a Fapema pelo apoio e financiamento da pesquisa.

“Ora, a fé é o firme fundamento das coisas que se esperam e a prova das coisas que se não veem.”
Hebreus 11:1.

RESUMO

As arboviroses são doenças que possuem parte do seu ciclo de vida associado a um artrópode. Dentre as mais importantes, destacam-se as transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti* que apresentam grande incidência e persistem sobrecarregando os sistemas de saúde pública do Brasil e do mundo. As mais importantes arboviroses na atualidade são Dengue, Febre Zika e Chikungunya por não apresentarem vacinas e tratamento eficazes. O crescente aumento da resistência da população vetorial aos inseticidas sintéticos, torna necessário o controle vetorial através da redução dos criadouros e erradicação do mosquito. Ressalta-se que a falta de saneamento e o descarte indevido do lixo favorecem a proliferação do vetor transmissor. Como alternativa de reduzir o impacto ambiental e a busca por estratégias alternativas no combate das arboviroses, o objetivo deste trabalho foi investigar potenciais larvicidas a partir de subprodutos (sementes) da indústria alimentícia de duas espécies vegetais: *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum*, bem como sua toxicidade frente organismo não alvos. Os materiais vegetais foram coletados no município de São Luis-MA em um imóvel localizado no bairro Ipem Turu, em novembro de 2020, 2°31'04.7"S 44°13'04.7"W (GPS). Os extratos obtidos com diferentes hidromódulos, foram estudados quanto à sua composição e a atividade larvicida frente *Aedes aegypti*. A toxicidade para organismos não-alvos foi verificada pelo teste de *Artemia salina*. Através do estudo fitoquímico evidenciou-se no extrato da espécie *P. americana* os seguintes metabólitos: esteroides, flavonoides, glicosídeos, glicosídeos cardíacos, saponinas, fenóis e taninos. Já no extrato de *T. grandiflorum* obteve os mesmos metabólitos exceto as saponinas e alcaloides. Observou-se atividade frente a larvas de *Aedes aegypti* nos extratos de *P. americana* com CL_{50} variando 181,72 a 401,96 mg L⁻¹ e nos extratos *T. grandiflorum* 35.01 a 369.19 mg L⁻¹ com intervalo de confiança de 95%. Evidenciou-se que o extrato de *Theobroma grandiflorum* apresentou melhor desempenho frente as larvas de *Aedes aegypti* com o hidromódulo 1:6 com CL_{50} 35,01 mg L⁻¹. Ambos os extratos não apresentam toxicidade no ensaio de *Artemia salina*. Os extratos apresentaram potencial de atividade larvicida e atoxicidade para organismos não-alvos, sendo uma estratégia promissora no combate e controle das arboviroses. Vale destacar que a caracterização química dos extratos na espécie *Persea americana*, apresentou como compostos majoritários: perseitol, isômero do ácido cafeinólico, isômero da Procianidina e ácido hidroxiaabscísico, já na espécie *Theobroma grandiflorum*, os compostos predominantes foram ácido quínico, procianidina B1 e theograndin II. Tais constituintes apontam atividades anti-inflamatórias, antineoplásicas e antioxidantes, demonstrando assim uma elevada capacidade biológica. Dessa forma o destino sustentável para os resíduos orgânicos oriundos de frutas, deve ser mais explorado, colaborando com a redução do acúmulo de lixo e contribuindo para descoberta de novos compostos no combate a agravos de saúde.

Palavras chaves: plantas, dengue, controle vetorial, resíduos orgânicos, sustentabilidade.

ABSTRACT

Arboviruses are diseases that have part of their life cycle associated with an arthropod. Among the most important, we highlight those transmitted by the *Aedes aegypti* mosquito that have a high incidence and persist overloading public health systems in Brazil and the world. The most important arboviruses today are Dengue, Zika Fever and Chikungunya because they do not present effective vaccines and treatment. The increasing resistance of the vector population to synthetic insecticides makes vector control necessary through the reduction of breeding sites and eradication of the mosquito. It is emphasized that the lack of sanitation and the undue disposal of garbage favor the proliferation of the transmitting vector. As an alternative to reduce the environmental impact and the search for alternative strategies to combat arboviruses, the objective of this work was to investigate potential larvicides from by-products (seeds) of the food industry of two plant species: *Persea americana* and *Theobroma grandiflorum*, as well as its toxicity against non-targets. Plant materials were collected in the municipality of São Luis-MA in a property located in the Ipem Turu neighborhood, in November 2020, 2°31'04.7"S 44°13'04.7"W (GPS). The extracts obtained with different hydromodules were studied for their composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti*. Toxicity to non-target organisms was verified by artemia saline test. Through the phytochemical study, the following metabolites were evidenced in the extract of the species *P. americana*: steroids, flavonoids, glycosides, cardiac glycosides, saponins, phenols and tannins. In the extract of *T. grandiflorum* obtained the same metabolites except saponins and alkaloids. Activity was observed against *Aedes aegypti* larvae in *P. americana* extracts with LC50 ranging from 181.72 to 401.96 mg L⁻¹ and in extracts *T. grandiflorum* 35.01 to 369.19 mg L⁻¹ with a 95% confidence interval. It was evidenced that the extract of *Theobroma grandiflorum* presented better performance compared to the larvae of *Aedes aegypti* with the hydromodule 1:6 with CL50 35.01 mg L⁻¹. Both extracts do not present toxicity in the Artemia saline assay. The extracts showed potential for larvicidal activity and atoxicity for non-target organisms, being a promising strategy in the fight and control of arboviruses. It is worth noting that the chemical characterization of extracts in the american *Persea* species, presented as marjoritary compounds: perseitol, caffeinate isomer, Procyyanid isomer and hydroxyabscisic acid, already in the species *Theobroma grandiflorum*, the predominant compounds were quinic acid, procyanidine B1 and theograndin II. Thus, the sustainable destination for organic waste from fruits should be further explored, contributing to the reduction of garbage accumulation and contributing to the discovery of new compounds in the fight against health problems.

Key words: arboviruses, vector control, organic waste, sustainable.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivos específicos	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 Arboviroses	14
3.2 <i>Aedes aegypti</i> : aspectos gerais	16
3.3 Controle de arboviroses:	19
3.4 Prospecção de produtos naturais de origem vegetal	Erro! Indicador não definido.
3.5 Bioprospecção de agentes larvicidas	23
3.6 Reaproveitamento de subprodutos.....	66
3.7 <i>Persea americana</i> : abacateiro.....	26
3.8 <i>Theobroma grandiflorum</i> : cupuaçuzeiro	29
3.9 Ecotoxicidade.....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 Capítulo 1: Caracterização e estratégias no controle das arboviroses	31
4.2 Capítulo 2: Larvicidal activity of hidroalcoholic extracts of <i>Persea americana</i> Mill seeds against <i>Aedes aegypti</i>	45
4.3 Capítulo 3: Activity of hidroalcoholic extracts of commonly discarded Seeds of <i>Theobroma grandiflorum</i> against the vector of arboviruses <i>Aedes aegypti</i>	59
4.4 Capítulo 4 Reaproveitamento de resíduos gerados pelas espécies <i>Persea americana</i> e <i>Theobroma grandiflorum</i> : Uma alternativa para sustentabilidade ambiental.....	66
4.5 Capítulo 5: Caracterização química dos extratos etanólicos de sementes dos frutos das espécies vegetais : <i>Persea americana</i> e <i>Theobroma grandiflorum</i> (Willd. ex Spreng).	80
Resumo.....	80
5.Considerações finais.....	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

1. INTRODUÇÃO

Há uma crescente disseminação de arboviroses, como vírus da dengue, o vírus Chikungunya (CHIKV) e o Zika (ZIKV) no Brasil e no mundo, devido a acelerada urbanização, processo de ocupação irregular nas cidades, falta de saneamento básico e acúmulos de aterro sanitários de lixo (VALLE et al., 2015). Dessa forma há necessidade no âmbito da saúde pública, realizar intervenções de prevenção e combate dessas doenças centradas no controle vetorial (RÍOS-GONZÁLEZ et al.,2017).

Dengue, chikungunya, febre amarela e Zika são doenças de notificação compulsória e estão presentes na Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças, Agravos e Eventos de Saúde Pública, unificada pela Portaria de Consolidação nº 4, de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2019).

São agravos de saúde que tem como característica comum a sua transmissão pelo mesmo mosquito do gênero *Aedes*, com destaque para a espécie *Aedes aegypti* (ALMEIDA et al., 2020), este vetor apresenta ampla distribuição geográfica sendo seu crescimento influenciado por fatores como: inadequada urbanização, aumento de número de recipientes não biodegradável, descarte impróprio de resíduos sólidos e falta de saneamento básico (VALLE et al., 2015).

Uma das estratégias mais utilizadas para seu controle é o manejo vetorial, e o uso de compostos orgânicos sintéticos (inseticidas e larvicidas) (SILVA et al.,2020) considerado uma grande vantagem por apresentar amplo espectro de ação, no entanto exige um efeito residual duradouro, causando assim problemas ambientais e toxicológicos (ROSA et al.,2016).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reforça a necessidade de integrar diversas abordagens, propondo a estratégia de Manejo Integrado de Vetores (MIV) como forma de obter melhores resultados, tanto na redução da abundância do vetor quanto na contenção das doenças vetoriais (SILVA et al., 2016). Uma das propostas é a utilização de produtos naturais de origem vegetal com ação inseticida, uma vez que são fontes de substâncias bioativas e facilmente biodegradáveis e que pela complexidade da sua composição, dificultam o desenvolvimento de resistência (MIRANDA et al.,2016).

Extratos e óleos essenciais obtidos de plantas vêm sendo testados para o controle de insetos em virtude de sua elevada seletividade, degradação a produtos não tóxicos ou de baixa toxicidade a organismos não alvos e ao meio ambiente (VIANA et

al., 2018).

As plantas produzem metabólitos secundários como os flavonoides, alcaloides e terpenoides que coevoluem com os insetos e micro-organismos, tornando-se fontes naturais de combate desses agentes (GUARDA et al., 2016). Uma das tendências atuais nesse contexto é a prospecção de produtos naturais de origem vegetal com propriedades larvicidas, visto que é mais fácil controlar os mosquitos quando os mesmos encontram-se com mobilidade reduzida e acessíveis (GARCEZ et al., 2015).

Uma alternativa é o reaproveitamento de partes do fruto das plantas, na busca por atividade biológica, no trabalho em questão atividade larvicida. Vale ressaltar que o setor de fruticultura está em acelerado crescimento no Brasil (ANSILIER et al., 2020), sendo considerado o terceiro produtor de frutas no mercado internacional, estima-se que o consumo brasileiro de frutas processadas ultrapasse 23 milhões de toneladas. (SEBRAE, 2015).

Os frutos das espécies vegetais estudadas *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum* são amplamente utilizadas na alimentação (DABAS et al., 2019; GENOVESE, et al., 2016) e suas sementes são geralmente descartadas. Gerando assim resíduos orgânicos como casca, sementes e bagaço, o que pode representar em torno de 30% da massa inicial de frutas processadas (ATAIDE et al., 2021).

O reaproveitamento destes resíduos pode contribuir para a redução dos impactos ambientais (JULICH et al., 2016) e ser potente recurso no enfrentamento das arboviroses.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho é avaliar os metabólitos secundários e atividade larvicida frente *A. aegypti* de extratos hidroalcoólicos padronizados obtidos das sementes de *Persea americana* Mill e *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng), consideradas subprodutos da utilização dos frutos destas espécies. Os resultados obtidos através do presente estudo, estão descritos nos capítulos 01, 02, 03, 04 e 05.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Realizar estudo químico, larvicida frente as larvas de *Aedes aegypti* e de toxicidade de extratos hidroalcoólicos obtidos com as sementes de *Persea americana* Mill. e *Theobroma grandiflorum* Willd.

2.2 Objetivos específicos

- Pesquisar os metabólitos secundários presentes nos extratos hidroalcoólicos das sementes das espécies de *Persea americana* Mill e *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) através da prospecção fitoquímica;
- Avaliar a toxicidade dos extratos estudados em organismos não-alvo;
- Verificar a atividade larvicida dos extratos pesquisados;
- Contribuir com o reaproveitamento de resíduos alimentares para o desenvolvimento de bioprodutos no controle de arboviroses.
- Caracterizar o perfil químico dos extratos estudados por cromatografia líquida.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ARBOVIROSES

Os arbovírus (ARthropod BORne VIRUS) são motivos de grande preocupação para a saúde pública em todo o mundo. Esse conjunto é formado por centenas de vírus que compartilham a característica de serem transmitidos por artrópodes, em sua maioria mosquitos hematófagos, embora não tenham necessariamente relação filogenética. Os vírus mais importantes para a saúde humana são os transmitidos por culicídeos, principalmente dos gêneros *Culex* e *Aedes*, embora existam arbovírus transmitidos por outros artrópodes, como flebotomíneos e também por carrapatos (DONALISIO et al., 2017).

Os vírus transmitidos por artrópodes podem pertencer a várias famílias como: Bunyaviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae (RUST, 2012). Em relação a dengue, esta doença tem como agente um arbovírus do gênero Flavivírus da família Flaviviridae, do qual existem quatro sorotipos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4 (FOGAÇA et al., 2019).

No Brasil, as arboviroses de maior destaque, além da Dengue vírus são a Zika (ZIKV), Chikungunya(CHIKV) e Febre amarela urbana (OSSA et al., 2019), que são consideradas doenças de notificação compulsória e estão presentes na Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças, Agravos e Eventos de Saúde Pública, unificada pela Portaria de Consolidação nº 4, de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde. (BRASILa, 2019).

Sabe-se que a dengue é a doença com maiores casos de infectados, sendo controlada pelo manejo de vetores ou pela vacina, denominada de Dengvaxia, aprovada em vários países no mundo e demonstrou segurança e eficácia na prevenção dos quatro sorotipos da dengue. No entanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária(ANVISA) contraindica que indivíduos que nunca tiveram a doença sejam vacinados devido a estudos no qual sugerem que pacientes sem histórico de infecção apresentam riscos de desenvolver a forma mais grave da doença(BRASILb, 2019).

A incidência no mundo de dengue ampliou-se dramaticamente nas últimas décadas. Cerca de metade da população mundial está em risco e há cerca de 100 a 400 milhões de infecções a cada ano. E os casos de óbitos notificados entre o ano de 2000 e 2015 aumentaram de 960 para 4.032.(OMS, 2020).

Em 2019, a dengue atingiu 3,1 milhões de casos notificados no mundo, o maior recorde dos últimos anos (OMS, 2020). Segundo o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde (2021), durante o período (29/12/2019 a 2/1/2021) foram notificados 987.173 casos prováveis (BRASIL, 2021). Na região nordeste apresentou incidência de (263,8

casos/100 mil hab). Nota-se que a curva endêmica dos casos de Dengue no Brasil no ano de 2020 ultrapassa o número de casos do ano de 2019. Contudo, na semana 12 do ano de 2020, observa-se uma redução de casos em relação ao ano anterior. Essa queda se deve a mobilização das equipes de vigilância epidemiológicas no enfrentamento a pandemia do coronavírus (Covid-19), o que pode ter gerado subnotificações. Vale lembrar que ainda há receio da população em buscar atendimento em unidade de saúde por conta do risco de contaminação do coronavírus. (BRASIL, 2021).

A respeito dos dados da chikungunya até dezembro de 2020, foram notificados 82.419 casos prováveis, e a região Nordeste apresentou a maior taxa de incidência 103,4 casos/100 mil hab. O Maranhão apresentou a segunda menor incidência de casos, perdendo somente para o Piauí (BRASIL, 2021) que pode ser também por conta da pandemia (BRASIL, 2021).

Acredita-se que a infecção pelo vírus CHIKV possa contribuir para o desenvolvimento de uma doença inflamatória reumática ou até mesmo colaborar para o diagnóstico precoce de artrite reumatoide e artrite psoriática em pacientes suscetíveis. A Chikungunya é considerada a arbovirose associada a maior grau de manifestações reumatológicas, com agravos principalmente na locomoção dos pacientes que passam a não ter todos os movimentos, podendo acarretar até invalidez precoce (CASTRO et al., 2016).

E quanto os registros de zika, 7.387 casos prováveis, sendo 609 casos prováveis de zika em gestantes no país no ano de 2020. A região Nordeste apresentou a maior taxa de incidência (9,2 casos/100 mil hab.) Salienta-se que nem todo registro positivo para zika vírus em gestantes apresenta como consequência um recém-nascido com algum comprometimento neurológico (BRASIL, 2021).

A infecção por ZIKV normalmente é assintomática, porém pode provocar quadros leves como febre, erupção cutânea, mialgia, artralgia e conjuntivite (LUCEY; GOSTIN, 2016). Todavia, desde 2013, na Polinésia Francesa, foi registrado um grande surto, dos quais alguns apontavam complicações neurológicas e autoimunes (IOOS et al., 2014).

Dentre os quadros de maior preocupação destaca-se o brasileiro, em virtude da epidemia de microcefalia associada ao ZIKV, manifestada por um aumento de 20 vezes em sua incidência nos períodos de 2014 a 2015 (MENEZES et al., 2016).

A contaminação pelo vírus Zika atinge todas as classes sociais de ambos os sexos, com baixo índice de hospitalizações. Contudo há registros de complicações neurológicas tardia, como a síndrome de Guillain Barré(SGB) , além de alto risco de

infecção pelo ZIKV em gestantes por conta da ocorrência de microcefalia em recém nascidos (SILVA et al., 2021).

O impacto das arboviroses na morbidade e mortalidade se intensifica à medida que extensas epidemias pressupõem grande número de indivíduos acometidos, com implicações sobre os serviços de saúde, principalmente diante da ausência de tratamento, vacinas e outras medidas efetivas de prevenção e controle (DONALÍSIO, 2017).

Por outro lado, pressões ambientais conduzem à seleção de linhagens de vírus que causam viremias mais intensas e, conseqüentemente, maior patogenicidade da doença, como é o caso do CHIKV (DONALÍSIO, 2017).

Vale ressaltar que perante ao cenário mundial da instalação da pandemia causada por coronavírus em março de 2020, em estudo realizado por Reegan(2020) na Índia avaliou-se o impacto das medidas de isolamento social diante do controle vetorial do mosquito *Aedes aegypti* e foi possível constatar que os índices de transmissão aumentaram ao longo desse período.

3.2 *Aedes aegypti* L.: aspectos gerais:

Aedes aegypti L. foi reconhecido pela primeira vez como vetor de arbovírus em 1900 em Cuba por Walter Reed, Carlos Finlay e James Carroll (REED E CARROLL 1901). Alguns anos depois, em 1906, Thomas Bancroft demonstrou que *A. aegypti* também poderia transmitir DENVs (SOUZA-NETO et al., 2019).

Apresenta ampla distribuição e disseminação em países tropicais e sub-tropicais. Pertence à família Culicidae e da ordem Diptera, apresenta hábitos antropofílicos, cujas fêmeas necessitam realizar hematofagia para a sua ovopostura, com ciclo biológico que envolve ovo, larva, pupa e adulto (ZEQUI et al., 2018). Considerado o principal responsável pela disseminação de arboviroses, como Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela urbana (MAIA et al., 2019).

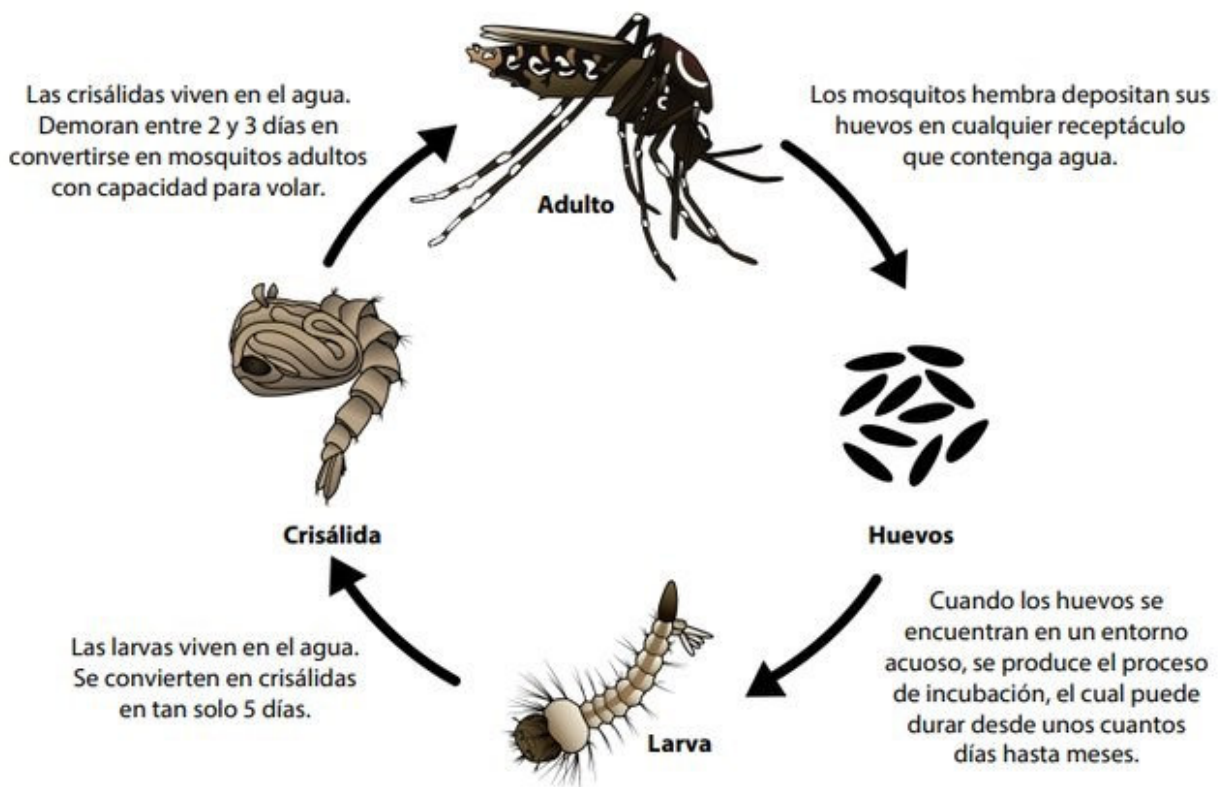
De origem africana, sua introdução se remonta ao período Colonial, possivelmente quando havia tráfico de escravos, sendo que os primeiros casos de Dengue foram registrados em 1865, Já os casos de Chikungunya e Zika, tiveram seus primeiros casos autóctones detectados em 2014 e 2015, especificamente todos na Região Nordeste (TONIAZZO et al., 2016; ZARA et al., 2016; CAVALCANTI et al., 2018).

A maior parte das cepas de *A. aegypti* possuem preferência em picar humanos, utilizam uma variedade de pistas sensoriais como, a presença do calor, dióxido de

carbono e odor corporal para identificar hospedeiros em seu ambiente (MATTHEWS, 2019).

O ciclo de vida do vetor é formado por 4 fases: ovo, larva, pupa e adulto conforme figura 1, sendo que o ovo pode sobreviver até 450 dias em locais secos, e quando adicionada água o mesmo volta se tornar ativo, o mosquito adulto sobrevive de 30 a 45 dias e eclode nas primeiras 24 horas de vida tanto na hora do vôo ou em locais horizontais e verticais, depositados em água limpa e paradas, desta forma é notável a dificuldade de erradicação deste vetor (FILHO et al., 2019).

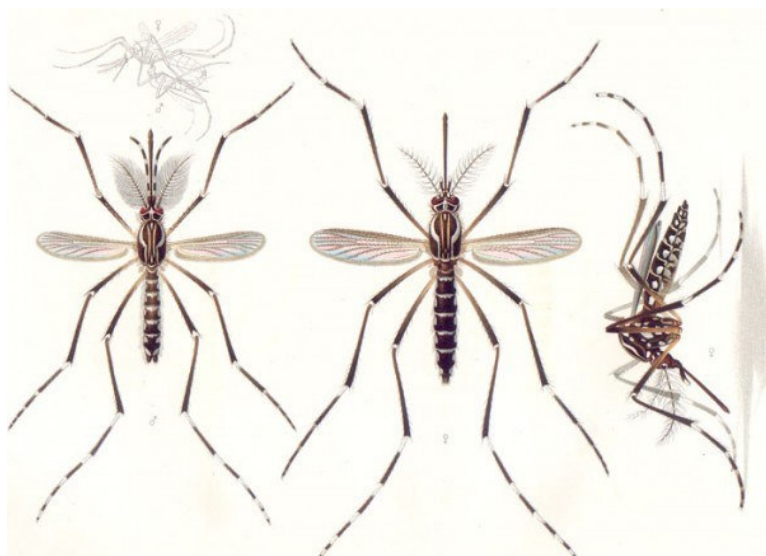
Figura 1: Ciclo de vida de *Aedes aegypti*.



FONTE: Romero & Wainer, 2019.

Morfologicamente, os adultos podem ser identificados por apresentarem um clipeo com dois tufo de escamas branco-prateadas e o escudo ornamentado com escamas branco-prateadas formando um desenho em formato de lira. Além disso, para a diferenciação do sexo de acordo com figura 2, utiliza-se a morfologia da antena e a estrutura do aparelho bucal, ou seja, os machos podem ser reconhecidos por apresentarem antenas do tipo plumosa e palpos longos e as fêmeas por possuírem antenas do tipo filiforme e palpos curtos (SILVA, 2019).

Figura 2: Diferenciação de sexo de *Aedes aegypti*.



Fonte: PINHEIRO et al., 2019.

É considerado um mosquito oportunista, aproveitando de todas as condições e possibilidades favoráveis à sua reprodução, como: as altas temperaturas e águas limpas e paradas (SANTOS et al., 2019).

A contaminação do arbovírus é realizada através da picada da fêmea do mosquito, que precisa da albumina, substância presente no sangue para completar o processo de amadurecimento de seus ovos, sendo dessa forma, as fêmeas responsáveis pela transmissão de arbovírus. A maior parte das picadas aos seres humanos acontece no início da manhã e ao entardecer. Ele é considerado apenas o transmissor da doença (ACRUCHE et al., 2019, MOREIRA, 2016). A fêmea após picar uma pessoa infectada com DENV, o vírus se replica no intestino do mosquito. O tempo que leva desde a ingestão do vírus até a transmissão efetiva para um novo hospedeiro é denominado período de incubação extrínseca (EIP) (OMS, 2020).

O EIP leva cerca de 8 a 12 dias até a transmissão de arboviroses, as variações deste período são influenciadas pela temperatura ambiente; magnitude das flutuações diárias de temperatura, genótipo do vírus e carga viral. No entanto uma vez infectado, o mosquito é capaz de transmitir o vírus pelo resto da vida. (OMS, 2020).

Espera-se que a fêmea se alimente de sangue a cada três dias, pois é quando completa seu ciclo gonotrófico. Cada ciclo pode resultar na produção de, em média, 100 ovos. Em um mês, portanto, ela pode depositar até mil ovos no ambiente de forma dispersa (ACRUCHE et al., 2019).

A deposição dos ovos é feita pela fêmea do mosquito nas paredes de recipientes e não diretamente na água, são altamente resistentes, após secarem, podem ficar até

um ano nesses locais (LIMA et al., 2021). Eles eclodem em apenas 10 minutos de contato com a água. Por isso, recomenda-se que os indivíduos, além de evitarem deixar recipientes com água parada, limpem as paredes de recipientes com esponja e sabão. Os criadouros são principalmente pneus, latas, vidros, garrafas, vasos de flores, pratos de vasos, caixas de água, tonéis, latões, cisternas, piscinas, tampinhas de garrafas, bebedouros de animais, entre outros (ACRUCHE et al., 2019).

A forma adulta do mosquito desempenha um papel de destaque no cenário das doenças infectoparasitárias em virtude de sua atuação como vetor de uma grande variedade de organismos patogênicos e estão intimamente relacionados com episódios epidêmicos dessas arboviroses em diversos países, sobretudo os situados nas zonas tropical e subtropical do planeta (VIANA et al., 2018).

3.3 CONTROLE DE ARBOVIROSES

Os recorrentes agravos de saúde envolvendo o mosquito *Aedes aegypti* têm se tornado alvo de grandes debates quanto aos métodos de controle, considerado a técnica mais eficiente para a diminuição de casos de arboviroses, estimulado pela falta de drogas específicas e de vacinas seguras para todas essas doenças. A falta de saneamento e o descarte indevido de lixo, aliados à falta de cuidados com a limpeza de terrenos, contribuem efetivamente para a proliferação desse mosquito e, conseqüentemente, para o surgimento de epidemias (SANTOS et al., 2019).

A combinação entre um controle vetorial mais eficiente, que impacte na força de transmissão da doença, com a vacinação de grandes contingentes populacionais, que diminua a proporção de suscetíveis, parece ser uma estratégia promissora. No entanto, realisticamente, a falta de uma vacina eficaz e custo-efetiva contra os quatro sorotipos do DENV, indisponibilidade de tratamento e imunobiológicos específicos contra o CHIKV e ZIKV ainda afirmam o protagonismo do combate ao *Aedes aegypti*, como estratégia central de contenção das arboviroses (NETO et al., 2016).

O controle de vetores pode ser realizado por meio de abordagens educacionais, mecânicas, biológicas e químicas (BELLINATO et al., 2016). As ações educacionais buscam conscientizar a população sobre os locais e atividades que visam modificar os ambientes propícios à sobrevivência da população de mosquitos e podem ser complementadas com outras medidas de controle (SILVA, 2019). O controle mecânico baseia-se na eliminação ou na proteção adequada de potenciais criadouros; o controle biológico faz uso de predadores de larvas, peixes pequenos ou formulações com

bactérias patogênicas, como *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti) (BELLINATO et al., 2016).

As ações químicas consistem no uso de inseticidas contra larvas ou adultos do vetor. Os principais produtos químicos estão relacionados às classes dos organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides que agem no sistema nervoso central, assim como os reguladores de crescimento de insetos (IGRs) (SILVA, 2019).

O uso intensivo e prolongado de inseticidas pode selecionar espécimes resistentes nas populações de vetores naturais, diminuindo a frequência de indivíduos suscetíveis e reduzindo a variabilidade das populações. A resistência secundária pode derivar de diferentes mecanismos, sendo as principais modificações nos locais de destino e maior capacidade de desintoxicar compostos xenobióticos; o primeiro mecanismo é conhecido como resistência ao local alvo e o outro como resistência metabólica (BELLINATO et al., 2016).

Em estudo realizado por Gomes (2016) foi identificada população de larvas *A. aegypti* resistentes ao inseticida temephos em larvas de estágio 3 em algumas cidades do Sul do Brasil. Nota-se que a resistência a inseticidas é um evento de adaptação evolutiva mais rápido já observado (GENEROSO et al., 2020).

Constata-se uma forte dependência de inseticidas para o controle do mosquito adulto, especialmente durante os surtos de doença, provocando a resistência generalizada a esses produtos químicos (OMS, 2017). O seu uso tem se tornando ineficientes contra essas espécies de mosquitos, além apresentarem efeito acumulativo no ecossistema, podendo causar malefícios à fauna e à flora da região afetada e, em longo prazo, aos seres humanos (SANTOS et al., 2018).

Assim, o desenvolvimento de inseticidas a partir de vegetais mostra-se promissor. As espécies de plantas podem ser utilizadas como pós, extratos ou óleos essenciais e apresentam vantagens como a ausência de resíduos sintéticos (ALBIERO et al., 2019).

Os metabólitos secundários presentes em algumas plantas mostram ação inibitória de crescimento de insetos (ANDRADE et al., 2021), pesquisas indicam que extratos e óleos essenciais extraídos de diversas espécies da flora possuem efeito larvicida contra o mosquito *A. aegypti*. Algumas famílias se sobressaem-se neste contexto, tais como: *Annonaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Boraginaceae*, *Caesalpinoideae*, *Cupressaceae*, *Erythroxylaceae*, *Fabaceae*, *Lauraceae*,

Meliaceae, Monimiaceae, Moraceae, Phrymaceae, Piperaceae, Rutaceae, Simaroubaceae, Sterculiaceae, Targionaceae, Taxodiaceae e Zingiberaceae (GARCIA et al., 2013).

3.4 PROSPECÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS DE ORIGEM VEGETAL

A biodiversidade do Brasil é extremamente vasta, mas apenas uma pequena fração das suas potencialidades é adotada para pesquisa e desenvolvimento de medicamentos. As plantas medicinais e seus metabólitos secundários podem representar a oportunidade de elaboração de tratamentos eficazes e de baixo custo (SOUSA et al., 2017).

O uso de produtos naturais é tão antigo quanto a humanidade (PINTO et al., 2002). O homem em busca da cura de enfermidades passou a utilizar produtos vegetais em forma de infusão ou como condimentos. Através deste uso informal de produtos naturais, os primórdios realizaram grandes descobertas que hoje se tornaram o centro dos estudos da química e da medicina moderna (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

A maioria dos fármacos de origem natural utilizados atualmente, são oriundos da chamada medicina tradicional, o que demonstra que as substâncias de origem vegetal têm papel essencial na obtenção de medicamentos e que, partindo do conhecimento popular, podem ser obtidos bons resultados (FERNANDES et al., 2019).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, 80% da população de países em desenvolvimento utiliza plantas na atenção primária à saúde. No Brasil, acredita-se que 90% da população já utilizou produtos naturais de origem vegetal com finalidade terapêutica. A rica biodiversidade brasileira e as heranças culturais de índios, negros e europeus contribuem para que as plantas sejam consideradas uma área estratégica para o desenvolvimento do país (ROSA et al., 2016).

Nesse sentido, extratos e óleos essenciais obtidos de plantas vêm sendo testados para o controle de insetos em virtude de sua elevada seletividade, degradação a produtos não tóxicos, ou de baixa toxicidade a organismos não alvos e ao meio ambiente e menor probabilidade de desenvolvimento de resistência pela complexidade da sua composição. Esses produtos, provavelmente, contêm fitoquímicos com ação inseticida, os quais são, predominantemente, metabólitos secundários produzidos em resposta a certas condições ambientais, podendo atuar, em todas as fases do desenvolvimento do inseto, inclusive no estágio adulto (VIANA et al., 2018).

A análise fitoquímica preliminar busca caracterizar os compostos químicos

presentes nas plantas, produtos do metabolismo secundário vegetal. Esses metabólitos servirão como indicadores químicos da espécie, ou até da localização no qual foi cultivada. Após a identificação da composição química da droga vegetal, pode-se traçar possíveis métodos para a extração e os procedimentos para produção de fitofármacos (RODRIGUES et al., 2016).

O estudo fitoquímico ganha mais importância quando não há desconhecimento sobre a composição químicos de espécie de interesse popular, para verificar a qualidade da droga vegetal e também fornecer dados úteis para o conhecimento da biodiversidade e filogenética das plantas são, portanto, estudos preliminares e básicos dentro da Fitoquímica, Farmacognosia e produção de medicamentos (SOARES et al., 2016).

A abordagem fitoquímica tem contribuído de forma fundamental para a produção de fitoterápicos que se caracterizam pelo fitocomplexo ou mesmo com o isolamento e da identificação estrutural de compostos farmacologicamente ativos, facilitados pelo contínuo aperfeiçoamento de métodos cromatográficos e espectroscópicos, este para obtenção de medicamentos específicos, com o fitofármaco como insumo farmacêutico ativo (PEDROSO et al., 2021). O desenvolvimento de novas técnicas de extração, isolamento e elucidação estrutural tem renovado o interesse das indústrias farmacêuticas por produtos naturais (LIMA et al., 2018).

