



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.

Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura

Jorcilene dos Santos Silva

Subprodutos de *Malpighia emarginata* e *Euterpe edulis* como fonte sustentável de compostos bioativos para conservação de alimentos

Jorcilene dos Santos Silva

Subprodutos de *Malpighia emarginata* e *Euterpe edulis* como fonte sustentável de compostos bioativos para conservação de alimentos

Tese apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de doutor em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.

Orientadora: Dra. Suelen Pereira Ruiz Herrig

Coorientadora: Dra. Maria Graciela Iecher Faria Nunes

Ficha Catalográfica

S586s Silva, Jorcilene dos Santos.

Subprodutos de *Malpighia emarginata* e *Euterpe edulis* como fonte sustentável de compostos bioativos para conservação de alimentos / Jorcilene dos Santos Silva. – Umuarama : Universidade Paranaense - UNIPAR, 2026. 62 f.

Orientadora: Dr^a. Suelen Pereira Ruiz Herrig.

Tese (Doutorado) – Universidade Paranaense - UNIPAR.

1. Acerola. 2. Açaí. 3. Aditivos naturais. 4. Antibacteriano. 5. Sustentabilidade. I. Universidade Paranaense - UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 634.3

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

Subprodutos de *Malpighia emarginata* e *Euterpe edulis* como fonte sustentável de compostos bioativos para conservação de alimentos

Tese aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Doutor no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dra. Maria Graciela Iecher Faria Nunes
Universidade Paranaense - UNIPAR

Dra. Zilda Cristiani Gazim
Universidade Paranaense - UNIPAR

Dra. Camila da Silva
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Dra. Beatriz Cervejeira Bolanho Barros
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Dra. Suelen Pereira Ruiz Herrig

Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 24 de fevereiro de 2026

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, princípio e fim de todas as coisas, fonte de toda sabedoria e autor da vida, por ter me sustentado até aqui. Foi Ele quem me concedeu discernimento nos momentos de decisão, perseverança nas dificuldades e força nos dias em que minhas próprias capacidades pareciam insuficientes. Sem a Sua graça, nada disso seria possível. A Virgem Maria, Mãe amorosa e intercessora fiel, exemplo sublime de fé, amor, silêncio e total disponibilidade à vontade de Deus, minha profunda gratidão. Seu testemunho de confiança e entrega foi inspiração constante ao longo desta caminhada. A São José, modelo de humildade, responsabilidade e trabalho perseverante, agradeço pelo exemplo silencioso de fidelidade e coragem, que iluminou minha trajetória com firmeza e discrição.

À minha família, expresse minha eterna gratidão por cada renúncia silenciosa, por cada palavra de incentivo, por cada gesto de amor, paciência e compreensão. Vocês foram alicerce nos momentos de cansaço e motivação para que eu seguisse adiante. Aos meus amigos, agradeço o carinho, o apoio e a compreensão nas ausências necessárias. A presença de vocês, mesmo à distância, tornou essa jornada mais leve e significativa.

À Universidade Paranaense (Unipar), a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao programa de pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, agradeço pela oportunidade de crescimento acadêmico e pelo suporte oferecido ao longo da pós-graduação.

À minha orientadora, Suelen Pereira Ruiz Herrig, e à coorientadora, Maria Graciela Iecher Faria Nunes, manifesto minha sincera gratidão pela orientação competente, pela disponibilidade, paciência e pelas contribuições fundamentais para a construção e aprimoramento desta pesquisa. O incentivo constante aliado ao comprometimento científico foi essencial para a concretização deste trabalho.

Aos professores parceiros deste trabalho, Zilda Cristiani Gazim, Beatriz Cervejeira Bolanho Barros e Otávio Akira Sakai, agradeço por toda ajuda e disponibilidade em contribuir com este trabalho. A banca examinadora, agradeço pela dedicação na leitura e pelas valiosas considerações, que certamente enriqueceram e fortaleceram esta pesquisa.

Aos professores, colegas e colaboradores, agradeço pelas trocas de conhecimento, pelo apoio e pelo incentivo ao longo de todo o percurso acadêmico. Estendo também minha gratidão a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Por fim, reconheço que cada etapa desta trajetória foi conduzida por uma força que ultrapassa minhas capacidades humanas. Como afirmou São Pier Giorgio Frassati: “A fé que me foi dada no Batismo sugere-me com voz segura: por tuas próprias forças não conseguirás fazer nada; mas, se Deus estiver no centro de tuas ações, então, sim, alcançarás o objetivo”.

Assim, consciente de que minha capacidade vem de Deus, entrego a Ele todo o mérito desta conquista, Àquele que é fonte de sabedoria, inteligência e amor. “Porque Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas” (Rm 11, 36).

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	17
Potencial bioativo do subproduto de <i>Malpighia emarginata</i> : capacidade antioxidante, antibacteriana e sinergia com nitrito de sódio	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 MATERIAL E MÉTODOS	21
2.1 Materiais	21
2.2 Material vegetal	21
2.3 Métodos de obtenção do extrato	21
2.4. Determinação do Teor de Fenois Totais (FT) nos extratos de subproduto de <i>Malpighia emarginata</i>	22
2.5 Determinação do Teor de Flavonoides nos extratos de subproduto de <i>Malpighia emarginata</i>	22
2.6 Identificação fitoquímica por UHPLC-MS dos extratos etanólicos do subproduto de <i>Malpighia emarginata</i>	23
2.7 Atividade antioxidante	24
2.7.1 Método de sequestro do radical livre 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)	24
2.7.2 Poder de redução do ferro (FRAP)	24
2.7.3 Método do radical ABTS• + (2,2'azinobis-(3ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))	24
2.8 Atividade antibacteriana	25
2.8.1 Microrganismos	25
2.8.2 Preparo e padronização do inóculo	25
2.8.3 Método de microdiluição em caldo	25
2.8.4 Efeito da combinação entre extratos de subproduto <i>Malpighia emarginata</i> e nitrito de sódio	26
2.9 Análise estatística	27
3 RESULTADOS	28
3.1 Teor de fenois totais e flavonoides no extrato de <i>Malpighia emarginata</i>	28
3.3 Atividade antioxidante	30
3.4 Atividade antibacteriana	31
3.3 Sinergismo	33
4 DISCUSSÃO	34
5 CONCLUSÕES	39
6 AGRADECIMENTOS	40

7 REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO II.....	44
Extrato de subproduto de <i>Euterpe edulis</i> : atividade antibacteriana e aplicação em filme indicador de pH	44
1 INTRODUÇÃO	45
2 MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1 Material.....	47
2.2 Material vegetal	47
2.3 Obtenção do extrato.....	47
2.4 Atividade antibacteriana dos extratos do subproduto de <i>Euterpe edulis</i> M.	48
2.4.1 Microrganismos	48
2.4.2 Preparo e padronização do inóculo.....	48
2.4.3 Método de microdiluição em caldo	48
2.4.4 Efeito da combinação entre extratos de subproduto <i>Euterpe edulis</i> M. e nitrito de sódio	49
2.5 Identificação fitoquímica por UHPLC-MS/MS do extrato etanólico do subproduto de <i>Euterpe edulis</i> M.	49
2.7 Potencial indicador de pH dos filmes à base de alginato e gelatina incorporados com extrato etanólico do subproduto de <i>E. edulis</i> M.	53
2.8 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos filmes incorporados com extrato do subproduto de <i>E. edulis</i> M. (T2).....	53
2.9 Análise estatística	53
3 RESULTADOS	54
3.1 Atividade antibacteriana	54
3.2 Efeito da combinação entre extratos de subproduto <i>Euterpe edulis</i> M. e nitrito de sódio	56
3.3 Identificação fitoquímica por UHPLC do extrato etanólico do subproduto de <i>Euterpe edulis</i> M.....	56
3.4 Filmes de alginato e gelatina incorporados com extrato etanólico do subproduto de <i>Euterpe edulis</i> M. (T2).....	58
3.5 Potencial indicador de pH dos filmes incorporados com extrato do subproduto de <i>E. edulis</i> M. (T2)	58
3.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos filmes incorporados com extrato do subproduto de <i>E. edulis</i> M. (T2).....	60
4 DISCUSSÃO	61

5 CONCLUSÕES.....	64
6 AGRADECIMENTOS	65
7 REFERÊNCIAS	66

Jorcilene dos Santos Silva

Subprodutos de *Malpighia emarginata* e *Euterpe edulis* como fonte sustentável de compostos bioativos para conservação de alimentos

RESUMO: As doenças de transmissão hídrica e alimentar representam um grave problema de saúde pública, o que reforça a necessidade do uso de conservantes nos alimentos. Os conservantes sintéticos podem causar riscos à saúde, impulsionando a busca por alternativas naturais seguras, especialmente oriundas de subprodutos agroindustriais ricos em compostos bioativos. Além disso, a valorização desses subprodutos contribui para o cumprimento dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), principalmente os nº 2 (agricultura sustentável, nº 3 (saúde e bem-estar), nº 9 (indústria, inovação e infraestrutura) e nº 12 (consumo e produção responsáveis). Este trabalho está dividido em 2 capítulos: o Capítulo I teve como objetivo avaliar a composição química, atividade antioxidante, antibacteriana e sinergismo com nitrito de sódio dos extratos de subprodutos de *Malpighia emarginata* obtidos por extração assistida por ultrassom e maceração. Os extratos foram obtidos na proporção 1:10 (m/v) por maceração (MC) e extração assistida por ultrassom (US), empregando etanol a 34% e 70% como solvente para ambos. Os extratos foram caracterizados quanto à composição fitoquímica por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (UHPLC-MS/MS), teor de fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante pelos métodos de sequestro do radical livre 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), poder de redução do ferro (FRAP) e método do radical ABTS• + (2,2'azinobis-(3ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid). A atividade antibacteriana foi avaliada contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de origem alimentar, por microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). O potencial sinérgico dos extratos US34 e MC34 associados ao nitrito de sódio foi avaliado pelo método *Checkerboard* em *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* Typhi. Foram identificados 23 compostos, predominantemente ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos e flavonoides. O extrato US34 apresentou maiores teores de fenóis totais ($141,5 \pm 4,29 \mu\text{g EAG/mg}$) e flavonoides ($135,41 \pm 3,21 \mu\text{g EQ/mg}$). Todos os extratos exibiram atividade antibacteriana, com CIM variando de 4,8 a 40 mg/mL. As combinações com nitrito de sódio demonstraram efeito sinérgico, com valores de Índice de concentração fracional inibitório (FIC) entre 0,17 e 0,50. Conclui-se que os extratos etanólicos do subproduto de *M. emarginata* apresentam relevante potencial bioativo e atividade antibacteriana, evidenciando sua viabilidade como conservante natural em alimentos, isoladamente ou em associação com nitrito de sódio. Capítulo II teve como objetivo avaliar o potencial antibacteriano do extrato do subproduto de *Euterpe edulis* Martius e sua aplicação como indicador de pH em filmes para embalagens alimentícias. Os extratos foram obtidos com etanol 50% e 70% sob diferentes rotações (80, 130 e 180 rpm), sendo os extratos nomeados de T1 (etanol 50% e 80 rpm), T2 (etanol 50% e 130 rpm), T3 (etanol 50% e 180 rpm) e T4 (etanol 70% e 180 rpm), e testados frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de origem alimentar. Os extratos T2 e T4 foram avaliados sobre seu potencial sinérgico com nitrito de sódio em *S. aureus* e *S. enterica* Typhi. O extrato T2 foi caracterizado quanto à composição fitoquímica por UHPLC-MS/MS e posteriormente foi incorporado em filmes à base de alginato de sódio e gelatina nas concentrações 0,00%, 0,25%, 0,50% e 1,00%. Os filmes foram submetidos a análise do seu potencial indicador de pH e de Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Todos extratos apresentaram atividade antibacteriana, com CIM entre 10 e 40 mg/mL, destacando-se o extrato T2 (etanol 50% e 130 rpm), que exibiu menor CIM (10 mg/mL) e efeito sinérgico com o nitrito de sódio, reduzindo a CIM de ambos. A análise fitoquímica do T2