Mesmo sendo o maior interesse no estudo das plantas para o desenvolvimento de novos medicamentos, estas também podem ser empregadas em outros setores como alimentação, produção de cosméticos e materias de limpeza, perfumaria e também no controle de vetores de doenças, como *Aedes aegypti* (CARNEIRO et al., 2014).

3.5. BIOPROSPECÇÃO DE AGENTES LARVICIDAS

Os metabólitos secundários das plantas são evoluídos como mecanismo de proteção contra herbívoros ou microorganismos, constituem substâncias tóxicas que provocam uma resposta sobre alvos moleculares. Este estímulo pode provocar efeito farmacológicos benéficos ou de toxicidade. Em relação a esses efeitos tóxicos, interessa a ação sobre mosquitos transmissores de doenças, como *A. aegypti*, com provável mecanismo de ação alterando a fisiologia do mosquito e conseqüentemente causando uma anormalidade o sistema nervoso (SENTHIL-NATHAN S, 2020).

Os agentes que podem apresentar toxicidade frente *Aedes aegypti* podem atuar em alguma fase de seu ciclo de vida ou em várias e esses produtos são denominados

inseticidas. Os representantes dos inseticidas que agem na fase larval do mosquito são denominados larvicidas e quando a ação é na fase adulta chamam-se adulticida. Em função da não popularidade dessa denominação adulticida, estes são mais conhecidos como inseticidas, mesmo sabendo que o inseticida pode agir em outras fases do inseto (ZARA et al., 2016).

Os agentes larvicidas derivados de produtos vegetais oferecem uma fonte promissora de produtos mais seguros para o controle vetorial por reduzir a degradação dos recursos naturais e minimizar o esgotamento do ecossistema. São vantajosos por serem ambientalmente seguros, normalmente não tóxicos para organismos não-alvo, e por serem misturas sinérgicas de compostos ativos, presentes nos extratos e óleos essenciais, obtidos de plantas, induzem diversos mecanismos de ação e resultam em menor resistência a pragas (SILVÉRIO et al., 2020).

A OMS divulgou as diretrizes para testes laboratoriais e larvicidas, com o propósito de padronizar a forma para análise dos mecanismos de ação dos larvicidas em geral. Este documento estabelece as fases sequenciais para avaliar compostos de larvicida e sua preparação. É indicado que as pesquisas iniciem em laboratório para definir o potencial das amostras testadas. Em seguida, testes de campo de pequena e grande escala devem ser efetuados para avaliação do impacto em organismos não-alvo, bem como a eficácia e efeitos residuais em distintos ambientes ecológicos. Essas diretrizes demonstram que a potência de um produto químico contra determinadas espécies de larvas de mosquitos pode ser comparada com outros inseticidas (OMS, 2005).

Diferentes autores elaboraram seus próprios parâmetros para caracterizar o poder dos larvicidas oriundos de produtos naturais (CHANTRAINE et al., 1998; MASSEBO et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2010). KOMALAMISRA et al., (2005) estabelece que os produtos com $LC_{50} < 50$ mg/L ativo, 50 mg/L $< LC_{50} < 100$ mg/L moderadamente ativo, 100 mg/L $< LC_{50} < 750$ mg/L eficaz, e $LC_{50} > 750$ mg/L inativo. Já Kiran et al., (2006) considera compostos com $LC_{50} < 100$ mg/L como agentes com efeito larvicida expressivo e Cheng et al., (2003) classificou como não ativos os compostos com $LC_{50} > 100$ mg/L, ativos os com $LC_{50} < 100$ mg/L e altamente ativos os com $LC_{50} < 50$ mg/L.

Dias & Moraes (2013) avaliaram 361 óleos essenciais de 269 espécies vegetais e constataram que 60% dos óleos testados demonstraram atividade larvicida. Comprovando assim o potencial biológico de compostos oriundos de vegetais e no

controle vetorial.

Al-Mekhlafi et al (2021) avaliou o extrato de semente de *Peganum harmala* com solvente acetato de etila frente ao *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) apresentando LC₅₀ de 314,88 ppm com 24 horas de exposição. Ahinde et al., (2020) evidenciou atividade larvicida no óleo presente nas sementes de plantas do gênero *Azadirachta*.

Nota-se que o uso de extratos e óleos essenciais de origem vegetal podem ser adotados como fortes agentes larvicidas, sendo necessários mais estudos sobre segurança e produção tecnológicas de produtos aplicáveis nos campos (LUZ et al., 2020).

3.6 REAPROVEITAMENTO DE SUBPRODUTOS

O rápido crescimento da população mundial associado com a urbanização acelerada e industrialização tem levado ao grande descarte de resíduos sólidos. Diante dessa tendência, os sistemas de gestão de resíduos precisam adotar novas perspectivas, como a reutilização e a reciclagem que tem se mostrado alternativas promissoras (CHEN et al., 2020).

Grande parte dos resíduos sólidos são descartadas de maneiras convencionais, como em aterros sanitários ou incineração, que são formas não sustentáveis, devido ao espaço limitado e os impactos ambientais como pelo aquecimento global por gerar mais gás carbônico, aumentando efeito estufa (CHEN et al., 2020).

O processamento de produtos oriundos da agroindústria produz ao longo de sua cadeia produtiva, toneladas de resíduos orgânicos agroindustriais, ocasionando diversas pendências ambientais decorrentes do seu acúmulo e despejo em locais inapropriados. No entanto, esta quantidade de subprodutos gerados apresenta um grande potencial a ser explorado (CORREA et al., 2019).

Calcula-se que o processamento de frutas para produção de sucos e polpa gera entre 30 e 40% de resíduos agroindustriais. O Brasil encontra-se em terceiro lugar do rank mundial em produção na área de da fruticultura. O reaproveitamento desses resíduos é um dos maiores polos de investimentos, tem sido alvo de vários estudos o que contribui para o conhecimento sobre o seu grande potencial e seus valores nutricionais uma vez que os mesmos apresentam uma grande taxa de nutrientes essenciais, que agem no combate contra diversas doenças degenerativas, melhorando a saúde humana (FRANCO, et al., 2015)

Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO estima que a

produção mundial de resíduos agroindustriais atinja 1,3 bilhão de toneladas por ano, dando conta que, 1/3 dos alimentos potencialmente destinados ao consumo humano são desperdiçados, seja como resíduos, oriundos do processamento ou como perca na cadeia produtiva (FAO, 2013).

Segundo um estudo publicado pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), o desperdício alimentar ocorre ao longo de toda a cadeia de abastecimento alimentar, desde a produção agrícola até ao consumo final em ambiente familiar. O mesmo indica que nos países industrializados mais de 40% dos alimentos são desperdiçados nas etapas correspondentes à distribuição e consumo (PINHO et al., 2019).

Destaca-se, aqui, a categorização do desperdício alimentar gerado em três grupos distintos, “evitável”, “possivelmente evitável” e “não evitável”. A primeira corresponde ao desperdício de alimentos que estariam aptos para consumo, a segunda ao desperdício gerado por distintos hábitos de consumo e preparação e a última classifica o desperdício constituído por porções de alimentos que não são aptas para consumo em circunstâncias normais, os subprodutos (MARTINS et al,2014; QUESTED et al.,2009).

Os resíduos do beneficiamento de alimentos surgem durante o preparo destes, para a sua conversão em produtos alimentícios. Pertencem a este tipo, os resíduos que não se integram aos produtos como componentes e que por esse motivo necessitam serem deles excluídos. Este tipo de resíduo é eliminado dos alimentos durante o seu processamento e, por estratégias tecnológicas se tornam subprodutos (FILHO et al., 2017).

A Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) estabelece dentre o rol de tecnologias para a destinação final ambientalmente adequada dos resíduos: “A reutilização, a reciclagem, a compostagem, a recuperação e o aproveitamento energético ou outras destinações admitidas pelos órgãos competentes do SISNAMA, do SNVS e do SUASA, entre elas a disposição final”. A compostagem e a biodigestão (com ou sem conversão energética) são as tecnologias mais recomendadas mundialmente para a reciclagem dos resíduos orgânicos (ZAGO et al., 2019).

O Diagnóstico do Manejo de Resíduos Urbanos - 2015, elaborado pela Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental do Ministério das Cidades, indicou que, das 77.997.025 toneladas de resíduos que chegaram a alguma unidade de processamento (aterros sanitários, aterros controlados, lixões, unidades de triagem etc.), apenas 0,3%

foram conduzidas às unidades de compostagem existentes no país (BRASIL, 2015).

O reconhecimento dos resíduos orgânicos considerados subprodutos pode auxiliar na solução de graves problemas ambientais como degradação do solo, erosão e mudanças climáticas.(ZAGO et al., 2019). Além de movimentar a economia pode ser uma valiosa possibilidade no combate de doenças como as arboviroses.

O reaproveitamento de subprodutos na alimentação humana, esses subprodutos podem ser investigados quanto a sua composição química e possível efeito farmacológico para produção de novos medicamentos ou efeitos biológicos, podendo serem empregados no controle de vetores de doenças como *A. aegypti*.

3.7 *Persea americana* (abacateiro)

O abacate (*Persea americana* Mill) é um fruto originado do continente americano, amplamente produzido no território brasileiro. É uma espécie vegetal pertencente à família *Lauraceae*, conhecida popularmente como abacateiro, apresentando porte arbóreo e distribuição nas Américas Central e do Sul. (FERREIRA et al., 2008). É cultivado em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, particularmente no México, Indonésia, Estados Unidos, Brasil, Chile, Colômbia, República Dominicana, Peru e Etiópia. A produção brasileira é distribuída nas regiões Sudeste, Nordeste e Sul, e o estado de São Paulo é o maior produtor seguido pelos estados do Paraná e Espírito Santo (PAIXÃO et al., 2016).

O abacate é considerado uma fruta extremamente popular com diversos conteúdos bioquímicos, são amplamente utilizados nas indústrias alimentícia, nutracêutica, farmacêutica e cosmética. Além disso, suas ações que promovam a saúde têm sido investigadas em uma série de estudos pré-clínicos e clínicos nas últimas décadas (BHUYAN et al., 2019). Difere dos demais frutos, por não amadurecer na árvore, mas apenas após a colheita (ARAUJO et al., 2018). Os tipos mais conhecidos e comercializados são as variedades Hass e Fuerte (LITZ et al., 2007; SIAP, 2015).

A semente de abacate representa 13–18% da fruta, na sua composição apresenta grandes quantidades de compostos fenólicos proporcionando maior atividade antioxidante e, conseqüentemente, podem estar envolvidos na defesa contra patógenos (KOSMANN et al., 2017).

Normalmente é subutilizada e representa grande parte da fruta, portanto, seu uso pode ser uma alternativa para reduzir o custo de produção de óleo comestível. No entanto, o principal problema no uso de sementes de abacate é a presença de

compostos fenólicos que exibem toxicidade. Estudos demonstraram que as sementes podem ser utilizadas na alimentação de animais monogástricos após a extração dessas substâncias com etanol. O extrato pode apresentar atividade antioxidante, uma vez que os níveis de fenólicos nas sementes variam de 2,3 a 5,7% (DUARTE et al., 2016).

Sua composição apresenta uma fonte promissora de amido, dependendo da variedade de abacate, o seu teor presente na semente varia entre 7,8 a 29,3% em uma base seca (MACENA et al., 2020).

O caroço do abacate que compreende a semente e o endocarpo do fruto endurecido formando uma estrutura só, são consideradas subprodutos que normalmente descartados. Observa-se que os resíduos da indústria alimentícia podem causar problemas ecológicos, que apesar de serem orgânicos, o seu acúmulo em aterros sanitários pode gerar gases, ocasionando mal cheiro e contribuindo com a proliferação de patogênicos, sendo prejudicial à saúde. Além disso, há perdas econômicas devido ao alto custo de transporte desses subprodutos para as áreas de aterros sanitários (LEITE et al., 2009).

Esse fruto tem sido reconhecido por seus benefícios à saúde, especialmente em função dos compostos presentes na fração lipídica, como ácidos graxos ômega, fitoesteróis, tocoferóis e esqualeno. Estudos têm demonstrado os benefícios do abacate associado a uma dieta balanceada, principalmente, na redução do colesterol e na prevenção de doenças cardiovasculares, foi evidenciada uma redução média de 17% nos níveis de colesterol no sangue em um estudo no México com 45 voluntários que consumiram abacate uma vez por dia durante uma semana (DUARTE et al., 2016).

Em análise realizada por Alkhalaf (2019), em extrato lipídico da semente de *P. americana* foi evidenciado ação antioxidante, antiinflamatório e anticancerígena notavelmente significativas, em comparação com um extrato lipídico da fruta. Em virtude das altas porcentagens de hidrocarbonetos, esteróis e ácidos graxos insaturados. São considerados resultados promissores no qual demonstram utilização das partes residuais da planta (ALKHALAF et al., 2019).

O Programa Nacional de Pesquisas de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), reconhece o uso popular das folhas da *P. americana* na forma de chá. Sua principal indicação popular reconhecida pelo PPMF é o efeito diurético (BRASIL, 2009). Um estudo pré-clínico realizado com o extrato aquoso das folhas de *P. americana* indicou que o extrato possui efeitos analgésicos e antiinflamatórios (MARTINS et al., 2017).

A espécie *P. Americana* é utilizada na medicina tradicional no combate de diversas doenças por apresentar atividades vasorelaxante, analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, anti-hepatotóxica, anti-hipertensiva, antioxidantes, anti-hipertensiva, anticonvulsivante (YASIR; DAS; KHARYA, 2010), anticoagulante (RODRIGUEZ-SANCHEZ et al., 2015) e no auxílio da diminuição das concentrações glicêmicas (LIMA et al., 2012).

Grande parte dos estudos envolvendo esta espécie foi realizado com folhas e polpa, ainda são escassos pesquisas com a semente. No entanto no Brasil, as sementes são utilizadas popularmente no combate a infecções e processos inflamatórios no trato gastrointestinal ainda sem base científica (ATHAYDES, 2018).

Em estudo realizado por Schellin et al.,(2021) avaliou a composição química de extratos etanólicos das sementes de *P. Americana*, constatou uma grande quantidade de compostos ativos comparados com à casca, folha e polpa da fruto, destacando a presença de α tocoferol; ésteres de ácido graxo 2,3,4; 5 β -tocoferol; 6 trienol; 7-tocoferol; 8 - éster de ácido graxo.

3.8 *Theobroma grandiflorum* (cupuaçuzeiro)

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng) é uma espécie da região Amazônica, pertencente à família *Malvaceae*, é uma das mais promissoras plantas frutíferas, com plantios consideráveis nos estados do Pará e do Amazonas. Ele também é encontrado em estado silvestre na parte do Sul e Sudeste da Amazônia Oriental, mas atualmente está disseminado por toda a bacia Amazônica, Norte do Maranhão e ocasionalmente em outros países como Colômbia, Venezuela, Equador, Costa Rica e Peru. Seu uso como alimento pode ser em variadas formas, como: sucos e doces (MENDONÇA et al.,2018).

Possui grande importância econômica no Brasil, com imenso potencial em nível internacional devido aos múltiplos usos de suas sementes e celulose. A polpa é usada na indústria para produção de doces, sorvetes, licores e sucos, enquanto as sementes são usadas para a fabricação de um produto semelhante ao chocolate chamado cupulate, bem como na indústria de cosméticos (GENOVESE, et al., 2016).

As sementes de *T. grandiflorum* em média contém 36 unidades por fruto, apresentam 2,5 cm de comprimento por 0,9 cm de espessura, superpostas em cinco colunas em torno de um eixo central. Estão envolvidas por uma abundante polpa branco-amarelada de sabor ácido e cheiro agradável (GENOVESE, et al., 2016).

Em pesquisa de campo realizada em julho de 2013, nas residências dos moradores do bairro do Sossego no distrito de Marudá -PA sobre plantas medicinais e seu uso popular, o fruto da *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) foi citado em tratamento de diarreia, vermicidas e hemorroidas (FLOR et al., 2015).

Em estudo realizado por Oliveira et al, 2012, demonstrou que o uso de licores de cupuaçu possa contribuir para a redução da hipertrigliceridemia causada pela falta de insulina, a ingestão crônica de cupuaçu foi eficaz na melhoria do perfil lipídico e na melhora do status antioxidante em ratos diabéticos com perfil lipídico em estreptozotocina. E que a presença de compostos fenólicos no cupuaçu foi associada a benefícios para a saúde humana, incluindo aumento da capacidade antioxidante plasmática e menor peroxidação lipídica, um mecanismo de proteção em doenças cardíacas.

Embora tenham várias utilizações para a semente do cupuaçu, ainda não foi evidenciado estudos com semente para atividade larvicida. Também considerado um subproduto pois não há o aproveitamento total das mesmas quando da obtenção da polpa de cupuaçu para a indústria de alimentos (FRANCO, et al., 2015). Faz-se necessário explorar os metabólicos secundários de sementes de *Theobroma grandiflorum* para corroborar com o controle vetorial assim como contribuir com a reciclagem de produtos orgânicos.

3.9 ECOTOXICIDADE

As plantas geram uma grande variedade de substâncias químicas que podem apresentar diversas atividades biológicas e constituem um recurso terapêutico relevante para uma parcela significativa da população mundial que, não tem acesso aos medicamentos industrializados(CAMPOS et al., 2016).

É importante destacar que o uso de plantas exige a realização de ensaios de toxicidade para verificar a segurança nessa utilização. Nesse propósito, tem sido estimulado o desenvolvimento de ensaios *in vitro* para determinar a possível toxicidade das plantas e seus produtos derivados (ROSA et al., 2016).

Dentre esses testes, merece destaque o bioensaio com *Artemia salina* Leach que

constitui um microcrustáceo cosmopolita de água salgada, com facilidade de reprodução, o que favorece seu uso em ensaios de toxicidade, pode indicar possíveis ações biológicas como anticancerígena, inseticida, moluscicida e antifúngica (LUNA et al., 2005).

É um teste de baixo custo, rápido, eficiente e requer uma pequena quantidade de amostra, não necessita de métodos assépticos, nem a utilização de equipamentos especiais. A sua simplicidade favorece a sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido no próprio laboratório (SIQUEIRA et al., 1998).

Este bioensaio detecta uma ampla faixa de atividades biológicas e uma diversidade de estruturas químicas, pode ser utilizado como uma análise inicial do potencial citotóxico de novos compostos (ROSA et al., 2016).

Uma das principais metodologias empregadas nos testes de *A. salina* para avaliação de extratos e frações de produtos naturais foi proposta por Meyer em 1982. Esta metodologia é uma das mais citadas e utilizadas para adaptações (ROSA et al., 2016).

Estudo realizado por Meyer et al., (1982) considera tóxicas substâncias que apresentam valores de DL (dose letal) abaixo de 1000 ppm (ug/mL) em *Artemia salina*. Normalmente os testes de toxicidade são elaborados com objetivo de avaliar ou prever efeitos tóxicos em sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativas de substâncias (FREITAS et al., 2018).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CAPÍTULO 1 :CARACTERIZAÇÃO E ESTRATÉGIAS NO CONTROLE DAS ARBOVIROSES TRANSMITIDAS POR *Aedes aegypti*: UMA REVISÃO.

Revista: Editora Atena

Aceito em: 01/04/2021

Publicado em: 05/05/2021

RESUMO

A reemergência de doenças transmitidas por artrópodes, denominadas arboviroses, tem sido um dos problemas de saúde pública mais importantes, principalmente em países tropicais. Dentre os vetores mais dispersos no mundo, *Aedes aegypti* L. se destaca, sendo o transmissor de doenças importantes como Dengue, Febre Chikungunya e Febre Zika e Febre Amarela urbana. Este mosquito apresenta ampla distribuição geográfica e

sua expansão é influenciada pela acelerada urbanização, ausência de saneamento básico, destinação inadequada de dejetos, aumento do número de recipientes não biodegradáveis e de descarte inadequado de resíduos sólidos. Pela ausência de medicamentos específicos para estes vírus e de vacinas eficazes e seguras para grande parte deles, segundo a Organização Mundial de Saúde, a melhor estratégia para diminuir as arboviroses é controlar os seus vetores através do uso de inseticidas e larvicidas sintéticos. O emprego dessas substâncias tem demonstrado ineficiente na contenção da propagação dos mosquitos, além de serem formas não sustentáveis e tóxicas aos vertebrados. A principal desvantagem do uso desses produtos é a alta resistência que o mosquito pode desenvolver de forma rápida, tornando-os ineficazes para esse fim. Dessa forma, métodos alternativos de controle dessas doenças vêm sendo pesquisados, destacando-se os vegetais que apresentam biossíntese bastante diversificada e que podem representar alternativas viáveis, ecologicamente seguras e de baixo custo no controle dessas arboviroses.

PALAVRAS-CHAVE: Arboviroses, *Aedes aegypti*, larvicida, produtos naturais, compostos fitoquímicos.

ABSTRACT

The reemergence of arthropod-borne diseases, called arboviruses, has been the most important public health problem, mainly in tropical countries. Among the most dispersed vectors in the world, *Aedes aegypti* stands out, being the transmitter of important diseases such as Dengue, Chikungunya Fever and Zika Fever and Yellow Fever. This mosquito had wide geographical distribution and its expansion is influenced by accelerated urbanization, lack of basic sanitation, inadequate disposal of waste, an increase in the number of non-biodegradable containers and inadequate solid waste disposal. Due to the absence of safe vaccines for most of them, according to the World Health Organization, the best strategy to reduce arboviruses is to control their vectors through the use of these substances has shown to be inefficient in containing the spread of mosquitoes, in addition to being unsustainable and toxic to vertebrates. The main disadvantage of using these products is the high resistance that the mosquito can develop quickly, making them ineffective for this purpose. Thus, alternative methods of controlling these diseases have been researched, highlighting the plants that present a very diversified biosynthesis and that may represent viable, ecologically safe and low cost alternatives in the control of these arboviruses.

KEYWORDS: Arboviruses, *Aedes aegypti*, larvicide, natural products, Phytochemicals.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos observa-se a reemergência de doenças transmitidas por mosquitos, denominadas arboviroses, causadas por arbovírus, com destaque para a Dengue, Febre de Chikungunya, Febre Amarela e Febre de Zika em vários países das Américas e em outras regiões tropicais. A entrada desses vírus no Brasil, país já endêmico para a Dengue, representa um grande desafio para a saúde pública, pois todos estão suscetíveis às infecções e ainda não existem antivirais específicos, tampouco vacinas para prevenção isentas de efeitos colaterais (VIANA et al., 2018).

Dengue, chikungunya, febre amarela, Zika e febre amarela em ciclo silvestre e urbano são doenças de notificação compulsória e estão presentes na Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças, Agravos e Eventos de Saúde Pública, unificada pela Portaria de Consolidação nº 4, de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2019).

O mosquito *Aedes aegypti* é vetor transmissor de diversas arboviroses, apresenta ampla distribuição geográfica e sua expansão sofre influência de fatores ambientais e sociais, entre os quais o clima, a densidade demográfica, a atividade econômica. Deve-se ressaltar também o aumento da produção de veículos automotores, que traz como consequência descarte inadequado de pneus usados, que acabam sendo grandes criatórios do vetor (VALLE et al., 2015).

As estratégias utilizadas para o controle vetorial, seja por controle químico do vetor *A. aegypti* tanto na sua fase adulta (adulticidas) e como na sua fase larvária (larvicidas) são o uso rotineiro de larvicidas sintéticos para redução de formas imaturas e borrifação de adulticidas em períodos de alta transmissão, ao longo do tempo essas ações têm-se mostrado ineficazes na contenção da propagação além de serem consideradas formas não sustentáveis e tóxicas aos vertebrados (SILVA et al., 2016).

O inseticida químico apresenta efeitos negativos ocasionados pelo seu uso contínuo. Dessa forma, busca-se utilizar alternativas consideradas ecologicamente mais seguras e satisfatórias, para controlar insetos de importância médica e agrícola. Em meio a estas, ressalta-se os agentes bióticos, tais como algumas espécies de peixes e insetos predadores, além de protozoários, bactérias, fungos, crustáceos, entre outros (SILVA et al., 2019).

Dentre os agrotóxicos utilizados destaca-se o da classe dos organofosforados, os quais

age nas populações do *A. aegypti* na sua fase adulta e larvária, combate de forma focal e através de aspersão aeroespacial (SANTOS et al., 2019). No entanto, em estudo realizado por Silva e colaboradores (SILVA et al., 2019) demonstrou que as populações de *A. aegypti* apresentaram uma resistência bem estabelecida, uma vez que a porcentagem média de mortalidade apresentou uma taxa abaixo de 80%. Os organofosforados são inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE), podem causar danos no sistema nervoso do ser humano e apresenta efeito acumulativo no ecossistema (BARBOSA et al., 2018).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem reforçado a necessidade de integrar diversas abordagens, propondo a estratégia de Manejo Integrado de Vetores (MIV) como forma de obter melhores resultados, tanto na redução da abundância do vetor quanto na contenção das doenças vetoriais (SILVA et al., 2016). Uma das propostas é a utilização de produtos naturais de origem vegetal com ação inseticida, uma vez que são fontes de substâncias bioativas e facilmente biodegradáveis. Extratos e óleos essenciais obtidos de plantas vêm sendo testados para o controle de insetos em virtude de sua elevada seletividade, degradação a produtos não tóxicos ou de baixa toxicidade a organismos não-alvos e ao meio ambiente (VIANA et al., 2018).

2. CONCEITO

Os arbovírus (ARthropod BORne VIRUS) são motivos de grande preocupação em saúde pública em todo o mundo. Esse conjunto é formado por centenas de vírus que compartilham a característica de serem transmitidos por artrópodes, em sua maioria mosquitos hematófagos, embora não tenham necessariamente relação filogenética. Os vírus mais importantes para a saúde humana são os transmitidos por culicídeos, principalmente dos gêneros *Culex* e *Aedes*, embora existam arbovírus transmitidos por outros artrópodes, como flebotomíneos e também em carrapatos (DONALISIO et al., 2017).

Os vírus transmitidos por artrópodes pertencem a várias famílias como: *Bunyaviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae* e *Rhabdoviridae* (RUST, 2012). Em relação ao vírus, a dengue tem como agente um arbovírus do gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae*, do qual existem quatro sorotipos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4 (FOGAÇA, et al., 2019). São vírus de RNA que, representam uma grande ameaça humana e a população mundial está em risco de infecção por vários tipos de flavivírus: nos Estados Unidos, o vírus do Nilo Ocidental (WNV) é a principal causa de infecções

por arbovírus e já causou mais de 2000 casos confirmados em 2017 (GOODMAN et al., 2019).

3. EPIDEMIOLOGIA

A incidência no mundo de dengue ampliou-se dramaticamente nas últimas décadas. Cerca de metade da população mundial está em risco e há cerca de 100 a 400 milhões de infecções a cada ano. E os casos de óbitos notificados entre o ano de 2000 e 2015 aumentaram de 960 para 4.032(OMS, 2020).

Segundo o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde (2020), durante o período do dia (29/12/2019 a 06/06/2020), foram notificados 823.738 casos prováveis (taxa de incidência de 392,0 casos por 100 mil habitantes) de dengue no país. Destaca-se que a curva epidêmica da dengue dos casos prováveis no ano corrente ultrapassa o número de casos do mesmo período para o ano de 2019 (BRASIL, 2020).

Em relação aos dados de chikungunya, foram notificados 40.352 casos prováveis (taxa de incidência de 19,2 casos por 100 mil habitantes) no país. As regiões Nordeste e Sudeste apresentam as maiores taxas de incidência, 36,6 casos/100 mil habitantes e 19,6 casos/100 mil habitantes. Sobre a febre zika, foram notificados 3.692 casos prováveis (taxa de incidência 1,8 casos por 100 mil habitantes) no país. A região Nordeste apresentou a maior taxa de incidência (3,8 casos/100 mil habitantes. (BRASIL, 2020).

Vale ressaltar que perante ao cenário mundial da instalação da pandemia causada por coronavírus em março de 2020, em estudo realizado por Reegan (2020) na Índia avaliou-se o impacto das medidas de isolamento social diante do controle vetorial do mosquito *Aedes aegypti* e foi possível constatar que os índices de transmissão aumentaram ao longo desse período.

4. ASPECTOS GERAIS DO VETOR *Aedes aegypti* .

Aedes aegypti L. foi reconhecido pela primeira vez como vetor de arbovírus no ano de 1900 em Cuba por Walter Reed, Carlos Finlay e James Carroll (REED e CARROL 1983). Alguns anos depois (1906), Thomas Bancroft demonstrou que *A. aegypti* também poderia transmitir DENVs (CENTER FOR DISEASE CONTROL, 1979).

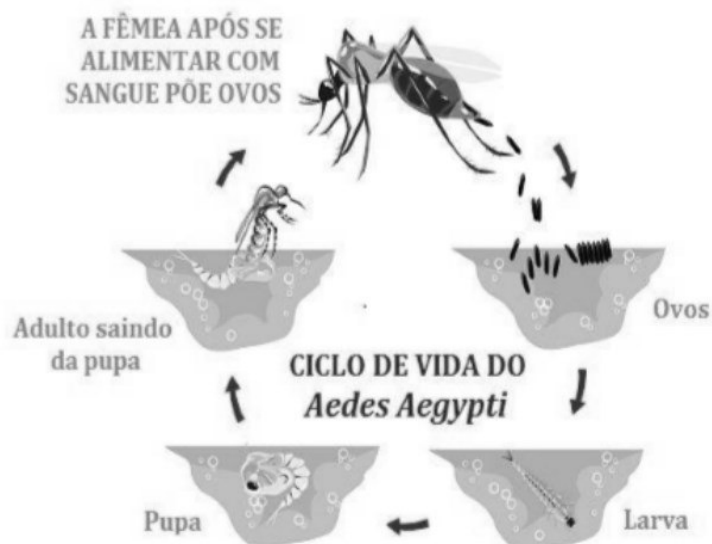
Apresenta ampla distribuição e disseminação em países tropicais e sub-tropicais. Pertence à família *Culicidae* e da ordem Diptera, apresenta hábitos antropofílicos, cujas fêmeas necessitam realizar hematofagia para a sua ovopostura, possui ciclo biológico

que envolve ovo, larva, pupa e adulto (ZEQUI et al., 2018).

De origem africana, sua introdução se remonta ao período Colonial, possivelmente quando do tráfico de escravos, sendo que os primeiros casos de Dengue foram registrados em 1865, Já os casos de Chykungunia e Zika respectivamente, tiveram seus primeiros casos autóctones detectados em 2014 e 2015, todos na Região Nordeste (MAIA et al., 2019).

Aedes aegypti pertence à Ordem Diptera, Família *Culicidae*. O ciclo de vida compreende quatro fases: ovo, larva (4 estádios larvários), pupa e adulta conforme demonstrada na figura 1 (CAMPANELLI, 2007).O período do ovo até a fase adulta é de aproximadamente 10 dias, no entanto a elevação da temperatura pode acelerar o ciclo de vida do vetor, e sua forma adulta surgir em apenas 7 dias (ACRUCHE et al., 2019).

Figura 1: Ciclo de vida de *Aedes Aegypti*.



FONTE: (ACRUCHE et al., 2019).

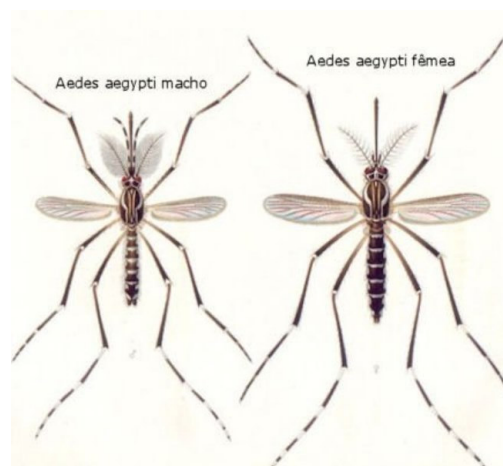
As fêmeas apresentam hábitos diurnos, são hematófagas e ovipõem seus ovos em recipientes que acumulam água. Podem realizar a postura nas paredes do

recipiente como acima das superfícies da água, no qual após contato com a água eclodem as larvas de 1º estágio. Porém, se acumulados fora da água são capazes de se manterem viáveis, mesmo em condições climáticas desfavoráveis. Tornam-se quiescentes e suportam longos períodos por até 450 dias (SERRA et al., 2018). Os criadouros são principalmente pneus, latas, vidros, garrafas, vasos de flores, pratos de vasos, caixas d'água, tonéis, latões, cisternas, piscinas, tampinhas de garrafas, bebedouros de animais, entre outros (ACRUCHE et al., 2019).

Espera-se que a fêmea se alimente de sangue a cada três dias, pois é quando completa seu ciclo gonotrófico. Cada ciclo pode resultar na produção de, em média, 100 ovos. Em um mês, portanto, ela pode depositar até mil ovos no ambiente de forma dispersa (ACRUCHE et al., 2019).

Morfológicamente, os adultos podem ser identificados por apresentarem um clipeo com dois tufo de escamas branco-prateadas e o escudo ornamentado com escamas branco-prateadas formando um desenho em formato de lira. Além disso, para a diferenciação do sexo segundo Figura 2, utiliza-se a morfologia da antena e a estrutura do aparelho bucal, ou seja, os machos podem ser reconhecidos por apresentarem antenas do tipo plumosa e palpos longos e as fêmeas por possuírem antenas do tipo filiforme e palpos curtos de acordo (SILVA, 2019).

Figura 2: Diferenciação de sexo de *Aedes aegypti*.



Fonte:(PINHEIRO et al, 2019)

A. aegypti é considerado um mosquito oportunista, aproveitando de todas as condições e oportunidades favoráveis à sua reprodução, como: as altas temperaturas e águas limpas e paradas (SANTOS et al., 2019).

A contaminação pelo arbovírus é realizada através da picada da fêmea do mosquito,

que precisa da albumina, substância presente no sangue para completar o processo de amadurecimento de seus ovos. A maior parte das picadas aos seres humanos acontece no início da manhã e ao entardecer. Sendo assim, *A. aegypti* é considerado apenas o transmissor da doença (ACRUCHE et al., 2019, MOREIRA, 2016). Após a fêmea picar uma pessoa infectada com DENV, o vírus se replica no intestino do mosquito. O tempo que leva desde a ingestão do vírus até a transmissão efetiva para um novo hospedeiro é denominado período de incubação extrínseca (EIP) (OMS, 2020).

A forma adulta do mosquito desempenha um papel de destaque no cenário das doenças infectoparasitárias em virtude de sua atuação como vetor de uma grande variedade de organismos patogênicos e estão intimamente relacionados com episódios epidêmicos dessas arboviroses em diversos países, sobretudo os situados nas zonas tropical e subtropical do planeta (VIANA et al., 2018).

5. CONTROLE DE ARBOVIROSES TRANSMITIDAS POR *Aedes aegypti*

Os recorrentes agravos de saúde envolvendo o mosquito *A. aegypti* têm se tornado alvo de grandes debates quanto aos métodos de controle, considerado a técnica mais eficiente para a diminuição de casos de arboviroses, estimulado pela falta de drogas específicas e de vacinas seguras para todas essas doenças. A falta de saneamento e o descarte indevido de lixo, aliados à falta de cuidados com a limpeza de terrenos, contribuem efetivamente para a proliferação desse mosquito e, conseqüentemente, para o surgimento de epidemias (SANTOS et al., 2019).

A combinação entre um controle vetorial mais eficiente, que impacta na força de transmissão da doença, com a vacinação de grandes contingentes populacionais, que diminui a proporção de suscetíveis, parece ser uma estratégia promissora. No entanto, realisticamente, a falta de uma vacina eficaz e custo-efetiva contra os quatro sorotipos do DENV, indisponibilidade de tratamento e imunobiológicos específicos contra o CHIKV e ZIKV ainda afirmam o protagonismo do combate ao *A. aegypti*, como estratégia central de contenção das arboviroses (NETO et al., 2016).

O controle de vetores pode ser realizado por meio de abordagens educacionais, mecânicas, biológicas e químicas (BELLINATO et al., 2016). As ações educacionais buscam conscientizar a população sobre os locais e atividades que visam modificar os ambientes propícios à sobrevivência da população de mosquitos e podem ser complementadas com outras medidas de controle (SILVA, 2019). O controle mecânico baseia-se na eliminação ou na proteção adequada de potenciais criadouros; o controle

biológico faz uso de predadores de larvas, peixes pequenos ou formulações com bactérias patogênicas, como *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (Bti) (BELLINATO et al., 2016).

As ações químicas consistem no uso de produtos sintéticos contra larvas ou adultos do vetor. Os principais produtos químicos estão relacionados às classes dos organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides que agem no sistema nervoso central, assim como os reguladores de crescimento de insetos (IGRs) (SILVA, 2019).

O uso intensivo e prolongado de inseticidas pode selecionar espécimes resistentes nas populações de vetores naturais, diminuindo a frequência de indivíduos suscetíveis e reduzindo a variabilidade das populações. A resistência secundária pode derivar de diferentes mecanismos, sendo as principais modificações nos locais de destino e maior capacidade de desintoxicar compostos xenobióticos; o primeiro mecanismo é conhecido como resistência ao local alvo e o outro como resistência metabólica. (BELLINATO et al., 2016). Esses métodos químicos têm efeito acumulativo no ecossistema, podendo causar malefícios à fauna e à flora da região afetada e, em longo prazo, aos seres humanos. (SANTOS et al., 2018).

Em estudo realizado por Carvalho 2004 foi observado que as populações de larvas de *A. aegypti* nas cidades de Taguatinga, Guará e Núcleo Bandeirante do Distrito Federal apresentaram-se resistentes ao temefós, com mortalidade de larvas entre 54,1 e 63,4%. O monitoramento da resistência a inseticidas é um fundamental nos programas de controle vetorial e é essencial para o desenvolvimento de estratégias de uso de inseticidas para preservar a eficácia do número limitado de inseticida disponível para a saúde pública (BISSET LAZCANO et al., 2017).

O desenvolvimento de inseticidas a partir de vegetais mostra-se promissor. As espécies de plantas podem ser utilizadas como pós, extratos ou óleos essenciais e apresentam vantagens como a ausência de resíduos. Os óleos essenciais são substâncias complexas e voláteis cujos princípios ativos, que participam da defesa das plantas, são capazes de repelir animais ou atrair inimigos naturais desses. Seus constituintes podem agir sobre o sistema nervoso dos insetos semelhante aos inseticidas sintéticos, causar efeitos toxicológico e repelente, alterar o desenvolvimento do inseto e reduzir sua alimentação (ALBIERO et al., 2019).

6. PROSPECÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS DE ORIGEM VEGETAL

A biodiversidade do Brasil é extremamente vasta, mas apenas uma pequena fração das suas potencialidades é adotada para pesquisa e desenvolvimento de medicamentos. As plantas medicinais e seus metabólitos secundários podem representar a oportunidade de elaboração de tratamentos eficazes e de baixo custo (SOUSA et al., 2017).

O uso de produtos naturais é tão antigo quanto a humanidade. O homem em busca da cura de enfermidades passou a utilizar produtos vegetais em forma de infusão ou como condimentos. Através deste uso informal de produtos naturais, os primórdios realizaram grandes descobertas que hoje se tornaram o centro dos estudos da química e da medicina moderna (PEREIRA; CARDOSO, 2012). A maioria dos fármacos de origem natural que são utilizados atualmente, são oriundos da chamada medicina tradicional ou popular, o que demonstra que as substâncias de origem vegetal têm papel essencial na obtenção de medicamentos e que, partindo do conhecimento popular, podem ser obtidos bons resultados (MORAIS et al., 2016).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, 80% da população de países em desenvolvimento utilizam plantas na atenção primária à saúde. No Brasil, acredita-se que 90% da população já utilizou produtos naturais de origem vegetal com finalidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACRUCHE I V L et al. Os desafios de combate ao aedes aegypti e seus impactos: uma abordagem no município de Campos dos Goytacazes – RJ. *Interdisciplinary Scientific Journal* v.6, n.2, p.178-209, Apr-Jun, 2019.

AGRELA, Irma F; HERRERA, Flor . Acción larvicida de extractos alcohólicos de semilla de *Annona Muricata* (guanábana) sobre *Aedes Aegypti* y *Aedes Albopictus*. *Bol Mal Salud Amb, Maracay* , v. 56, n. 2, p. 235-238, dic. 2016 . Disponible en <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482016000200013&lng=es&nrm=iso>. accedido en 01 feb. 2021.

ALBIERO B. et al. Potencial inseticida dos óleos essenciais de endro (*anethum graveolens*) e de nim (*azadirachta indica*) no controle de *sitophilus zeamais*. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, v. 5, n. 10, p. 21443-21448 oct. 2019 ISSN 2525-8761. DOI:10.34117/bjdv5n10-298

BARBOZA, Henriqueta Talita G. et al. Compostos Organofosforados e seu Papel na Agricultura. *Rev. Virtual Quim*, vol 10 (1), 172-193. Data de publicação na Web: 2 de março de 2018. Doi: 10.21577/1984-6835.20180015.

BELLINATO et al, "Resistance Status to the Insecticides Temephos, Deltamethrin, and

Diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* Populations,” *BioMed Research International*, vol. 2016, Article ID 8603263, 12 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8603263>.

BISSET LAZCANO, Juan Andrés et al . Resistance of western Cuba *Aedes aegypti* mosquitoes to three insecticide formulations. *Rev Cubana Med Trop*, Ciudad de la Habana , v. 69, n. 2, p. 01-10, agosto 2017 .
Disponível em <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602017000200006&lng=es&nrm=iso>. acessado em 03 fev. 2021.

BRASIL, Boletim Epidemiológico | Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde Volume 50 | Nº 22 | Set. 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes Aegypti* (dengue, chikungunya e zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 24, 2020, Boletins Epidemiológicos. Secretaria de Vigilância em Saúde, volume 51 | Nº 24 | Junho. 2020.

CAMPANELLI S. E. O desenvolvimento de um processo de infecção do *Aedes aegypti* pelo vírus dengue: caracterização da interação do vírus com uma população de mosquitos autóctones. Dissertação, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte-MG 2007.

CARVALHO, Maria do Socorro Laurentino de et al . Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo , v. 38, n. 5, p. 623-629, Oct. 2004 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102004000500002&lng=en&nrm=iso>. access on 03 Feb. 2021. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102004000500002>.

CASTRO, A. P. C. R. et al. Chikungunya: a visão do clínico de dor. *Rev. dor*, São Paulo , v. 17, n. 4, p. 299-302, Dec. 2016 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S18000132016000400299&lng=en&nrm=iso>. access on 06 Dec. 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/1806-0013.20160093>.

CDCs (Centers for Disease Control) (1979) -Control of Dengue. *Vector Topics* 2:1-39.

DONALÍSIO R M et al, Arboviroses emergentes no Brasil desafios para a clínica e implicações para saúde pública. *Rev Saúde Pública* 51:30, 2017.

FOGAÇA T K; MENDONÇA F. Distribuição espacial dos sorotipos de dengue e fluxos intermunicipais no paraná. *Raega - O Espaço Geográfico em Análise*, [S.l.], v. 46, n. 2, p. 101-115, june 2019. ISSN 2177-2738. Disponível em:

<<https://revistas.ufpr.br/raega/article/view/54709>>. Acesso em: 02 feb. 2021. doi:<http://dx.doi.org/10.5380/raega.v46i2.54709>.

GOODMAN A G et al, Host-Pathogen Interactions During Arboviral Infections Front. Cell. Infect. Microbiol., 26 March 2019. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00077>

IOOS S. et al. Epidemiologia atual do zika vírus e epidemias recentes pelo zika vírus e surtos recentes. Medicina e Doenças Infecciosas, volume 44, edição 7, julho de 2014, páginas 302-307.

LIMA NETO, SILVA et al. Dengue, zika e chikungunya - desafios do controle vetorial frente à ocorrência das três arboviroses - parte II. Rev. bras. em promoç. saúde (Impresso), Fortaleza, vol. 29, núm. 4, outubro-diciembre, 2016, pp. 463-465. <https://doi.org/10.5020/18061230.2016.p463>.

LIMA, et al. Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de piper tuberculatum jacq. (piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. C&D-Revista Eletrônica da FAINOR, Vitória da Conquista, v.11, n.2, p. 316-334, maio/ago. 2018.

LUCEY, DANIEL E GOSTIN, LAWRENCE O., The Emerging Zika Pandemic: Enhancing Preparedness (27 de janeiro de 2016). JAMA (Online), 27 de janeiro de 2016, no E1-E2, Disponível na SSRN: <https://ssrn.com/abstract=2734133>

MAIA, C.V. de A .Distribuição espacial de criadouros de aedes aegypti em jaguaruana – ce – brasil e suas correlações com indicadores sociodemográficos. Hygeia 15 (31): 71 - 81, Março/2019. DOI:<http://dx.doi.org/10.14393/Hygeia153146811>.

MANZANO, Patricia et al. Atividade larvicida de extrato etanolico de Azadirachta indica contra larvas do Aedes aegypti. Reverendo Fac. Nac. Agron. Medellín, Medellín , v. 73.

MENEZES, Saulo Almeida et al. ARBOVIROSES: O IMPACTO DA FEBRE ZIKA NA SOCIEDADE. Revista Expressão Católica Saúde, [S.l.], v. 1, n. 1, jun. 2016. ISSN 2526-964X. Disponível em:

<<http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/recsaude/article/view/1365>>. Acesso em: 02 Feb. 2021. doi:<http://dx.doi.org/10.25191/recs.v1i1.1365>.

MATTHEWS B. J. (2019). Aedes aegypti. Tendências em genética : TIG, 35(6), 470-471. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2019.03.005>.

MOREIRA F A. Elaboração de estratégias para controle vetorial do mosquito da dengue. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-Graduação em Atenção Básica em Saúde) - Curso de Especialização em Atenção Básica em Saúde - PROGRAMA MAIS MÉDICOS, Universidade Federal do Maranhão, UNA-SUS, 2016.

MORAIS, N.R.L. et al . Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de

Cnidoscolus phyllacanthus (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. Oriundo de apodi – RN. Rev. bras. plantas med., Botucatu , v. 18, n. 1, p. 180-185, Mar. 2016 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722016000100180&lng=en&nrm=iso>. access on 03 Feb. 2021. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_058.

NETO A S L et al. Dengue, zika e chikungunya - desafios do controle vetorial frente à ocorrência das três arboviroses - parte I. Rev Bras Promoç Saúde, Fortaleza, 29(3): 305-308, jul./set., 2016.

OMS, 2020b. Dengue e Dengue Grave: Principais Fatos. Organização Mundial da Saúde, Genebra. Disponível em <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acessado dia 01.out.2020.

OPAS-OMS - Organização Pan-Americana da Saúde-Organização Mundial de Saúde. Tópicos: Dengue. Disponível em Dengue - <<http://www.paho.org./topicos/dengue>. Acessado 15.jan.2021.

PEREIRA, R. J et al. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. Journal of Biotechnology and Biodiversity. Vol. 3, nº 4: p. 146-152. 2012. ISSN-2179-4804.

PINHEIRO P et al. Aedes aegypti – Aprenda a reconhecer o mosquito da dengue M D Saúde, 2019. Disponível em <https://www.mdsaude.com/doencas-infecciosas/fotos-mosquito-dengue/> acesso dia 06 dezembro 2019.

REED W, artigo do Agramonte A. Landmark. 16 de fevereiro de 1901: A etiologia da febre amarela. Uma nota adicional. Por Walter Reed, Jas. Carroll e Aristides Agramonte. Jama. 1933 Ago 5;250(5):649-58. doi: 10.1001/jama.250.5.649. 6345833.

REEGAN, D. et al. COVID-19 lockdown: impact assessment on Aedes larval indices, breeding habitats, effects on vector control programme and prevention of dengue outbreaks. Heliyon. 2020;6(10):e05181. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05181.

ROSA, C.S. et al. Composição química e toxicidade frente Aedes aegypti L. e Artemia salina Leach do óleo essencial das folhas de Myrcia sylvatica (G. Mey.) DC. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.18, n.1, p.19-26, 2016.

RUST RS. Human arboviral encephalitis. Semin Pediatr Neurol. 2012 Sep;19(3):130-51. Doi: 10.1016/j.spen.2012.03.002.

SANTOS D B C et al. Educação em saúde: combate ao Aedes aegypti em comunidade Quilombola. Rev. enfer. atual in derme - 88-27, 2019.

SANTOS S C. et al. Prospecção Tecnológica sobre Métodos de Controle do Mosquito

Aedes aegypti. Cadernos de Prospecção – Salvador, v. 12, n. 1, p. 105-112, março, 2019. <http://dx.doi.org/10.9771/cp.v12i1.27249>.

SENTHIL-NATHAN S. Uma Revisão dos Mecanismos de Resistência de Inseticidas Sintéticos e Botânicos, Fitoquímicos e Óleos Essenciais como Agentes Larvicidas Alternativos Contra mosquitos. *Front Physiol.* 2020 Feb 25;10:1591. doi: 10.3389/fphys.2019.01591. PMID: 32158396; PMCID: PMC7052130.

SERRA et al. Estudo da viabilidade de ovos estocados de *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE). Anais de ENEPEX (Encontro de Ensino e Pesquisa e Extensão), 2018.

SILVA W R, Monitoramento da Resistência e dos Efeitos em Parâmetros Biológicos de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) de Manaus, Amazonas, Exposto ao Biolarvicida Espinosade, em Condições de Laboratório, Dissertação Programa de Pós Graduação em Entomologia, INPA, 2019.

SILVÉRIO M. R. S. et al. "Produtos Naturais Vegetais para o Controle do *Aedes aegypti*: O Principal Vetor de Importantes Arboviroses". *Moléculas* (Basileia, Suíça) vol. 25,15 3484. 31 jul. 2020, doi:10.3390/moléculas25153484.

SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. et al. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to sucessional groups in Southeastern Brazil. *For. Ecol. Manag.*, 107:241-252, 1998

SOARES et al. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia*, v.13 n.24; p.2016

SOUSA, I.J.O. et al. A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. *Revista Uningá Review*, v.31, n.1, p.3539, 2017.

Valle D et al. *Dengue: teorias e práticas*, Rio de Janeiro. Editora Fiocruz, 2015.

VIANA b G A et al, Produtos naturais de origem vegetal como ferramentas alternativas para o controle larvário de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. *J. Health Biol Sci.* 2018; 6(4):49-462, doi:10.12662/2317-3076jhbs.v6i4.2079.p449-462.2018.

VIANA, Lia Raquel de Carvalho et al . Arboviroses reemergentes: perfil clínico-epidemiológico de idosos hospitalizados. *Rev. esc. enferm. USP*, São Paulo , v. 52, e03403, 2018 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342018000100467&lng=en&nrm=iso>. access on 01 Feb. 2021. Epub Nov 29, 2018. <https://doi.org/10.1590/s1980-220x2017052103403>.

VIANA b G A et al. Produtos naturais de origem vegetal como ferramentas alternativas

para o controle larvário de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. *J. Health Biol Sci.* 2018; 6(4):49-462, doi:10.12662/2317-3076jhbs.v6i4.2079.p449-462.2018.

ZARA, Ana Laura de Sene Amâncio et al . Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília , v. 25, n. 2, p. 391-404, jun. 2016 . Disponível: em <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742016000200391&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 04 fev. 2021. <http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742016000200017>.

ZEQUI et al. Monitoramento e controle de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1984) com uso de ovitrampas. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 39, n. 2, p. 93-102, jul./dez. 2018. DOI: 10.5433/1679-0367.2018v39n2p93.

4.2 CAPÍTULO 2 : Larvicidal activity of hydroalcoholic extracts of *Persea americana* Mill. Seeds against *Aedes aegypti*

Revista: Research, Society and Development

ISSN: 2525-3409

Aceito: 08/01/2021

Publicado: 09/06/2021

Larvicidal activity of hydroalcoholic extracts of *Persea americana* Mill. Seeds against *Aedes aegypti*

Atividade larvívica dos extratos hidroalcolócos das sementes de *Persea americana* Mill.
frente *Aedes aegypti*

Actividad larvívica de extractos hidroalcolócos de semillas de *Persea americana* Mill.
delantero *Aedes aegypti*

Abstract

This study aimed to evaluate the phytochemical composition of hydroalcoholic extracts from the seeds of *Persea americana* (avocado) and evaluate the larvicidal activity against *Aedes aegypti*. The extracts were obtained by maceration in a 70% p.a ethanol extractant solvent in 1:4/1:6/1:8 hydromodules (7 days), with subsequent concentration in a rotaevaporator. The larvicidal activity was performed by the method recommended by the WHO lethal concentration 50% against *Aedes aegypti* larvae with statistics by the probit method. Toxicity to non-target organisms was verified by the *Artemia salina* test. Activity was observed against *Aedes aegypti* larvae with LC₅₀ ranging from 181.72-401.96 mg l⁻¹ with a 95% confidence interval. Finally, it states that the extract of *P. americana* has potential for larvicidal activity and does not present toxicity to target organisms, showing itself to be a sustainable alternative for the control and combat of *Aedes aegypti* larvae.

Keywords: *Persea americana*; bioativos; arbovíroses; vetores.

Resumo

Este estudo teve por objetivo avaliar a composição fitoquímica de extratos hidroalcolócos das sementes de *Persea americana* (avocado) e avaliar a atividade larvívica frente *Aedes aegypti*. Os extratos foram obtidos por maceração em solvente extrator etanol 70% p.a. em hidromódulos 1:4/1:6/1:8 (7 dias), com posterior concentração em rotaevaporador. A atividade larvívica foi realizada pelo método preconizado pela OMS de concentração letal 50% frente a larvas *Aedes aegypti* com estatística por método probit. A toxicidade para organismos não-alvos foi verificada pelo teste de *Artemia salina*. Observou-se atividade frente a larvas *Aedes aegypti* com CL₅₀ variando de 181,72-401,96 mg l⁻¹ com intervalo de confiança de 95%. Por fim, afirma que o extrato de *P. americana* apresenta potencial de atividade larvívica e não apresenta toxicidade a organismos alvos, mostrando-se uma alternativa sustentável ao controle e combate de larvas *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: *Persea americana*; bioativos; arbovíruses; vetores.

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la composición fitoquímica de los extractos hidroalcohólicos de semillas de *Persea americana* (aguacate) y evaluar la actividad larvicida contra *Aedes aegypti*. Los extractos fueron obited por la maceración en etanol del extractor solvente el 70% P.A. en hidromodules 1:4/1:6/1:8 (7 días), con la concentración subsecuente en rotaevaporator. La actividad larvicida fue realizada por el método del WHO de Concentración Mortal el 50% contra las larvas del *Aedes aegypti* con estadística del Probit. La toxicidad a los organismos de la no-blanco fue verificada por la prueba del *Artemia salina*. La actividad fue observada contra las larvas del *Aedes aegypti* con CL₅₀ extendiéndose a partir del 181,72 al 401,96 mg L⁻¹ con un intervalo de confianza del 95%. Por último, se afirma que el extracto de *P. americana* presenta potencial de actividad larvicida y no presenta toxicidad para los organismos diana, demostrando ser una alternativa sostenible al control y combate de las larvas de *Aedes aegypti*.

Palabras clave: *Persea americana*; bioactivos; arbovirus; vectores.

1. Introduction

The *Aedes* mosquito is a vector that transmits arboviruses, has a wide geographic distribution and its expansion is influenced by several factors, including: its behavior, the large size of the urban population, the precariousness of the good proportion of households in relation to the water supply, inadequate disposal of waste, the increase in the number of non-biodegradable containers and inadequate disposal of solid waste. Arboviruses are still considered infections with a great impact on public health, and their prevention and control is one of the main challenges (Moyses&Bonatti, 2021).

The re-emergence of these diseases caused by arboviruses and transmitted by mosquitoes is observed, with emphasis on Dengue, Chikungunya Fever, Yellow Fever and Zika Fever in several countries in the Americas and in other tropical regions. The entry of these viruses in Brazil, a country already endemic for Dengue, represents a major challenge for public health, as they are all susceptible to infections and there are still no specific antivirals, nor vaccines for prevention free from side effects (Viana et al., 2018).

In the absence of dengue drugs and the variable safety and efficacy of the dengue vaccine, Dengvaxia (Thomas&Yoon., 2019), vector control remains the mainstay of Dengue control programs (Chang et al., 2011). Several plants have been used by humanity on all continents to control different diseases and pests, in addition to representing an important source of biologically active natural products, many of which constitute a model for the synthesis of a large number of drugs (Simões et al., 2017).

Therefore, the search for new larvicides from natural resources has always been the criterion for finding alternatives for mosquito control. The advantages of natural insecticides are non-polluting to the environment and are safe for human health. Several natural products have been shown to have mosquito repellent, larvicides, pupicide and ovicidal activities (Shaalán et al., 2005; Nerio et al., 2009; Pavela, 2015; Kishore et al., 2011; Ghosh et al., 2012).

Within this, the search for new pesticides from natural resources has been the criterion for finding alternatives for the control of arbovirus vectors. The advantages of natural biolarvicides include the fact that they are environmentally friendly and safe for human health. Thus, natural products have shown potential in the action of controlling and combating larvicide, pupicide and ovicide (Shaalán et al., 2005; Ghosh et al., 2012; Nerio et al., 2010; Kishore et al., 2011; Pavela, 2015).

Several plants, despite being consumed as functional foods and/or nutraceuticals, are used for bioprospective research, which means the search for chemical products with biological or pharmacological properties that can be used to treat various diseases.

Among these, stands out *Persea americana* Mill. (Lauraceae), being an evergreen tree found and cultivated in the tropical and subtropical region of the world. It's called the avocado fruit and it's edible. In traditional medicine, the plant is reported for a variety of diseases such as heart, skin problems, hypertension, diabetes, bronchitis and diarrhea (Yasir et al., 2010; Dabas et al., 2013). Therefore, considering the importance of finding natural biolarvicides, this study aimed to evaluate the larvicidal activity of hydroalcoholic extracts from *P. americana* seeds against *Aedes aegypti*.

2. Methodology

2.1 Botanical material

Fruits of *Persea americana* were collected from a site located in the Ipem Turu, in the municipality of São Luis, MA in November 2020. These were dried at 40°C in an air-circulation oven and pulverized in a knife mill with moderately coarse powder particle size. Exsiccates were made with flowering branches and sent to the Ático Seabra Herbarium, at the Center for Biological and Health Sciences at the Federal University of Maranhão, for confirmation of their botanical identification.

2.2 Obtaining hydroalcoholic extracts

To obtain the hydroalcoholic extracts, the maceration technique was used using an ethanol extracting solvent 70% PA in hydromodules of 1:4, 1:6 and 1:8 (m/v), in 70% ethanol. The maceration will be carried out for 10 days, under agitation and filtration (Figure 1).

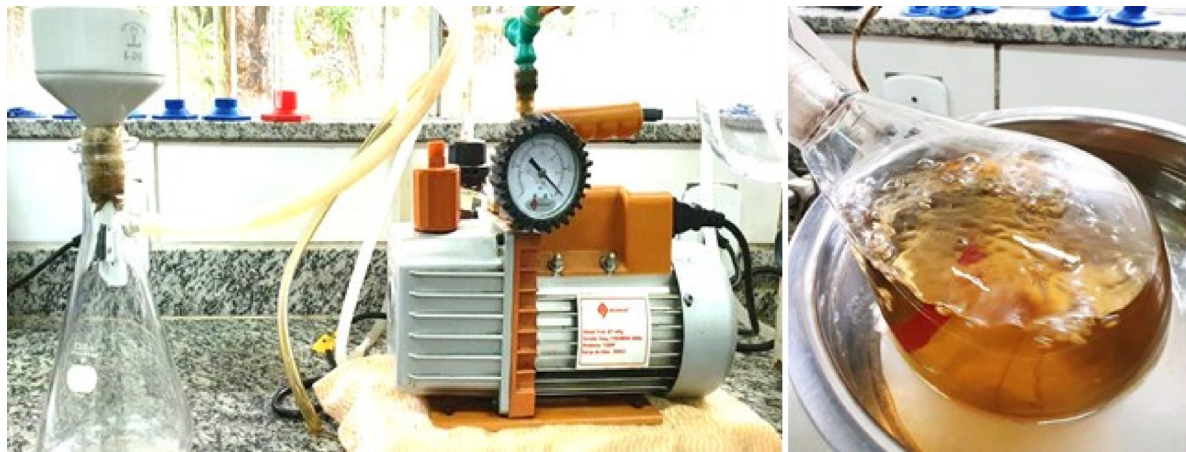
Figure 1. Filtration processing using the vacuum system to separate the extract solid from the extracting solvent after 10 days of maceration



Source: Autor (2021)

The resulting extracts, observed in Figure 1, were concentrated in a rotaevaporator (Figure 2) and stored in a refrigerator at 4°C in amber colored flasks (Matos, 2009).

Figure 2. Rotaevaporation of the extracting solvent to concentrate the hydroalcoholic extract



Source: Author (2020)

The extracts yields were calculated by gravimetric technique and the physicochemical parameters: density and refractive index were determined according to the techniques recommended by the Brazilian Pharmacopoeia (2019).

2.3 Phytochemical analysis

The extracts were subjected to chemical tests based on the methodology presented by Matos (2009). The tests performed were: Salkowsk test (steroids), Mayer test (alkaloids), flavonoids, glycosides, saponins test, keller kiliani test (cardiac glycosides), ferric chloride test (phenols) and lead acetate test (tannins). And the total phenolic content was quantified through the spectrophotometric method of Folin-Ciocalteu and the total flavonoid through the spectrophotometric method of complexation with aluminum (Lugasi et al., 1998; Oliveira et al., 2009).

2.4 Collection of *Aedes aegypti* eggs

The collection of *Aedes aegypti* eggs was carried out using traps called ovitraps, with the aid of Eucatex palettes. The Eucatex palettes were properly inspected, sanitized and dried before setting up the traps. The traps were installed at various points on the campus of the Universidade Federal do Maranhão, Recanto dos Vinhais (São Luís, MA) and Alemanha (São Luís, MA) under shelter from the sun and rain. The collected eggs were hatched in mineral water and fed until the stage where the experiments were carried out.

2.5 Larvicide activity against *Aedes aegypti*

The tests for larvicidal activity were carried out according to the adapted methodology proposed by Silva (2006). Initially, a 500 mg L⁻¹ stock solution of each of the hydroalcoholic extracts was prepared and diluted in a 2% Tween 80 solution. From this solution, serial dilutions were prepared at concentrations 100-400 mg L⁻¹. At each

concentration, 10 larvae were added at the rate of 2 ml per larva.

All tests were performed in triplicate and as negative control a solution made up of 2% Tween 80 was used, and as positive control, a solution of temephos (O,O,O',O'-tetramethyl O,O'-thiodi- p-phenylene bis (phosphorothioate) at 100 ppm, equivalent to the concentration used by the National Health Foundation (FUNASA) for the larvicide control of the vector, in addition to Novaluron (\pm -1-[3-chloro-4-(1-1-) 3-trifluoro-2-trifluoromethoxyethoxy) phenyl-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea at 0.02 mg L⁻¹, dose adopted by the Ministry of Health, indicated by the WHO in the range of 0.01 to 0.05mg L⁻¹.

After 24 hours the count of live and dead was carried out, and larvae that did not react to touch after 24 hours of the beginning of the experiment were considered dead. To quantify the efficiency of the extracts, the Probit statistical test (Finney, 1952) was applied.

2.6 Toxicity assessment against *Artemia salina*

This test was performed according to the methodology described by Meyer et al. (1982). To assess the lethality of *Artemia salina* Leach, a stock saline solution of each hydroalcoholic extract was prepared at a concentration of 10,000 mg L⁻¹ and 0.02 mg of Tween 80 (active tension). Aliquots of this were transferred to test tubes and supplemented with saline solution previously prepared up to 5 mL, obtaining in the end concentrations of 1000-10 mg L⁻¹, respectively, where ten larvae in the naupliar stage were transferred to each of the tubes of rehearsal. For the blank, 5 mL of saline solution was used, for the positive control K₂Cr₂O₇ and for the negative control 5 mL of a 4 mg L⁻¹ solution of Tween 80. After 24 hours of exposure, the count of live larvae was performed, considering dead those that did not move during the observation or with the slight shaking of the flask.

The criterion established by Dolabela (1997) was adopted to classify the toxicity of hydroalcoholic extracts, being considered highly toxic when LC₅₀ ≤ 80 mg L⁻¹, moderately toxic for 80 mg L⁻¹ ≤ LC₅₀ ≤ 250 mg L⁻¹ and slightly toxic or non-toxic when LC₅₀ ≥ 250 mg L⁻¹.

The statistical analysis of the data for the toxicity test was carried out according to the method of Reed&Muench (1938). The intersection point between the curves is the 50% Lethal Concentration (LC₅₀), since at this point the number of surviving animals is equal to the number of dead animals (Colegate; Molyneux, 2007).

3. Results and Discussion

3.1 Phytochemical parameters and phytochemical screening

The physicochemical parameters are important for determining aspects of biological applications and are presented in Table 1.

Table 1. Physicochemical parameters of the hydroalcoholic extract of *Persea americana*

Parameter	Yield (%m/m)	Density (g mL ⁻¹)	Refractive Index (nD 25°)
EHPA1:8	5,03 ± 2,14	0.9140 ± 0,04	1.345 ± 0,01
EHPA1:6	6,49 ± 2,65	1.0386 ± 0,05	1.351 ± 0,01
EHPA1:4	3,78 ± 1,90	0.9440 ± 0,01	1.339 ± 0,01

Note 1: EHPA – *Persea americana* hydroalcoholic extract.

In a study conducted by Ferrari (2015) evaluating the oil refraction index of *P. americana* seed, it verified a variation of 1.4620 to 1.4625 nD 25°. In another analysis by Jorge (2014) of the pulp oil of this species, 1.4615

nD 25°. Results close to the one found in this search can be found. There is a scarcity of data in the literature regarding the density of extracts from the studied vegetable.

The classes of secondary metabolites identified in the extracts obtained from *Persea americana* are shown in Table 2.

Table 2. Classes of secondary metabolites identified in extracts obtained from the seeds of *Persea americana*.

Hydroalcoholic extracts <i>Persea Americana</i>	1	2	3	4	5	6	7	8
EHPA1:8	+	-	+	+	+	+	+	+
EHPA1:6	+	-	+	+	+	+	+	+
EHPA1:4	+	-	+	+	+	+	+	+

Note 1: 1-Steroids,2-Alkaloids,3-Flavonoids,4- Anthraquinone Glycosides, 5-Cardiac Glycosides, 6-Saponins, 7- Phenols,8-Taninos.

Note 2: EHPA – *Persea americana* hydroalcoholic extract

Through the phytochemical study, the following metabolites were identified in the researched extracts: steroids, flavonoids, anthraquinone glycosides, cardiac glycosides, saponins, phenols and tannins, presented in Table 2. The diversity of active compounds present is highlighted, suggesting a high biological potential. Deuschle et al. (2018) evidenced the presence of phenolic compounds and flavonoids in hydroalcoholic extracts of *P. americana* leaves. Athayde et al. (2018) that evaluated the hydroalcoholic extracts of seeds of the studied species registered the presence of phenolic metabolites, tannins and flavonoids.

Table 3 shows the total phenolic content identified in the extracts of *P. americana*.

Table 3. Total phenolic content (mg EAT g⁻¹) quantified for extracts obtained from *Persea americana* seeds

Extract	Total phenolic content (mg EAT g ⁻¹)	Equation	R ²
EHPA1:8	163.90		
EHPA1:6	126.34	y=0.0586+0.06	0.9998
EHPA1:4	87.07		

Note: EHPA – *Persea americana* hydroalcoholic extract.

Similar results were described by Rotta et al. (2016) when quantifying the content of phenolics in dehydrated *P. americana* bark and resulted in a quantity of 108.48 ± 1.62 mg GAE g⁻¹). In another study by Athayde et al. (2019) with hydroalcoholic extracts of *P. americana* seeds, the authors verified a total phenolic content quantified in 366.79 ± 5.05 mg EAG g⁻¹.

Table 4 shows the total flavonoid content identified in the extracts of *P. americana*.

Table 4. Total flavonoid content (mg EQ g⁻¹) quantified for extracts obtained from *Persea americana* seeds

Extract	Total flavonoid content (mg EQ g ⁻¹)	Equation	R ²
EHPA1:8	153.44		
EHPA1:6	120.31	y=0.0033x+0.006	0.9845
EHPA 1:4	90.109		

Note1: EHPA – *Persea americana* hydroalcoholic extract.

Similar results were also evidenced by Rotta et al. (2016) the flavonoid content of 136.034 ± 1.88 mg EQ g⁻¹ in dehydrated bark of *P. americana*, there is a result well above that identified in our study. Athayde et al. (2019) when evaluating *P. americana* seed extracts recorded 28.09 ± 0.64 mg EQ g⁻¹.

Gobbo-Neto et al. (2007) claim that there are factors that influence the content of secondary metabolites, among them, one of the most relevant is the period of the year in which the vegetable was collected. Another important factor is the age and development of the plant, as well as the temperature of its habitat, the water supply of the soil in which the plant is grown, exposure to ultraviolet radiation, rainfall and altitude. Therefore, these causes can cause a variation of secondary metabolites in plants.

3.2 Lethality against *Artemia salina* Leach.

Table 5 presents the results regarding the lethality toxicity test against *Artemia salina* Leach.

Table 5. Mortality *Artemia salina* Leach against the action of the hydroalcoholic extract of *Persea americana* in 1:8, 1:6 and 1:4 hydromodule (m/v)

	Accumulated curve intersection log	LC ₅₀ mg L ⁻¹	Classification
EHPA 1:8	2,95	891,30 ^{ab}	Non toxic ^c
EHPA 1:6	2,93	851,10 ^{ab}	Non toxic ^c
EHPA 1:4	2,92	831,80 ^{ab}	Non toxic ^c

Note: ^aLC₅₀ was calculated by Reed&Muench (1938); ^b 95% confidence interval; no dead larvae in the negative control, composed of 4 mg L⁻¹ Tween 80; the positive control, K₂Cr₂O₇, had 100% larval mortality; ^cDolabela (1997).