revelou predominância de ácidos fenólicos, especialmente ácido protocatecuico, *p*-hidroxibenzoico e resorcílico. Filmes de alginato e gelatina incorporados com o extrato T2 nas proporções demonstraram capacidade de mudança de cor conforme o pH, variando de vermelho em meio ácido a verde em meio alcalino. Por meio da análise de FTIR observou-se que os filmes tiveram sua matriz química preservada após a incorporação do extrato. Conclui-se que o extrato possui potencial para aplicação como agente antibacteriano e indicador de pH em embalagens inteligentes para alimentos. De forma geral, conclui-se que os extratos de subprodutos de *M. emarginata* e *edulis* M. possuem potencial para serem utilizados de forma isolada ou em combinação com o nitrito de sódio na conservação de alimentos e como indicador de pH em filmes inteligentes, respectivamente.

Palavras-chave: Acerola. Açaí. Aditivos naturais. Antibacteriano. Sustentabilidade.

Jorcilene dos Santos Silva

By-products of *Malpighia emarginata* and *Euterpe edulis* as a sustainable source of bioactive compounds for food preservation

ABSTRACT: Waterborne and foodborne illnesses represent a serious public health problem, reinforcing the need for the use of preservatives in food. Synthetic preservatives can pose health risks, driving the search for safe, natural alternatives, especially those derived from agro-industrial byproducts rich in bioactive compounds. Furthermore, the valorization of these by-products contributes to the fulfillment of the Sustainable Development Goals (SDGs), especially numbers 2 (sustainable agriculture), 3 (health and well-being), 9 (industry, innovation and infrastructure), and 12 (responsible consumption and production). This work is divided into 2 chapters: Chapter I aimed to evaluate the chemical composition, antioxidant and antibacterial activity, and synergism with sodium nitrite of extracts of *Malpighia emarginata* by-products obtained by ultrasound-assisted extraction and maceration. The extracts were obtained in a 1:10 (w/v) ratio by maceration (MC) and ultrasound-assisted extraction (US), using 34% and 70% ethanol as solvent for both. The extracts were characterized in terms of phytochemical composition by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS), total phenol content, total flavonoids and antioxidant activity were assessed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging method, the ferric reducing antioxidant power (FRAP) method, and the ABTS•+ (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) radical scavenging method. Antibacterial activity was evaluated against foodborne Gram-positive and Gram-negative bacteria by broth microdilution to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The synergistic potential of extracts US34 and MC34 associated with sodium nitrite was evaluated using the *Checkerboard* method in *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Typhi. Twenty-three compounds were identified, predominantly phenolic acids, phenolic aldehydes, and flavonoids. Extract US34 showed higher levels of total phenols ($141.5 \pm 4.29 \mu\text{g}$. GAE/mg) and flavonoids ($135.41 \pm 3.21 \mu\text{g}$ QE/mg). All extracts exhibited antibacterial activity, with MICs ranging from 4.8 to 40 mg/mL. Combinations with sodium nitrite demonstrated a synergistic effect, with Fractional Inhibitory Concentration Index (FIC) values between 0.17 and 0.50. It is concluded that the ethanolic extracts of the *M. emarginata* byproduct present relevant bioactive potential and antibacterial activity, demonstrating their viability as a natural food preservative, alone or in combination with sodium nitrite. Chapter II aimed to evaluate the antibacterial potential of the *Euterpe edulis* Martius byproduct extract and its application as a pH indicator in films for food packaging. The extracts were obtained with 50% and 70% ethanol at different rotations (80, 130, and 180 rpm), and the extracts were named Extracts T1 (50% ethanol, 80 rpm), T2 (50% ethanol, 130 rpm), T3 (50% ethanol, 180 rpm), and T4 (70% ethanol, 180 rpm) were tested against Gram-positive and Gram-negative foodborne bacteria. Extracts T2 and T4 were evaluated for their synergistic potential with sodium nitrite against *S. aureus* and *S. enterica* Typhi. Extract T2 was characterized for its phytochemical composition by UHPLC-MS/MS and subsequently incorporated into sodium alginate and gelatin-based films at concentrations of 0.00%, 0.25%, 0.50%, and 1.00%. The films were subjected to analysis of their pH indicator potential and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). All extracts showed antibacterial activity, with MICs between 10 and 40 mg/mL, with extract T1 standing out. T2 (50% ethanol and 130 rpm), which exhibited a lower MIC (10 mg/mL) and a synergistic effect with sodium nitrite, reducing the MIC of both. Phytochemical analysis of T2 revealed a predominance of phenolic acids, especially

protocatechuic, *p*-hydroxybenzoic, and resorcylic acids. Alginate and gelatin films incorporated with the T2 extract in the proportions demonstrated the ability to change color according to pH, varying from red in acidic medium to green in alkaline medium. Through FTIR analysis, it was observed that the films had their chemical matrix preserved after the incorporation of the extract. It is concluded that the extract has potential for application as an antibacterial agent and pH indicator in smart food packaging. In general, it is concluded that the extracts of by-products of *M. emarginata* and *E. edulis* M. have potential to be used alone or in combination with sodium nitrite in food preservation and as a pH indicator in smart films, respectively.

Key-words: Acerola. Açaí. Natural additives. Antibacterial. Sustainability.

CAPÍTULO I

Potencial bioativo do subproduto de *Malpighia emarginata*: capacidade antioxidante, antibacteriana e sinergia com nitrito de sódio

RESUMO:

Subprodutos agroindustriais apresentam propriedades bioativas com potencial antioxidante e antimicrobiano, sendo promissores na conservação de alimentos. O subproduto de *Malpighia emarginata* destaca-se como fonte relevante de compostos de interesse. Este estudo teve como objetivo avaliar a composição química, atividade antioxidante, antibacteriana e sinergismo com nitrito de sódio dos extratos de subprodutos de *M. emarginata* obtidos por extração assistida por ultrassom e maceração. Os extratos foram obtidos por maceração do material vegetal (MC) e extração assistida por ultrassom (US), na proporção 1:10 (m/v), utilizando etanol a 34% e 70% como solvente. Os extratos foram caracterizados quanto à composição química por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (UHPLC-MS/MS) teor de fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante pelos métodos de sequestro do radical livre 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), poder de redução do ferro (FRAP) e método do radical ABTS• + (2,2'azinobis-(3ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)). A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM). Avaliou-se o potencial sinérgico antibacteriano dos extratos US34 e MC34 combinados com o nitrito de sódio através do método de *Checkerboard* frente à *S. aureus* ATCC 29213 e *S. enterica* Typhi ATCC 19214. Foram identificados 23 compostos, predominando ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos e flavonoides. O extrato US34 apresentou os maiores teores de fenóis totais ($141,5 \pm 4,29 \mu\text{g EAG/mg}$) e flavonoides ($135,41 \pm 3,21 \mu\text{g QE/mg}$). Todos os extratos demonstraram atividade antibacteriana, com CIM variando entre 4,8 e 40 mg/mL. Além disso, a associação dos extratos com nitrito de sódio evidenciou efeito sinérgico, com valores de Índice de concentração fracional inibitório (FIC) entre 0,17 e 0,50. Conclui-se que os extratos etanólicos de *M. emarginata* apresentam elevado potencial comparado ao nitrito de sódio, como agentes conservantes naturais, podendo ser aplicados isoladamente ou em combinação com nitrito de sódio.

Palavras-chave: Acerola. Conservação de Alimentos. Conservante natural. Nitrito de sódio.

1 INTRODUÇÃO

O processamento dos alimentos de origem vegetal gera diversos subprodutos agroindustriais como caules, grãos, sementes, cascas e bagaços, sendo geralmente descartados pelas indústrias ou convencionalmente destinados a aterros sanitários, impactando problemas ambientais, econômicos e sociais (Gómez-García *et al.*, 2021). Dentre as indústrias de alimentos que geram uma quantidade relevante de subprodutos, destaca-se as do processamento de frutas (Sani *et al.*, 2023), em que os subprodutos correspondem a 60% do total de matéria-prima processadas (Sette *et al.*, 2020). Esses subprodutos têm recebido atenção especial por serem uma fonte disponível, econômica e sustentável de compostos bioativos com potencial atividade antioxidante e antimicrobiana (Reguengo *et al.*, 2022).

Malpighia emarginata, popularmente conhecida como acerola, membro do gênero *Malpighia* e família *Malpighiaceae*, é uma fruta tropical proveniente da América Central, Antilha e Noroeste da América do Sul, apresenta porte arbustivo e frutifica praticamente o ano todo em regiões de clima tropical (Vieira *et al.*, 2019). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no Brasil, sua produção em 2017 foi de 60.966 toneladas, tendo um valor de R\$ 91.627.000,00 e sendo o Pernambuco o maior estado produtor (IBGE, 2017). É processada e comercializada como suco clarificado, polpa e exportada como fruta congelada (Santos *et al.*, 2023). Na figura 1 é apresentada a morfologia e as estruturas da fruta.