The relationship between the degree of toxicity and the mean lethal concentration (LC₅₀) presented for medicinal plant extracts on *Artemia salina* larvae was established by the criteria adopted by Dolabela (1997) for classification of the toxicity of natural products. As observed in Table 5, all extracts obtained presented LC₅₀ above 250 mg L⁻¹, thus being defined as non-toxic, and their application was encouraged.

The nontoxicity profile found in this study is confirmed by Valente (2020) who found a LC₅₀ of 452.57 mg L⁻¹ for the seed extract of *P. americana* against *Artemia salina*. However, toxicity profiles are reported by Amado et al. (2019) when evaluating the toxicity also against *Artemia salina*, but with the ethanolic extract of the bark of the

Quintal variety of the *Persea americana* species, where the LC₅₀ found was 204.95 mg L⁻¹. Therefore, it is important to emphasize the use of seed extract in practical applications, aiming at its atoxicity potential, inferring its selectivity to target organisms.

3.3 Lethality against *Aedes aegypti*

Table 6 presents the results regarding mortality *Aedes aegypti* against the action of the hydroalcoholic extract of the seeds of *P. americana*.

Table 6. Mortality *Aedes aegypti* against the action of the hydroalcoholic extract of *Persea americana* in 1:8, 1:6 and 1:4 hydromodule (m/v)

	Log C	%Mortality	LC ₅₀ (mg L ⁻¹) 95% CI	X ²	σ	R ²		
EHPA 1:8	2.00	30.0						
	2.30	50.0						
	2.48	70.0	181.76 ^a	0.626	0.465	0.978		
	2.60	100.0	(121.95-270.91) ^b					
	2.70	100.0						
Log C	%Mortality	LC ₅₀ (mg L ⁻¹) 95% CI	X ²				σ	R ²
EHPA 1:6	2.00	10.0						
	2.30	20.0						
	2.48	40.0	401.91 ^a	0.993	0.444	0.978		
	2.60	50.0	(273.85-589.85) ^b					
	2.70	60.0						
Log C	%Mortality	LC ₅₀ (mg L ⁻¹) 95% CI	X ²				σ	R ²
EHPA 1:4	2.00	40.0						
	2.30	50.0						
	2.48	60.0	181.72 ^a	0.265	0.963	0.978		
	2.60	100.0	(83.02-397.76) ^b					
	2.70	100.0						

Note: ^aLC₅₀ was calculated by Probit analysis (Finney, 1952); ^b 95% confidence interval; no dead larvae in the negative control, composed of 2% DMSO solution; the positive control, 1 mg L⁻¹ temephos, had 100% larval mortality.

As shown in Table 6, it is observed that the lowest LC₅₀ was observed for EHPA1:4, quantified at 181.72 mg L⁻¹. However, an action similar to EHPA1:8 is observed with a statistically similar LC₅₀ of 181.76 mg L⁻¹.

To analyze the efficiency of larvicidal activity of natural products, some studies suggest some criteria, as there is still no standard concentration range for determining the efficiencies of natural products. It should be considered

that these criteria are related to the time of exposure to the bioproducts and the origin of the larvae, which can change the LC₅₀ values. According to Komalamisra et al. (2005), LC₅₀ between 100 and 750 mg L⁻¹ are effective, up to 48 hours of exposure. Thus, the LC₅₀ obtained for *P. americana* seed extracts obtained in this study can be correlated to effective alternatives in the control of *Aedes aegypti*.

The larvicidal action observed was also described in the study by Torres et al. (2014) in locations in the Philippines, in which the authors used two extracting solvents (ethanol and hexane), and LC₅₀ was observed in *P. americana* seed extracts, respectively, at intervals from 16.48 mg L⁻¹ to 20.61 mg L⁻¹ and 9.82 mg L⁻¹ to 13.39 mg L⁻¹. Already in larvicidal trials performed by Agrela et al. (2014), in which methanol was adopted as solvent in *P. americana* seed extracts, the LC₅₀ were recorded for Ruckerfeller and Mario Briceno Iragorri strains, respectively, 5.7 mg L⁻¹ and 9.9 mg L⁻¹. In research carried out by Louis et al. (2020), in which the rind of the fruit of the same plant species was subjected to methanol extract, the LC₅₀ detected for 3rd stage larvae was 7.12 mg L⁻¹.

Comparing with the LC₅₀ results identified in the present study, it is noted that larvicidal activity was evidenced, however with a lower lethality potential, requiring a higher extract concentration to obtain the death of 50% of the larvae.

It is noteworthy that the results obtained with plant extracts may vary according to the period of collection, temperature, type of soil cultivated, plant species and others. For this reason, the isolation of the active compound from extracts is essential for standardization as a method of larval control (Gupta et al., 2011).

The solvent used can directly contribute to the variation of larvicidal activity, since it has been shown that the extraction of active biochemicals from plants requires the polarity of the solvents used (Ghost et al., 2012). The favorable results obtained encourage the continuation of the study, aiming at the isolation of the active principle and, mainly, ways that enable its practical use for the control of *Aedes aegypti*.

It was not yet possible through the study to specify which component or which components are responsible for larvicidal activity, because the isolation of such has not yet been verified. It is also necessary to perform the chemical characterization by chromatographic techniques of the extracts studied. Thus, it will be feasible to identify the metabolites to be attributed such larvicide potentials, being possible to generate bioproducts with bioprospecting activity for development of larvicide agents of plant origin.

4. Conclusion

The seeds of the species *Persea americana* presented a heterogeneity of secondary metabolites, encouraging future studies with other biological potentials. The tested extracts show activity against *Aedes aegypti* larvae, still revealing an atoxicity in the bioassay with *Artemia salina* against the non-target organism, showing selectivity against target organisms. Finally, the potential for using this product to control the vector responsible for the propagation of important arboviruses with high morbidity and mortality is confirmed and efficient and should be explored in its control and combat.

References

Amado, D. A. V., Helmann, G. A. B., Detoni, A. M., Carvalho, S. L. C. D., Aguiar, C. M. D., Martin, C. A., ... & Cottica, S. M. (2019). Antioxidant and antibacterial activity and preliminary toxicity analysis of four varieties of avocado (*Persea americana* Mill.). *Brazilian Journal of Food Technology*, 22.

- Agrela, I. F., Hidalgo, Y., & Herrera, F. (2014). Efecto larvicida de extractos metanólicos obtenidos de semillas y hojas de *Persea americana* (Laurales: Lauraceae)(aguacate) sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 54(2), 199-207.
- Chang, M. S., Christophel, E. M., Gopinath, D., & Abdur, R. M. (2011). Challenges and future perspective for dengue vector control in the Western Pacific Region. *Western Pacific surveillance and response journal: WPSAR*, 2(2), 9.
- Colegate, S. M., & Molyneux, R. J. (Eds.). (2007). *Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination*. CRC press.
- Deuschle, V. C., Brusco, I., Piana, M., Faccin, H., de Carvalho, L. M., Oliveira, S. M., & Viana, C. (2019). *Persea americana* Mill. crude extract exhibits antinociceptive effect on UVB radiation-induced skin injury in mice. *Inflammopharmacology*, 27(2), 323-338.
- Dolabela, M.F. (1997) Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. Dissertação (Mestrado), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, Belo Horizonte, 128 p.
- Dabas, D., M Shegog, R., R Ziegler, G., & D Lambert, J. (2013). Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals. *Current pharmaceutical design*, 19(34), 6133-6140.
- Farmacopeia Brasileira. 5.ed. Brasília - ANVISA, 2010.
- Ferrari, R. A. (2015). Nota Científica: Caracterização físico-química do óleo de abacate extraído por centrifugação e dos subprodutos do processamento. *Braz. J. Food Technol.*, Campinas, v. 18, n. 1, p. 79-84.
- Finney, D. J. (1952). *Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve*. Cambridge university press, Cambridge.
- Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova*, 30(2), 374-381.
- Ghosh, A., Chowdhury, N., & Chandra, G. (2012). Plant extracts as potential mosquito larvicides. *The Indian journal of medical research*, 135(5), 581.
- Gupta, L., Deshpande, S., Tare, V., & Sabharwal, S. (2011). Larvicidal activity of the α -amylase inhibitor from the seeds of *Macrotyloma uniflorum* (Leguminosae) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 31(1-2), 69-74.
- Jorge, T. D. S. (2014). Avaliação reológica do óleo de abacate (*Persea americana* mill) e estudo da estabilidade sob condições de aquecimento e armazenamento à temperatura ambiente.
- Kishore, R. K., Halim, A. S., Syazana, M. N., & Sirajudeen, K. N. S. (2011). Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. *Nutrition research*, 31(4), 322-325.
- Komalamisra, N., Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., & Apiwathnasorn, C. (2005). Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36(6), 1412.
- Louis, M. L. M., Pushpa, V., Balakrishna, K., & Ganesan, P. (2020). Mosquito larvicidal activity of Avocado (*Persea americana* Mill.) unripe fruit peel methanolic extract against *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles stephensi*. *South African Journal of Botany*, 133, 1-4.
- Lugasi, A., Dworschák, E., Blazovics, A., & Kery, A. (1998). Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black

radish (*Raphanus sativus* L. var *niger*) root. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 12(7), 502-506.

Matos, F. D. A. (2005). *Introdução à fitoquímica experimental*. edições UFC.

McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active constituents. *Planta Med*, 45, 31-32.

Moyses, V., & Bonatti, A. F. (2021). A educação em saúde e a intersetorialidade como estratégia de prevenção e controle das arboviroses. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 25, 101175.

Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. (2010). Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresource technology*, 101(1), 372-378.

Oliveira, A. C. D., Valentim, I. B., Goulart, M. O. F., Silva, C. A., Bechara, E. J. H., & Trevisan, M. T. S. (2009). Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, 32, 689-702.

Pavela, R. (2015). Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. *Ind Crops and Prod*, vol 76, 174-187, ISSN 0926-6690.

Rotta, E. M., de Moraes, D. R., Biondo, P. B. F., dos Santos, V. J., Matsushita, M., & Visentainer, J. V. (2016). Use of avocado peel (*Persea americana*) in tea formulation: a functional product containing phenolic compounds with antioxidant activity. *Acta Scientiarum. Technology*, 38(1), 23-29.

Reed, L.J. e Muench, H. (1938) Um método simples de estimar 5% de endpoints. *American Journal of Hygiene*, 27, 493-497.

Shalan, E. A. S., Canyon, D. V., Bowden, B., Younes, M. W. F., Abdel-Wahab, H., & Mansour, A. H. (2006). Efficacy of botanical extracts from *Callitris glaucophylla* against *Aedes aegypti* and *Culex annulirostris* mosquitoes. *Tropical Biomedicine*, 23, 180-185.

Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., de Mello, J. C. P., Mentz, L. A., & Petrovick, P. R. (2017). *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Artmed Editora.

Silva, H. H. G., Silva, I. G. D., Elias, C. N., Lemos, S. P. S., & Rocha, A. P. (1995). Idade fisiológica dos ovos de *aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (diptera, culicidae). *Revista Pat. Trop.* 24(2), 269-273.

Thomas, S. J., & Yoon, I. K. (2019). A review of Dengvaxia®: Development to deployment. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 15(10), 2295-2314.

Torres, R. C., Garbo, A. G., & Walde, R. Z. M. L. (2014). Larvicidal activity of *Persea americana* Mill. against *Aedes aegypti*. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S167-S170.

Valente, G. C. (2020). Caracterização e análise comparativa dos óleos extraídos da semente e da polpa do abacate (*Persea americana* Mill.) utilizando diferentes métodos de extração.

Viana, L. R. D. C., Pimenta, C. J. L., Araújo, E. M. N. F. D., Teófilo, T. J. S., Costa, T. F. D., & Costa, K. N. D. F. M. (2018). Reemerging arboviruses: clinical-epidemiological profile of hospitalized elderly patients. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 52.

Yasir, M., Das, S., & Kharya, M. D. (2010). The phytochemical and pharmacological profile of *Persea*

4.3 CAPÍTULO 3: Activity of hydroalcoholic extracts of commonly discarded Seeds of *Theobroma grandiflorum* against the vector of arboviruses *Aedes aegypti*.

Revista: Journal of Development Research

ISSN: 2230-9926

Submetido: 28/09/2021

ACTIVITY OF HYDROALCOHOLIC EXTRACTS OF COMMONLY DISCARDED SEEDS OF THEOBROMA GRANDIFLORUM AGAINST THE VECTOR OF ARBOVIRUSES *Aedes Aegypti*

Ana Paula Muniz Serejo¹, Ana Catharinny da Silva de Oliveira¹, Aline de Jesus Lustosa Nogueira¹, Helene do Carmo Castro Lacerda¹, Gustavo Oliveira Everton², Thais Cristina do Nascimento Viana³, Brenda Araújo de Sousa⁴, Rodrigo de Aquino Almeida⁴, Ana Patricia Matos Pereira¹, João Pedro Mesquita Oliveira³, Thaylanna Pinto de Lima³, Flávia Maria Mendonça do Amaral⁵, Denise Fernandes Coutinho⁵.

¹Postgraduate Program in Health and Environment (PPGSA/UFMA), São Luis, 65.025-560, Brazil.

²PhD in Chemistry (PPGQUIM/UFMA), São Luis, 65080-805, Brazil.

³Graduate in Industrial Chemistry(UFMA), São Luis, 65900-000, Brasil.

⁴Graduate in Chemistry Degree (UFMA), São Luis, 65900-000, Brasil.

⁵PhD in Natural and Synthetic Bioactive Products,(UFPB)/ Permanent member of the PPGSA/UFMA, São Luis, 65000-000, Brasil.

ARTICLE INFO

Article History:

Received xxxxxx, 2021

Received in revised form

xxxxxxx, 2021

Accepted xxxxxxxx, 2021

Published online xxxxx, 2021

Key Words:

Vector control, bioactives, Arbovirus infections, by-products.

*Corresponding author:

Ana Paula Muniz Serejo

ABSTRACT

Arboviruses are diseases that threaten public health, but dengue, Zika, Yellow Fever and Chikungunya stand out, present the same transmission, through the vector *Aedes aegypti*, belonging to the family Culicidae. They are hematophagous mosquitoes in which they adopt humans as amplification hosts to ensure the proliferation of arboviruses. Aiming at an alternative proposal with the use of a by-product of the food industry in vector control, the present study aims to perform a phytochemical screening and to detect larvicidal activity of hydroalcoholic extracts of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) seeds. The extracts were prepared from maceration in 70% PA ethanol extractor solvents in 1:4/1:6/1:8 hydromodules in 10 days under agitation with subsequent concentration in the rotaevaporator. Larvicidal activity was performed by the WHO method of Lethal Concentration 50% against *Aedes aegypti* larvae with probit statistics. Toxicity to non-target organisms was verified by *Artemia salina* test. Activity was observed against *Aedes aegypti* larvae with LC50 ranging from 35.018 to 369.191 mg L⁻¹ with a 95% confidence interval. It is observed that the extract of *T. grandiflorum* (Willd. ex Spreng) shows a promising and sustainable strategy in the fight and control of *A. aegypti* larvae, besides contributing to a reduction of environmental impact, promoting a reuse of organic waste discarded as seeds by agroindustry.

Copyright © 2021, Ana Paula Muniz Serejo. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Ana Paula Muniz Serejo. "Activity of hydroalcoholic extracts of commonly discarded Seeds of *Theobroma grandiflorum* against the vector of arboviruses *Aedes aegypti*.", *International Journal of Development Research*, 11, (08), xxxxxxxxxxxxxx.

INTRODUCTION

Diseases caused by arbovirus are characterized by a wide geographical distribution, causing asymptomatic infections or febrile diseases in humans in enzootic and urban cycles (Higuera et al., 2019). They continue to be promoters of great impact on public health and cause overload to health systems in the world (Queiroz et al., 2020). They are transmitted by the vector *Aedes aegypti*, belonging to the family Culicidae (Wu et al., 2019), they are hematophagous mosquitoes in which they adopt humans as amplification hosts to ensure the transmission of arboviruses in urban cycles (Huang et al., 2019). They are agents of serious diseases such as dengue, chikungunya fever, yellow fever and zika (Viana et al., 2018), considered epidemics in some regions that require urgency and need for integrated control and preventive measures (Girard et al., 2020). They remain a global threat to the health of society, in the Region of the Americas, dengue is more common and of greater circulation, with progressive growth in the number of cases since its introduction in 1980. In 2019, it reached 3.1 million reported cases, the highest record in recent years (WHO, 2020).

Among the main factors that show the emergence of these diseases worldwide, climate change, ecosystem breakdown, accelerated urbanization, waste management and garbage accumulation, including automobile tires, plastics, cans, and possible vector breeding sites (Zientara et al., 2020). Despite the advance of vaccines to prevent infections such as arboviruses, they still demonstrate failures and risks to vaccinated individuals, either by the interaction between serotypes, post-vaccine exposure to the virus, decline in vaccine protection, amount of dose administered and risk of causing severity (Floresto & Fernandes, 2020). It is noteworthy that only the yellow fever vaccine is effective and safe for 10 years (Rothman, 2004). Prevention and control actions are also focused on vector management, from treatment with synthetic insecticides, environmental interventions, and social mobilization (Samuel et al., 2017). However, widely used synthetic insecticides contain synthetic pyrethroids and other organophosphate compounds can cause toxic effects in humans, mosquito-related mutations, and ecosystem contamination (Takagi et al., 2020). It is observed that no strategy alone is effective in combating arboviruses, some resources allow reducing the burden of the disease, such as access to clinical services, internal spatial sprays, eradication of vector breeding sites, diagnosis and laboratory surveillance (Samuel et al., 2017).

It is necessary to establish a relationship between environment and health, with the objective of preventing health problems, understanding that the control of vectors such as *Aedes aegypti* in which they present high proliferation in environments with accelerated urbanization. (Almeida, Cota, Rodrigues, 2020). It is necessary to develop new vector control alternatives with different mechanisms of action, which is effective, ecologically safe, sustainable, low cost and that contains low toxicity for mammals (Silva et al., 2017). It is known that plants generate secondary metabolites such as flavonoids, alkaloids and terpenoids as a protection strategy against insects and are considered natural sources of insecticide substances (Simões et al., 2010). The present study aims to evaluate the larvicidal activity of hydroalcoholic extracts of Seeds of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng), as a source of bioactive potentials for vector control and contribute to the reuse of by-products discarded by the food industry.

METHODOLOGY

Botanical material: The fruits of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) were collected in a property located in the Ipem Turu neighborhood, in the municipality of São Luís-MA, in November 2020, 2°31'04.7"S 44°13'04.7"W (GPS). These were dried in a greenhouse with air circulation at 40°C and crushed in a knife mill with moderately thick powder granulometry. Exsiccates were produced in flowered branches and sent to the Herbarium Ática Seabra, center of Biological and Health Sciences of the Federal University of Maranhão to confirm botanical recognition.

Obtaining hydroalcoholic extract: To obtain the hydroalcoholic extracts, the macerated technique was used using a 70% PA ethanol extraction solvent in hydromodules of 1:4, 1:6 and 1:8 (m/v), in 70% ethanol. Macerated was performed for 10 days, under agitation and filtration. The resulting extracts were concentrated in a rotavaporizer and were stored in a refrigerator at 4°C in amber jars (Matos, 2009). Extract yields were calculated by gravimetric technique and the physical-chemical parameters: density and refractive index were determined according to the techniques recommended by the Brazilian Pharmacopoeia (2019).

Phytochemical analysis: The extracts were submitted to chemical tests based on the methodology presented by Matos (2009). The tests were: Salkowsk test (steroids), alkaloid test, flavonoids, anthraquinone glycosides, saponin test, keller killiani test (cardiac glycosides), cherric chloride test (phenols) and lead acetate test (tannins). And the total phenolic content was quantified using the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method and the total flavonoid through the complex spectrophotometric method with aluminum (Lugasi et al., 1998; Oliveira et al., 2009).

Collection of *Aedes aegypti* eggs: The collection of *Aedes aegypti* eggs was performed by means of traps called ovitraps, with the aid of Eucatex palettes. Eucatex palettes were properly inspected, sanitized and dried before setting the traps. The traps were installed at various points in the Region of Recanto dos Vinhais (São Luís, MA) with gps (2°31'06.6"S 44°16'02.8"W) under shelter from the sun and rain. The collected eggs were hatched in mineral water and fed to the stage in which the experiments were carried out. Larvae were collected and larvae were recognized by microscopy (Figure 1).

Larvicide activity against *Aedes aegypti*: The tests for larvicidal activity were carried out according to the adapted methodology proposed by Silva (2006). Initially, a 500 mg L⁻¹ stock solution of each of the hydroalcoholic extracts was prepared and diluted in a 2% Tween 80 solution. From this solution, serial dilutions were prepared at concentrations 100-400 mg L⁻¹. At each concentration, 10 larvae were added at the rate of 2 ml per larva. All tests were performed in triplicate and as negative control a solution made up of 2% Tween 80 was used, and as positive control, a solution of temephos (O,O,O',O'-tetramethyl O,O'-thiodi- p-phenylene bis (phosphorothioate) at 100 ppm, equivalent to the concentration used by

the National Health Foundation (FUNASA) for the larvicide control of the vector, in addition to Novaluron (\pm -1-[3-chloro-4-(1-1-) 3-trifluoro-2-trifluoromethoxyethoxy) phenyl-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea at 0.02 mg L⁻¹, dose adopted by the Ministry of Health, indicated by the WHO in the range of 0.01 to 0.05mg L⁻¹. After 24 hours the count of live and dead was carried out, and larvae that did not react to touch after 24 hours of the beginning of the experiment were considered dead. To quantify the efficiency of the extracts, the Probit statistical test (Finney, 1952) was applied.

Toxicity assessment against *Artemia salina*

The tests for larvicidal activity were performed according to the adapted methodology proposed by Silva (2006). Initially, an L⁻¹ stock solution of 500 mg of each of the hydroalcoholic extracts was prepared and diluted in a 2% Tween 80% solution. From this solution, serial dilutions were prepared at concentrations of 100-400 mg L⁻¹. In each concentration, 10 larvae were added at the rate of 2 ml per larva. All tests were performed in triplicate and as negative control was used a solution composed of 2% of Tween 80, and as a positive control, a solution of temephos (O,O,O',O'-tetramethyl O,O'-thiodi-p-phenylene bis (phosphothioate) at 100 mg L⁻¹, equivalent to the concentration used by the National Health Foundation (FUNASA) for the control of vector larvide, in addition to Novaluron (\pm -1-[3-chloro-4-(1-1-) 3-trifluoromethoxy) phenyl-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea to 0.02 mg L⁻¹, a dose adopted by the Ministry of Health, indicated by the WHO in the range of 0.01 to 0.05mg L⁻¹. After 24 hours, the count of living and dead was performed, and larvae that did not react to touch after 24 hours of the beginning of the experiment were considered dead. To quantify the efficiency of the extracts, the Statistical Test Probit (Finney, 1952) was applied.

RESULTS AND DISCUSSION

Phytochemical parameters and phytochemical screening: The physical-chemical parameters are important to determine aspects of biological applications and are presented in Table 1. The classes of secondary metabolites identified in the extracts obtained from *Theobroma grandiflorum* are shown in Table 2. Phytochemical screening of hydroalcoholic extracts of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) showed high extraction power for the classes of secondary metabolites such as: steroids, alkaloids, flavonoids, glycosides, cardiac glycosides, phenols and tannins, presented in Table 2.

Table 1. Physicochemical parameters of the hydroalcoholic extract of seeds of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng)

Parameter	Density (g mL ⁻¹)	Refractive Index (nD 25°)
EHTG1:8	0.9078	1.341
EHTG1:6	0.8934	1.349
EHTG1:4	0.92	1.344

Note1: EHTG1:8 – *Theobroma grandiflorum* hydroalcoholic extract in 1:8 hydromodule (m/v).

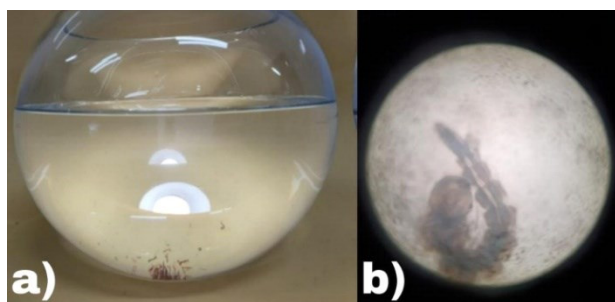
Note2: EHTG1:6 – *Theobroma grandiflorum* hydroalcoholic extract in 1:6 hydromodule (m/v).

Note3: EHTG1:4 – *Theobroma grandiflorum* hydroalcoholic extract in 1:4 hydromodule (m/v).

Source: Author (2021).

Table 2. Classes of secondary metabolites identified in extracts obtained from the seeds of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng)

Hydroalcoholic extracts <i>Theobroma grandiflorum</i> .	1	2	3	4	5	6	7	8
---	---	---	---	---	---	---	---	---



Source: Author (2021).

Figure 1. Process of collection and recognition of

Larvae of *A. aegypti*.

A diversity of constituents is noted, and an indication of different biological activities is suggested. It is noteworthy that the quality of the extraction is directly sensitive to the type of solvent adopted (Ferro, 2008).

It is observed in the phytochemical screening of the present study in which ethanol was used as solvent, there is a heterogeneity of the metabolites. Oliveira (2016) points out that ethanol is an amphiphilic substance, which allows the extraction of non-polar and non-polar characteristics. The chemical compositions of the same plant species may differ due to the characteristics inherent to the plant, the situations in which it was cultivated (physiology, stage of development and environmental conditions) and extraction conditions. (Silva et al., 2021).

In a study conducted by Freitas et al. (2017), recorded 403.00 mg EAT g⁻¹ of phenolic content in residues of the extraction of the retained pulp in the sieves of the pulp industry. In research conducted by Pérez-Mora et al. (2018) with the pulp juices of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) and obtained 226 mg EAT g⁻¹ of the total phenols. In an analysis performed by Couto et al. (2020) in the pulp of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) presented flavonoid content of 20.5 ± 3.0 mg EQ g⁻¹. The flavonoid contents present in fruits may fluctuate from one period to the next, Araújo (2017) points out that extrinsic factors such as climatic conditions, degree of fruit maturation, crop period and colheiras directly influence the composition of tropical fruits.

According to the criterion adopted by Dolabela(1997) regarding plant extracts on *A. salina* for classification of the toxicity of natural products, it is considered a highly toxic product when CL₅₀ ≤ 80 mg L⁻¹, moderately toxic to 80 mg L⁻¹ ≤ CL₅₀ ≥ 250 mg L⁻¹ and mildly toxic or nontoxic when CL₅₀ ≥ 250 mg L⁻¹. There were few studies with seeds of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) in this way compared seed toxicities of other species.

There are few data with Seeds of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) in this way compared the toxicities of seeds of other species. Almeida et al (2021) evaluated extracts of *Triplaris gardneriana* Wedd against nauplii from *Artemia* sp, with a value of 67.85 mg L⁻¹, thus presenting toxicity. Dantas et al (2020) in a study with ethanol extract from *Moringa oleifera* seeds, showed a value of 1783.40, being considered non-toxic. It is noteworthy that when there is no present toxicity, it indicates that such extract does not present substances that cause damage to biological systems (Campos et al., 2016). It is observed that the extracts analyzed in the present study, in the three hydromodules of 1:4, 1:6 and 1:8 (m/v), in 70% of ethanol is considered non-toxic, according to Dolabela criterion (1997).

Table 6 presents mortality data of *Aedes aegypti* larvae for extract action. In a brief survey of studies of the plant species investigated, no data were found regarding larvicidal action. In a study conducted by Ferreira et al., (2019) with the plant species *Waltheria viscosissima* belonging to the same family of *T. grandiflorum* (Willd. ex Spreng), Malvaceae, with ethanolextract of roots against larvae of *Aedes aegypti*, presented LC₅₀ of 4.78 mg L⁻¹. In research conducted with ethanolextracts of aerial parts of the species *Helicteres velutin* a K. Schum of the same family of *T. grandiflorum grandiflorum* (Willd. ex Spreng), LC₅₀ value of 2.983 mg L⁻¹ was found. It is noteworthy that species of the same family of the studied plant species present larvicidal activity.

Already comparing with results from other seeds, similar results are observed by Madhiyazhagan et al. (2020) in which they evaluated ethanol extracts from *Momordica charantia* seeds against *Aedes aegypti* and obtained LC₅₀ between 51.820 and 336.137 mg L⁻¹. However, in research conducted by Sogan et al., (2018) in which they determined the lethal concentration of *Ricinus communis* seeds with methanol solvent and obtained LC₅₀ between 7.08 and 12.757 mg L⁻¹. In a study conducted by Berhe et al., (2021) with powdered seeds diluted in water indicates *Azadirachta*, presented satisfactory results in a lethal concentration of 58 mg L⁻¹.

It is evident that hydromodule 1:6 presented better performance compared to the larvae of *A. aegypti*, suggesting this data because it presents a higher concentration of flavonoids. According to Lin et al., (2019) this class acts in the protection of plants against insects and herbivores. They are pointed out for their influence on the Insecta class, with the action of modulating the feeding and oviposition behavior (Pauliquevis et al., 2021). They act as anti-estrogen, modifying the mode of seedling (ecdysoma) and causing the death of individuals with the ability to inhibit cytochrome P450 isozyme and esterases (Soza et al.,2003; Wang et al., 2016; Zuanazzi et al., 2017).

Conclusion

The hydroethanolic extracts of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) showed larvicidal potential of vector *A. aegypti*, with no evidence of toxicity to non-target organisms, which should stimulate the continuity of the study from the perspective of new bioproducts because the application of larvicides of plant origin for mosquito control has been shown to be more effective, and can be used directly in vector breeding sites, with fewer environmental impacts.

It is noteworthy that the reuse of agro-industrial residues, such as the seeds of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng), a species selected in this study, in the panorama of generating bioproducts for disease control of great impact on world public health, represents an effective strategy to reduce organic waste, reducing costs related to its disposal, transportation and treatment.

However, further studies are necessary for the chemical characterization and isolation of the active constituents present in the hydroalcoholic extracts of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) to develop a biocontrol product to minimize vectors of persistent arboviruses.

Acknowledgments

We would like to thank the financial support of Fapema.

REFERENCE

- Almeida, L. S., Cota, A. L. S., & Rodrigues, D. F. (2020). Saneamento, Arboviroses e Determinantes Ambientais: impactos na saúde urbana. *Ciênc. Saúde Coletiva*, 25(10), 3857-3868.
- Almeida, T. S., Arantes, M. R., Lopes Neto, J. J., Souza, T.M., Pessoa, I. P., Medeiros, J. L., Tabosa, P., Moreira, T.B., Farias, D. F., & Carvalho, A. (2020). Avaliação de sementes extratos etanolicos de *Triplaris gardneriana* Wedd. utilizando métodos toxicológicos in vitro e in vivo. *Revista de toxicologia e saúde ambiental*. Parte A, 83(4), 135-152. <https://doi.org/10.1080/15287394.2020.1731035>.
- Araújo, I. M. C. *et al.* (2017). Caracterização bioativa de resíduos de frutas tropicais. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- Berhe *et al* (2021). Repellence and larvicidal effects of some selected plant extracts against adult *Anopheles arabiensis* and *Aedes aegypti* larvae under laboratory conditions. *International Journal of Tropical Insect Science*. *International Journal of Tropical Insect Science*, Mar. <https://doi.org/10.1007/s42690-021-00446-2>.
- Campos, S. C., Silva, C. G., Campana, P. R. V., & Almeida, V. L. (2016). Toxicidade de espécies vegetais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18(1), 373-382. https://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_057.
- Colegate, S. M., & Molyneux, R. J. (Eds.). (2007). *Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination*. CRC press.
- Couto, A. G. V. (2020). Avaliação físico-química e bioativa da polpa e geleia produzida a partir do fruto de *Theobroma grandiflorum* Schum (cupuaçu). *Revista Arquivos Científicos (IMMES)*. Macapá, AP, v.3, n. 2, p. 146-154-ISSN 2595-4407.
- Dantas *et al.* (2020). Estudo toxicológico das sementes de *Moringa oleifera* Lam. utilizando o teste com *Artemia salina* Leach. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 9, e457997332, ISSN 2525-3409. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7332>
- Dolabela, M.F. (1997) Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. Dissertação (Mestrado), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, Belo Horizonte, 128 p.
- Farmacopéia Brasileira. 5.ed. Brasília - ANVISA, 2010.
- Fernandes, D. A.; Barros, R. P. C.; Teles, Y. C. F.; Oliveira, L. H. G.; Lima, J. B.; Scotti, M. T.; Nunes, F. C.; Conceição, A. S.; Vanderlei de Souza (2019). Compostos Larvicidas M.d.F. Extraídos de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) Avaliados contra a *Aedes aegypti* L. *Moléculas*, 24, 2315. <https://doi.org/10.3390/molecules24122315>.
- Ferreira, M. D. L. *et al.* (2019). Phytochemical study of *Waltheria viscosissima* and evaluation of its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. / *Revista Brasileira de Farmacognosia* 29, 582–590.
- Ferro, Degmar. 2008. *Fitoterapia: conceitos clínicos*. Atheneu.
- Finney, D. J. (1971). *Probit analysis* 3rd edition. Cambridge University, London, UK, 333.
- Floesto Dias, K. T., & Fernandes, M. (2020). Dificuldades na produção de vacina profilática anti-dengue: aspectos patológicos e imunológicos. *Revista Multidisciplinar Em Saúde*, 1(2), 75. Recuperado de <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/remss/article/view/273>.
- Freitas, E. C.; Barros, H. E. A.; Santos, I. A.; Miranda, A. S.; Santana, R. F.;
- Girardum, M. *et al* (2020). Arboviroses: Uma ameaça global à saúde pública. *Vaccine*, Volume 38, Edição 24, Páginas 3989-3994. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.04.011>.
- Higuera, A. & Ramirez, J. D. (2019). *Acta Trop* Feb;190:99-111. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.11.010.
- Huang, Y. J. *et al* (2019). Surgimento e ressurgimento de arboviroses transmitidas por mosquitos. *Opinião Atual em Virologia*, Volume 34, Fevereiro, Páginas 104-109. <https://doi.org/10.1016/lj.coviro.2019.01.001>.
- Lin M., Han P. Li. Y., Wang W., Lai D., Zhou L.(2019). Quinoa Secondary Metabolites e Suas Atividades ou Funções Biológicas. *Moléculas*;24(13):2512.<https://doi.org/10.3390/molecules24132512>.
- Lugasi, A., Dworschák, E., Blazovics, A., & Kery, A. (1998). Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (*Raphanus sativus* L. var niger) root. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 12(7), 502-506.
- Madhiyazhagan *et al.* (2020). Water purification and larvicidal activity of seed extract, *Momordica charantia*. *GSC Advanced Research and Reviews*, 02(01), 001–009. I: <https://doi.org/10.30574/gscarr.2020.2.1.0001>.
- Matos, F. D. A. (1997). *Introdução à fitoquímica experimental*. edições UFC.
- Meyer, B. N. *et al.* (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, v. 45, n. 05, p. 31-34.
- Oliveira, A. C. D., Valentim, I. B., Goulart, M. O. F., Silva, C. A., Bechara, E. J. H., & Trevisan, M. T. S. (2009). Fontes

- vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, 32, 689-702.
- Oliveira, V.B e al. (2016). Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por CLAE-DAD de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.18, n.1, p. 230-239. DOI: <https://doi.org/10.25061/2527-2675/ReBraM/2021.v24i1.1057>.
- Organização Mundial de Saúde. (2020). Estratégia para a prevenção e controle das arboviroses: Relatório final. Ago. CD58/INF/11. PAHO. <https://www.paho.org>.
- Pérez-Mora, W., Jorjin-Novo, J. V., & Melgarejo, L.M. (2018). Análise de equivalência substancial em frutas de três espécies de *Teobroma* através da composição química e perfil de proteínas. *Química alimentar*, 240, 496-504. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.128>
- Queiroz, J. T. M. *et al* (2020). Novos pressupostos para o saneamento no controle de arboviroses no Brasil. *PERSPECTIVAS Cad. Saúde Pública* 36 (5) <https://doi.org/10.1590/0102-311X00223719>.
- Reed, L. J.; Muench, h.(1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American journal of epidemiology*, v. 27, n. 3, p. 493-497.
- Rothman, A. L. (2004). Dengue: defining protective versus pathologic immunity. *The Journal of clinical investigation*, 113(7), 946-951.
- Samuel, M. *et al* (2017). Eficácia comunitária da pulverização interna como método de controle vetorial da dengue: Uma revisão sistemática. *PLoS Negl Trop Dis*, 11 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005837>.
- Silva, A. I., Sá-Filho, G., Oliveira, L., Guzen, F., Cavalcanti, J., & Cavalcante, J. (2021). Perfil fitoquímico de extratos etanólicos e metanólicos do *Croton blanchetianus*. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, 24(1), 134-142. <https://doi.org/10.25061/2527-2675/ReBraM/2021.v24i1.1057>.
- Silva, M. V. (2017). Constituintes Fenólicos e Screening da Capacidade Antioxidante de Coprodutos Desidratados de *Theobroma grandiflorum*. *Rev. Virtual Quim.*, 9 (6), 2193-2203. DOI: 10.21577/1984-6835.20170129.
- Silva, T. I. *et al* (2017). Efeito larvicida de óleos essenciais de plantas medicinais sobre larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Revista Verde - ISSN 1981-8203 - (Pombal - PB)* v. 12, n.2, p.256-260, abr.-jun. <https://doi.org/10.18378/rvads.v12i2.4672>.
- Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A., & Pedrovick, P. R. (2010). Farmacognosia: da planta ao medicamento [Pharmacognosy: from the Plant to the Drug]. UFRGS: Porto Alegre, Brasil.
- Sosa, M. E. *et al* (2003). Bioactividad de flavonoides sobre larvas de *Tenebrio monitor*. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, v.59, p.179-184, 2000.[44] SIMMONDS, M. Flavonoids–insect interactions: recent advances in our knowledge. *Photochemistry*, v.64, p.21-30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00293-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00293-0)
- Takagi, B. A. *et al* (2020). Efeito larvicida e ovocida de extratos de *Crotalaria pallida* sobre o vetor *Aedes aegypti* / larvicidal and ovocidal effects of *Crotalaria pallida* extracts on the vector *Aedes aegypti*. *Revista Verde-ISSN 1981-8203-(Pombal -PB)* v. 12, n.2, p.256-260, abr.-jun. <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v12i2.4672>.
- Viana, L. R. D. C., Pimenta, C. J. L., Araújo, E. M. N. F. D., Teófilo, T. J. S., Costa, T. F. D., & Costa, K. N. D. F. M. (2018). Reemerging arboviruses: clinical-epidemiological profile of hospitalized elderly patients. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 52. <https://doi.org/10.1590/S1980-220X201705210340>.
- Wang, Z.; Zhao, Z.; Cheng, X.; Liu, S.; Wei, Q.; Scott, I.M. (2016). Conifer flavonoid compounds inhibit detoxification enzymes and synergize insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, ScienceDirect, v.127. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.09.003>.
- Wu P, Yu X, Wang P, Cheng G (2019). Arbovirus lifecycle in mosquito: acquisition, propagation and transmission. *Expert Reviews in Molecular Medicine* 21, e1, 1–6. <https://doi.org/10.1017/erm.2018.6>.
- Zientara, S. *et al* (2020). Doenças vectoriais emergentes: Febre do Nilo Ocidental, Língua Azul e Schmallenberg. *Bull Acad Natl Med Dez*;204(9):992-999. doi: 10.1016/j.banm.2020.09.041.
- Zuanazzi, J. A. S.; Montanha, J. A.; Zucolloto, S. M. (2017) Flavonoides. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Porto Alegre:Artmed, 2017. p. 209-233.