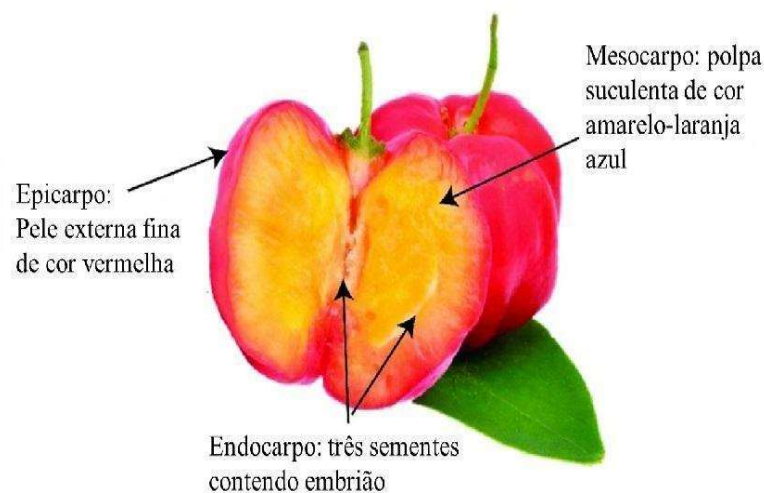


Figura 1: Aspectos morfológicos do fruto de *Malpighia emarginata* e seus elementos estruturais relacionados
Fonte: (Vega-Baudrit *et al.*, 2023)

Subprodutos provenientes do processamento de *M. emarginata* podem chegar a 40% do seu peso total. A composição apresenta importantes substâncias bioativas como antocianinas, ácido ascórbico e flavonoides (Santos *et al.*, 2023). Dentre as substâncias, destacam-se os

compostos fenólicos como lignanas, estilbenos, flavonoides e ácidos fenólicos, que apresentam em sua estrutura molecular um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila, podendo ser molécula polimerizada ou simples. De acordo com suas características estruturais os compostos fenólicos são divididos em diversos grupos, entretanto, os principais correspondem aos ácidos fenólicos, não flavonoides e flavonoides (Lima *et al.*, 2019).

Extratos de subprodutos de *M. emarginata*, possuem compostos que apresentam potencial antibacteriano e antioxidante (Wang *et al.*, 2019). Esse potencial torna importante a aplicação em alimentos e para controle da qualidade e segurança dos alimentos, pois em muitos produtos alimentícios é necessário a utilização de conservantes para evitar a deterioração química e microbiana (Pateiro *et al.*, 2021). Os conservantes sintéticos usados em alimentos como o nitrito de sódio, dependendo da concentração usada, podem causar danos à saúde, pois aumenta pode ocasionar metemoglobina, gerando hipóxia sistêmica, acidose metabólica e cianose (Padovano *et al.*, 2022). Assim a substituição total ou parcial de compostos sintéticos por naturais é necessária.

Os compostos bioativos presentes nos subprodutos podem ser obtidos por extração, um processo importante na recuperação de frações fenólicas da matriz vegetal. As extrações por métodos convencionais como soxhlet, maceração, agitação, esgotamento, entre outros, apresentam diversas restrições como baixo rendimento, grande consumo de extratores e longo tempo de extração. Logo, os processos modernos de extração auxiliados tecnologicamente podem contribuir para a redução do desperdício e tempo de extração. Tecnologias de extração não térmica como por exemplo, a extração assistida por ultrassom, podem melhorar a extração polifenólica (Boateng; Clark, 2024).

Até o momento, poucos trabalhos relataram a atividade antibacteriana de extratos dos subprodutos de *M. emarginata*. Santos *et al.* (2023) realizaram a otimização da extração através de delineamento rotativo composto central, avaliaram o efeito de temperatura, tempo e concentração de etanol, e atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco. Apenas Donadone *et al.* (2025) relataram a atividade antibacteriana pelo método de microdiluição em caldo e antioxidante dos extratos de subprodutos de *M. emarginata* obtidos por extração assistida por ultrassom. Entretanto, não foram encontrados trabalhos que analisaram a atividade antibacteriana e o sinergismo com aditivos alimentares como nitrito de sódio.

Além disso, o presente trabalho condiz com os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), nº 2: busca erradicar a fome, alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável, nº 3: garantir o acesso à saúde de qualidade e promover o bem-estar para todos, em todas as idades, nº 9: construir infra estruturas resilientes,

promover a industrialização inclusiva e sustentável e fomentar a inovação e n° 12: assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis (NAÇÕES UNIDAS BRASIL, 2023), promovendo uma valorização da cadeia produtiva dos frutos de *M. emarginata* e estratégia sustentável para obtenção de compostos bioativos.

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a composição química, atividade antioxidante, antibacteriana e sinergismo com nitrito de sódio dos extratos de subprodutos de *M. emarginata* obtidos por extração assistida por ultrassom e maceração.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Foram utilizados os seguintes reagentes: Mueller Hinton Agar (Kasvi), Mueller Hinton Broth (Kasvi), nitrito de sódio P.A. – ACS (Dinâmica, 97%), cloreto de sódio PA ACS (Reatec, Álcool etílico ABS. P.A – ACS (Dinâmica), água ultrapura (MILLIQ), água destilada, folin-ciocalteu, carbonato de sódio, cloreto de alumínio, metanol, MS grau metanol (Merck ® (Darmstadt, Alemanha), ácido fórmico, MS grau metanol (Merck ® (Darmstadt, Alemanha) e os seguintes reagentes da marca sigma aldrich: ácido gálico, morina, catecol, naringenina, siringaldeído, isovanilina, hidroxibenzaldeído, quercitina, ácido salicílico, ácido siríngico, ácido clorogênico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido *p*-hidroxibenzóico, naringina, ácido cafeico, vanilina, ácido *p*-cumárico, ácido sinápico, aldeído coniferílico, catequina, sinapaldeído, rutina, siringaldazina, teobromina, epicatequina, baicalina, luteolina, kaempferol, ácido quínico, ácido málico, cafeína, crisina, cumarina, ácido resorcílico, ácido nicotínico, ácidos fumáricos, 2,2 difenil-1-picrilhidrazil, 2,4,6-Tris (2-piridil)-striazina (TPTZ - 10 mM), cloreto férrico (20 mM), persulfato de potássio 140 mM radical ABTS•+. e trolox.

2.2 Material vegetal

Os subprodutos provenientes do processamento de polpa congelada de *M. emarginata* foram obtidos de agroindústria da região de Umuarama-PR (-23.75945, -53.30656). O subproduto foi desidratado em estufa de ventilação forçada a 50 °C por 48 h. O material seco foi moído em picador/triturador forrageiro TRF 70 (TRAPP) e classificado em mesh 42 em peneiras tipo Tyler (Bertel ASTM) com agitador mecânico (Marconi, MA 750) por 10 min para padronização e homogeneização.

2.3 Métodos de obtenção do extrato

O subproduto de *M. emarginata* foi submetido a extrações por dois métodos distintos, sendo extração assistida por ultrassom (US) e extração por maceração (MC). Ambas, usando etanol 34% e etanol 70% como solvente e razão massa volume (1:10), conforme com Santos *et al.* (2023) com adaptações.

A extração assistida por ultrassom foi realizada em equipamento ultrassônico (BIOBASE - UCD-950), probe 12, em potência 25%, pulso on 2.0, pulso off 4.0 durante 30

min a 37°C (Donadone *et al.*, 2025). Enquanto a extração por maceração do material foi realizada por maceração em equipamento de agitação orbital (TECNAL - TE-421), na temperatura de 30 °C, agitação de 90 rpm, durante 96 horas com renovação do solvente a cada 48 horas.

Os extratos foram filtrados após a extração e submetidos a análise de composição fitoquímica, após, foram congelados, liofilizados e armazenados a -20 °C para posterior análises de fenóis totais, flavonoides totais e análises antimicrobianas. Os extratos foram denominados conforme o método de sua extração e a concentração de etanol utilizada, assim foram nomeados de US34, US70, MC34 e MC70.

2.4. Determinação do Teor de Fenóis Totais (FT) nos extratos de subproduto de *Malpighia emarginata*

A determinação do teor de fenóis totais (FT) foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu conforme Swain e Hillis (1959) com modificações De Sá (2012), através de espectroscopia na região visível. As amostras foram diluídas em água ultrapura (MILLIQ) nas concentrações de 1,0 mg/mL, 0,75 mg/mL, 0,5 mg/mL e 0,25 mg/mL. A solução reagente foi composta por 155 µL da solução de Folin-Ciocalteu, 125 µL de solução de carbonato de sódio e 20 µL da amostra diluída (1 mg/mL) em cada poço da microplaca. A mistura foi deixada em repouso na ausência de luz por 60 min e a leitura foi realizada em aparelho SpectraMax Plus384 Microplate Reader a 760 nm, em triplicata. A curva de calibração foi obtida pelo uso de diluições de ácido gálico (0-100 µg/mL), obtida por regressão linear foi realizada conforme Equação 1.

$$A = 0,0196 C - 0,031 \quad (R^2 = 0,9997) \quad \text{Eq. 1}$$

Onde A corresponde a absorvância medida, C a concentração de equivalentes de ácido gálico, e R^2 o coeficiente de determinação para a regressão múltipla. Os resultados foram expressos como µg de equivalente de ácido gálico (EAG) /mg de amostra.

2.5 Determinação do Teor de Flavonoides nos extratos de subproduto de *Malpighia emarginata*

O teor de flavonoides totais foi determinado através do método colorimétrico com cloreto de alumínio conforme Alves e Kubota (2013). Realizou-se a diluição dos extratos em água (MilliQ) para obtenção de concentrações que variaram de 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL.

Uma alíquota de 0,5 mL dos extratos nas diferentes diluições, foram misturadas a 0,5 mL de solução de cloreto de alumínio 2% (m/v) em metanol e mantida à temperatura ambiente durante 10 minutos. A leitura da absorbância foi realizada em aparelho SpectraMax Plus384 Microplate Reader a 425 nm, em triplicata. Como controle analítico, utilizou-se a solução de cloreto de alumínio. A concentração de flavonoides totais foi calculada de acordo com curva padrão de quercetina (5 – 40 µg/mL) e os resultados foram expressos em µg equivalentes de quercetina (EQ) por mg de extrato.

2.6 Identificação fitoquímica por UHPLC-MS dos extratos etanólicos do subproduto de *Malpighia emarginata*

Os extratos obtidos do subproduto de *M. emarginata* foram caracterizados quanto ao perfil de compostos fenólicos conforme Júnior *et al.*, (2025) através de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (UHPLC-MS/MS) (Shimadzu ® modelo 8050 MS e Nexera ® X2 HPLC). O volume de injeção utilizado foi de 1 µL. As fases móveis foram água Milli-Q acidificada com 0,1% de ácido fórmico (A) e MS grau metanol (Merck ® (Darmstadt, Alemanha)) (B), operada a uma vazão de 0,5 mL/min, em modo gradiente linear: 1–9 min (20% B), 10–15 min (40% B) e 16–30 min (10% B). A corrida foi realizada utilizando uma coluna C18 (5 µm, 150 × 4,6 mm, Shimadzu ®), sem pré-coluna. A temperatura do amostrador automático e da coluna foi mantida a 40 °C. O detector MS/MS foi operado em modo de varredura por 15 min (taxa de varredura de até 30.000 u/s). Foi monitorado em fonte de ionização por eletrospray (EIS) positiva e negativa, escaneado em modo de monitoramento de múltiplas reações (MRM) (até 555 MRMs/s). A energia de colisão foi de 30 V (negativa) e -15 V (positiva). As vazões de gás de secagem e nebulização e gás de secagem foram de 10 L/min e 3 L/min, respectivamente. Os valores de tensão de interface, corrente e temperatura foram de 3 kV, 7 µA e 300 °C, respectivamente, enquanto a temperatura de dessolvatação correspondeu a 526 °C. O argônio foi usado como gás de colisão a uma pressão máxima de 20 mPa e o tempo de permanência foi de 2 a 12s. Foi utilizado o software Insight versão 5.123 (Shimadzu ®) para a quantificação dos compostos detectados, de acordo com as curvas analíticas (10-250 µg/L) dos seguintes compostos: ácido gálico, morina, catecol, naringenina, siringaldeído, isovanilina, hidroxibenzaldeído, quercetina, ácido salicílico, ácido siríngico, ácido clorogênico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido *p*-hidroxibenzóico, naringina, ácido cafeico, vanilina, ácido *p*-cumárico, ácido sinápico, aldeído coniferílico, catequina, sinapaldeído, rutina, siringaldazina, teobromina, epicatequina,

baicalina, luteolina, kaempferol, ácido quínico, ácido málico, cafeína, crisina, cumarina, ácido resorcílico, ácido nicotínico e ácidos fumáricos (Júnior *et al.*, 2025).

2.7 Atividade antioxidante

2.7.1 Método de sequestro do radical livre 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Para determinar a capacidade do sequestro de radicais livres de DPPH, foi utilizada a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007). Uma alíquota de 10 μ L das amostras nas concentrações de 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL foram adicionadas em 290 μ L de solução metanólica de DPPH (60 μ M). Para o controle negativo foi utilizado 10 μ L de metanol na solução de DPPH (60 μ M). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 30 minutos. A redução da absorbância foi medida em 515 nm em um aparelho SpectraMax Plus 384 Microplate Reader. A capacidade antioxidante total foi calculada usando uma solução padrão de quercetina (60 μ M) como referência de 100%. A partir da correlação entre absorbância versus concentração da amostra antioxidante, foi determinada a concentração necessária para reduzir 50% dos radicais livres (IC₅₀).

2.7.2 Poder de redução do ferro (FRAP)

O preparo do reagente FRAP foi realizado utilizando a metodologia de Benzie e Strain (1996), modificada por Rufino *et al.* (2006a), dos quais foram combinados 25 mL de tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL de solução aquosa de 2,4,6-Tris (2-piridil)-striaizina (TPTZ - 10 mM), 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM) e 3 mL de água destilada. A solução reagente foi composta por 10 μ L extratos nas concentrações de 1,00; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL, 290 μ L do reagente FRAP em cada poço da microplaca. A mistura foi colocada no aparelho SpectraMax Plus384 Microplate Reader e mantida a 37 °C por 30 minutos. Absorbância foi lida em 595 nm. Usando uma curva padrão de sulfato ferroso (0 – 2000 μ M) foi calculada a percentagem de atividade antioxidante. A atividade antioxidante foi expressa em μ M sulfato ferroso/mg da amostra.

2.7.3 Método do radical ABTS• + (2,2'azinobis-(3ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical ABTS•+, utilizou-se a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007). Inicialmente, foi preparado o radical

ABTS•+, a partir da reação de 5,0 mL de ABTS 7 mM com 88 µL de persulfato de potássio 140 mM, os quais foram incubados à temperatura ambiente e na ausência de luz, por 16 horas. Posteriormente, 1 mL da solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorvância de 0,70 nm ± 0,05 nm a 734 nm. Para realizar as análises, foram utilizadas microplacas com 96 poços, sendo adicionado em cada poço 10 µL dos extratos (nas concentrações de 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL) e 290 µL da solução contendo o radical ABTS•+. A mistura foi colocada no aparelho SpectraMax Plus384 Microplate Reader e a absorvância determinada após 30 minutos de reação à 734 nm. Como solução-padrão, usou-se o antioxidante sintético Trolox nas concentrações de 100; 500; 1.000; 1500 e 2000 µM em etanol. As leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em mM de Trolox por grama de extrato.

2.8 Atividade antibacteriana

2.8.1 Microrganismos

As espécies de bactérias Gram positivas avaliadas foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus cereus* ATCC 12228, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. As bactérias Gram negativas foram: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhi ATCC 19214 e *Escherichia coli* ATCC 25922. Os microrganismos foram provenientes do Laboratório de Biotecnologia de Produtos Vegetais e Microrganismos da Unipar - Umuarama/Pr.

2.8.2 Preparo e padronização do inóculo

Para os ensaios, foi preparada a diluição da massa celular bacteriana a partir do cultivo por 24 h em ágar Muller Hinton. A concentração de células foi ajustada em solução salina estéril 0,85% (m/v) utilizando a Escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) e ajustada em espectrofotômetro (SpectraMax Plus 384 Microplate Reader) a 625 nm. A seguir foi feita a diluição da suspensão 1:10 em meio de cultura Muller Hinton, obtendo-se como inóculo $1,5 \times 10^7$ UFC/mL, a qual foi utilizada para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM).

2.8.3 Método de microdiluição em caldo

Foi realizado um *screening* para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de cada microrganismo frente a cada extrato de subproduto de *M. emarginata*. A CIM foi determinada conforme o método de microdiluição em caldo (CLSI, 2015) modificado para

produtos naturais. Os extratos foram dissolvidos em água destilada estéril e Tween 80 2%, e então analisados nas concentrações de 0,084 a 43 mg/mL. Para isso, 50 µL de caldo Muller Hinton foram adicionados em cada poço da microplaca, posteriormente foram adicionados os extratos e realizado a diluição seriada (1:2) em um volume total de 100 µL da solução (meio de cultura e amostras). Após a diluição seriada, 50 µL do inóculo foi adicionado a cada poço ($1,5 \times 10^5$ UFC/mL) e submetido à incubação por 35 °C por 24 h. A leitura foi realizada com a adição de 20 µL de revelador 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (Reatec®) a 1,0% em cada poço seguida de incubação das microplacas a 35 °C por 20 min. A CIM foi definida como a menor concentração que resultou em inibição do crescimento visual. A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada pelo subcultivo de 10 µL de cada poço. Foi utilizado o aditivo nitrito de sódio (0,20 a 100 mg/mL) dissolvido em água destilada estéril como padrão. Posteriormente, os extratos que apresentaram melhor CIM foram submetidos a análise do efeito da combinação entre extrato e nitrito de sódio.

2.8.4 Efeito da combinação entre extratos de subproduto *Malpighia emarginata* e nitrito de sódio

Foram analisados o efeito potencial sinérgico antibacteriano entre o extrato US34 e MC34, que apresentaram melhor CIM na análise anterior, com o padrão nitrito de sódio em bactéria gram-negativa e gram-positiva (*S. enterica* Typhi ATCC 19214 e *S. aureus* ATCC 29213). Os testes foram realizados pelo método *Checkerboard*. As concentrações testadas foram baseadas nos resultados da CIM do extrato de subproduto e nitrito de sódio obtido no ensaio anterior. As microplacas foram incubadas por 35 °C por 24 h. O índice de concentração fracional inibitório (FIC) foi definido como a soma dos CIMs de cada composto antibacteriano em combinação dividido pelo CIM do composto antibacteriano sozinho (Batista *et al.*, 2019) Os resultados foram interpretados como (FIC \leq 0,5), adição ($0,5 \leq$ FIC \leq 1), indiferença ($1 <$ FIC \leq 4) ou antagonismo (FIC $>$ 4) *Checkerboard* (Odds, 2003).

2.9 Análise estatística

Todos os testes foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos através da média \pm desvio padrão e analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para determinar se houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos. A análise foi realizada utilizando o software InfoStat® 2020.

3 RESULTADOS

3.1 Teor de fenóis totais e flavonoides no extrato de *Malpighia emarginata*

O teor de fenóis totais dos extratos etanólicos de *M. emarginata* são apresentados na Tabela 1. Os resultados mostram que os valores foram maiores na concentração 1 mg/mL para todos os extratos, e o que apresentou maior teor de fenóis foi o extrato US34 ($141,5 \pm 4,29 \mu\text{g}$ EAG/ mg de amostra) e a menor quantidade de fenóis totais foi encontrada no extrato MC70 ($79,14 \mu\text{g}$ EAG/ mg de amostra).

Tabela 1. Concentração de Fenóis Totais (μg EAG/mg) dos extratos etanólicos do subproduto de *Malpighia emarginata*.

Amostra	Concentração			
	1 mg/mL	0,75 mg/mL	0,5 mg/mL	0,25 mg/mL
US34	$141,5 \pm 4,29^{\text{aA}}$	$105,8 \pm 3,81^{\text{bA}}$	$72,05 \pm 2,76^{\text{cA}}$	$38,33 \pm 0,47^{\text{dA}}$
US70	$79,14 \pm 5,58^{\text{aC}}$	$68,46 \pm 3,98^{\text{bC}}$	$44,31 \pm 0,95^{\text{cC}}$	$17,74 \pm 3,27^{\text{dB}}$
MC34	$87,17 \pm 5,37^{\text{aBC}}$	$69,79 \pm 2,15^{\text{bC}}$	$44,27 \pm 4,38^{\text{cC}}$	$20,56 \pm 1,03^{\text{dB}}$
MC70	$95,09 \pm 5,65^{\text{aB}}$	$82,60 \pm 4,87^{\text{bB}}$	$53,12 \pm 3,11^{\text{cB}}$	$22,87 \pm 3,92^{\text{dB}}$

US34 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 34%; US70 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 70%; MC34 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 34%; MC70 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 70%. Os valores são a média \pm desvio padrão da análise realizada em triplicata. A análise estatística empregada foi análise de variância (ANOVA), e as diferenças entre as médias determinadas pelo teste de Tukey. Valores na mesma linha com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$), valores na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Na Tabela 2, apresenta-se os valores do teor de flavonoides dos extratos do subproduto de *M. emarginata*. O extrato US34 apresentou a maior concentração $135,41 \pm 3,21 \mu\text{g}$ EQ/mg de extrato, enquanto a menor concentração foi do extrato MC34 ($42,72 \pm 0,60 \mu\text{g}$ EQ/mg de extrato).