4.4 CAPÍTULO 4: Reaproveitamento de resíduos gerados pelas espécies

Persea americana e *Theobroma grandiflorum*: Uma alternativa para sustentabilidade ambiental.

Revista: Research, Society and Development

ISSN: [2525-3409](#)

Submetido: 25/09/2021

Aceito: 30/09/2021

Publicado: 06/10/2021

Reaproveitamento de resíduos gerados pelas espécies *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum*: Uma alternativa para sustentabilidade ambiental.

Reuse of waste generated by the species *Persea Americana* and *Theobroma grandiflorum*: An alternative to environmental sustainability.

Reutilización de residuos generados por las especies *Persea Americana* y *Theobroma grandiflorum*: Una alternativa a la sostenibilidad ambiental

Resumo

Os subprodutos de frutas são os resíduos alimentares mais abundantes, sendo descartados ou usados como ração ou na compostagem, são grandes fontes de bioativos com potencial de reaproveitamento. O objetivo deste trabalho foi a busca de estudos com os resíduos agroindustriais oriundos das espécies *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum* e identificar alternativas para reduzir a perda. Trata-se de uma revisão integrativa no qual foi desenvolvida a partir da análise de estudos encontrados em 2 bases de dados: PubMed e Google Scholar. Foram selecionados trabalhos que testaram a atividade biológica das espécies *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum* utilizando extratos vegetais. Bem como foram identificados trabalhos que envolviam o desperdício alimentar e possíveis alternativas para minimizar o impacto ambiental. As duas espécies demonstram ações biológicas significativas para o combate ao estresse oxidativo. A humanidade requer práticas sustentáveis da indústria agrícola para o reaproveitamento de resíduos orgânicos como estratégia para a redução do desperdício de alimentos além de gerar ações biológicas de grande impacto.

Palavras chaves: Desperdício de alimentos; Bioativos; *Persea americana*; *Theobroma grandiflorum*.

Abstract

Fruit by-products are the most abundant food residues, being discarded or used as feed or in composting, are major sources of bioactives with reuse potential. The objective of this work was to search for studies with agro-industrial residues from the species *Persea americana* and *Theobroma grandiflorum* and to identify alternatives to reduce loss. This is an integrative review in which it was developed from the analysis of studies found in 2 databases: PubMed and Google Scholar. Studies that tested the biological activity of *persea americana* and *theobroma grandiflorum* species using plant extracts were selected. As well as how work involving food waste and possible alternatives to minimize the environmental impact was identified. Both species demonstrate significant biological actions to combat oxidative stress. Humanity requires sustainable practices of the agricultural industry for the reuse of organic waste as a strategy to reduce food waste in addition to generating biological actions of great impact.

Keywords: Waste of food; Bioactive; *Persea Americana*; *Theobroma grandiflorum*.

Resumen

Los subproductos hortofrutícolas son los residuos alimentarios más abundantes, al ser desechados o utilizados como pienso o en compostaje, son las principales fuentes de bioactivos con potencial de reutilización. El objetivo de este trabajo fue buscar estudios con residuos agroindustriales de las especies *Persea americana* y *Theobroma grandiflorum* e identificar alternativas para reducir la pérdida. Se trata de una revisión integradora en la que se

desarrolló a partir del análisis de estudios encontrados en 2 bases de datos: PubMed y Google Scholar. Se seleccionaron estudios que probaron la actividad biológica de las especies de *persea americana* y *theobroma grandiflorum* utilizando extractos de plantas. Así como cómo se identificaron los trabajos que implican el desperdicio de alimentos y las posibles alternativas para minimizar el impacto ambiental. Ambas especies demuestran acciones biológicas relevantes para combatir el estrés oxidativo. La humanidad requiere prácticas sostenibles de la industria agrícola para la reutilización de residuos orgánicos como estrategia para reducir el desperdicio de alimentos además de generar acciones biológicas de gran impacto.

Palabras clave: Desperdicio de alimentos; Bioactivos; *Persea Americana*; *Theobroma grandiflorum*.

1. Introdução

O desperdício de alimentos representa um desafio global que está ligado à segurança alimentar e a gestão de recursos e possui implicações ambientais, sociais e econômicas (HUANG et al. 2020). Devido a função da cultura alimentar da população, ainda não há o aproveitamento do alimento de forma integral, sendo as cascas e sementes de frutas, folhas e talos de hortaliças, partes não comestíveis do alimento, desprezados (Ramos et al, 2020). Esses resíduos podem ser aproveitados na produção de novos alimentos, contribuindo, assim, para o combate à desnutrição e à fome (Galindo, 2014, Silva et al., 2019).

Além de ajudar na redução de custos das preparações culinárias e na diminuição nos índices de desperdício de alimentos, o aproveitamento de partes não utilizáveis pode contribuir para a melhoria da ingestão de nutrientes pela população, tornando possível a incrementação de novas receitas na dieta dos indivíduos (Silva et al., 2019).

Os subprodutos de frutas e vegetais são os resíduos alimentares mais abundantes, oriundos principalmente da produção de óleo, suco, vinho e açúcar, geralmente são descartados ou usados como ração ou na compostagem, são grandes fontes de polifenóis, vitaminas e minerais, e seu potencial para o reaproveitamento foi estimado em milhões de toneladas a cada ano (Dilucia et al, 2020).

Estes resíduos representam excelentes matérias-primas para a produção de substratos e adubos orgânicos de grande importância agrônômica, social e econômica sem desvantagens ecológicas (Correa, et al 2019). O abacate está entre as frutas que mais apresentam perdas durante o processamento industrial (Storck et al, 2013; Silva et al., 2019). O alto teor de fibras presente no fruto permite a utilização de partes não comestíveis para o desenvolvimento de novos produtos voltados para alimentação, tais como farinhas, biscoitos, pães e massas alimentícias (Chaves et al., 2013).

O cupuaçu pode ser aproveitado de forma integral, sendo a polpa a parte mais importante, e se destaca pelas características de acidez, aroma ativo e sabor muito agradável (López (2015; Silva e Pierre, 2021). Segundo Silva e Pierre, 2021, existe uma grande variedade de possibilidades para a utilização da casca como, por exemplo, na indústria alimentícia (produção de pães), no artesanato (produção de peças de decoração), nas embalagens ecológicas, na ração para bovinos, ovinos e peixes, entre outros. Os autores enfatizam que o aproveitamento desses resíduos alimentícios, pode agregar ainda mais valor à fruta.

Aproximadamente 5,9% do Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil, é resultante da agroindústria a partir de transformações de produtos, do beneficiamento e no processamento de matérias-primas, pesquisas indicam que a partir da agroindústria seja possível ampliar formas de reaproveitamento e biotransformação de subprodutos bem como aperfeiçoar a qualidade dos produtos existentes (EMPRAPA, 2020).

A fim de minimizar o desperdício não só desses subprodutos como também o de muitos outros, pesquisadores, autoridades governamentais, organizações não governamentais e indústrias alimentícias têm trabalhado na busca de soluções inovadoras e multifacetadas (Ojha, Busler & Scluter, 2020).

O objetivo deste trabalho foi elencar em caráter exploratório as atividades biológicas de resíduos agroindustriais oriundos das espécies *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum*, bem como descrever o impacto causado pelo

desperdício alimentar ao meio ambiente e identificar estratégias para minimizar este impacto.

2. Metodologia

Este artigo trata-se de uma revisão integrativa no qual foi desenvolvida a partir da análise de estudos encontrados em 2 bases de dados: PubMed e Google Scholar. Foram selecionados trabalhos que testaram a atividade biológica das espécies *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum* utilizando extratos vegetais. Bem como foram identificados trabalhos que envolviam o desperdício alimentar e possíveis alternativas para minimizar o impacto ambiental.

Os descritores utilizados na primeira busca foram: "*Persea americana*" e "bioativos" e na segunda "*Theobroma grandiflorum*" e "bioativos". A busca dos artigos foi realizada por meio do cruzamento desses descritores utilizando os operadores booleanos "OR" e "AND". Como critérios de inclusão, foram selecionados artigos e notas científicas publicados entre os anos 2010 e 2021, nos idiomas inglês, português e espanhol. Como critérios de exclusão, foram suprimidos trabalhos publicados em anais de eventos e artigos de revisão.

Foram pesquisados também artigos cujo tema abordado foi o desperdício de resíduos orgânicos e alternativas para minimizar o impacto ambiental. Nesta terceira busca foram adotados como critério de inclusão: artigos de revisão. E método aplicado foi baseado em Estrela, (2018).

3. Desperdício agroindustrial

Estima-se que a população mundial em 2050 será em torno de 9 a 10 bilhões de habitantes de acordo com a Organização Mundial das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) o que provocará um aumento na demanda por alimentos (Leal A., 2016). No entanto isso não será alcançado com o aumento da produção, devido a diminuição de terras propícias para a agricultura e para promover a expansão de terras será necessário desmatar e/ou degradar pastagens, com o conseqüente impacto negativo para o meio ambiente e a biodiversidade (Silveira, 2020).

Identifica-se 3 problemáticas no que diz respeito ao sistema alimentar mundial, a primeira é a inviabilidade do sistema em fornecer suprimento adequado às pessoas, tendo em vista que 868 milhões de pessoas não dispõem de acesso à comida e 1,5 bilhões apresentam excesso de peso, a segunda pontua que aproximadamente 50% do que é produzido está abastecendo carros e animais e um terço da produção de alimentos torna-se ração, e finalmente a terceira representa os alimentos desperdiçados que segundo a FAO totalizam-se um terço da produção mundial, o que poderia estar suprimindo quatro vezes o número de pessoas com carência alimentar (Triches, 2020).

A redução de desperdício de alimentos é uma das metas das políticas ambientais e de segurança alimentar das Nações Unidas, espera-se uma diminuição pela metade em toda cadeia alimentar (Morata et al, 2020). Essa diminuição está relacionada a um dos objetivos do desenvolvimento sustentável, considerado o objetivo número 2, o qual pretende acabar com todas as formas de fome e má-nutrição até 2030, de modo que todas as pessoas tenham acesso suficiente a alimentos nutritivos durante todos os anos (PLATAFORMA AGENDA 2030).

Segundo um estudo publicado pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), o desperdício alimentar ocorre ao longo de toda a cadeia de aprovisionamento alimentar, desde a produção agrícola até ao consumo final. O mesmo indica que nos países industrializados mais de 40% dos alimentos são desperdiçados nas etapas correspondentes à distribuição e consumo (Pinho et al, 2019).

Destaca-se, aqui, a categorização do desperdício alimentar gerado em três grupos distintos, "evitável", "possivelmente evitável" e "não evitável", a primeira corresponde ao desperdício de alimentos que estariam aptos para consumo, a segunda ao desperdício gerado por distintos hábitos de consumo e preparação e a última classifica o desperdício constituído por porções de alimentos que não são aptas para consumo em circunstâncias normais, os subprodutos (Quested

et al,2009; Martins et al,2014).

As causas da perda e desperdício de alimentos variam amplamente no percurso da cadeia de abastecimento alimentar, destacam-se as perdas desde a área agrícola, incluindo a colheita inadequada e práticas aplicadas, as condições climáticas, perdas causadas por condições de armazenamento inadequadas, assim como decisões tomadas em fases anteriores à distribuição do alimento, que predispõe produtos a uma menor validade (FAO, 2019).

Ressalta-se que o armazenamento refrigerado adequado, transporte correto, boa infraestrutura física, logística eficiente, processamento e o empacotamento são fundamentais na preservação dos alimentos, ainda assim, considera-se possíveis perdas por erro humano durante a aplicação dessas técnicas (FAO, 2019).

Os resíduos do beneficiamento de alimentos surgem durante a conversão em produtos alimentícios. Certos resíduos não se integram aos produtos como componentes e por esse motivo necessitam serem excluídos deles. Este tipo de resíduo é eliminado dos alimentos durante o seu processamento e, por estratégias tecnológicas se tornam subprodutos (FILHO et al, 2017).

O Diagnóstico do Manejo de Resíduos Urbanos - 2015, elaborado pela Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental do Ministério das Cidades, indicou que, das 77.997.025 toneladas de resíduos que chegaram a alguma unidade de processamento (aterros sanitários, aterros controlados, lixões, unidades de triagem etc.), apenas 0,3% foram conduzidas às unidades de compostagem existentes no país (Brasil, 2015).

O rápido crescimento da população mundial associado com a urbanização acelerada e industrialização tem levado ao grande descarte de resíduos orgânicos sólidos, dante dessa tendência os sistema de gestão de resíduos precisam adotar novas perspectivas, uma alternativa que se destaca-se é a reutilização e a reciclagem (Chen et al, 2020).

Em outubro de 2020, realizou-se a Conferência Regional da FAO para a América Latina e o Caribe, no qual uma das prioridades adotadas é a criação de sistemas alimentares sustentáveis para garantir maior oferta, acesso físico a dietas diversificadas, além de buscar a redução da perda e desperdício de alimentos (FAO, 2020). O Brasil está no ranking dos 10 países que mais desperdiçam alimentos no mundo, com cerca de 35% da produção sendo perdida todos os anos (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015).

4. Estratégias para minimizar o impacto ambiental

O sistema alimentar é responsável por um uso substancial dos recursos naturais e é um dos principais promotores para a degradação ambiental do planeta Terra, ele contribui com 20 a 30% das emissões totais de gases do efeito estufa (GEE): dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) e óxido nitroso (N₂O), é responsável por 70% de todo o uso de água doce e é uma das principais fontes de poluição da água (Steinfeld et al, 2006; Fresán et al, 2019). A perda da biodiversidade, redução de fonte de recursos não renováveis são considerados fatores graves oriundos da exploração da natureza (Santos et al, 2020).

O mercado agroindustrial age de forma intensa em todo mundo, gerando grande quantidade de resíduos, causando impactos graves ao meio ambiente. Em virtude disso há um aumento na busca por alternativas sustentáveis para o aproveitamento da matéria orgânica gerada pela agroindústria, promovendo desta forma a redução do desperdício alimentar, porém, existem certas dificuldades na aplicabilidade dessas alternativas, como a falta de tempo para o processamento da matéria prima e tecnologia adequada disponível (Silva, 2016).

No que diz respeito ao desperdício de partes não comestíveis do cupuaçu, a empresa Bombons Finos da Amazônia, no intuito de minimizar o desperdício das cascas, firmou uma parceria com a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM). Visando o reaproveitamento da casca do cupuaçu para produção de embalagens ecológicas. A

empresa é referência no desenvolvimento sustentável da Região Amazônica (Costa et al. 2017; Silva & Pierre, 2021). O desenvolvimento sustentável aplicado pelas indústrias é um desafio global. No que diz respeito ao reaproveitamento de resíduos orgânicos gerados ao longo da produção de alimentos, o ponto central é destacar a capacidade funcional dos compostos ativos extraídos de plantas ou oriundos de subprodutos da indústria, no qual são capazes de promover melhorias a saúde do consumidor (Carvalho et al, 2018).

Tramitam pela Câmara e no Senado Federal Brasileiro vários projetos de lei que, incentivam e impõem aos estabelecimentos do ramo alimentício realizem doações para instituições beneficentes, ou sem fins lucrativos, a bancos de alimentos, direta ou indiretamente e a pessoas com escassez de recursos para alimentação (Santos et al, 2020).

A FAO em 2017 destacou que devem ser realizadas campanhas de sensibilização, conduzidas a todos os responsáveis pela cadeia alimentar, por considerar ser o foco do enfrentamento do problema. Ressalta-se a iniciativa da campanha Save Food, que foi apresentada pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) e pela FAO, em parceria com a Messe Düsseldorf (companhia alemã), deu início a ações que promovem o consumo sustentável de alimentos e preveem metas para reduzir perdas e desperdício (EMBRAPA, 2017).

A Save Food Brasil está vinculada a FAO, na qual esforça-se a estimular a sinergia, a parceria e a intercomunicação dos grupos corporativistas com o objetivo de impulsionar a redução das perdas e do desperdício de alimentos no país. Suas metas consistem em: compor uma rede de especialistas brasileiros na área, incentivar e simplificar a comunicação entre setores, preservar a rede atualizada, e buscar a sensibilização do coletivo (Santos et al, 2020).

5. Produção de frutas no Brasil e Mundo

As frutas são alimentos indispensáveis na composição de uma dieta saudável. Esses alimentos contêm baixa densidade energética e diversos elementos essenciais para a saúde, como vitaminas, minerais, fibras e outros compostos bioativos, favorecendo a manutenção da saúde e do peso corporal (Da-Silva & Claro, 2019).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas com cerca de 45 milhões de toneladas ao ano, das quais 65% são consumidas internamente e 35% são destinadas ao mercado externo (EMBRAPA, 2021). Além de ser o país considerado o quarto maior exportador mundial de frutas. Dentre os principais destinos das exportações oriundas do Brasil destacam-se: União Européia, Portugal, França, Itália e Estados Unidos (Martins et al, 2020).

As frutas são os alimentos com maior porcentagem de perda, atingindo valores superiores a 50%, as raízes e tubérculos alcançam valores entre 40 a 50% e em cereais em torno de 30%. Desperdícios e perdas resultam não apenas na falta de consumo dos produtos, mas também na perda dos recursos utilizados na sua produção, como por exemplo água, energia, agrotóxicos e transporte (Silveira, 2020).

Calcula-se que o processamento de frutas para produção de sucos e polpa gera entre 30 e 40% de resíduos agroindustriais. O reaproveitamento desses resíduos é um dos maiores polos de investimentos, tem sido alvo de vários estudos o que contribui para o conhecimento sobre o seu grande potencial e seus valores nutricionais uma vez que os mesmos apresentam uma grande taxa de nutrientes essenciais, que agem no combate de doenças degenerativas como Alzheimer e Parkinson, melhorando a saúde humana (Franco, et al, 2015).

A Organização das Nações Unidas Para a Alimentação e a Agricultura – FAO, estima que a produção mundial de resíduos agroindustriais atinja 1,3 bilhão de toneladas por ano, dando conta que, 1/3 dos alimentos potencialmente destinados ao consumo humano são desperdiçados, seja como resíduos, oriundos do processamento ou como perca na cadeia produtiva (FAO, 2013).

6. Aplicações biológicas de subprodutos oriundos do processamento de frutas

Nos dias atuais grande parte dos resíduos orgânicos sólidos são descartadas de maneira convencional, como aterros sanitários e incineração (formas não sustentáveis), devido ao espaço limitado e os impactos ambientais (Chen et al, 2020).

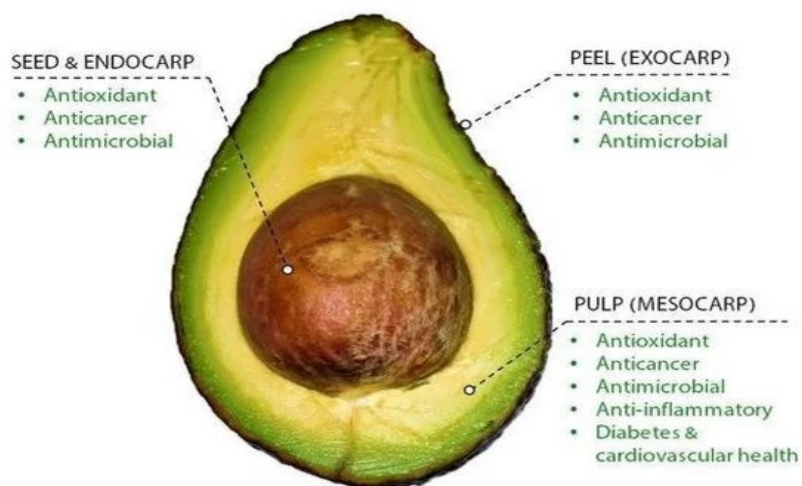
O processamento de produtos oriundos da agroindústria produz ao longo de sua cadeia produtiva, toneladas de resíduos orgânicos agroindustriais, ocasionando diversas pendências ambientais decorrentes do seu acúmulo e despejo em locais inapropriados. No entanto, esta quantidade de subprodutos gerados apresenta um grande potencial a ser explorado (Correa et al, 2019).

6.1 *Persea americana* (abacateiro)

O abacate (*Persea americana* Mill) é um fruto originado do continente americano, amplamente produzido no território brasileiro (Oliveira et al, 2017). É cultivado em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, particularmente no México, Indonésia, Estados Unidos, Brasil, Chile, Colômbia, República Dominicana, Peru e Etiópia, a produção brasileira é distribuída nas regiões Sudeste, Nordeste e Sul, e o estado de São Paulo é o maior produtor seguido pelos estados do Paraná e Espírito Santo (Paixão et al, 2016). *Persea americana* Mill é uma espécie vegetal pertencente à família Lauraceae, apresentando porte arbóreo, e é conhecida popularmente como abacateiro (Ferreira et al, 2008).

Essa fruta é composta de exocarpa (casca), mesocarpa (polpa), endocarpa e semente (Figura 1). A polpa de seus frutos, é amplamente utilizada na alimentação, sendo assim, considerado um produto de alto valor econômico (Mora-Sandí et al 2021).

Figura 1: Composição do fruto da *Persea americana*



Fonte: Mora-Sandí et al 2021.

O Brasil é o sexto maior produtor de abacate, representando 3,2% do total mundial, no entanto com um potencial de aumento de plantios, especialmente para atender o mercado consumidor interno (Pio, 2020).

A semente de abacate representa 13–18% da fruta, na sua composição apresenta grandes quantidades de compostos fenólicos proporcionando maior atividade antioxidante e, conseqüentemente, podem estar envolvidos na defesa contra patógenos (Kosmann et al, 2017).

A semente de abacate é subutilizada e representa grande parte da fruta, portanto, seu uso pode ser uma alternativa para reduzir o custo de produção de óleo comestível. No entanto, o principal problema no uso de sementes de abacate é a presença de compostos fenólicos que exibem toxicidade. Estudos demonstraram que as sementes podem ser utilizadas na

alimentação de animais monogástricos após a extração dessas substâncias com etanol. O extrato pode apresentar atividade antioxidante, uma vez que os níveis de fenólicos nas sementes variam de 2,3 a 5,7% (Duarte et al, 2016).

Dabas et al (2013), enfatiza que muitos dos estudos químicos e biológicos estão centrados na polpa do fruto de *P. americana*, a semente possui atividade promissora devido sua ação anti-inflamatória, anticâncer, antimicrobiano, efeitos anti-hipertensivos e antioxidantes, sua composição apresenta uma fonte promissora de amido não convencional, dependendo da variedade do abacate, o teor de amido presente na semente varia entre 7,8 a 29,3% em uma base seca (Macena et al, 2020).

As sementes são consideradas subprodutos normalmente descartados, observa-se que os resíduos da indústria alimentícia podem causar problemas ecológicos, que apesar de serem orgânicos, o seu acúmulo em aterros sanitários pode gerar gases, ocasionando mal cheiro e contribuindo com o acúmulo de patogênicos, sendo prejudicial à saúde. Além disso, há perdas econômicas devido ao alto custo de transporte desses subprodutos para as áreas de aterros sanitários (Leite et al, 2009).

O abacate tem sido reconhecido por seus benefícios à saúde, especialmente em função dos compostos presentes na fração lipídica, como ácidos graxos ômega, fitoesteróis, tocoferóis e esqualeno. Os estudos aqui analisados demonstraram os benefícios do abacate associado a uma dieta balanceada, principalmente, na redução do colesterol e na prevenção de doenças cardiovasculares. Foi evidenciada uma redução média de 17% nos níveis de colesterol no sangue em um estudo no México com 45 voluntários que consumiram abacate uma vez por dia durante uma semana (Duarte et al, 2016).

A tabela 1 apresenta as pesquisas elegíveis na busca de ações biológicas da espécie *P. americana*.

Tabela 1. Estudos realizados com a espécie *P. americana*.

PARTE DA PLANTA	EXTRATO	AÇÃO BIOLÓGICA	ESTUDO
Folhas,casca e sementes	Etanólico	Ação bactericida	Schellin et al 2020.
Semente	Aquoso	Ação anti-oxidante	Moreira, 2012.
Semente	Aquoso e etanólico	ação antimicrobiana	Silva et al, 2016.
Óleo e polpa do fruto	Metanólico	Efeito ansiogênico	Moura, 2019.
Casca	Aquoso	Ação anti-oxidante	Assunção, 2016.
Folhas	Metanólico	Antifúngica	Souza, 2016.
Casca e sementes	Etanólico	Ação anti-oxidante	Daiuto et al, 2014.
Sementes e polpa	Hidroalcoólico	Antimicrobiana	Haluch et al, 2020
Folhas	Hidroalcoólico	Ação anti-inflamatória	Lima, 2018.
Cascas	Etanólico	Atividade inseticida sobre <i>Aedes aegypti</i>	Carvalho, 2011.
Sementes	Hidroalcoólico	Ação gastroprotetora	Athaide, 2018.
Sementes	Metanólico	Controle da hipertensão	Oridupa et al, 2020.
Casca	petróleo bruto etanólico	Ação moluscicida	Silva et al, 2020.
Folhas	Etanólico	Ação antioxidante	Castro-López et al, 2019.
Casca	Metanólico	Efeitos neuroprotetores.	Ortega-Arellano et al, 2019.

Fonte: Autores.

Segundo Dabas et al (2013), a *Persea americana* é uma planta com uma diversidade de atividades biológicas, seu

fruto é considerado um alimento de elevada qualidade nutricional. Dos 15 artigos avaliados (tabela 1), nota-se que quatro relataram atividade antioxidante (Moreira, 2012, Assunção, 2016, Daiuto et al, 2014, Castro-López et al, 2019). Acredita-se que a atividade antioxidante está relacionada com o alto teor de compostos fenólicos, sendo estes considerados metabólitos promissores por apresentarem diversas atividades biológicas, dentre eles, o combate ao estresse oxidativo (Borges et al, 2020). O estresse oxidativo pode provocar danos neuronais e modular a sinalização intracelular, podendo causar a morte neuronal, esta ação antioxidante descrita nos estudos da planta *Persea americana*, pode ser favorável no desenvolvimento de agente neuropreventivos eficazes (Ameer et al, 2016).

A análise fitoquímica das sementes, cascas e polpa evidenciou presença de fenóis na *P. americana* (Barbosa et al, 2019), sugerindo grande potencial anti-inflamatório conforme descrito (Lima, 2018). Pesquisas *in vitro* demonstraram que extratos de folhas de *P. americana* apresentam ações anti-HIV, citotóxicos e inseticidas, foi evidenciado que o óleo oriundo da semente da *P. americana* apresenta atividade gastroprotetora, antihelmíntica, antioxidante e seu fruto tem potencial antimicrobiana (Tavli e Ozkan, 2020). Carvalho em seu estudo (2011), também atestou atividade inseticida das folhas do abacateiro, os autores (Silva et al, 2016, Souza, 2016, Haluch et al, 2020) reafirmaram a atividade antimicrobiana dessa parte da fruta.

6.2 *Theobroma grandiflorum* (cupuaçuzeiro)

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) é uma espécie da região amazônica, pertencente à família *Malvaceae*, é uma das mais promissoras plantas frutíferas, com plantios consideráveis nos estados do Pará e do Amazonas (Alves et al, 2013). Ele também é encontrado em estado silvestre na parte do Sul e Sudeste da Amazônia Oriental, mas atualmente está disseminado por toda a bacia Amazônica, Norte do Maranhão e ocasionalmente em outros países como Colômbia, Venezuela, Equador, Costa Rica e Peru, onde o fruto é consumido (Figura 2) (Mendonça et al, 2018).

Figura 2: Imagem do fruto(a) e polpa fresca (b) de *Theobroma grandiflorum*



Fonte: Souza et al, 2020.

Possui grande importância econômica no Brasil, com grande potencial em nível internacional devido aos múltiplos usos de suas sementes e celulose. A polpa é usada na indústria para produção de doces, sorvetes, licores e sucos, enquanto as sementes são usadas para a fabricação de um produto semelhante ao chocolate chamado cupulate, bem como na indústria de cosméticos (Genovese, et al, 2016).

As sementes de *Theobroma grandiflorum* em média contém 36 unidades por fruto, apresentam 2,5 cm de comprimento por 0,9 cm de espessura, superpostas em cinco colunas em torno de um eixo central, estão envolvidas por uma abundante polpa branco-amarelada de sabor ácido e cheiro agradável (Genovese, et al, 2016).

Este fruto tem grande destaque nacional e internacional, provocando interesse de países da Europa e da Ásia, sobretudo da Inglaterra, do Japão e da Suécia, além dos Estados Unidos e de países sul-americanos. O cupuaçu apresenta

flavonoides como as teograndinas, que têm sido vinculadas à redução do estresse oxidativo em doenças crônicas (Almeida, 2020). A tabela 2 exibe os estudos identificados com ação biológica da espécie *T. grandiflorum*.

Tabela 2. Estudos realizados com a espécie *Theobroma grandiflorum*.

PARTE DA PLANTA	EXTRATO	AÇÃO BIOLÓGICA	ESTUDO
resíduos das frutas da espécie.	hidroetanólico	Ação antioxidante	Freitas et al, 2017.
Semente	Etílico	Ação antihipertensiva	Cruz, 2014.
Semente	metanólico	Ação antioxidante	Pugliese et al, 2013.
Óleo da semente	etanólico	Ação antioxidante	Costa et al, 2020.
Polpa	metanólico	modulação da microbiota intestinal.	Barros et al, 2016.
Resíduos do fruto	Não utilizado	bioremediação 17- α -ethinylestradiol.	Golveia et al, 2018.
Casca	metanol	Ação antioxidante.	Galeano-Garcia et al 2011.
Lactobacilos isolados da polpa	Não utilizado.	Efeitos probióticos.	Selis et al, 2021.

Fonte: Autores

Destaca-se a atividade antioxidante prevalente nas ações biológicas, envolvendo semente, polpa e casca, conforme descrito na tabela 2. Tal ação tem sido uma das atividades oriundas dos vegetais, que apresentam grande potencial por neutralizar os danos oxidativos causados pelos radicais livres (Silva et al, 2017).

Os radicais livres são subprodutos do metabolismo aeróbio, normalmente a sua presença nas células, situa-se em níveis toleráveis, o que possibilita uma defesa antioxidante satisfatória pelos meios disponíveis para inativá-los, no entanto sua produção intensiva ou redução nas defesas antioxidantes do organismo, promovem estresse oxidativo nas células (Oliveira et al, 2019).

É de grande relevância a atividade antioxidante na função intestinal (Barros et al,2016; Selis et al,2021). Segundo Chagas (2017), uma dieta de camundongos enriquecida com polpa de *T. grandiflorum* (5 e 10%), demonstrou grande potencial como terapia complementar ao tratamento da doença inflamatória intestinal em humanos.

7. Conclusão

Diversos países enfrentam a problemática do desperdício de alimentos no setor agroindustrial, logo o desenvolvimento sustentável desse mercado se torna um desafio global, tendo como foco o reaproveitamento de resíduos orgânicos. As frutas são um dos alimentos com maior percentual de perdas, esse desperdício ocorre em toda as fases da cadeia produtiva, que vai desde a colheita até o consumidor final. As causas de perdas são diversas, incluindo o transporte, armazenamento, acondicionamento inadequado, entre outras.