Tabela 2. Teor de Flavonoides ($\mu\text{g EQ/mg}$) dos extratos etanólicos do subproduto de *Malpighia emarginata* extraído por diferentes métodos.

Amostra	Concentração do extrato			
	1 mg/mL	0,75 mg/mL	0,5 mg/mL	0,25 mg/mL
US34	127,01 \pm 4,07 ^{bA}	128,86 \pm 0,51 ^{abA}	135,41 \pm 3,21 ^{aA}	124,53 \pm 2,10 ^{bA}
US70	100,62 \pm 1,80 ^{aC}	99,26 \pm 0,10 ^{aB}	99,68 \pm 3,30 ^{aB}	95,41 \pm 5,71 ^{aB}
MC34	42,72 \pm 0,60 ^{cD}	49,83 \pm 0,30 ^{bD}	53,35 \pm 1,06 ^{bD}	61,21 \pm 3,50 ^{aD}
MC70	110,41 \pm 5,29 ^{aB}	62,34 \pm 2,86 ^{cC}	62,90 \pm 2,25 ^{bcC}	72,68 \pm 4,44 ^{bC}

US34 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 34%; US70 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 70%; MC34 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 34%; MC70 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 70%. Os valores são a média \pm desvio padrão da análise realizada em triplicata. A análise estatística empregada foi análise de variância (ANOVA), e as diferenças entre as médias determinadas pelo teste de Tukey. Valores na mesma linha com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$), valores na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). EQ = equivalente de quercetina.

3.2 Composição química

A composição química dos extratos de subproduto de *M. emarginata*, realizada por UHPLC/MS-MS estão apresentados na Tabela 3. Os extratos do subproduto de *M. emarginata* apresentaram em sua composição 23 compostos orgânicos, sendo os principais pertencentes a classe dos flavonoides, ácidos fenólicos e aldeídos fenólicos. Todos os extratos apresentaram ácido málico ($>100 \mu\text{g/g}$) como composto principal. Além disso, o extrato US34 apresentou como compostos majoritários o ácido protocatecuico (82,01 $\mu\text{g/g}$), ácido resorcílico (80,39 $\mu\text{g/g}$), rutina (67,23 $\mu\text{g/g}$), ácido quínico (41,71 $\mu\text{g/g}$) e ácido *p*-hidroxibenzoico (39,01 $\mu\text{g/g}$). Enquanto o extrato US70 apresentou rutina (57,01 $\mu\text{g/g}$), ácido resorcílico (50,99 $\mu\text{g/g}$), ácido protocatecuico (50,69 $\mu\text{g/g}$), vanilina (26,13 $\mu\text{g/g}$) e ácido *p*-hidroxibenzoico (25,77 $\mu\text{g/g}$), como compostos predominantes. Já o extrato MC34 apresentou como majoritários, rutina (36,62 $\mu\text{g/g}$), vanilina (29,78 $\mu\text{g/g}$), ácido *p*-hidroxibenzoico (26,27 $\mu\text{g/g}$), ácido protocatecuico (22,67 $\mu\text{g/g}$) e ácido resorcílico (21,54 $\mu\text{g/g}$). O extrato MC70 apresentou ácido protocatecuico (84,01 $\mu\text{g/g}$), ácido resorcílico (79,78 $\mu\text{g/g}$), rutina (76,40 $\mu\text{g/g}$), ácido *p*-hidroxibenzoico (42,06 $\mu\text{g/g}$) e ácido quínico (41,71 $\mu\text{g/g}$), como compostos majoritários.

Assim, os diferentes extratos apresentaram concentrações distintas dos compostos identificados o que deve-se à influência dos métodos de extração na composição química dos extratos.

Tabela 3. Composição por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas ($\mu\text{g/g}$) dos extratos etanólicos do subproduto de *Malpighia emarginata* extraído por diferentes métodos.

Classe	Composto	US34	US70	MC34	MC70
Flavonoide	Rutina	67,23 \pm 0,43 ^b	57,01 \pm 1,12 ^c	36,62 \pm 1,12 ^d	76,40 \pm 0,23 ^a
	Epicatequina	4,53 \pm 0,12 ^{ab}	4,69 \pm 0,40 ^a	3,75 \pm 0,17 ^b	4,78 \pm 0,01 ^a
	Catequina	3,79 \pm 0,22 ^{ab}	4,47 \pm 0,14 ^a	2,98 \pm 0,23 ^c	3,52 \pm 0,18 ^{bc}
	Naringenina	2,95 \pm 0,15 ^c	4,53 \pm 0,21 ^b	0,95 \pm 0,04 ^d	8,44 \pm 0,14 ^a
	Quercetina	0,54 \pm 0,07 ^c	3,97 \pm 0,25 ^b	<0,5 ^d	9,59 \pm 0,09 ^a
Ácido fenólico	Ácido Protocatecuico	82,01 \pm 0,63 ^a	50,69 \pm 1,20 ^b	22,67 \pm 0,30 ^c	84,01 \pm 0,45 ^a
	Ácido Resorcílico	80,39 \pm 0,93 ^a	50,99 \pm 0,68 ^b	21,54 \pm 0,27 ^c	79,78 \pm 0,48 ^a
	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	39,01 \pm 0,03 ^b	25,77 \pm 0,13 ^c	26,27 \pm 0,19 ^c	42,06 \pm 0,13 ^a
	Vanilina	28,56 \pm 0,44 ^a	26,13 \pm 0,57 ^a	29,78 \pm 0,57 ^a	26,60 \pm 2,54 ^a
	Ácido <i>p</i> -cumárico	20,58 \pm 0,24 ^b	15,08 \pm 0,24 ^c	13,83 \pm 0,07 ^d	24,71 \pm 0,00 ^a
	Ácido Ferúlico	4,86 \pm 0,31 ^b	4,33 \pm 0,10 ^{bc}	3,88 \pm 0,10 ^c	6,93 \pm 0,14 ^a
	Ácido Vanílico	4,54 \pm 0,12 ^a	3,70 \pm 0,19 ^b	3,02 \pm 0,13 ^b	4,64 \pm 0,32 ^a
	Ácido cafeico	3,44 \pm 0,25 ^a	2,06 \pm 0,05 ^b	1,46 \pm 0,13 ^b	3,23 \pm 0,13 ^a
	Aldeído fenólico	Coniferil Aldeído	24,76 \pm 0,69 ^b	16,57 \pm 0,25 ^c	11,87 \pm 0,25 ^d
Isovanilina		4,58 \pm 0,16 ^b	4,40 \pm 0,06 ^b	5,69 \pm 0,20 ^a	4,17 \pm 0,19 ^b
Siringaldeído		3,48 \pm 0,00 ^b	2,87 \pm 0,27 ^{ab}	2,61 \pm 0,26 ^b	4,48 \pm 0,01 ^a
Hidroxibenzaldeído		2,75 \pm 0,04 ^{ab}	2,30 \pm 0,27 ^b	2,13 \pm 0,29 ^b	3,23 \pm 0,15 ^a
Sinapaldeído		1,31 \pm 0,13 ^a	1,07 \pm 0,26 ^a	1,03 \pm 0,22 ^a	1,51 \pm 0,28 ^a
Ácidos orgânicos	Ácido. Málico	>100	>100	>100	>100
	Ácido Quínico	41,71 \pm 0,39 ^a	17,01 \pm 0,64 ^c	9,06 \pm 0,18 ^d	38,27 \pm 0,01 ^b
	Ácido Nicotínico	6,09 \pm 0,05 ^a	4,65 \pm 0,03 ^d	5,24 \pm 0,11 ^c	5,79 \pm 0,04 ^b
Alcalóide	Cafeína	0,83 \pm 0,08 ^a	0,81 \pm 0,06 ^a	0,72 \pm 0,04 ^a	0,82 \pm 0,03 ^a

US34 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 34%; US70 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 70%; MC34 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 34%; MC70 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 70%. Os valores são a média \pm desvio padrão da análise realizada em triplicata. A análise estatística empregada foi análise de variância (ANOVA), e as diferenças entre as médias determinadas pelo teste de Tukey. Valores na mesma linha com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

3.3 Atividade antioxidante

A Tabela 4, apresenta os valores das análises de atividade antioxidante determinada por DPPH, FRAP e ABTS dos extratos do subproduto de *M. emarginata*. Comparados com os padrões quercetina e Trolox, os extratos não apresentaram atividades antioxidantes significativas, entretanto os padrões são substâncias puras. Esses resultados sugerem que a eficiência antioxidante dos extratos varia conforme o método analítico e o tipo de extração empregado, indicando a presença de diferentes compostos bioativos com múltiplos mecanismos de ação antioxidante.

Tabela 4. Atividade antioxidante determinada pelo sequestro do radical livre 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e do poder de redução do ferro (FRAP) e pelo ensaio do radical 2,2 – (ABTS) dos extratos etanólicos do subproduto de *Malpighia emarginata*

Amostras	DPPH	FRAP	ABTS
	IC ₅₀ (mg/mL)	(μ M sulfato ferroso / mg)	(μ M de Trolox / mg)
US34	3,81 \pm 0,37 ^b	0,92 \pm 0,05 ^b	3,57 \pm 0,054 ^b
US70	7,05 \pm 0,44 ^c	0,72 \pm 0,03 ^c	5,91 \pm 0,75 ^a
MC34	5,89 \pm 0,63 ^c	0,74 \pm 0,03 ^c	4,63 \pm 0,43 ^{ab}
MC70	3,87 \pm 0,33 ^b	0,97 \pm 0,08 ^b	5,01 \pm 0,48 ^a
Quercetina	0,01 \pm 0,001 ^a	-	-
Trolox	-	9,17 \pm 0,001 ^a	0,25 \pm 0,0025 ^c

US34 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 34%; US70 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 70%; MC34 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 34%; MC70 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 70%. Os valores são a média \pm desvio padrão do experimento realizado em triplicata. A análise estatística empregada foi análise de variância (ANOVA), e as diferenças entre as médias determinadas pelo teste de Duncan ($P \leq 0.05$). Valores na mesma coluna com diferentes letras são significativamente diferentes ($P \leq 0.05$). EC50: DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil); Atividade antioxidante; Controles positivos para DPPH: Quercetina (0.010 mg/mL); FRAP: poder antioxidante de redução do ferro; Controles positivos para FRAP: Trolox (9.18 mg/mL). ABTS: Trolox.

3.4 Atividade antibacteriana

A Tabela 5 apresenta os valores de CIM e CBM dos extratos etanólicos de *M. emarginata* avaliados frente a bactérias testadas, bem como do controle positivo nitrito de sódio, cujos valores variaram entre 4,8 a 40 mg/mL. Todos os extratos demonstraram ação antibacteriana contra as cepas analisadas. O extrato US34 apresentou os menores valores de CIM (4,8 mg/mL), indicando maior eficácia e espectro mais amplo de ação antibacteriana. Esse valor foi 2,6 vezes inferior à CIM observada para o nitrito de sódio (12,5 mg/mL). Em contraste, o extrato US70 apresentou os maiores valores de CIM frente às bactérias avaliadas, evidenciando menor potencial antibacteriano e espectro de ação mais restrito.