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas, logo se torna um dos países que mais desperdiça esse alimento. Resíduos oriundos das espécies *P. americana* e *T. grandiflorum* são grandes fontes de metabólitos ativos, podendo apresentar ações biológicas de impacto positivo na saúde humana. O potencial dos coprodutos e resíduos oriundos do beneficiamento de frutas pode tornar-se uma fonte rentável de recursos para comunidades produtoras e indústrias relacionadas. Além disso, o potencial biotecnológico inexplorado relacionado a frutas e seus subprodutos deve ser visto como alternativa para prospecção de compostos bioativos e diminuição de resíduos e poluentes. Faz-se necessário maiores investimentos por parte da indústria alimentícia quanto a um destino sustentável para os resíduos orgânicos, buscando assim reaproveitamento e redução de perdas de recursos naturais bem como minimização dos custos do mercado.

Referências

Almeida, A. F. & Santos, C. C. A. A. (2020). Frutos amazônicos: biotecnologia e sustentabilidade. EDUFT. Universidade Federal do Tocantins, Palmas-

TO.

Alves et al. (2013). Diversidade genética em coleções amazônicas de germoplasma de cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.] *Genética e Melhoramento, Rev. Bras. Frutic.* 35 (3). <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000300019>.

Ameer K. (2016) Abacate como uma grande fonte dietética de antioxidantes e seu papel preventivo em doenças neurodegenerativas. In: Essa M., Akbar M., Guillemín G. (eds) *Os Benefícios dos Produtos Naturais para Doenças Neurodegenerativas. Avanços em Neurobiologia*, vol 12. *Springer*, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-28383-8_18.

Athaydes, B. R., Alves, G.M., Assis, A., Gomes, J., Rodrigues, R. P., Campagnaro, B. P., Nogueira, B. V., Silveira, D., Kuster, R.M., Pereira, T., Kitagawa, R. R., & Gonçalves, R. (2019). As sementes de abacate (*Persea americana* Mill.) previnem a úlcera gástrica induzida pela indometacina em camundongos. *Pesquisa alimentar internacional* (Ottawa, Ont.), 119, 751-760. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.057>.

Barros, H. R. M. et al. (2016). Evaluation of the distribution and metabolism of polyphenols derived from cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) in mice. *Diário de alimentos funcionais*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.02.009>.

Borges, R.B. G., Morais, R. A., Soares, C.M. da S., Santos, A. L. dos, Martins, G. A. de S., & Silva, J. F.M. da. (2020). Compostos bioativos de abacaxi (cosmos de abacaxi) e pimenta de dedo menina (*Capsicum baccatum*) e sua correlação com a atividade antioxidante. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, 9(7), e71973210. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.3210>.

Brasil. Ministério do Meio Ambiente. (2012). Plano nacional de resíduos sólidos (103 p.). Brasília.

Carpene, Maria, Bernabe Nuñez-Estevéz, Anton Soria-Lopez, Paula Garcia-Oliveira e Miguel A. Prieto (2021). "Óleos Essenciais e sua aplicação em sistemas ativos de embalagem: uma revisão" *Recursos* 10, n° 1: 7. <https://doi.org/10.3390/resources10010007>.

Carvalho, G. H. F. (2011). Insecticidal activity of ethanolic crude extract of *persea americana* (lauraceae) on larvae and pupae of *Aedes aegypti* (diptera, culicidae). 2011. 54 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Carvalho, M. T. et al. (2018). métodos de extração de compostos bioativos: aproveitamento de subprodutos na agroindústria. *Revista uningá review*, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 66 - 84, mar. 2018. ISSN 2178-2571. Disponível em: <<http://34.233.57.254/index.php/uningareviews/article/view/1534>>. Acesso em: 11 jul. 2021.

Castro-López, C., Bautista-Hernández, I., González-Hernández, M. D., Martínez-Ávila, G., Rojas, R., Gutiérrez-Díez, A., Medina-Herrera, N., & Aguirre-Arzola, V. E. (2019). Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Leaf Purified Hydroalcoholic Extracts from Seven Mexican *Persea americana* Cultivars. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(1), 173. <https://doi.org/10.3390/molecules24010173>.

Chagas, A. S. (2017). Avaliação dos efeitos de dietas enriquecidas com frutos das espécies *Theobroma grandiflorum* e *Musa spp* AAA em diferentes modelos de inflamação intestinal. Tese (doutorado) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências de Botucatu.

Chaves, M. A., Mendonça, C. R. B., Borges, C. D., & Porcu, O. M. (2013). Elaboração de biscoito integral utilizando óleo e farinha da polpa de abacate. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 31(2). <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v31i2.34844>.

Correa, B. A. et al. (2019). Reaproveitamento de resíduos orgânicos regionais agroindustriais da amazônia tocantina como substratos alternativos na produção de mudas de alface. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável* (RBAS), v.9, n.1, p.97-104, Março.

Costa, M. B. et al. (2017). O uso sustentável de embalagem a partir da reciclagem da casca do cupuaçu. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/6313/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o_Marilene%20B.%20Costa.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2019.

Cruz, J. N. (2014). Hidrolizado protéico da semente de cupuaçu como fonte de peptídeos inibidores de enzima conversora da angiotensina I. 2014. 104p (Tese de Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

da Silva, C. B., Silva, K. B. da, Oliveira, E. L. da S., Soares, V. F., Costa, J. G. da, & Santos, A. F. dos. (2017). A importância da ação antioxidante de óleos essenciais em benefício da saúde. *Diversitas Journal*, 2(1), 52-55. <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v2i4.483>.

Dabas, D., Shegog, R. M., Ziegler, G. R., & Lambert, J. D. (2013). Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals. *Current Pharmaceutical Design*, 19(34). <https://doi.org/10.2174/1381612811319340007>.

Dauto, E. R. et al. (2014). Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'hass'. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 2, p. 417-424, Junho.

Dilucia, F. et al. (2020). Sustainable Use of Fruit and Vegetable By-Products to Enhance Food Packaging Performance. *Foods*. Jun 30;9(7):857. doi: 10.3390/foods9070857.

EMBRAPA. Frutas e hortaliças. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/grandes-contribuicoes-para-a-agricultura-brasileira/frutas-e-hortalicas>>. Acesso em 26/01/2021.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária [página na internet]. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Ciência que Transforma: Resultados e Impactos Positivos da Pesquisa Agropecuária na Economia, no Meio Ambiente e na Mesa do Brasileiro [acesso em 30 de junho de 2021]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/grandes-contribuicoes-para-a-agricultura-brasileira/agroindustria>.

Estrela, C. (2018). Metodologia Científica: Ciência, Ensino, Pesquisa. Editora Artes Médicas.

FAO. (2019). The State of Food and Agriculture 2019. Moving forward on food loss and waste reduction. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

FAO. Estados miembros de la FAO aprobaron 3 nuevas prioridades para América Latina y el Caribe. Disponível em: <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/1317225/>. Acesso em : 16 de jul de 2021.

Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO. (2015). Food wastage footprint & climate change. Rome. Recuperado em 15 de maio de 2018, de <http://www.fao.org/3/a-bb144e.pdf>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO. (2017). The state of food security and nutrition in the world. Rome. Recuperado em 12 de junho de 2021, de <http://www.fao.org/3/a-I7695e.pdf>.

Fresán U.(2019). Dietas Vegetarianas: Saúde Planetária e seu alinhamento com a saúde humana. *Adv Nutr*. Novembro; 10(Suppl 4): S380-S388. doi: 10.1093/advances/nmz019 PMID: PMC6855976.

Galeano-Garcia, P. et al.(2011). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos de diferentes clones de copoazú (*Theobroma grandiflorum*). *Momentos de Ciência* 8(2),pp 118-125.

Galindo, C. O. (2014). Análise sensorial de produtos elaborados a base de partes não convencionais de frutas (Trabalho de conclusão de curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba.

Golveia, J. et al. (2018) Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) resíduo e sua potencial aplicação em a bioremediação de 17-A-ethinylestradiol como um indutor de laccase *Pycnoporus sanguineus*, *Bioquímica Preparae & Biotecnologia*, 48:6, 541-548, DOI: 10.1080/10826068.2018.1466161.

Haluch, S. M. et al (2020). Prospecção de novos antimicrobianos e bactericidas frente a microrganismos de interesse de saúde pública. *Braz. J. Anim. Environ. Res.*, Curitiba, v. 3, n. 4, p. 3630-3652, out./dez. ISSN 2595-573X.

Huang, I. Y., Manning, L., James, K.L., Grigoriadis, V., Millington, A., Wood, V., & Ward, S. (2020). Gestão de resíduos de alimentos: uma revisão das práticas de negócios dos varejistas e suas implicações para o valor sustentável. *Journal of Cleaner Production*, 125484.

doi:10.1016/j.jclepro.2020.125484.

Jesus, D., Oliveira, J. R., Oliveira, F. E., Higa, K.C., Junqueira, J.C., Jorge, A. O., Back-Brito, G. N., & Oliveira, L. D. (2015). Persea americana Extrato Glicólico: Estudo In Vitro de Atividade Antimicrobiana contra Candida albicans Biofilm e Cytotoxicidade Avaliação. *TheScientificWorldJournal*, 2015, 531972. <https://doi.org/10.1155/2015/531972>.

Leal, A. (2016). Produção global de alimentos precisaria aumentar 60% para garantir equilíbrio, Agência Brasil. <https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2016-10/producao-global-de-alimentos-precisaria-aumentar-60-para-garantir-equilibrio>.

Lima, N. De F. M. (2018). Mecanismo de ação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da Persea americana. 72f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto e da Criança/CCBS) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís.

Martins, M. M. V. et al. (2021). As exportações de frutas brasileiras: uma perspectiva da água virtual. *Revista De Economia E Agronegócio*, 18(2), 1-22. <https://doi.org/10.25070/rea.v18i2.8267>.

Mora-Sandí, A., Ramírez-González, A., Castillo-Henríquez, L., Lopretti-Correa, M., & Vega-Baudrit, J. R. (2021). Persea Americana Biorrefinaria de resíduos agroindustriais para produtos sustentáveis de alto valor agregado. *Polímeros*, 13(11), 1727. <https://doi.org/10.3390/polym13111727>.

Morata, María Piedad et al.(2020). Estudo dos hábitos e geração de resíduos alimentares de jovens universitários. *O Nutr. Hosp.*, Madrid , v. 37, n. 2, p. 349-358, Abr. 2020. <http://dx.doi.org/10.20960/nh.02833>.

Moreira, J. C. H. (2012). Agentes fitoquímicos de *Persea americana* Mill. e se potencial contributo na dermocosmética. Tese de mestrado, Faculdade de ciência da Saúde, Porto.

Moura, R. L. (2019). avaliação do comportamento de ansiedade na prole de ratas suplementadas com óleo e polpa de abacate (persea americana mill.) durante a gestação e lactação, Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal de Campina Grande.

Ojha, S., Bußler, S., & Schlüter, O. K. (2020). Valorização do desperdício de alimentos e conceitos de economia circular na produção e processamento de insetos. *Gestão de resíduos (Nova Iorque, Nova Iorque)*, 118, 600-609. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.09.010>.

Oliveira, A. P. de, & Menezes, E. G. T. (2017). extrações de óleo da polpa de abacate (persea americana mill) utilizando diferentes solventes. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 3(6), 0819-0823. <https://doi.org/10.18540/jcecvl3iss6pp0819-0823>.

Oliveira, L. P. et al (2019). estudo da atividade antioxidante do extrato bruto hidroalcoólico do capim-cidreira (cymbopogon citratus) pelo método dpqh. *enciclopédia biosfera*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.16 n.29; p. 2034.

Oridupa, O. A., Oshinloye, A. O., Obisesan, A. D., Olateju, O.M., & Adenuga, V. A. (2020). As sementes persea americana causam relaxamento muscular liso ileal através da estimulação de α -1 Adrenoceptores. *Pesquisa sobre drogas*, 70(2-03), 107–111. <https://doi.org/10.1055/a-1076-0703>.

Ortega-Arellano, H. F., Jimenez-Del-Rio, M., & Velez-Pardo, C. (2019). Efeitos neuroprotetores do Extrato Metodólico do Abacate Persea americana (var. Colinred) Peel on Paraquat-Induced Locomotor Impairment, Lipid Peroxidation and Shortage of Life Span in Transgenic knockdown Parkin Drosophila melanogaster. *Pesquisa neuroquímica*, 44(8), 1986-1998. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02835-z>.

Pio, L. A. S. (2020). Abacate: Brasil entre os líderes mundiais de produção. *Revistas Hortifrúti*, <https://revistacampoenegocios.com.br/abacate-brasil-entre-os-lideres-mundiais-de-producao/>.

PLATAFORMA AGENDA 2030. Os 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. Objetivo 2: Fome Zero e Agricultura Sustentável. Disponível em: <http://www.agenda2030.com.br/ods/2/>. Acesso em 24/01/2021.

Ramos, R. V. R. et al.(2020). Sustentabilidade: utilização de vegetais na forma integral ou de partes alimentícias não convencionais para elaboração de

farinhas *Demetra* (Rio J.) ; 15(1): e41995, jan.- mar.

Rotta, E.M., Morais, D. R. de, Biondo, P.B. F., Santos, V. J. dos, Matsushita, M., & Visentainer, J. V. (2015). Use de casca de abacate (*Persea americana*) na formulação do chá: um produto funcional contendo compostos fenólicos com atividade antioxidante. *Acta Scientiarum. Tecnologia*, 38(1), 23-29. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v38i1.27397>.

Santos, K. L., Panizzon, J., Cenci, M. M., Grabowski, G., & Jahno, V. D. (2020). Food losses and waste: reflections on the current brazilian scenario. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, e2019134. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13419>.

Schellin, L. M. et al. (2020). Efeito cidal de compostos bioativos presentes nas partes da planta *Persea americana* mill. em enterobactérias multirresistentes. *Braz. J. Anim. Environ. Res.*, Curitiba, v. 3, n. 4, p. 3747-3758, out./dez. ISSN 2595-573X. DOI: 10.34188/bjaerv3n4-076.

Selis, N. N. et al.(2021).. *Gardnerella vaginalis* and *Neisseria gonorrhoeae* Are Effectively Inhibited by Lactobacilli with Probiotic Properties Isolated from Brazilian Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) Fruit. *Biomed Res Int*. 2021 Apr 29;2021:6626249. doi: 10.1155/2021/6626249.

Silva, A. B. et al. (2016). perfil fitoquímico e suscetibilidade antibacteriana da lafoensia pacari saint-hilaire (lythraceae) e *Persea americana* mill (lauraceae) do cerrado brasileiro *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.24.

Silva, I. G. et al. (2019). Elaboração e análise sensorial de biscoito tipo cookie feito a partir da farinha do caroço de abacate. *Braz. J. Food Technol.*, Campinas, v. 22, e2018209.. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.20918>.

Silva, L. E. S. & Claro, R. M. Tendências temporais do consumo de frutas e hortaliças entre adultos nas capitais brasileiras e Distrito Federal, 2008-2016. *Cad. Saúde Pública* 2019; 35(5):e00023618.

Silva, L. S. & Pierre, F. C. (2021). Aplicabilidade do cupuaçu (*theobroma grandiflorum* (willd. Ex spreng.) Schum.) Em produtos e subprodutos processados. *Tekhne e Logos*, Botucatu, SP, v.12, n.1, abril, 2021.

Silva, Y., Silva, L. D., Rocha, T. L., Santos, D., Bezerra, J., Machado, K. B., Paula, J., & Amaral, V. (2020). Molluscicidal activity of *Persea americana* Mill. (Lauraceae) stem bark ethanolic extract against the snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818): a novel plant-derived molluscicide?. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92(4), e20200715. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020200715>.

Silveira, A. C.. (2020). The need to reduce food loss and waste. *Agrociencia Uruguay*, Montevideo , v. 24, n. 2, e421. Disponible en <http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482020000202102&lng=es&nrm=iso>. accedido en 21 enero 2021. Epub 01-Dic-2020. <http://dx.doi.org/10.31285/agro.24.421>.

Sousa, F. H., Valenti, V. E., Pereira, L.C., Bueno, R. R., Prates, S., Akimoto, A. N., Kaviani, M., Garner, D.M., Amaral, J., & de Abreu, L.C. (2020). A polpa de abacate (*Persea americana*) melhora a recuperação cardiovascular e autônoma após a execução submaximal: um ensaio crossover, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. *Relatórios científicos*, 10(1), 10703. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67577-3>.

Souza, J., Rocha, J. M., Cartaxo, C., Vasconcelos, M., Álvares, V. S., Nascimento, M. M., Yomura, R., & Kaefer, S. (2020). Monitoring and Optimization of Cupuaçu Seed Fermentation, Drying and Storage Processes. *Microorganisms*, 8(9), 1314. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091314>.

Souza, Z. L. (2016). Atividades biológicas de extratos e frações de folhas de *Persea americana* e *Syzygium malaccense*. *Tese(doutorado)*, Universidad Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-graduação de Biotecnologia, Salvador-BA.

Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M, de Haan C. *Pecuária longa sombra: questões ambientais e opções*. FAO; 2006.

Storck, C. R., Nunes, G. L., Oliveira, B. B., & Basso, C. (2013). Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. *Ciência Rural*, 43(3), 537-543. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782013000300027>.

Tavli, O. F. et al. (2020). Ülkemiz Kültür Bitkilerinden *Persea americana* Mill. (Avokado) ve Tıbbi Açıdan Değerlendirilmesi Cultivated In Turkey. *Lokman Hekim Dergisi - Lokman Hekim Journal* 10 (1): 28-36. DOI: 10.31020/mutfid.622300.

Triches, R. M. (2020). Dietas saudáveis e sustentáveis no âmbito do sistema alimentar no século XXI. *Saúde debate*, Rio de Janeiro , v. 44, n. 126, p. 881-894, setembro . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-11042020000300881&lng=en&nrm=iso>. acesso em 21 de janeiro de 2021. Epub Nov 16, 2020. <https://doi.org/10.1590/0103-1104202012622>.

Ç

~

g=en&nrm=iso>. acesso em 21 de janeiro de 2021. Epub Nov 16, 2020. <https://doi.org/10.1590/0103-1104202012622>.

4.5 Capítulo 5: Caracterização química dos extratos etanólicos de sementes dos frutos das espécies vegetais : *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng).

Artigo a ser submetido à revista Pharmacognosy Reviews

ISSN:

Qualis Capes: A2

Resumo

Os frutos das espécies vegetais *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum* são comercialmente significativos e com alto valor nutricional, movimentam a economia e conseqüentemente promovem um elevado descarte de partes do fruto não comestível, como as sementes. O objetivo deste estudo é caracterizar o perfil químico dos extratos hidroalcoólicos de sementes de *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum*. Os extratos estudados foram analisados utilizando um sistema de cromatografia líquida Shimadzu Prominence com duas bombas injetor automática Shimadzu LC-20AD (SIL-20A HT). No extrato da *P. americana* foram identificados 6 moléculas: perseitol, ácido cafeoilquínico, Cinnamtannin B1, isômero do ácido cafeoilquínico, Glucosídeo de ácido hidroxibcísico e quercetin-3-O-glicosídeo. São descritos para tais constituintes ação antiinflamatória, antioxidante e até ação revertora de drogas multiresistentes em tratamento antitumoral, destacando-se as classes fenólicos, flavonoides e procianidinas. Já na espécie *Theobroma grandiflorum* registrou-se 10 compostos químicos, houve predomínio de flavonoides, tal classe destaca-se por exibir uma variabilidade de ações biológicas desde antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante, antitumoral, cardioprotetor, neuroprotetor e antidiabética. Com o perfil químico traçada é possível isolar compostos majoritários, progredir no desenvolvimento de bioprodutos e contribuir com o reaproveitamento de resíduos da indústria alimentar.

Abstract

The fruits of the plant species *Persea americana* and *Theobroma grandiflorum* are commercially significant and with high nutritional value, move the economy and consequently promote a high disposal of parts of the inedible fruit, as seeds. The aim of this study is to characterize the chemical extracts profile of *Persea americana* seeds and *Theobroma grandiflorum*. The extracts studied were analyzed using a Shimadzu Highlight liquid chromatography system with two Shimadzu LC-20AD automatic injector pumps (SIL-20A HT). In the extract of *P. americana*, 6 molecules were identified: perseitol, cafeoilquinic acid, Cinnamtannin B1, cafeoilquinic acid isomer, glucoside of hydroxyabcisc acid and quercetin-3-O-glycoside. Anti-inflammatory, antioxidant and even reverse action of multidrug drugs in antitumor treatment are described for such constituents, especially as phenolic, flavonoid and procyanid classes. In the species *Theobroma grandiflorum*, 10 chemical compounds were recorded, flavonoid constituents predominated, this class stands out for exhibiting a variability of biological actions ranging from antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, antitumor, cardioprotective, neuroprotective and antidiabetic. With the chemical profile outlined it is possible to isolate larger compounds and progress in the development of bioproducts.

Introdução

O mercado de fruticultura brasileiro está em constante evolução, no qual estima-se que em torno de 53% da produção é comercializada em forma in natura e 47% é destinada ao setor agroindustrial para elaboração de sucos, chás, polpas congeladas, geléias e outros (Oliveira, 2018). O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas, com cerca de 45 milhões de toneladas ao ano, sendo 65% consumidas internamente e 35% destinadas ao mercado externo (EMPRAPA, 2020).

É gerado ao longo da cadeia de produção da indústria alimentícia, milhões de toneladas de resíduos agroindústrias, podendo causar impactos ambientais (Makris et al., 2007). São responsáveis pela criação de boa parte desses subprodutos que são descartados pelas indústrias, sendo por não estarem adequadas para o processamento ou por deixar restos no final do processamento como cascas, sementes e bagaço, representa

em torno de 30% da massa inicial de frutas processadas, gerando cerca de 360 kt/ano o que representa aproximadamente 60% do total de frutas processadas (Gowman et. al., 2019; Sette et. al., 2020).

Os frutos das espécies vegetais *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum), são comercialmente importantes e com alto valor nutricional, movimentam a economia e consequentemente promovem um elevado descarte de partes do fruto não comestível, como as sementes (Valente, 2020; Pazdiora et al.,2020). Estas matérias orgânicas podem ser fonte de compostos ativos que possibilitem benefícios a saúde (Storck et al., 2013; Amadeu et al.,2020).

Persea americana é uma árvore frutífera pertence a família Lauraceae (Orwa et al., 2009), seu fruto apresenta riqueza nutricional, suas sementes são usadas tradicionalmente como vermicida e no tratamento de infecções de pele (Ekong et al.,2022). As exportações líquidas deste fruto atingiram 9,8 milhões de dólares em 2017 (Santos et al.,2014). Tem despertado grande interesse em pesquisas devido seus atributos em promover saúde e seu elevado valor nutricional (Park et al.,2020).

O cupuaçuzeiro popularmente é denominado, cuja espécie é *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng. Schum), pertence à família Malvaceae, nativa da Amazônia, com predominância no sul e sudoeste do Pará, parte do Maranhão e Tocantins (Moita, 2019). Seus frutos são comercializados e vendidos por todo país, gerando subprodutos que são descartados no percurso de beneficiamento, dentre esses resíduos destaca-se as sementes (Silva & Pierre,2021). Há uma crescente tendência das indústrias alimentícias na busca de alternativas sustentáveis para estes resíduos orgânicos (Correa et al.,2019).

Diante do exposto o trabalho tem como objetivo caracterizar compostos químicos presentes nos extratos etanólicos de sementes das espécies vegetais *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum*(Willd. ex Spreng. Schum), em busca de atividades biológicas em subprodutos que seriam descartados pela indústria alimentícia. Dessa forma contribuir com o reaproveitamento de resíduos considerados lixo orgânico bem como promover uma redução de sobras alimentares.

Metodologia

Material botânico: Os frutos de *Persea americana* e *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng Schum) foram coletados em um imóvel localizado no bairro Ipem Turu, no município de São Luís-MA, em novembro de 2020, 2°31'04.7"S 44°13'04.7"W (GPS). Estes foram secos em uma estufa com circulação de ar a 40°C e esmagados em um moinho de facas com granulometria de pó moderadamente espessa (Farmacopeia Brasileira, 2019).

Obtenção de extratos hidroalcoólicos: Para obter os extratos hidroalcoólicos, utilizou-se a técnica de maceração utilizando-se um solvente de extração de etanol 70% PA em hidromodulos de 1:4, 1:6 e 1:8 (m/v), em 70% de etanol. A maceração foi realizada durante 7 dias, sob agitação e depois filtrados. Os extratos resultantes foram concentrados em rotavaporizador e foram armazenados em geladeira a 4°C em frascos de cor âmbar (Matos, 2009). Os rendimentos dos extratos foram calculados por técnica gravimétrica e os parâmetros físico-químicos: densidade e índice refrativo foram determinados de acordo com as técnicas recomendadas pela Farmacopeia Brasileira (2019).

Análise Cromatográfica: Os extratos de sementes das espécies estudadas, foram analisados utilizando um sistema de cromatografia líquida Shimadzu Prominence com duas bombas injetor automática Shimadzu LC-20AD (SIL-20A HT). Na análise, foi utilizada uma coluna C18 Phenomenex Gemini (250 x 4,6mm – 5 µm). A fase móvel foi a água ultrauso acidificada (0,1% HCOOH) e o metanol de grau HPLC, também acidificado (0,1% HCOOH), a uma vazão de 1,0 mL/min, com o gradiente de metanol: 20-100 % metanol em 0-35 min e 100% em 50 min. O volume de injeção foi de 10,0 µL. O LC foi acoplado a um espectrômetro de massa (Amazon X, Bruker, Massachusetts, EUA) equipado com ionização eletrospray (ESI) e um analisador tipo ion-trap (TI) no modo negativo, sob as seguintes condições: tensão capilar de 5 kV, temperatura capilar de 325°C, gás de entrada (N₂) fluxo de 12 L/min, pressão de nebulizador de nitrogênio a 10. A faixa de aquisição foi m/z 100-1500, com dois ou mais eventos.

Resultados e Discussão:

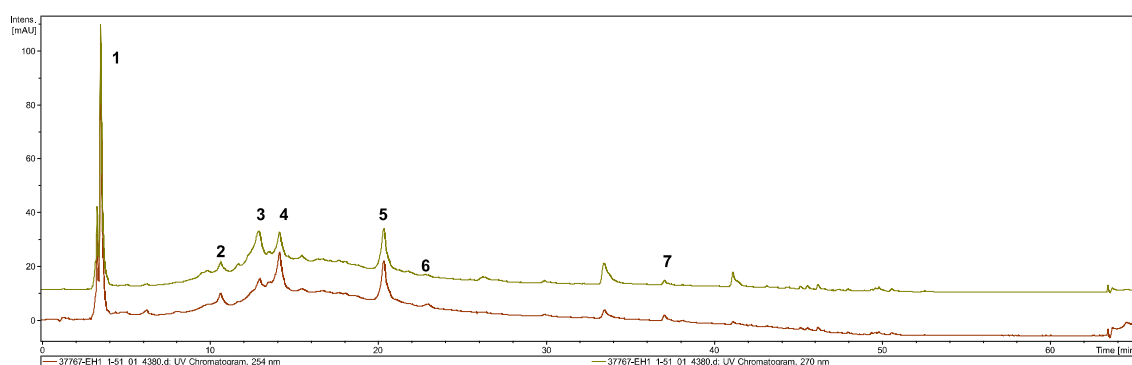


Figure 01: Cromatogramas comparativos no UV no comprimento de onda de 254 e 270 nm para o extrato sementes de *Persea americana*.

Tabela 01: Substâncias identificadas e os principais fragmentos do extrato de sementes de *Persea americana*, obtidos por LC-ESI-IT/MS

ID	TR (min)	[M-H]- m/z	MS/MS	Identificação proposta
1	3.0	211	131	Perseitol
2	10.7	353	191	Caffeoylquinic acid
3	13.0	863	711; 573; 411; 289	Cinnamtannin B1 (Procyanidin trimer A isomer)
4	14.2	707 (2M-H)	353; 191	Caffeoylquinic acid isomer
5	20.4	441	331; 161	Hydroxyabscisic acid glucoside
6	23.6	427	161	n.i
7	33.4	463	301; 265	Quercetin-3-O- glucoside

Os extratos de sementes de *Persea americana* descrevem os seguintes componentes químicos conforme tabela 01, são eles: perseitol, ácido cafeoilquínico, Cinnamtannin B1, isômero do ácido cafeoilquínico, Glucosídeo de ácido hidroxiaabcísico e quercetin-3-O-glicosídeo.

O perseitol (1) foi descrito em estudos com extratos de sementes da mesma espécie por Liu et al.(1999),

López-Cobo et al. (2016) e Figueroa et al. (2018). Luis et al.,(2018) relacionaram este constituinte com alta capacidade antiinflamatória e Teske & Trentini (1997) atribuíram a ação diurética.

Em estudos realizados com semente por Lopez-Cobo et al.,(2016), os extratos de hexano, álcool metílico e água registraram a presença de ácido cafeoilquínico (2). Tremocoldi et al.,(2018) também apresentaram em extratos com álcool etílico 80% a presença deste composto, Figueroa et al.,(2018) no qual utilizaram como solvente álcool etílico 50% também identificaram este composto químico. Pertence à classe do grupo fenólico, demonstra variadas atividades no organismo vegetal, destacando a ação antioxidante, atuam como sequestradores de radicais livres como o superóxido O₂ e espécies reativas de nitrogênio (Sokmen et al., 2005; Soares, 2019).

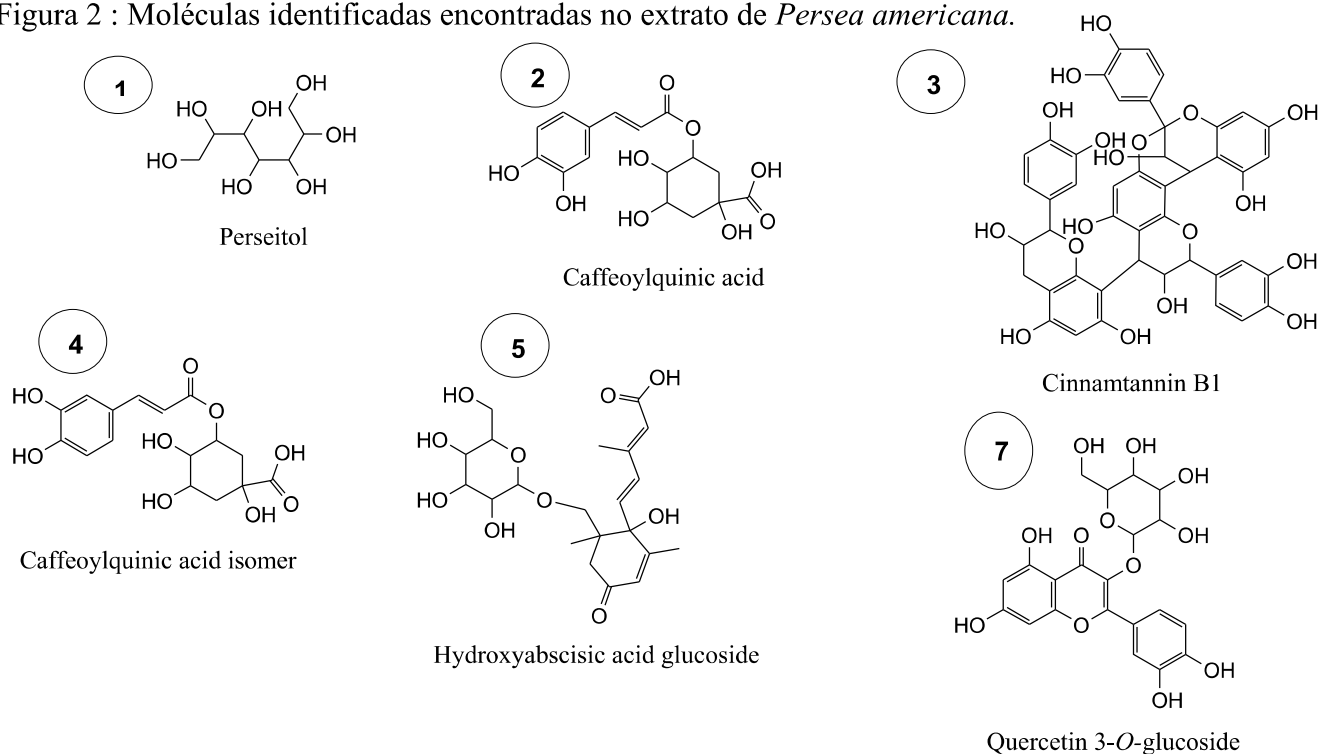
Cinnamtannin B1 (Procyanidin trimer A isomer) (3) é um constituinte que foi relatado por Kosinska et al.,(2012) na análise química da casca da espécie *P. americana* e Castro-López et al. (2019) identificaram nas folhas da espécie pesquisada. Fazem parte do grupamento de metabólitos secundários, da classe de procianidinas, também conhecidos como taninos condensados (Geng et al., 2015). Há distintas classes de procianidinas, sendo que somente as procianidinas tipo B (Gu et al.,2013) foram relatadas em frutos de *Persea americana*. Como atividade biológica, este constituinte destaca-se por apresentar efeito antineoplásico (Mvondo et al.,2021).

Ácido cafeoilquínico (4) e seu isômero podem ser conhecidos como ácido clorogênico, que pertencente a classe dos fenólicos simples, estão inclusos entre os componentes químicos derivados da cafeína (MARIA; MOREIRA, 2004). Esse composto é conhecido por apresentar atividade antiinflamatória tópica, e estando presente em outras espécies vegetais como *Cynara scolymus L.* (Alcachofra) (BOTSARIS & ALVES, 2007) e *Coffea arabica* (café) (SEGHE TO, 2017).

Foi descrito por Ramos et al. (2004), o primeiro isolamento e descrição da estrutura do ácido abscísico colacosilado(5) em sementes de *P. americana*, sendo referido também por López-Cobo et al., 2016). Dat et al. (2019) relataram a presença deste constituinte em folhas de *Laurus nobilis L.*, espécie vegetal pertencente a mesma família da espécie estudada, Laureaceae.

A substância química Quercetin-3-O-glucoside (6) foi descrita por Figueroa et al., (2018) e Loizzo et al. (2012); Kamaraj et al. (2020); Melgar et al. (2018); Yasir et al. (2010). Pertencente a classe dos flavonoides, havendo estudos que demonstram que esse constituinte tem ação antihipertensiva (Hussain et al.(2018), possui papel importante no controle de doenças degenerativas (Jumnongprakhon et al. 2020) e possui potente atividade antioxidante com ação cardiovascular (COSTA, 2010; CESUR et al, 2017). Vale ressaltar que tem despertado interesse científico por sua capacidade de reverter a resistência de multidroga em pacientes e induzir a apoptose de células tumorais(Behling e al.,2004; Yu et al.,2020).

Figura 2 : Moléculas identificadas encontradas no extrato de *Persea americana*.



A figura 2 caracteriza as estruturas químicas descritas: perseitol, ácido cafeoilquínico, Cinnamtannin B1, isômero do ácido cafeoilquínico, glucosídeo de ácido hidroxiaabcísico e quercetin-3-O-glicosídeo.

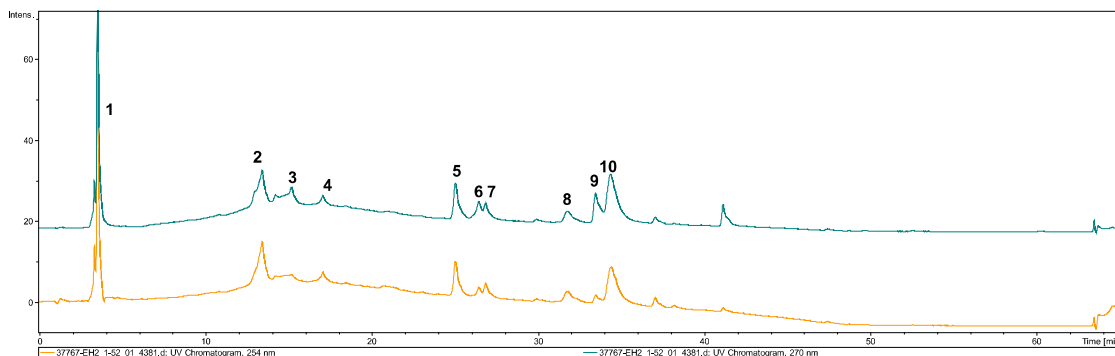


Figure 02: Cromatogramas comparativos no UV no comprimento de onda de 254 e 270 nm para o extrato de sementes *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng. Schum).

Tabela 02: Substâncias identificadas e os principais fragmentos do extrato de sementes de *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum), obtidos por LC-ESI-IT/MS

ID	TR (min)	[M-H]- m/z	MS/MS	Identificação proposta
1	3.6	191	111	Quinic acid
2	13.0	577	289	Procyanidin B1
3	15.5	289	245	(epi)Catechin
4	17.0	358	222; 178	Clovamide
5	25.0	477	301	Quercetin- glucuronide

6	26.4	461	285	Luteolin 7-O-glucuronide	
7	26.8	461	285	Kaempferol 3-glucuronide	3-
8	27.1	491	315	Isorhamnetin 3-glucuronide	3-
9	32.2	579	499; 301	Quercetin-3-O-deoxyhexosyl(1-2)pentoside	
10	33.4	557	477; 255	Theograndin II	

Fonte: Autores.

A caracterização química do extrato de *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.Schum) apresentou 10 constituintes: ácido quinico, Procianina B1, epicatequina, clovamida, quercetina-glucoronida, Luteolina-glucoronida, kaempferol 3-glicoronida, isorhamntin3-glucoronida, Quercetina-3-O-desoxihexosil (1-2) pentosídeo e theogradin II.

De Maria & Moreira (2004) descreveram a presença do ácido quinico (1) no café e em frutas tropicais e foi destacado suas propriedades adstringentes. Este composto pertence ao grupo de compostos fenólicos e apresenta alta capacidade antioxidante (Oliveira et al.,2011).

O constituinte procianidina B1 (2) foi citado por por Luna et al.,2020, tendo sido isolado de farelo de sorgo de café, e foi evidenciada capacidade anti-radical e potencial antioxidante. Rivadeneira (2017) em pesquisa no avaliou o perfil químico de fruto da espécie *Theobroma cacao*, constataram alto teor de procianidina B1, Este componente é catalogado como da classe dos taninos condensados, sendo derivados de flavonoides.

Foi evidenciado em sementes de *Theobroma grandiflorum*(Willd. ex Spreng.Schum), o composto epicatequina (3) por Pugliese et al(2013) e em frutos da espécie *Theobroma cacao* por Rivadeineira (2017). Tais compostos são classificadas como precursores de proantocianina ou taninos condensados e destacando-se por sua alta atividade antioxidante (Mitsui et al.,2016) e podem ter ação preventiva contra aterosclerose (Nijveldt 2011; POP, 2015).

A clovamida (4) são compostos fenóis descritos nas amendoas da espécie *Theobroma cacao* (Oliveira Junior et al., 2020) que apresentam efeitos antiplaquetários (Olivaras & Mora et al.,2015) e neuroprotetores (Fallarini et al.,2009) e antiinflamatório (Zeng et al.,2011).

Semelhante a referida pesquisa Pugliese et al., 2013 e Contreras-Calderón et al., 2011 registraram a presença de Quercetina-glucoronida (5), constituinte que faz parte da classe de flavonoides glicosilados. E sua atividade biológica está ligada diretamente a ação antioxidante (Moita, 2019).

Este composto Luteolina 7-O-glucuronídeo(6) é descrito na literatura como potente flavonoide no combate os sistemas antioxidante de defesa do organismos (Efraim; Alves; Jardim, 2011).

A molécula do kaempferol-3-glucuronídeo (7) é composta por uma estrutura de difenilpropano (C6-C3-C6), assim como os demais flavonoides, apresenta-se de forma abundante nas espécies vegetais(Imran et a.,2019). Exibe propriedades farmacológicas como antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante (Verma et

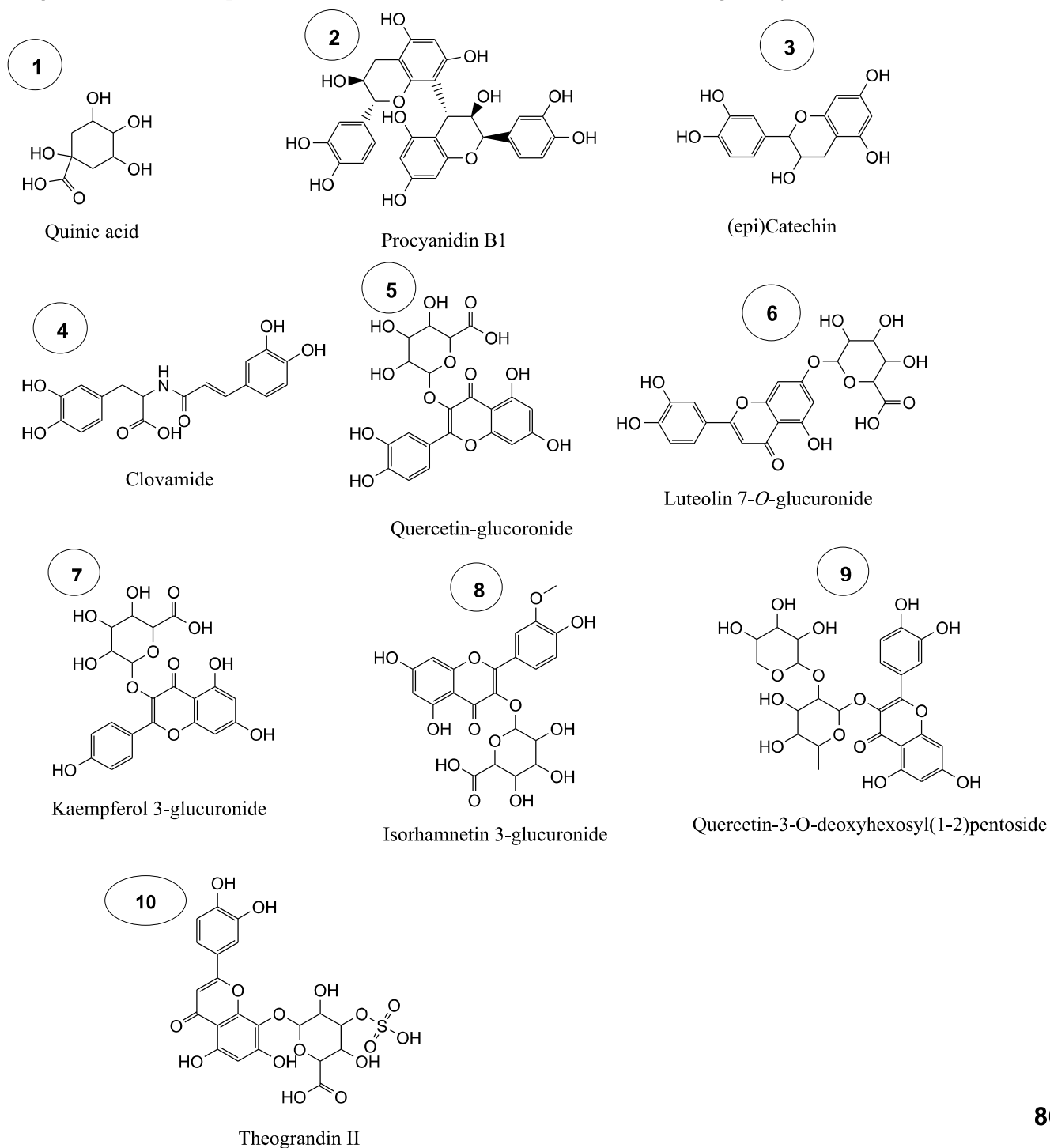
al.,2009), antitumoral, cardioprotetor, neuroprotetor e antidiabético e está sendo utilizada no combate ao cancer (Calderon-Montano et al.,2011).

Este constituinte isorhamnetina-3-glucuronida (8) é relacionado na literatura como um composto citotóxico útil *in vivo* e *in vitro* sendo investigado em atuar na inibição cancer de mama (Wu et al.,2018).

A quercetina-3-O-desoxihexosil pentosídeo (9) demonstra ação antioxidante, destaca-se na elaboração de alimentos dietéticos e auxiliar nas doenças cardiovasculares (Bayas et a., 2020). É flavonóides com atividade quelante metálico e sequestrador de radicais livres (Dewick, 2002).

Foi constatado por Yang et al.(2003) e Pugliese et al.(2013) este constituinte Theograndin II (10) em sementes de da espécie estudada, pertencente a classe de flavonoides, sua atividade biológica está ligada diretamente a ação antioxidante (Moita, 2019).

Figura 2: Moléculas presentes no extrato de sementes de *Theobroma grandiflorum*



Conclusão:

Nota-se que as estruturas químicas descritas demonstraram uma heterogenicidade de classes de metabólitos secundários. Sendo que na espécie *Theobroma grandiflorum*(Willd. ex Spreng.Schum) houve o predomínio de compostos flavonoides, esta classe caracteriza-se por apresentar alto potencial biológico. Logo se faz necessário investigar os mecanismos moleculares que atuam tais compostos, dessa forma pode-se corroborar no desenvolvimento de produtos farmacêuticos para fins terapêuticos.

Agradecimentos:

A equipe do Centro de Ciência Exatas e Tecnologia em especial a Professora Cláudia Quirino pela parceria e Fapema por financiar a pesquisa.

Referências bibliográficas

- Amadeu et al. (2020). Resíduos de frutas na elaboração de geleia de melão, *Revista Verde*. Pele de Sapo. v. 15, n.2, abr.-jun., p.153-159, 2020. doi: 10.18378/rvads.v15i2.7716.
- BEHLING, B. E.; SENDÃO, M. E.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P.; Flavonóide Quercetina: Aspectos Gerais E Ações Biológicas. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- C. Orwa, A. Mutua, R. Kindt, R. Jamnadass, S. Anthony .Banco de dados Agroforestry: um guia de referência e seleção de árvores versão 4.0(2009)<http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>.
- Cesur C. et al. (2017). Antioxidant Activity of Fruit Extracts of Prangos ferulacea (L.) *Journal of the Institute of Science and Technology* 7(4):249-256 DOI: 10.21597/jist.2017.218
- Contreras-Calderón, J.; Calderón-Jaime, L.; Guerra-Hernández, E.; García-Villanova, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 2047–2053, 2011.
- Correa, B. A.et al. (2019).Reaproveitamento de resíduos orgânicos regionais agroindustriais daamazônia tocantina como substratos alternativos na produção de mudas de alface. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável(RBAS)*, 9(1),97-104.
- Dat L. et al (2019) Megastigmane e glicosídeos de ácido abscísico das folhas de *Laurus nobilis* L. *Cartas fitoquímicas* Volume 33, Outubro 2019, Páginas 1-5.
- Ekom S. E. et al. Methanol extract from the seeds of *Persea americana* displays antibacterial and wound healing activities in rat model . *Revista de Etnofarmacologia*, Volume 282, 10 de janeiro de 2022, 114573.
- EMPRAPA, 2020. Frutas e hortaliças, disponível em <https://www.embrapa.br/grandes-contribuicoes-para-agricultura-brasileira/frutas-e-hortalicas>.
- Vega R. C. ; Figueroa K. H. Figueroa et al.,(2018). Cacau (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Fonte renovável de compostos bioativos. *Tendências em Ciência & Tecnologia de Alimentos* Volume 81, Novembro 2018, Páginas 172-184.
- Geng et al.(2015)P. Geng, J.M. Harnly, P. Chen. Diferenciação de grãos integrais da farinha de trigo refinado (*T. aestivum*) usando perfil lipídico de farelo de trigo, germe e endosperm com espectrometria de massa UHPLC-HRAM *Revista de Química Agrícola e Alimentar*, 63 (27) (2015), pp. 6189-6211.
- Gu et al., 2003L. Gu, M.A. Kelm, J.F. Hammerstone, G. Beecher, J. Holden, D. Haytowitz, R.L. Prior. Triagem de alimentos contendo proanthocyanidins e sua caracterização estrutural usando LC-MS/MS e degradação tiolítica. *Revista de Química Agrícola e Alimentar*, 51 (25) (2003), pp. 7513-7521.
- Hussain et al. (2018) . Identification of Hypotensive Biofunctional Compounds of *Coriandrum sativum* and Evaluation of Their Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibition Potential. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Volume 2018, Article ID 4643736, 11 pages <https://doi.org/10.1155/2018/4643736>.
- Jumnongprakhon P. et al.(2020). The effects of ethanolic extract of Okra fruit, *Abelmoschus Esculentus* (L.) Moench on cellular senescence in aging neuron. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, SJST-

2020-0378.R1 Jumnonprakhon.

Lindl. from Turkey. Araştırma Makalesi / *Research Article Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. / Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.* 7(4): 249-256, 2017.

Lopez-Cobo et al.,(2016). HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS e HPLC-FLD-MS como ferramentas valiosas para a determinação de compostos fenólicos e outros compostos polares na parte comestível e subprodutos do abacate. *LWT* , Volume 73, Novembro 2016, Páginas 505-513.

MakriS, D. P.; Boskou, G.; Andrikopoulos, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 2007, 20, 125.

Mvondo, M.A., Messongue Mbollo, NS. & Njamen, D. O extrato de etanol do abacate [Moinho Persea americana. (Lauraceae)] as sementes reduziram o efeito hiperplástico do tamoxifen no endométrio uterino sem alterar seu efeito sobre a glândula mamária. *Adv tradit med (adtm)* 21, 305-316 (2021). <https://doi.org/10.1007/s13596-020-00443-9>.

Oliveira, Joyce Silva de. Aplicação dos resíduos industriais do processamento de polpa de frutas na formulação de cosmético esfoliante. 2018, 47 f. *Trabalho de Conclusão de Curso* (Bacharelado em Engenharia Química) -Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2018.

Park, SeonJu et al. Chemical constituents of leaves of *Persea americana* (avocado) and their protective effects against neomycin-induced hair cell damage. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [online]. 2019, v. 29, n. 6 [Accessed 24 November 2021] , pp. 739-743. Available from: <<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.08.004>>. Epub 3 Feb 2020. ISSN 1981-528X. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.08.004>.

Pazdiora R. D. et al. Substituição do grão de milho pela semente de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) na alimentação de ovinos confinados. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, v.6, n.10,p. 83513-83524, oct.2020.

Pugliese, A. G.; Tomas-Barberan, F. A.; Truchado, P.; Genovese, M. I. Flavonoids, proanthocyanidins, vitamin C, and antioxidant activity of *Theobroma grandiflorum*149(Cupuassu) pulp and seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, n. 11, p. 2720–2728, 2013.

Ramos, M. R. Et al.(2004). Dois derivados de ácido abscísico glucosilá de sementes de abacate(*Persea americana* Mill. Lauraceae cv. Hass). *Fitoquímica* Volume 65, Edição 7, Abril de 2004, Páginas 955-962.

Segheto L.(2017). Avaliação das atividades antioxidante e anti-inflamatória tópica das folhas de café (*Coffea arabica* L.) *Dissertação* Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Brasil.

Silva L. S. & Pierre F. C.(2021). Aplicabilidade do cupuaçu (*theobroma grandiflorum* (willd. Ex). *Tekhne e Logos*, Botucatu, SP, v.12, n.1, abril, 2021.

Storck, C. R.; Nunes, G. L.; Oliveira, B. B.; Basso, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. *Ciência Rural*, v.43, n.3, p. 537-543, 2013. 10.1590/S0103-84782013000300027.

Tremocoldi, M. A., Rosalen, P. L., Franchin, M., Massarioli, A. P., Denny, C., Daiuto, É. R., et al. (2018). Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PLOS ONE*, 13, 1-12. doi:10.1371/journal.pone.0192577.

Valente, G. C. (2020). Caracterização e análise comparativa dos óleos extraídos da semente e da polpa do abacate (*Persea americana* Mill.) utilizando diferentes métodos de extração. Botsaris, A. S & Alves, L. F. *Cynara scolymus* L. (Alcachofra) *Cynara scolymus* L. (Artichoke *Revista Fitos* Vol.3 N°02 junho 2007.

Yang, H.; Protiva, P.; Cui, B.; Ma, C.; Bagget, S.; Hequet, V.; Mori, S.; Weinstein, I. B.; Kennelly, E. J. New Bioactive Polyphenols from *Theobroma grandiflorum* (“Cupuaçu”). *Journal of Natural Products*, v. 66, p. 1501-1504, 2003.

Yu et al.(2020) Resistência a Medicamentos no Câncer Colorretal: Mecanismos Moleculares e Estratégias Terapêuticas. Volume 8 em *Agentes Sensibilizadores do Câncer para Quimioterapia*, Páginas 117-133. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819937-4.00007-8>.

De Maria, Carlos Alberto Bastos e Moreira, Ricardo Felipe Alves Métodos para análise de ácido clorogênico. *Química Nova* [online]. 2004, v. 27, n. 4 [Acessado 26 Novembro 2021] , pp. 586-592. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400013>>. Epub 31 Jul 2004. ISSN 1678-7064. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400013>.

Oliveira, Daniela Moura de e Bastos, Deborah Helena Markowicz Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. *Química Nova* [online]. 2011, v. 34, n. 6 [Acessado 26 Novembro 2021] , pp. 1051-1056. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600023>>. Epub 01 Ago 2011. ISSN 1678-7064. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600023>.

Carmelo Luna, Francisco Javier, Mendoza Wilson, Ana María, & Balandrán Quintana, René Renato. (2020). Antiradical and chelating ability of (+)-catechin, procyanidin B1, and a procyanidin-rich fraction isolated from brown sorghum bran. *Nova scientia*, 12(24) Epub 02 de julio de 2020. <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2006>.

Rivadeneira J. L. Y. (2017). Caracterización del Contenido de Polifenoles: Catequina, Epicatequina, y Procianidinas B1, B2 Y C1; en Cacao CCN-51 de las Principales Zonas Productoras Del Ecuador. Trabajo de investigación para optar por el Grado de Químico de Alimentos. Carrera de Química de Alimentos. Quito: UCE. 109 pág.

Mitsui, M.L.; Boroski, M.; Bulla, M.K.; Donaduzzi, C.M.; Kamei, EsM; Cortez, L.E.; Cortez, D.A. 2016. Subprodutos trans-resveratrol e antioxidante da uva (*Vitis vinífera* sp). *Revista Brasileira de Pesquisa de Alimentos*, Campo Maurao 7(1): 66-81.

Nijveldt et al., (2011). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, v-74, n° 4p.418-425.

Pisoschi A. M. & POP (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*. V-97 p.55-74.

Verma, A.R.; Vijayakumar, M.; Mathela, C.S.; Rao, C.V. Propriedades antioxidantes in vitro e in vivo de diferentes frações de folhas de oleífera moringa. *Chem. Toxicol.* 2009, 47, 2196-2201.

Calderon-Montano, J.M.; Burgos-Moron, E.; Perez-Guerrero, C.; Lopez-Lazaro, M. Uma revisão sobre o flavonoid kaempferol dietético. *Mini Reverendo Med. Chem.* 2011, 11, 298-344.

Imran M, Salehi B, Sharifi-Rad J, Aslam Gondal T, Saeed F, Imran A, Shahbaz M, Tsouh Fokou PV, Umair Arshad M, Khan H, Guerreiro SG, Martins N, Estevinho LM. Kaempferol: Uma ênfase fundamental para seu potencial anticancerígeno. *Moléculas*. 2019; 24(12):2277. <https://doi.org/10.3390/molecules24122277>.

Fallarini, S., et al., Clovamide and rosmarinic acid induce neuroprotective effects in in vitro models of neuronal death. *Br J Pharmacol*, 2009. 157(6): p. 1072-84.

Zeng, H., et al., Anti-inflammatory properties of clovamide and Theobroma cacao phenolic extracts in human monocytes: evaluation of respiratory burst, cytokine release, NF-kappaB activation, and PPARgamma modulation. *J Agric Food Chem*, 2011. 59(10): p. 5342-50.

Oliveira Júnior A. H. et al. (2020). Perfil químico e bioprospecção de amêndoas de cacau analisadas por espectrometria de massas com ionização por paper spray. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 8, e975986882, 2020(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6882>.

Bayas Morejón, I. F., Núñez Torres, D., & Ramón Curay, E. R. (2020). Desenvolvimento de barras de cacau (*Theobroma cacao*) "chocolate", para aproveitar suas propriedades bioativas, na associação de mulheres de "san gerardo" DO CANTÃO ECHEANDÍA. *Revista de Relevância Acadêmica*. ISSN 2588-1019, 4(5), 58 - 67. Recuperado de <http://revista-academica.utb.edu.ec/index.php/pertacade/article/view/254>.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Evidencia-se uma heterogeneidade de metabólitos no extratos hidroalcoólicos de sementes de *P. Americana* e *T. grandiflorum*, incentivando pesquisas futuras com outros potenciais biológicos.

Houve atividade larvicida em ambos os extratos, com maior potencial de letalidade nos extratos hidroalcoólicos da espécie *T. Grandiflorum* e ambos extratos exibiram atoxicidade no bioensaio com *Arthemiasalina* frente ao organismo não alvo demonstrando seletividade frente a organismos alvos.

O uso de agentes larvicidas oriundos das plantas para o controle de vetor, é considerada uma alternativa promissora no combate das arboviroses de alta mortalidade, assegurando meio ambiente seguro e ausência de toxicidade para organismos não-alvo.

Observa-se que o desperdício de alimentos é um desafio mundial no setor agroindústria. E o reaproveitamento de resíduos orgânicos é uma ferramenta promissora de rastreio de atividade biológica em subprodutos como as sementes que seriam possivelmente descartados pela indústria. Além de contribuir redução de lixo orgânico acumulado nos aterros sanitários e minimizar as perdas de alimentos.

E através do perfil químico de cada extrato, foi possível identificar os compostos majoritários de cada extrato. Dessa forma com o isolamento dos constituintes, como perspectiva futura, pode-se associar os compostos majoritários de cada extrato e desenvolver um bioproduto no controle de arboviroses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACRUCHE I V L et al. Os desafios de combate ao aedes aegypti e seus impactos: uma abordagem no município de campos dos goytacazes – RJ. *Interdisciplinary Scientific Journal* v.6, n.2, p.178-209, Apr-Jun, 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portal Anvisa, 2019 Vacina dengue: esclarecimentos, Disponível em <portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/vacina-dengue-esclarecimentos/219201> Acesso em dia 08/07/2019.

AGUILAR, C. N. Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 2018. v. 80: p. 51-60.

AHA I. ALKHALAF, WAFA S. ALANSARI, EMAN AHMED IBRAHIM, MANAL E.A. ELHALWAGY. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activities of avocado (*Persea americana*) fruit and seed extract, *Journal of King Saud University - Science*, Volume 31, Issue 4, 2019, Pages 1358-1362, ISSN 10183647, <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.10.010>.

AL-MEKHLAFI, F. A. et al. Efeitos do extrato de semente de *Peganum harmala* L. em *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Brazilian Journal of Biology* [online]. 2022, v. 82 [Acessado 9 Outubro 2021], e241338. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1519-6984.241338>>. Epub 21 Jun 2021. ISSN 1678-4375. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.241338>. antithrombotic activities. *Food Funct.*, v. 6, n. 1, p. 192–202, 2015.

ARAÚJO, R. G.; RODRIGUEZ-JASSO, R. M.; RUIZ, H. A.; PINTADO, M. M. E.;

AUGUSTO FILHO, Florencio; ROCHA, Wanize A; FARIAS, Renan B. Eficácia da armadilha artesanal e comercial para captura de ovos e larvas de mosquitos do gênero *Aedes aegypti*. *Revista Espaço Transdisciplinar*, [S.l.], v. 1, n. 01, p. 105-109, abr. 2019. ISSN 2526-6470. Disponível em: <<http://periodicosnovomilenio.com.br/index.php/transdisciplinar/article/view/50>>. Acesso em: 02 dez. 2019.

Barboza, H. T. G.; Nascimento, X. P. R.; Freitas-Silva, O.; Soares, A. G.; DaCosta, J. B. N. Compostos Organofosforados e seu Papel na Agricultura Virtual Quim., 2018, 10 (1), 172-193. Data de publicação na Web: 2 de março de 2018 <http://rvq.sbgq.org.br>.

BECKHAM JD, Tyler KL. *Arbovirus Infections. Continuum (Minneap Minn)*. 2015;21(6 Neuroinfectious Disease):1599–1611. doi:10.1212/CON.0000000000000240.

BELLINATO et al, “Resistance Status to the Insecticides Temephos, Deltamethrin, and Diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* Populations,” *BioMed Research International*, vol. 2016, Article ID 8603263, 12 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8603263>.

BHUYAN, D.J.; ALSHERBINY, M.A.; PERERA, S.; BAIXO, M.; BASU, A.; DEVI, O.A.; BAROOAH, ES; LI, C.G.; PAPOUTSIS, K. A Odisseia dos Compostos Bioativos no Abacate (*Persea americana*) e seus benefícios para a saúde. *Antioxidantes* 2019, 8, 426. <https://doi.org/10.3390/antiox8100426>

BRASIL, Boletim Epidemiológico | Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde Volume 50 | Nº 22 | Set. 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria nº 533, de 28 de março de 2012. Estabelece o elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Disponível em:

<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2012/prt0533_28_03_2012.html>. Acesso em: 8 dez 2019.

BRASIL. (2015) Ministério das Cidades. Diagnóstico do Manejo de Resíduos Sólidos - 2015. Brasil: Ministério das Cidades . Disponível em: <Disponível em: <http://www.snis.gov.br/diagnostico-residuos-solidos> >. Acesso em: 14 abr. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes Aegypti* (dengue, chikungunya e zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 24, 2020, Boletins Epidemiológicos. Secretaria de Vigilância em Saúde, volume 51 | Nº 24 | Junho. 2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes Aegypti* (dengue, chikungunya e zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 53, 2021, Boletins Epidemiológicos. Secretaria de Vigilância em Saúde, volume 52 | Nº 03 | Janeiro. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília : Ministério da Saúde, 2009. 136 p. : il. – (Série C. Projetos, Programas e Relatórios) ISBN 978-85-334-1597-3.

BROGUEIRA P et al, Vírus Zika: Emergência de um Velho Conhecido. Serviço de Infecçologia e Medicina Tropical - Hospital de Egas Moniz - Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, E.P.E., Lisboa, Portugal. VOL.24 | N.º 2 | ABR/JUN 2017.

CAMPOS et al, 2016. Toxicidade de espécies vegetais. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.373-382, 2016.

CARNEIRO et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais – UEG/Câmpus de Iporá, v.3, n. 2, p.44-75 – jul/dez 2014 – ISSN 2238-3565.

CASTRO, Anita Perpetua Carvalho Rocha de; LIMA, Rafaela Araújo; NASCIMENTO, Jedson dos Santos. Chikungunya: a visão do clínico de dor. Rev. dor, São Paulo , v. 17, n. 4, p. 299-302, Dec. 2016 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S18000132016000400299&lng=en&nrm=iso>. access on 06 Dec. 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/1806-0013.20160093>.

CAVALCANTI, Antonio Emanuel Holanda Dias. Caracterização da resistência aos piretroides pelo mecanismo de penetração reduzida em populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), do Estado de Pernambuco. 2017. 98 f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2017.

CHANTRAINE JM, Laurent D, Ballivian C, Saavedra G, Ibañez R, Vilaseca LA (1998) Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. Phytoterap Res 12:350–354.

CHENG SS, Chang HT, Chang ST, Tsai KH, Chen WJ (2003) Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. Bioresour Technol. doi:10.1016/S0960-8524(03)00008-7.

CORREA et al. Reaproveitamento de resíduos orgânicos regionais agroindustriais da

amazônia tocantina como substratos alternativos na produção de mudas de alface. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS), v.9, n.1, p.97-104, Março, 2019.

DABAS, D., Elias, R. J., Ziegler, G. R. & Lambert, J. D. (2019). In Vitro Antioxidant and Cancer Inhibitory Activity of a Colored Avocado Seed Extract. International Journal of Food Science, 2, 1-7. <https://www.hindawi.com/journals/ijfs/2019/6509421/>. derivatives from avocado (*Persea americana*) pulp with antiplatelet and

DIAS C. N. & MORAES D. F.C. Óleos essenciais e seus compostos como *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicidas: revisão. Parasitol Res (2014) 113:565–592. DOI 10.1007/s00436-013-3687-6.

DONALÍSIO R M et al, Arboviroses emergentes no Brasil desafios para a clínica e implicações para saúde pública. Rev Saúde Pública 51:30, 2017.

DUARTE, Patrícia Fonseca et al . Avocado: characteristics, health benefits and uses. Cienc. Rural, Santa Maria , v. 46, n. 4, p. 747-754, Apr. 2016 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782016000400747&lng=en&nrm=iso>. access on 07 Dec. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20141516>.

FAO. Desperdício de alimentos tem consequências no clima, na água, na terra e na biodiversidade. Disponível em: <http://www.fao.org.br/dacatb.asp>. Acesso em: 30 de novembro de 2019.

FERNANDES et al. Prospecção fitoquímica e análise potencial de princípios ativos para o mercado de flores tropicais. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Agrônoma) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2019.

FERNANDES et al. Toxicidade dos fitoterápicos de interesse do SUS: uma revisão. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 37, n. 1, p. 83-96, jan./jun. 2016.

FERRARI, Roseli Aparecida. Nota Científica: Caracterização físico-química do óleo de abacate extraído por centrifugação e dos subprodutos do processamento. Braz. J. Food Technol., Campinas, v.18, n.1, p79-84, mar.2015. Disponível em <<http://www.scielo.br>>. acessado em 17 dez.2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.4014>.

FILHO et al. Aproveitamento de resíduos agroindustriais na elaboração de subprodutos. Comunicação oral, congresso internacional de Ciências Agrárias COINTER PDVA AGRO, 2017.

FLOR, A.S.S.O.; BARBOSA, W.L.R.. Sabedoria popular no uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro do sossego no distrito de Marudá - PA. Rev. bras. plantas med., Botucatu , v. 17, n. 4, supl. 1, p. 757-768, 2015 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151605722015000500757&lng=en&nrm=iso>. access on 07 Dec. 2019. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/14_064.

FOGAÇA et al. DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DOS SOROTIPOS DE DENGUE E FLUXOS INTERMUNICIPAIS NO PARANÁ – 2010-2013. R. Ra'e GaDOI: 10.5380/raega Curitiba, v.46, N. 2, p. 101 -115, Mai/2019

Framework. J. Trop. Med, 1470459. <https://doi.org/10.1155/2018/1470459>. 2018.

FRANCO, C.R., Avaliação do Potencial dos Resíduos Produzidos Através do Processamento Agroindustrial no Brasil Rev. Virtual Quí. v. 7, n.6, p. 1968-1987, 2013.

FRANCO, C.R., Avaliação do Potencial dos Resíduos Produzidos Através do Processamento Agroindustrial no Brasil Rev. Virtual Quím. v. 7, n.6, p. 1968-1987, 2013.

FREITAS et al. Perfil Fitoquímico, ensaio microbiológico e toxicidade frente a *Arthemisa salina* extrato da entrecasca de *Myracrodruon urundeuva*. Biota Amazônia ISSN 2179-5746, periódicosunfap.com.br 2018.

GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F.R.; SILVA, L.M.G.E.; SARMENTO, U.C. Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. Revista Virtual de Química, Niterói, v.5, n.3, p.363-393, 2013. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20130034>.

GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F.R.; SILVA, L.M.G.E.; SARMENTO, U.C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. Rev. Virtual Quím. v. 5, n.3, p. 363-393, ISSN 1984-6835 2015.

GENEROSO L. A. et al. Avaliação do efeito do óleo essencial da *Fridericia chica* em diferentes fases de vida do mosquito *Aedes aegypti*. Revista Sinapse Múltipla V.9, n.1, p.47-60, jan.\jul. 2020. PUC Minas Betim.

GENOVESE M.I et al. Evaluation of the distribution and metabolism of polyphenols derived from cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) in mice gastrointestinal tract by UPLC-ESI-QTOF, Journal of Functional Foods, Volume 22, Pages 477-489, ISSN 1756-4646, 2016.

GOODMAN A G et al, Host-Pathogen Interactions During Arboviral Infections Front. Cell. Infect. Microbiol., 26 March 2019 | <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00077>.

GUARDA C et al, ATIVIDADE LARVICIDA DE PRODUTOS NATURAIS E AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE AO INSETICIDA TEMEFÓS NO CONTROLE DO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) Interciencia, vol. 41, núm. 4, abril, 2016, pp. 243-247.

IOOS, S.; MALLET, H. P.; GOFFART, I. L.; GAUTHIER, V.; CARDOSO, T.; HERIDA, M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Medecine et Maladies Infectieuses*, v. 44, n. 7, p. 302-307, 2014.

JAYME A. SOUZA-NETO, JEFFREY R. POWELL, MARIANGELA BONIZZONI, *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. *Meegid* (2018), <https://doi.org/>

Kiran SR, Bhavani K, Devi PS, Rao BRR, Reddy KJ (2006) Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Bioresour Technol.* doi:10.1016/j.biortech.2005.10.003.

Kosmann C R et al. Extract of *Persea americana* (Mill.) used for the control of *Meloidogyne incognita* in tomato plant. *Afr. J. Agric. Res.* Vol. 12(12), pp. 1037-1044, 23 March, 2017 DOI: 10.5897/AJAR2016.11624.

LEITE J. J. et al. Chemical composition, toxicity and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 42: 110-113, 2009.

LIMA, et al. Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *piper tuberculatum* jacq. (piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. *C&D-Revista Eletrônica da FAINOR, Vitória da Conquista*, v.11, n.2, p. 316-334, maio/ago. 2018.

LUCEY, D. R.; GOSTIN, L. O. The emerging Zika pandemic: enhancing preparedness. *Jama*, v. 315, n. 9, p. 865-866, 2016.

LUNA, J.S. et al., A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal

plants from northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v.97, n.2, p.199-206, 2005.

LUZ, T. R.S. A. et al. Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvae. *Acta Tropica* 212 (2020) 105705. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105705>.