Os valores de CBM dos extratos e nitrito de sódio em bactérias variaram de 4,8 a >100 mg/mL, sendo que a menor CBM apresentada foi do extrato US34 (4,8 mg/mL) em quase todas as bactérias analisadas, esse valor foi 21 vezes menor que o CBM do nitrito de sódio (100 mg/mL) utilizado como controle. Dessa forma, o extrato US34 apresentou ação bactericida frente as cepas bacterianas avaliadas.

Tabela 5. Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) (mg/mL) dos extratos de subproduto de *Malpighia emarginata* e nitrito de sódio.

Bactérias	US34	US70	MC34	MC70	Nitrito de sódio
	CIM CBM	CIM CBM	CIM CBM	CIM CBM	CIM CBM
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	4,80 ± 0,00	40,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	4,80 ± 0,00	40,00 ± 0,00	> 40,00	>40,00	100,00 ± 0,00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	4,80 ± 0,00	40,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	9,50 ± 0,00	40,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 12228	4,80 ± 0,00	40,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	4,80 ± 0,00	40,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	4,80 ± 0,00	40,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	38,20 ± 0,00	40,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	>100,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	19,10 ± 0,00	40,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	38,20 ± 0,00	>40,00	40,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	50,00 ± 0,00
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	4,80 ± 0,00	20,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	38,20 ± 0,00	40,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>Salmonella enterica</i> Typhi ATCC 19214	4,80 ± 0,00	40,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	38,20 ± 0,00	40,00 ± 0,00	40,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	20,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	40,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00

US34 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 34%; US70 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 70%; MC34 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 34%; MC70 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 70%. Os valores são a média ± desvio padrão do experimento realizado em triplicata. A análise estatística empregada foi análise de variância (ANOVA), e as diferenças entre as médias determinadas pelo teste de Tukey. Valores na mesma linha com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$), valores na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

3.3 Sinergismo

Conforme Tabela 9, os resultados de FIC indicaram sinergismo para ambos os extratos testados em combinação com o nitrito de sódio, tanto frente a *S. aureus* ATCC 29213 quanto a *S. enterica* Typhi ATCC 1921. Esses achados evidenciam o potencial da combinação de antimicrobianos em possíveis aplicações alimentícias com o intuito de reduzir o uso de aditivo sintético. Ademais, o extrato US34 apresentou valores de FIC inferiores aos observados para o extrato MC34 em ambas as cepas bacterianas, evidenciando seu maior potencial antibacteriano na forma combinada.

Tabela 9. Índice fracional inibitório (FIC) dos extratos etanólicos do subproduto de *M. emarginata* US34 e MC34 e nitrito de sódio.

Compostos utilizados	Bactéria	FIC
US34 Nitrito de Sódio	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,17 ± 0,02 ^a
MC34 Nitrito de Sódio	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,50 ± 0,00 ^d
US34 Nitrito de Sódio	<i>S. enterica</i> Typhi ATCC 1921	0,26 ± 0,01 ^b
MC34 Nitrito de Sódio	<i>S. enterica</i> Typhi ATCC 1921	0,31 ± 0,09 ^c

US34 = extrato obtido por extração assistida por ultrassom e etanol 34%; MC34 = extrato obtido em extração por maceração e etanol 34%. Os valores são a média ± desvio padrão do experimento realizado em triplicata. A análise estatística empregada foi análise de variância (ANOVA), e as diferenças entre as médias determinadas pelo teste de Tukey. Valores na mesma coluna com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

4 DISCUSSÃO

Malpighia emarginata destaca-se como uma matriz rica em compostos bioativos, incluindo antocianinas, carotenoides, flavonoides e compostos fenólicos, os quais estão diretamente relacionados com suas propriedades bioativas (Vega-Baudrit *et al.*, 2023).

A obtenção desses compostos, entretanto, é dependente das condições de extração, principalmente o método empregado e a natureza do solvente utilizado. Nesse sentido abordagens que demandam menor volume de solvente, menor tempo de processamento e maior eficiência na recuperação de compostos bioativos têm despertado crescente interesse, não apenas pelo aumento do rendimento extrativo, mas também pela sua viabilidade tecnológica e sustentabilidade. Assim métodos alternativos como extração assistida por ultrassom, têm sido amplamente investigados por proporcionarem menor tempo de extração, maior rendimento, e redução no consumo de solventes quando comparado a métodos convencionais (Boateng; Clark, 2024).

Nesse contexto, o extrato US34 apresentou teor de fenóis totais de $141,5 \pm 4,29$ μg EAG/mg de amostra, valor superior ao observado nos demais extratos avaliados. Quando comparados com a literatura, esses valores são superiores aos reportados por Donadone *et al.* (2025) relataram teores de fenóis totais variando entre 14,4 e 33,6 μg EAG/mg em extratos obtidos do subproduto de *M. emarginata* por extração assistida por ultrassom. Poletto *et al.* (2021) observaram valores de $106,8 \pm 5,5$ μg EAG/mg em extratos fenólicos provenientes de bagaço de *M. emarginata*, obtidos por extração com fluido supercrítico em modo de fluxo contínuo. Dessa forma, os valores de fenóis totais determinados no presente estudo são superiores aos previamente descritos na literatura. Além disso, superam inclusive os resultados apresentados por Stafussa *et al.* (2021), que encontraram $138,91 \pm 2,55$ μg EAG/mg em purê de *M. emarginata*, ressaltando-se que, nesse caso, a análise foi realizada em fruta *in natura*, e não em subprodutos, o que reforça o desempenho do método de extração empregado neste trabalho.

O extrato US34, conforme Tabela 1, também apresentou maior teor de flavonoides totais (135.41 ± 3.21 μg EQ/mg de extrato), diferindo-se estaticamente dos outros extratos obtidos. Estudos anteriores, como o de Santos *et al.* (2023), relataram que o extrato do resíduo de *M. emarginata* obtido em condições de extração (etanol 34%, por 110 min a 20 °C) apresentou elevadas concentrações de compostos fenólicos ($9,0364 \pm 0,3764$ μg EAG/mg), dos quais destacaram-se flavonoides como catequina, miricetina e rutina, principalmente pela presença de catequina ($32,51 \pm 3,75$ mg 100/g) em sua composição. No presente estudo, a análise

qualitativa confirmou a presença de cinco flavonoides, com destaque para a rutina ($67,23 \pm 0,43 \mu\text{g/g}$), o que sugere que condições de extração com solventes etanólicos favorecem a recuperação desses compostos, o que também reforça a relação entre o teor de fenóis totais e flavonoides totais, indicando que ambos são fortemente influenciados pelas condições de extração.

Essa relação é corroborada pela composição química dos extratos presente na Tabela 3, onde revelou-se uma matriz complexa constituída por aldeídos fenólicos, ácidos orgânicos, ácidos fenólicos, alcalóide e flavonóides. O extrato etanólico (50%) de subproduto de *M. emarginata*, obtido através de extração assistida por ultrassom com sonda, apresentou 29 compostos, sendo 4 ácidos orgânicos, 11 ácidos fenólicos, 8 flavonoides, 5 aldeídos fenólicos e um alcalóide, sendo os compostos majoritários, o ácido málico ($825,71 \mu\text{g/g}$), o ácido protocatecuico ($28,34 \mu\text{g/g}$) e o ácido resorcílico ($25,94 \mu\text{g/g}$) (Donadone *et al.*, 2025). Embora os compostos majoritários apresentados no estudo acima citado, se assemelhem com os do presente trabalho, a quantidade encontrada se difere do presente estudo, isso deve-se possivelmente à variação nas condições experimentais, como à diferença da concentração de solvente e também da análise do trabalho citado anteriormente ter sido realizado em base seca.

Nesse contexto, Santos *et al.* (2023) verificaram que a concentração do solvente é um fator determinante na extração de compostos fenólicos e na atividade antioxidante. Assim, o aumento da concentração de etanol do solvente próximo a 100% apresentou efeito negativo no teor de compostos fenólicos totais. Dessa forma, grande parte dos compostos fenólicos presentes do subproduto de *M. emarginata* apresentam características hidrofílicas.

A composição química observada reflete diretamente nas propriedades bioativas dos extratos. Assim os valores da atividade antioxidante para os métodos avaliados, conforme Tabela 4, foram para DPPH IC_{50} 3,81 a 7,05 mg/mL, para FRAP 0,72 a 0,97 μM sulfato ferroso/mg amostra e para ABTS 3573,85 à 5914,74 μM de Trolox/mg de amostra. A classe majoritária presente nos extratos de *M. emarginata* foram os ácidos fenólicos que apresentam atividade antioxidante atribuída à reatividade do grupo fenólico, especialmente da hidroxila ligada ao anel aromático. O principal mecanismo envolve a neutralização de radicais livres por meio da doação de átomos de hidrogênio, embora outros processos também contribuam para essa ação. A natureza e a posição dos substituintes no anel aromático influenciam a estabilização estrutural dessas moléculas, impactando diretamente sua eficiência antioxidante. Assim, diferentes ácidos fenólicos exibem atividades antioxidantes distintas, variando ainda conforme sua forma química, como livres, esterificados, glicosilados ou não glicosilados (Kumar; Goel, 2019).

De maneira complementar, os extratos apresentaram atividade antibacteriana frente todas as bactérias avaliadas, com destaque pra US34 que apresentou a menor CIM (4,8 mg/mL) para quase todas bactérias. Donadone *et al.* (2025) observaram para o extrato etanólico (50%) por ultrassom tipo sonda de subproduto de *M. emarginata* valores de CIM de 2,89 mg/mL para *L. monocytogenes*, *S. Sonnei* e *S. enterica* subs. *enterica* Typhi, de 5,79 mg/mL para *S. aureus* e *P. aeruginosa* e de 11,32 mg/mL para *E. coli*. O purê de *M. emarginata* apresentou para *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* e *S. enteritidis* CIM de 6,25, 12,50, 25,00 e 12,50 mg/mL sucessivamente (Stafussa *et al.*, 2021). Comichio *et al.* (2024) ao analisarem as propriedades antimicrobianas e antioxidantes aprimoradas de concentrados de vitamina C liofilizados de *M. emarginata* observou valores de CIM para *E. coli* e *S. aureus* de 15,6 mg/mL e 7,8 mg/mL para o extrato liofilizado e de 62 mg/mL e 31 mg/mL para o extrato seco por pulverização.

Embora Donadone *et al.* (2025) e Stafussa *et al.* (2021) tenham avaliado a atividade antibacteriana de extratos de *M. emarginata* utilizando o método de microdiluição em caldo, observa-se que a maioria dos estudos ainda emprega predominantemente o método de difusão em disco, o qual apresenta limitações quanto à determinação da CIM. O método de microdiluição em caldo destaca-se por permitir uma avaliação mais precisa, reprodutível e padronizada da atividade antimicrobiana, possibilitando a quantificação da eficácia dos extratos frente aos microrganismos testados e contribuindo para uma interpretação mais robusta do seu potencial antibacteriano (Palladini *et al.*, 2023).

Santos *et al.* (2023), ao utilizarem o método de difusão em disco, observaram que o extrato otimizado de *M. emarginata* apresentou atividade antibacteriana contra *S. Typhimurium*, com halos de inibição de 8,15 e 7,04 mm nas concentrações de 25% e 50%, respectivamente, além de halo de 7,85 mm frente a *L. monocytogenes* na concentração de 100%. De forma semelhante, Silva *et al.* (2022) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato de *M. emarginata* frente às cepas *S. aureus* CLITS 2275 FIOCRUZ e *coli* CLIST 3862 FIOCRUZ, constatando que os extratos obtidos em dois estágios de maturação (verde e maduro) apresentaram atividade antibacteriana. Os halos de inibição médios para o extrato verde foram de 10,67 mm para *E. coli* e 11,15 mm para *S. aureus*, enquanto o maduro apresentou halos de 9,5 mm e 9,7 mm, respectivamente. Esses valores foram superiores aos observados para o álcool etílico 96%, utilizado como controle positivo, que apresentou halos de 8,0 mm para *E. coli* e 8,5 mm para *S. aureus*. Nesse contexto, destaca-se a necessidade de ampliação dos estudos que empreguem o método de microdiluição em caldo, visto que este possibilita a determinação da CIM e da CBM, fornecendo dados quantitativos essenciais para a caracterização do real

potencial antibacteriano dos extratos de *M. emarginata* e para sua possível aplicação (Palladini *et al.*, 2023).

A atividade antibacteriana observada no presente estudo pode ser diretamente associada à composição química dos extratos, especialmente à presença de ácidos orgânicos, ácidos fenólicos e flavonoides. O ácido málico, composto principal identificado em todos os extratos, pode ocasionar o aumento da permeabilidade da membrana celular, diminuindo o pH intracelular e interrompendo assim as vias metabólicas, o que gera o extravasamento de substâncias intracelulares e dessa forma inibe o crescimento bacteriano (Huang *et al.*, 2025).

Os ácidos fenólicos, por sua vez, apresentam mecanismos de ação complexos e atuam por múltiplas vias, estes compostos promovem por hiperacidificação e o aumento da permeabilidade a desestabilização das membranas celulares bacterianas, o que resulta no extravasamento intracelular. Além disso, inibem enzimas essenciais ao funcionamento celular, como a topoisomerase, DNA girase e a d-alanina ligase. Também interferem em processos metabólitos bacterianos, promovem a inibição das bombas de efluxo e modulam a expressão gênica, comprometendo a adaptação e a sobrevivência microbiana (Vargas-Anaya *et al.*, 2025). Compostos como o ácido protocatecuico que amplamente está presente em vegetais, ervas medicinais e frutas possui uma forte e ampla atividade antibacteriana. Além disso, após a incubação em solução de ácido protocatecuico a 0,5% a 37°C por 3h, células de *E. coli* 0157:H7 foram completamente deformadas e visivelmente destruídas e células de *S. aureus* ATCC 2932 apresentaram também permeabilidade, colapso e encolhimento significativo (Zhong *et al.*, 2021). O ácido p-hidroxibenzoico, frequentemente utilizado como conservante em produtos farmacêuticos, medicamentos, cosméticos, bebidas e alimentos também possui propriedades antibacterianas e antifúngicas relatadas (Sharma *et al.*, 2023).

Em paralelo, flavonoides como a rutina, geralmente encontrada em frutas e vegetais, cuja atividade biológica e propriedades farmacológicas são determinadas fundamentalmente por sua estrutura molecular, também contribuem com essa atividade. As propriedades antibacterianas da rutina também são relatadas para várias cepas bacterianas (*S. aureus* ATCC 43300, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 35984, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* PCM 2021, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 e *Proteus mirabilis* ATCC 7002) com CIM variando de 0,128 a 0,102 mg/mL (Miklasińska-Majdanik *et al.*, 2023). Os mecanismos de ação antibacteriana dos flavonoides correspondem a inibição da função da membrana citoplasmática, inibição da síntese de ácido nucleico, inibição da fixação e formação de biofilme, inibição do

metabolismo energético, alteração da permeabilidade da membrana, inibição da porina na membrana celular e atenuação da patogenicidade (Xie *et al.*, 2015). Assim, a atividade antibacteriana observada não pode ser atribuída a um único composto, mas sim ao efeito combinado e complementar desses compostos.

O extrato do subproduto de *M. emarginata* apresentou ação antibacteriana superior ao nitrito de sódio para as espécies *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. sonnei*, *S. enterica* Typhi e *coli*. Tendo em vista as propriedades bioativas do extrato do subproduto de *M. emarginata*, este pode ser um possível substituto ao conservante sintético nitrito de sódio, que no estômago, produz radicais livres ou nitrosaminas, os quais podem aumentar a peroxidação lipídica, representando diversos riscos à saúde de vários órgãos do corpo. Ademais, espécies reativas de nitrogênio apresentam muitos efeitos tóxicos como nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e desregulação de respostas inflamatórias (Attia *et al.*, 2021).

Entretanto, o uso de aditivos naturais na conservação de alimentos pode apresentar alguns desafios como mudanças negativas nas propriedades sensoriais dos alimentos e a necessidade de altas concentrações; assim o uso combinado de compostos antibacterianos é uma alternativa às alterações indesejáveis e reduzir a concentração de aditivos. Logo, a combinação de conservante sintético com compostos naturais pode contribuir para reduzir aditivos sintéticos comumente utilizados na indústria de alimentos e conquistar o equilíbrio entre a aceitabilidade sensorial e a segurança microbiana (Batista *et al.*, 2019).

Embora todos os extratos analisados tenham apresentado efeito sinérgico para *S. aureus* e *S. enterica* Typhi, os valores de FIC da combinação do extrato US34 com o nitrito de sódio para *S. aureus* (0,17) foi o menor, apresentando assim melhor efeito sinérgico do que as demais amostras. Os resultados de FIC obtidos neste trabalho (0,17 a 0,50) corroboram com o trabalho de Attia *et al.* (2021) que realizou a combinação de nitrito de sódio com extrato de casca de tangerina, tendo atividade antibacteriana sinérgica contra *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* e *coli*, os resultados de FIC variaram de 0,18 a 0,5, o que indica que as combinações tiveram efeito sinérgico em todas as bactérias testadas.

Desse modo, a combinação do extrato etanólico de *M. emarginata* com nitrito de sódio, é uma alternativa para a substituição total ou parcial de aditivos sintéticos, além de seu efeito antioxidante. No entanto, para uma melhor compreensão, seria necessário, uma análise da sua aplicação em uma matriz alimentar para analisar seu potencial conservante.

5 CONCLUSÕES

Conclui-se que os extratos do subproduto de *M. emarginata* obtidos pelos métodos de extração por ultrassom e maceração (34 e 70%) apresentaram compostos bioativos como fenois e flavonoides, principalmente, ácido málico, ácido protocatecuico, ácido resorcílico, ácido p-hidroxibenzoico e rutina. O método de extração e a concentração do solvente influenciaram as atividades antioxidantes e antibacterianas, com destaque para US34. A combinação do extrato do subproduto com o nitrito de sódio apresentou efeito sinérgico antibacteriano, mostrando seu potencial para aplicação na indústria como conservante em alimentos. Desta forma, o subproduto de *M. emarginata* apresenta potencial fonte para obtenção de compostos bioativos, contribuindo para a sustentabilidade industrial.

6 AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Paranaense (UNIPAR), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e Fundação Araucária pela bolsa e financiamento da pesquisa.

7 REFERÊNCIAS

- Alves, E.; Kubota, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, p. 37-41, 2013.
- Attia, G. H. et al. Synergistic Effect of Mandarin Peels and Hesperidin with Sodium Nitrite against Some Food Pathogen Microbes. **Molecules**, v. 26, 2021.
- Batista, A. F. P. *et al.* Inhibition of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by combined carvacrol and potassium sorbate *in vitro* and in tomato paste. **LWT – Food Science and Technology**, v. 100, p. 92-98, 2019.
- Benzie, I. F. F.; Strain, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- Boateng, I. D.; Clark, K. Trends in extracting Agro-byproducts phenolics using non-thermal technologies and their combinative effect: Mechanisms, potentials, drawbacks, and safety evaluation. **Food Chemistry**, v. 437, 137841, 2024.
- CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests**. Approved Standard M07-A10. CLSI, Wayne, 2015.
- Comichio, F. M. *et al.* Enhanced antioxidant and antimicrobial properties of lyophilized vitamin c concentrates from *Malpighia emarginata* (acerola): a comparative study. **Ciência e Natura**, v. 46, e83711, 2024.
- Donadone, D. B. S. *et al.* Enhancement of Phenolic Recovery by Probe-Type Ultrasound-Assisted Extraction of Acerola By-Product and Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities. **Applied Sciences**, v. 15, 9154, 2025.
- Gómez-García, R. *et al.* Valorisation of food agro-industrial by-products: From the past to the present and perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 299, 113571, 2021.
- Huang, H. *et al.* Ultrasound and lactic/malic acid treatment for mitten crab decontamination: Efficacy and mechanisms against *A. hydrophila*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 115, 107294, 2025.
- IBGE. **Produção de acerola**. 2017. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/acerola/br>. Acesso em 04 de fevereiro de 2025.
- Júnior, F. D. B. *et al.* Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds and Flavonoids from Banana Inflorescence and Characterization of Its Fibrous Residue. **Separations**, v.12, 109, 2025.
- Kumar, N.; Goel, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 24, e00370, 2019.

Lima, M. C. *et al.* A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 130, p. 259-270, 2019.

Miklasińska-Majdanik, M. *et al.* The Direction of the Antibacterial Effect of Rutin Hydrate and Amikacin. **Antibiotics**, v. 12, 1469, 2023.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. Objetivos do desenvolvimento sustentável. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em 17 de julho de 2023.

Odds, F. C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, p.1-1, 2003.

Padovano, M. *et al.* Sodium Nitrite Intoxication and Death: Summarizing Evidence to Facilitate Diagnosis. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, 2022.