MACENA, Jéssica Franco Freitas et al . As propriedades físico-químicas, morfológicas e tecnológicas do abacate (*Persea americana* Mill. cv. Hass) amido de sementes. *Ciênc. agrotec.*, Lavras , v. 44, e001420, 2020 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413705420000100400&lng=en&nrm=iso>. acesso em 26 de janeiro de 2021. Epub 11 de maio de 2020. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044001420>.

MAESTRE-SERRANO, R., GOMEZ-CAMARGO, D., PONCE-GARCIA, G., & FLORES, A. E. (2014). Susceptibility to insecticides and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from the Colombian Caribbean Region. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 116, 63–73. doi:10.1016/j.pestbp.2014.09.014

Magalhães LAM, Lima MP, Marques MOM, Facanali R, Pinto ACS, Tadei WP (2010) Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae of essential oils from four *Guarea* species. *Molecules*. doi:10.3390/molecules15085734.

MAIA C V A et al. Distribuição espacial de criadouros de *aedes aegypti* em jaguaruana – CE – BRASIL e suas correlações com indicadores sociodemográficos. *Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde* - <http://www.seer.ufu.br/index.php/hygeia>. *Hygeia* 15 (31): 71 - 81, Março/2019.

MARTINS, Aline Andrade. Avaliação do potencial antiliteásico da *Persea americana* Mill. Em modelo experimental. / Aline Andrade Martins. – Dourados, MS : UFGD, 2017. 36f.

MASSEBO F, Tadesse M, Bekele T, Balkew M, Gebre-Michael T (2009) Evaluation on larvicidal effects of essential oils of some local plants against *Anopheles arabiensis* Patton and *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) in Ethiopia. *Afr J Biotechnol* 8:4183–4188.

MENDONÇA et al. Pericarpo de cupuaçu (*theobroma grandiflorum*) como aditivo retardante da cura de poliéster ,tese de doutorado, UFRGN Universidade Federal Do Rio Grande Do Norte, 2018.

MENEZES et al. ARBOVIROSES: O IMPACTO DA FEBRE ZIKA NA SOCIEDADE. *Revista Expressão Católica (Saúde)* Jul - Dez, 2016.

MOREIRA F A. Elaboração de estratégias para controle vetorial do mosquito da dengue. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-Graduação em Atenção Básica em Saúde) - Curso de Especialização em Atenção Básica em Saúde - PROGRAMA MAIS MÉDICOS, Universidade Federal do Maranhão, UNA-SUS, 2016.

Mosquito-Borne Diseases: The Potential of Wolbachia-Based Interventions in an IVM

NETO A S L et al. Dengue, zika e chikungunya - desafios do controle vetorial frente à ocorrência das três arboviroses - parte I. *Rev Bras Promoç Saúde*, Fortaleza, 29(3): 305-308, jul./set., 2016.

NHAGA e tal. Controle da cochonilha de escama da palmeira, a forrageira com o uso de extrato de nim. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.15 n.28; p. 2018.

Niang, E.H.A., Bassene, H., Fenollar, F., Medianniko, O., 2018. Biological Control of

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, Carlos Alberto et al . Perfil nutricional e benefícios do azeite de abacate (*Persea americana*): uma revisão integrativa. Braz. J. Food Technol., Campinas , v. 21, e2017214, 2018 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198167232018000100308&lng=en&nrm=iso>. access on 06 Dec. 2019. Epub Oct 18, 2018.

OLIVEIRA et al. Chemical composition of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) and cocoa (*Theobroma cacao*) liquors and their effects on streptozotocin-induced diabetic rats Food Research International Volume 51, Issue 2, May 2013, Pages 929-935.

OLIVEIRA, A. P.&MENEZES, E. G. T. (2017). Extrações de óleo da polpa de abacate (*Persea americana* Mill) utilizando diferentes solventes. The Journal of Engineering and Exact Sciences –JCEC, 3, 120-127

OMS, 2020b. Dengue e Dengue Grave: Principais Fatos. Organização Mundial da Saúde, Genebra. Disponível em <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acessado dia 01.out.2020.

OMS. Diretrizes para testes laboratoriais e de campo de larvicidas de mosquitos. Organização Mundial de saúde, Geneva (2005).

Organização Mundial da Saúde. 2017. Resposta global de controle de vetores 2017-2030.

OSSA, D. P. S.; MELO, H. P.; AROUCA, K. L. D.; BALDOINO, F. R. R.; OLIVEIRA, E. M. DE; SILVA, V. P.; LOPES, P. F.; DE ANDRADE, A. R. O.; GARCÊS, T. C. DE C. S. Arbovírus circulantes no Brasil: fatores associados com a disseminação e estratégias terapêuticas. Revista Eletrônica Acervo Saúde, n. 33, p. e1067, 23 out. 2019.

PAIXAO, MARCUS VINICIUS SANDOVAL et al . AVOCADO SEEDLINGS MULTIPLE STEMS PRODUCTION. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal , v. 38, n. 2, e-221, 2016 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010029452016000200901&lng=en&nrm=iso>. access on 03 Dec. 2019. Epub Aug 04, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452016221>.

PEDROSO, Reginaldo dos Santos, Andrade, Géssica e Pires, Regina Helena Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. Physis: Revista de Saúde Coletiva [online]. 2021, v. 31, n. 02 [Acessado 11 Janeiro 2022] , e310218. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-73312021310218>>. Epub 16 Jul 2021. ISSN 1809-4481. <https://doi.org/10.1590/S0103-73312021310218>.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos ssecundários vegetais e benefícios antioxidantes. Journal of Biotechnology and Biodiversity. Vol. 3, nº 4: p. 146-152. 2012. ISSN-2179-4804.

PINHEIRO P et al. Aedes Aegypti – Aprenda a reconhecer o mosquito da dengue M D Saúde, 2019. Disponível em <https://www.mdsaude.com/doencas-infecciosas/fotos-mosquito-dengue/> acesso dia 06 dezembro 2019.

PINHO, Inês et al . Perfil dos consumidores face ao desperdício e reaproveitamento de hortofrutícolas em ambiente doméstico. Acta Port Nutr, Porto , n. 2, p. 08-12, set.2019 Disponível em <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2183-59852015000300002&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 07 dez. 2019.

PINTO A. C. Et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. Quím. Nova 25 (supl 1), Maio 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>.

- Pio, L. A. S. (2020). Abacate: Brasil entre os líderes mundiais de produção. *Revistas Hortifrúti*, <https://revistacampoenegocios.com.br/abacate-brasil-entre-os-lideres-mundiais-de-producao/>.
- R.E. Litz, S.H.T. Raharjo, M.A.G. Lim Abacate P.E. Chong, Davey, M.R. Davey (Eds.), *Biotecnologia na agricultura e silvicultura*, 60, Springer, Berlim (2007), pp. 167-187.
- RAMOS K K, 1986-R147A. Aproveitamento de subprodutos do processamento de frutas nativas da mata atlântica em confeitos. Campinas-SP [s.n] , 2017.
- REEGAN, D.; GANDHI, M.; CRUZ ASHARAJA, A.; DEVI, C.; SHANTHAKUMAR, SP.COVID-19 lockdown: impact assessment on Aedes larval indices, breeding habitats, effects on vector control programme and prevention of dengue outbreaks. *Heliyon* , October 2020.
- RODRIGUEZ-SANCHEZ, D. G. et al. Isolation and chemical identification of lipid
- ROSA, C.S.; VERAS, K.S.; SILVA, P.R.; LOPES NETO, J.J.; CARDOSO, H.L.M.; ALVES, L.P.L.; BRITO, M.C.A.1; AMARAL, F.M.M.; MAIA, J.G.S.; MONTEIRO, O.S.3; MORAES, D.F.C. Composição química e toxicidade frente Aedes aegypti L. e Artemia salina Leach do óleo essencial das folhas de Myrcia sylvatica (G. Mey.) DC. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.18, n.1, p.19-26, 2016.
- SANTOS D B C et al, Educação em saúde: combate ao Aedes aegypti em comunidade Quilombola. *REVISTA ENFERMAGEM ATUAL IN DERME* - 88-27, 2019.
- SANTOS S C. et al. Prospecção Tecnológica sobre Métodos de Controle do Mosquito Aedes aegypti, *cadernos de Prospecção – Salvador*, v. 12, n. 1, p. 105-112, março, 2019.
- SENTHIL-NATHAN S 2020. Uma Revisão dos Mecanismos de Resistência de Inseticidas Sintéticos e Botânicos, Fitoquímicos e Óleos Essenciais como Agentes Larvicidas Alternativos Contra mosquitos. *Front Physiol.* 2020 Feb 25;10:1591. doi: 10.3389/fphys.2019.01591. PMID: 32158396; PMCID: PMC7052130.
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/ientidad/index.jsp, Acessado em 21 ago 2021.
- SILVA LIMA Neto, Antonio; do Nascimento, Osmar José; dos Santos de Sousa, Geziel; Wellington de Oliveira Lima, José DENGUE, ZIKA E CHIKUNGUNYA - DESAFIOS DO CONTROLE VETORIAL FRENTE À OCORRÊNCIA DAS TRÊS ARBOVIROSES - parte II *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*, vol. 29, núm. 4, outubro-dezembro, 2016, pp. 463-465 Universidade de Fortaleza Fortaleza-Ceará, Brasil.
- SILVA T. R. B et al. Perigos no uso de agrotóxicos pela saúde pública no controle vetorial do aedes aegypti (perigos no uso de agrotóxicos pela saúde pública). *Revista Movimentos Sociais e Dinâmicas Espaciais*, Recife, Volume 9, 2020 (1-17). ISSN 2238-8052.
- SILVA W R, Monitoramento da Resistência e dos Efeitos em Parâmetros Biológicos de Aedes aegypti Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) de Manaus, Amazonas, Exposto ao Biolarvicida Espinosade, em Condições de Laboratório, *Dissertação Programa de Pós Graduação em Entomologia*, INPA, 2019.
- SILVA, S. J. B. da .; TEIXEIRA, L. T. de O. .; CARDOSO, L. da S. .; COSTA, G. O. P. da .; NASCIMENTO, L. R. de L. C. .; MARQUES, E. S. B. .; REZENDE, V. E. A. .; CASTRO, M. C. de O. .; ROSAL, V. M. de S.; SILVA, F. M. D. e .; MONTEIRO, L. D.

M. G. .; MASCARENHAS, L. T. M. .; CARVALHO, F. Áurea P. M. .; CARDOSO, G. da S. .; RIBEIRO, A. M. N. . Complications from congenital Zika virus infection. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e1610313029, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i3.13029. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/13029>. Acesso em: 8 oct. 2021.

SILVÉRIO, Maíra Rosato Silveiral et al. "Produtos Naturais Vegetais para o Controle do *Aedes aegypti*: O Principal Vetor de Importantes Arboviroses". *Moléculas (Basileia, Suíça)* vol. 25,15 3484. 31 jul. 2020, doi:10.3390/moléculas25153484.

SINITOX (Sistema Nacional de Informações Toxicológicas) [online]. Registros de Intoxicações/ dados nacionais/ 2012 Disponível em <<http://www.fiocruz.br/sinitox/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=411>> (acesso em 08/12/2019).

SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. et al. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to sucessional groups in Southeastern Brazil. *For. Ecol. Manag.*, 107:241-252, 1998

SOARES et al. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.24; p.2016

SOUSA, I.J.O.; ARAÚJO, S.; NEGREIROS, P.S.; FRANÇA, A.R.S.; ROSA, G.S.; NEGREIROS, F.S.; GONÇALVES, R.L.G. A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. *Revista UNINGÁ Review*, v.31, n.1, p.3539, 2017.

Valle D et al. *Dengue: teorias e práticas*, Rio de Janeiro. Editora Fiocruz, 2015.

Viana a LRC, Pimenta CJL, Araújo EMNF, Teófilo TJS, Costa TF, Costa KNFM. Reemerging arboviruses: clinical-epidemiological profile of hospitalized elderly patients. *Rev Esc Enferm USP*. 2018;52:e03403. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1980-220X2017052103403>.

VIANA b G A et al, Produtos naturais de origem vegetal como ferramentas alternativas para o controle larvário de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. *J. Health Biol Sci*. 2018; 6(4):49-462, doi:10.12662/2317-3076jhbs.v6i4.2079.p449-462.2018.

VIANA c et al. Reaproveitamento de resíduos agroindustriais. IV Congresso Baiano de Engenharia Sanitária e Ambiental Cruz das Almas, Bahia – 13 a 16 de julho de 2016.

ZAGO, Valéria Cristina Palmeira; BARROS, Raphael Tobias de Vasconcelos. Gestão dos resíduos sólidos orgânicos urbanos no Brasil: do ordenamento jurídico à realidade. *Eng. Sanit. Ambient.*, Rio de Janeiro , v. 24, n. 2, p. 219-228, Apr. 2019 .Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522019000200219&lng=en&nrm=iso>. access on 22 Oct. 2020. Epub May 30, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-41522019181376>.

ZEQUI et al. Monitoramento e controle de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1984) com uso de ovitrampas Monitoring and control of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1984) with use of ovitraps. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 39, n. 2, p. 93-102, jul./dez. 2018. DOI: 10.5433/1679-0367.2018v39n2p93.

APÊNDICE A

Normas para publicação - Internacional Journal of Health Science
Editora Atena

Orientações Gerais:

1. Apresentação

Internacional Journal of Health Science é um periódico bimestral editorado pela Atena Editora, sendo um importante veículo de divulgação de trabalhos científicos oriundos de pesquisas relevantes na área da saúde.

São aceitos manuscritos nos idiomas: português, espanhol e inglês. Artigos submetidos em português serão traduzidos para o inglês e publicados nesse idioma. Para artigos submetidos em espanhol e inglês não haverá tradução para outro idioma.

Respeitando as normas internacionais de boas práticas de editoração, a Atena Editora recebe os seguintes manuscritos para revisão por pares e posterior publicação:

- Análises e resultados de investigações sobre um tema específico considerado relevante para a saúde;
- Artigos de discussão e análise do estado da arte da área e subáreas;
- Artigos de investigação clínica, epidemiológica, sobre educação ou administração de serviços de saúde;
- Artigos de opinião que contribuam para o desenvolvimento da área da saúde;
- Artigos de pesquisa original;
- Artigos de revisão;
- Carta ao editor;
- Debates;
- Pesquisas experimentais e aplicadas das ciências da saúde;
- Relatos de casos clínicos;
- Resenhas.

2. Autor Correspondente:

O autor designado como correspondente é aquele que assume a responsabilidade pela comunicação com a Editora durante o processo de publicação do texto e garante que todos os requisitos sejam atendidos e todas as atividades concluídas. O cadastro deste autor deve estar completo em nosso sistema, com endereço, telefone e e-mail.

3. Autoria:

Todos os autores devem ter participado ativamente da construção do texto, preferencialmente na:

- 1) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados;
- 2) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material

intelectualmente relevante;

3) Aprovação final do manuscrito para submissão.

Só devem ser incluídos no trabalho pesquisadores envolvidos no estudo. Não incluir, sob qualquer hipótese ou pretexto, nomes que não tenham participado da elaboração do mesmo.

4. Alterações na autoria:

Qualquer adição, exclusão ou reorganização de nomes de autores na lista de autoria deve ser efetuada antes do trabalho ser submetido em nossa plataforma. Solicitações posteriores a submissão deverão vir somente do autor correspondente e acompanhada do motivo para a alteração na lista de autores e confirmação por escrito (pode ser carta digitalizada e anexada ao email edicao@atenaeditora.com.br) de todos os autores de que eles concordam com a adição, remoção ou reorganização, bem como a concordância do autor a ser adicionado, alterado ou removido.

5. Considerações Adicionais:

a) O texto foi ortograficamente e gramaticalmente corrigido?

b) Todas as referências mencionadas na lista de referências são citadas no texto e vice-versa?

c) Todos os materiais subjacentes ao texto estão citados e referenciados corretamente?

d) Todas as imagens, gráficos e fórmulas e demais elementos visuais estão em formato jpeg ou png?

e) Todas as ilustrações estão no local exato no texto e não ao final?

f) O manuscrito foi revisado por algum dispositivo antiplágio?

g) O manuscrito envolve o uso de dados de seres humanos (avaliação de prontuários, entrevistas, etc.)? Em caso positivo indicar o número do Certificado de apresentação de apreciação ética (CAAE) e a data de aprovação do Comitê de ética em pesquisa (CEP), no item “Metodologia”;

h) Questões éticas para as pesquisas médicas em seres humanos são de responsabilidade exclusiva dos autores e devem estar em conformidade com os princípios éticos da Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial;

i) O texto está isento de dados ou resultados fraudulentos?

j) O texto foi depositado em alguma plataforma de preprint? Em caso positivo indicar o endereço do depósito;

- k) Houve depósito dos dados abertos da pesquisa? Em caso positivo indicar o endereço do depósito;
- l) Foi reportado qualquer conflito de interesses de todos os autores?
- m) Todas as fontes de financiamento foram informadas?

6. Vídeo:

A Atena Editora aceita vídeo e/ou sequências de animação (somente no formato .mp4) para aprimorar o conhecimento científico do texto bem como para apoiar a sua disseminação. Todos os arquivos enviados devem ser rotulados adequadamente, para que possamos relacionar o conteúdo do vídeo ao texto. Os arquivos de vídeo e/ou animação fornecidos serão embedados em nossa página e quando possível em repositórios parceiros.

Normas para formatação

TÍTULO DO TRABALHO EM INGLÊS

TÍTULO DO TRABALHO EM ESPANHOL

Primeiro autor, nome completo sem abreviaturas

Link para o ORCID

Segundo autor, nome completo sem abreviaturas

Link para o ORCID

Terceiro autor, nome completo sem abreviaturas

Link para o ORCID

Demais autores....

Data de submissão: Preencher com a data (xx/xx/xxxx) em que o texto foi submetido no sistema.

RESUMO: Favor atender às seguintes normas de formatação: a) o artigo deve ter no máximo 21.000 caracteres, contabilizados com espaço. b) O texto deve ser digitado em folha A4 (21 x 29,7 cm), cada qual com margens superior e inferior iguais a 2,5 cm e esquerda e direita iguais a 3,0 cm; c) use fonte Arial tamanho 12 pontos para todo o corpo de texto (exceto citação direta longa e títulos de tabelas, figuras e gráficos, que deverão ser em fonte 10 pontos); d) prepare um resumo com 300 palavras no máximo, espaçamento simples e alinhamento justificado; e) as referências devem ser listadas em ordem alfabética ao final do trabalho; f) as figuras/gráficos/fórmulas e ilustrações incluídas no trabalho devem ser de

excelente qualidade, inseridas no texto em formato “png” ou “jpeg”; g) Evite o uso excessivo de nota de rodapé e/ou nota de fim. O trabalho deverá ser preparado em inglês, espanhol ou português. Use este texto como modelo. O resumo deve tornar possível a compreensão do artigo sem que haja necessidade de o ler.

PALAVRAS-CHAVE: De duas a seis palavras-chave ou frases curtas, empregando preferencialmente termos da lista de descritores MeSH3, DeCS ou PORBASE.

ABSTRACT: Texto em inglês deverá ter o resumo em espanhol e vice-versa. Não utilize tradutores instantâneos de palavras, pois o mesmo pode alterar o sentido do texto. Lembre-se que um bom resumo deve conter o foco da pesquisa, a metodologia empregada, os resultados e principais conclusões. A Atena Editora aceita visual abstract como resumo.

KEYWORDS: De duas a seis palavras-chave ou frases curtas, empregando preferencialmente termos da lista de descritores MeSH3, DeCS ou PORBASE.

1. INTRODUÇÃO

O artigo será publicado no *Internacional Journal of Health Science*, eventualmente poderá ser disponibilizado em sites de editoras parceiras e repositórios. Entre uma sessão e outra, deixe duas linhas, e entre a sessão e o texto deixe uma linha. Use este texto como modelo.

2. INSTRUÇÕES PARA DIGITAÇÃO

O trabalho deve ser digitado no word for windows e não deve ser paginado. O abstract e as keywords, devem ser apresentados após o resumo, em espaçamento simples, tal qual o resumo em língua portuguesa. Use este texto como modelo.

3. ESPECIFICAÇÕES GERAIS PARA A FORMATAÇÃO DO TEXTO

O corpo do artigo deve ser digitado em fonte arial tamanho 12 pontos, espaçamento de 1,5 cm e sem qualquer espaçamento entre os parágrafos. O título deve ser em digitado em letra maiúscula, fonte 12 pontos, negrito e centralizado. Citações diretas longas deverão estar em fonte 10, com recuo de 4 cm da margem. Títulos de figuras, gráficos, fórmulas e tabelas, também devem estar em tamanho 10 pontos. Todas as sessões deverão ser numeradas.

4. AUTORES

O artigo deve ter no máximo 12 autores (casos especiais, como

estudos multicêntricos, serão analisados individualmente). A submissão do artigo deve ser feita preferencialmente pelo primeiro autor, que será denominado autor correspondente, assim como todos os contatos sobre a publicação do mesmo.

5. AUTORIZAÇÕES/RECONHECIMENTO

Ao submeter o trabalho, os autores tornam-se responsáveis por todo o conteúdo da obra.

6. CITAÇÕES

Conforme as normas da ABNT, APA ou VANCOUVER.

REFERÊNCIAS

Apresentadas em ordem alfabética e de acordo com a norma da ABNT, APA e/ou VANCOUVER, com o título das obras em negrito. Deixar uma linha entre uma referência e outra.

APÊNDICE B

NORMAS REVISTA "RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT"

Diretrizes para autores

1. Estrutura do texto:

- Título em português, inglês e espanhol.
- Os autores do artigo (devem ser colocados nesta sequência: nome, ORCID, instituição, e-mail). NOTA: O número do ORCID é individual para cada autor, e é necessário se registrar no DOI e, em caso de erro, não é possível se registrar no DOI).
- Resumo e Palavras-chave em português, inglês e espanhol (o resumo deve conter o objetivo do artigo, metodologia, resultados e conclusão do estudo. Deve ter entre 150 e 250 palavras);
- Corpo do texto (deve conter: introdução em que haja contexto, problema estudado e objetivo do artigo, a metodologia utilizada no estudo, bem como autores que apóiam a metodologia, resultados, discussão e considerações finais ou conclusão);
- Referências: (os autores usam o bom senso e colocam no máximo 20 referências, exceto no caso de revisão bibliográfica. Tanto a citação no texto como no item Referências, usam o estilo de formatação da APA - American Psychological Association. As referências devem estar completas e atualizadas, colocadas em ordem alfabética crescente, sob o sobrenome do primeiro autor da referência. Não devem ser numeradas. Devem ser colocadas no espaçamento 12 e 1,5, separadas entre si por um espaço em branco. .

2. Layout:

- formato Word (.doc);
- Escrito em espaço de 1,5 cm, usando a fonte Times New Roman 12, em formato A4, e as margens do texto devem ser inferior, superior, direita e esquerda de 2,5 cm;
- Os recuos são feitos na régua do editor de texto (não pela tecla TAB);
- Os artigos científicos devem ter mais de 5 páginas.

3. Figuras:

O uso de imagens, tabelas e ilustrações deve seguir o senso comum e, preferencialmente, a ética e axiologia da comunidade científica que discute os temas do manuscrito.

Figuras, tabelas, gráficos etc. (eles devem ter sua chamada no texto antes de serem inseridos. Após a inserção, a fonte (de onde vem a figura ou a tabela ...) e um parágrafo de comentário no qual dizer o que o leitor deve observar é importante neste recurso. As figuras ou gráficos e tabelas ... devem ser numeradas em ordem crescente, os títulos das tabelas, figuras ou gráficos devem ser colocados na parte superior e as fontes na parte inferior.

4. Autoria:

O arquivo de palavras enviado no momento da submissão NÃO deve ter os nomes dos autores.

Todos os autores precisam ser incluídos apenas nos metadados e na versão final do artigo (após análise pelos revisores da revista). Os autores devem ser registrados apenas nos metadados e na versão final do artigo em ordem de importância e contribuição para a construção do texto. NOTA: Os autores escrevem o nome dos autores com a ortografia correta e sem abreviações no início e no final do artigo e também nos metadados. Se o nome estiver incorreto para o DOI, ele gerará um custo, à medida que um novo DOI será gerado.

5. Metadados:

Em relação aos metadados, recomenda-se:

O preenchimento dos metadados do artigo é de responsabilidade do autor. Ao preencher este formulário, verifique se a ordem dos autores é a mesma do artigo. Exemplo de exemplo: José Carlos da Silva Andrade de Souza. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3476-3985>.

Exemplo de preenchimento de metadados:

Autores:

Nome: José

Nome do meio: Carlos da Silva Andrade de

Sobrenome: Souza

E-mail: souza@gmail.com

ORCIDiD: <http://orcid.org/0000-0003-3476-3985> (nota: remova s de https e deixe apenas http. Não coloque espaço em nenhum lugar no orcid)

Os outros dados não apresentam problemas no preenchimento.

NOTA: Os nomes dos autores não podem ser capitalizados, apenas a primeira letra do nome está em maiúsculas. E lembre-se, a ordem dos autores nos metadados deve

ser a mesma do artigo final. Se você deseja alterar a ordem, insira todos os autores novamente.

Para resumos em metadados, é necessário, ao inserir "editar metadados", você deve primeiro selecionar o "Idioma do formulário" (português, inglês ou espanhol) e enviar, que fica no topo, assim que entrar em "editar metadados". Se você escolher português (coloque autores, resumo, título e palavras-chave em português). Depois de preencher o título, resumo, palavras-chave em português, salve e; vá novamente para "editar metadados" e escolha o idioma inglês; não é mais necessário preencher os autores ou as referências; basta preencher o título, o resumo e as palavras-chave em inglês; no final, salvar e; digite "editar metadados" novamente e escolha o idioma espanhol e preencha o título, o resumo e as palavras-chave em espanhol.

NOTA: O idioma que aparece, logo abaixo das palavras-chave, refere-se ao idioma do texto e não ao resumo, título e palavras-chave). Se o texto estiver escrito em português, o idioma é pt. Se você escreveu o artigo em inglês, o idioma é en; se você escreveu o artigo em espanhol, é es. Escreva o idioma apenas uma vez.

6. Exemplo de referências da APA:

- Artigo de jornal:

Gohn, MG & Hom, CS (2008). Abordagens teóricas no estudo dos movimentos sociais na América Latina. CRH Notebook, 21 (54), 439-455.

- Livro:

Ganga, GM D.; Soma, TS & Hoh, GD (2012). Trabalho de conclusão de curso (TCC) em engenharia de produção. São Paulo: Atlas.

- Página da web:

Amoroso, D. (2016). O que é a Web 2.0? Acesso em 12 de março, em <http://www.tecmundo.com.br/web/183-o-que-e-web-2-0->

7. A revista publica artigos originais e inéditos que não são postulados simultaneamente em outras revistas ou órgãos editoriais.

8. Dúvidas: Qualquer dúvida, envie um email para rsd.articles@gmail.com

9. A revista Research, Society and Development está no Facebook, siga-nos em <https://www.facebook.com/Research-Society-and-Development-56342045749>

APÊNDICE C

Normas da The International Journal of Development Research (IJDR)

Instructions for Authors

The International Journal of Development Research (IJDR) (ISSN 2230-9926) publishes high-quality solicited and unsolicited articles, in English, in all areas of the subject. The journal welcomes the submission of manuscripts that meet the general criteria of significance and academic excellence. All articles published in IJDR will be peer-reviewed. Papers will be published in the next issue of the journal after acceptance.

The International Journal of Development Research (IJDR) (ISSN 2230-9926) will be published monthly (one volume; 12 Issues per year) by Academe Research Journals.

Electronic submission of manuscripts is strongly encouraged, provided that the text, tables, and figures are included in a single Microsoft Word file (preferably in Arial font).

Submit manuscripts as e-mail attachment to the Editorial Office at:

journalijdr.editor@gmail.com, researchijdr@yahoo.com

A manuscript number will be e-mailed to the corresponding author same day or within 72 hours.

The cover letter should include the corresponding author's full address and telephone numbers and should be in an e-mail message sent to the Editor, with the file, whose name should begin with the first author's surname, as an attachment. The authors may also suggest two to five reviewers for the manuscript (IJDR may designate other reviewers).

The International Journal of Development Research (IJDR) (ISSN 2230-9926) will only accept manuscripts submitted as e-mail attachments.

Article Types Three types of manuscripts may be submitted:

Regular articles: These should describe new and carefully confirmed findings, and experimental procedures should be given in sufficient detail for others to verify the work. The length of a full paper should be the minimum required to describe and interpret the work clearly.

Short Communications: A Short Communication is suitable for recording the results of complete small investigations or giving details of new models or hypotheses, innovative methods, techniques or apparatus. The style of main sections need not conform to that of full-length papers. Short communications are 2 to 4 printed pages (about 6 to 12 manuscript pages) in length.

Review: Submissions of reviews and perspectives covering topics of current interest are welcome and encouraged. Reviews should be concise and no longer than 4-6 printed pages (about 12 to 18 manuscript pages). Reviews manuscripts are also peer-reviewed.

Regular articles

All portions of the manuscript must be typed double-spaced and all pages numbered starting from the title page.

The Title should be a brief phrase describing the contents of the paper. The Title Page should include the authors' full names and affiliations, the name of the corresponding author along with phone, fax and E-mail information. Present addresses of authors should appear as a footnote.

The Abstract should be informative and completely self-explanatory, briefly present the topic, state the scope of the experiments, indicate significant data, and point out major findings and conclusions. The Abstract should be 100 to 200 words in length. Complete sentences, active verbs, and the third person should be used, and the abstract should be written in the past tense. Standard nomenclature should be used and abbreviations should be avoided. No literature should be cited.

Following the abstract, about 3 to 10 key words that will provide indexing references to should be listed. A list of non-standard Abbreviations should be added. In general, non-standard abbreviations should be used only when the full term is very long and used often. Each abbreviation should be spelled out and introduced in parentheses the first time it is used in the text. Only recommended SI units should be used.

The Introduction should provide a clear statement of the problem, the relevant literature on the subject, and the proposed approach or solution. It should be understandable to colleagues from a broad range of scientific disciplines.

Materials and methods should be complete enough to allow experiments to be reproduced. However, only truly new procedures should be described in detail; previously published procedures should be cited, and important modifications of

published procedures should be mentioned briefly. Capitalize trade names and include the manufacturer's name and address. Subheadings should be used. Methods in general use need not be described in detail.

Results should be presented with clarity and precision. The results should be written in the past tense when describing findings in the authors' experiments. Previously published findings should be written in the present tense. Results should be explained, but largely without referring to the literature. Discussion, speculation and detailed interpretation of data should not be included in the Results but should be put into the Discussion section.

The Discussion should interpret the findings in view of the results obtained in this and in past studies on this topic. State the conclusions in a few sentences at the end of the paper. The Results and Discussion sections can include subheadings, and when appropriate, both sections can be combined.

The Acknowledgments of people, grants, funds, etc should be brief.

Tables should be kept to a minimum and be designed to be as simple as possible. Tables are to be typed double-spaced throughout, including headings and footnotes. Each table should be on a separate page, numbered consecutively in Arabic numerals and supplied with a heading and a legend. Tables should be self-explanatory without reference to the text. The details of the methods used in the experiments should preferably be described in the legend instead of in the text. The same data should not be presented in both table and graph form or repeated in the text.

Figure legends should be typed in numerical order on a separate sheet. Graphics should be prepared using applications capable of generating high resolution GIF, TIFF, JPEG or PowerPoint before pasting in the Microsoft Word manuscript file. Tables should be prepared in Microsoft Word. Use Arabic numerals to designate figures and upper case letters for their parts (Figure 1). Begin each legend with a title and include sufficient description so that the figure is understandable without reading the text of the manuscript. Information given in legends should not be repeated in the text.

References: In the text, a reference identified by means of an author's name should be followed by the date of the reference in parentheses. When there are more than two authors, only the first author's name should be mentioned, followed by 'et al'. In the event that an author cited has had two or more works published during the same year, the reference, both in the text and in the reference list, should be identified by a lower case letter like 'a' and 'b' after the date to distinguish the works.

Examples:

Abayomi (2000), Agindotan et al. (2003), (Kelebeni, 1983), (Usman and Smith, 1992), (Chege, 1998; Chukwura, 1987a, b; Tijani, 1993, 1995), (Kumasi et al., 2001)

References should be listed at the end of the paper in alphabetical order. Articles in preparation or articles submitted for publication, unpublished observations, personal communications, etc. should not be included in the reference list but should only be mentioned in the article text (e.g., A. Kingori, University of Nairobi, Kenya, personal communication). Journal names are abbreviated according to Chemical Abstracts. Authors are fully responsible for the accuracy of the references.

Examples:

Ogunseitan OA (1998). Protein method for investigating mercuric reductase gene expression in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:695–702.

Gueye M, Ndoye I, Dianda M, Danso SKA, Dreyfus B (1997). Active N₂ fixation in several *Faidherbia albida* provenances. *Ar. Soil Res. Rehabil.* 11:63-70.

Charnley AK (1992). Mechanisms of fungal pathogenesis in insects with particular reference to locusts. In: Lomer CJ, Prior C (eds) *Biological Controls of Locusts and Grasshoppers: Proceedings of an international workshop held at Cotonou, Benin.* Oxford: CAB International, pp 181-190.

Mundree SG, Farrant JM (2000). Some physiological and molecular insights into the mechanisms of desiccation tolerance in the resurrection plant *Xerophyta viscosa* Baker. In Cherry et al. (eds) *Plant tolerance to abiotic stresses in Agriculture: Role of Genetic Engineering*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp 201-222.

Babalola OO (2002). Interactions between *Striga hermonthica* (Del.) Benth. and fluorescent rhizosphere bacteria Of *Zea mays*, L. and *Sorghum bicolor* L. Moench for *Striga* suicidal germination In *Vigna unguiculata* . PhD dissertation, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria.

Short Communications

Short Communications are limited to a maximum of two figures and one table. They should present a complete study that is more limited in scope than is found in full-length papers. The items of manuscript preparation listed above apply to Short Communications with the following differences: (1) Abstracts are limited to 100 words; (2) instead of a separate Materials and Methods section, experimental procedures may be incorporated into Figure Legends and Table footnotes; (3) Results and Discussion

should be combined into a single section.

Proofs and Reprints: Electronic proofs will be sent (e-mail attachment) to the corresponding author as a PDF file. Page proofs are considered to be the final version of the manuscript. With the exception of typographical or minor clerical errors, no changes will be made in the manuscript at the proof stage. Because IJDR will be published freely online, authors will have free electronic access to the full text (PDF) of the article. Authors can freely download the PDF file from which they can print unlimited copies of their articles.

Copyright: Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before (except in the form of an abstract or as part of a published lecture, or thesis); that it is not under consideration for publication elsewhere; that if and when the manuscript is accepted for publication, the authors agree to automatic transfer of the copyright to the publisher.

Proofs, Reprints and manuscript charges

Electronic proofs will be sent (e-mail attachment) to the corresponding author as a PDF file. Page proofs are considered to be the final version of the manuscript. With the exception of typographical or minor clerical errors, no changes will be made in the manuscript at the proof stage. Because IJDR will be published online, authors will have free electronic access to the full text (PDF) of the article. Authors can freely download the PDF file from which they can print unlimited copies of their articles. There is no charge for the processing of paper but author(s) of each accepted paper is required to pay the publication charge which is very nominal fees. The fees depends upon the number of pages, number of authors, images etc. Before the accepted paper is published we will intimate the fees in the acceptance letter.