Palladini, G. *et al.* Comparison between broth microdilution and agar disk diffusion methods for antimicrobial susceptibility testing of bovine mastitis pathogens. **Journal of Microbiological Methods**, v. 212, 106796, 2023.

Pateiro, M. *et al.* Application of essential oils as antimicrobial agents against spoilage and pathogenic microorganisms in meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 337, 2021.

Poletto, P. G. *et al.* Recovery of ascorbic acid, phenolic compounds and carotenoids from acerola by-products: An opportunity for their valorization. **LWT**, v. 146, 111654, 2021.

Reguengo, L. M. *et al.* Agro-industrial by-products: Valuable sources of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 152, p. 110871, 2022.

Rufino, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS+. **Comunicado Técnico Embrapa**. 1258, 1–10, 2007.

Rufino, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**. 127,1–4, 2007.

Rufino, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Embrapa**. 127, 1–4, 2006.

Sani, I. K. *et al.* Value-added utilization of fruit and vegetable processing by-products for the manufacture of biodegradable food packaging films. **Food Chemistry**, v. 405, 134964, 2023.

Santos, E. N. *et al.* From waste to wonder: Unleashing the antimicrobial and antioxidant potential of acerola residue using a central composite rotatable design. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, v. 6, 2023.

- Sette, P. *et al.* Integral valorization of fruit waste from wine and cider industries. **Journal of Cleaner Production**, v. 242, 118486, 2020.
- Sharma, R. *et al.* Synthesis, characterization, quantum chemical calculation, Hirshfeld surface analysis and antibacterial activity of a co-crystal of 4-Aminopyridine: p-Hydroxybenzoic acid with a water molecule. **Journal of Molecular Structure**, v. 1284, 135309, 2023.
- Silva, G. D. F. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de *Malpighia emarginata* frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* in vitro. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, e10411326291, 2022.
- Song, L. *et al.* Antibacterial Modes of Herbal Flavonoids Combat Resistant Bacteria. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022.
- De Sá, P. G. D *et al.* Total phenols, total flavonoids and antioxidant activity of *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 561-566, 2012.
- Stafussa, A. P. *et al.* Bioactivity and bioaccessibility of phenolic compounds from Brazilian fruit purees. **Future Foods**, v. 4, 100066, 2021.
- Swain, T.; Hillis, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 18, p. 63-68, 1959.
- Vargas-Anaya, E. *et al.* Novel p-Hydroxybenzoic Acid Derivative Isolated from *Bacopa procumbens* and Its Antibacterial Activity. **Antibiotics**, v. 14, 591, 2025.
- Vega-Baudrit, J. R. *et al.* Acerola (*Malpighia* spp.) Waste: A Sustainable Approach to Nutraceutical, Pharmaceutical, and Energy Applications. **Recycling**, v. 8, 2023.
- Vieira, T. C. *et al.* Prospecção Científica e Tecnológica de *Malpighia emarginata* DC. (*Malpighiaceae*): espécie economicamente importante. **Cadernos de Prospecção – Salvador**, v. 13, n. 3, p. 862-874, 2019.
- Wang, K. *et al.* Development of grapefruit seed extract-loaded poly(ϵ -caprolactone)/ chitosan films for antimicrobial food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**. v. 22, p. 100396, 2019.
- Wen, K. *et al.* Recent Research on Flavonoids and their Biomedical Applications. **Current Medicinal Chemistry**, v. 28, issue 5, 2021.
- XIE, X. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 132-149, 2015.
- Zhong, C. *et al.* Characterization, antioxidant and antibacterial activities of gelatin film incorporated with protocatechuic acid and its application on beef preservation. **LWT**, v. 151, 112154, 2021.

CAPÍTULO II

Extrato de subproduto de *Euterpe edulis*: atividade antibacteriana e aplicação em filme indicador de pH

RESUMO:

Euterpe edulis Martius, espécie nativa da Mata Atlântica, produz frutos cujo processamento gera subprodutos frequentemente descartados, mas com potencial para aplicação como aditivos alimentares de alto valor agregado. Este estudo objetivou avaliar o potencial antibacteriano do extrato do subproduto de *E. edulis* e seu uso como indicador de pH em filmes destinados a embalagens de alimentos. O subproduto, proveniente de agroindústria de Ivaiporã-PR, foi submetido à extração em agitação orbital (25 °C, 30 min, proporção 1:20 m/v), utilizando etanol a 50% e 70% e rotações de 80, 130 e 180 rpm. A atividade antibacteriana foi testada contra bactérias Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhi e *Escherichia coli*) e Gram positivas (*Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*), determinando-se a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) por microdiluição em caldo. Os extratos T2 (etanol 50% e 130 rpm) e T4 (etanol 70% e 180 rpm) foram analisados sobre o seu potencial sinérgico com nitrito de sódio em *S. aureus* e *S. enterica* Typhi. Posteriormente, o extrato T2, foi incorporado em filmes à base de gelatina e alginato de sódio nas concentrações 0,00%, 0,25%, 0,50% e 1,00% e os filmes foram analisados sobre seu potencial indicador de pH e Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Todos os extratos apresentaram atividade antibacteriana, com CIM entre 10 e 40 mg/mL, destacando-se o extrato T2, que exibiu menor CIM (10 mg/mL) para a maioria das cepas. A combinação de extratos com nitrito de sódio resultou em efeito sinérgico, especialmente para o T2, reduzindo as CIMs de ambos os agentes. A análise da composição fitoquímica por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (UHPLC-MS) do extrato T2 identificou flavonoides, ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos, ácidos orgânicos e alcaloides, sendo majoritários os ácidos protocatecuico, p-hidroxibenzoico e resorcílico. Filmes de alginato de sódio e gelatina incorporados com T2 apresentaram boa formação, homogeneidade e variação de cor conforme o pH, com tons avermelhados em meio ácido e esverdeados em pH elevado. Conforme observado na análise de FTIR os filmes ao serem incorporados com extrato preservaram a sua matriz química. Conclui-se que os extratos de *E. edulis*, especialmente o T2, possuem potencial antibacteriano e aplicação promissora em embalagens inteligentes como indicadores de pH, isoladamente ou em combinação com nitrito de sódio na indústria de alimentos.

Palavras-chave: Açaí. Antocianina. Embalagem inteligente.

1 INTRODUÇÃO

Euterpe edulis Martius pertence a ordem Arecales e família Arecaceae (Palmae), sendo popularmente conhecida como açaí do Sul, inçara, içara, palmito, palmito-juçara e juçara (Godoy *et al.*, 2022). É uma árvore nativa da Mata Atlântica, encontrada principalmente nos estados das regiões sudeste e sul do Brasil e destaca-se pela produção de um palmito de elevada qualidade, reconhecido por suas características sensoriais superiores quando comparado a outras espécies do gênero *Euterpe* (Garcia *et al.*, 2019), e também, pela produção de bagas globosas violetas pequenas (1 cm a 1,4 cm de diâmetro) semelhantes às de *E. precatoria* e *oleracea*, comumente utilizadas na produção de açaí, o que lhe confere significativa relevância econômica e comercial no Brasil (Schulz *et al.*, 2017).

Os frutos de *E. edulis* M. apresentam valor nutricional contendo proteínas (5,13 – 8,21%), teor de lipídios (18,45 – 44,08%) (Borges *et al.*, 2011), fibras (71,8%), carboidratos (85,7%) (Inada *et al.*, 2015), vitaminas e minerais e compostos bioativos como flavonoides (Schulz *et al.*, 2016). Além disso, a cor arroxeada intensa dos frutos de *E. edulis* M. está relacionada à presença de antocianinas que pertencem ao grupo dos flavonoides (Frasão *et al.*, 2021).

Entretanto, observa-se que os dados referentes à produção de *E. edulis* M. ainda se apresentam fragmentados e organizados de maneira regionalizada, dificultando a consolidação de informações precisas sobre o volume produtivo, a dinâmica de exploração e o real impacto econômico dessa espécie em escala nacional (Godoy *et al.*, 2022). Em contraste, a produção de espécies do gênero *Euterpe* destinadas ao açaí apresenta registros mais consistentes. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2024 a produção nacional de açaí alcançou 1.741.757 toneladas, correspondendo a um valor econômico de aproximadamente R\$ R\$ 7.770.712.000,00, evidenciando a expressiva contribuição desse segmento para o agronegócio brasileiro e reforçando o potencial econômico das palmeiras do gênero *Euterpe* no contexto da bioeconomia e do desenvolvimento sustentável (IBGE, 2024).

O processamento dos frutos de *E. edulis* M. gera subprodutos que frequentemente não são explorados, podendo ser utilizados na produção de alimentos de elevado valor agregado, como conservantes ou corantes (Garcia *et al.*, 2019), mostrando o potencial desse material para exploração e obtenção de extratos e/ou compostos bioativos.

As antocianinas, compostos presentes em frutos de *E. edulis* M. também são usadas em diversas indústrias como fonte de pigmentos naturais devido sua capacidade de produzir cores

que vão do vermelho ao azul ou roxo. Estas alterações nas cores ocorrem devido a alteração da estabilidade das antocianinas em função do pH, oxigênio, sulfitos, etc. (Enaru *et al.*, 2021).

Em virtude das alterações da estabilidade em função das condições ambientais, as antocianinas podem ser uma alternativa para uso como indicador de pH. Os indicadores visuais de pH correspondem a um corante que seja sensível ao pH e uma matriz sólida que imobilize o corante (Choi *et al.*, 2017). Os filmes com sistemas inteligentes para embalagens de alimentos, podem fornecer instantaneamente informações para o consumidor ou fabricante de alimentos, protegendo-os de Doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA). Tendo em vista que geralmente a deterioração das carnes, frutos do mar e peixes estão associadas a alterações do pH (Yan *et al.*, 2021).

Considerando que os corantes sintéticos podem ocasionar efeitos nocivos em seres humanos, vários estudos têm sido realizados a fim de relatar o potencial dos corantes naturais aplicados em sistemas de embalagens inteligentes. Dentre os corantes naturais, as antocianinas apresentam à ampla faixa de pH, uma reação de cor sensível (Choi *et al.*, 2017), semelhante ao encontrado para *E. edulis* M.

Poucos foram os estudos encontrados que relatam a atividade antibacteriana de extratos do subproduto de *E. edulis* M. Garcia *et al.* (2019) avaliou o extrato hidroalcoólico da farinha da casca de *E. edulis* M., analisando seu perfil fenólico e sua atividade antibacteriana e antioxidante. Entretanto, até o presente momento, não foram encontrados trabalhos que relatam o sinergismo do extrato com um antimicrobiano comercial e também a incorporação do extrato em uma matriz polimérica a fim de verificar seu potencial como um indicador de pH em um sistema de embalagem inteligente.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo, analisar o potencial antibacteriano do extrato do subproduto de *E. edulis* M. e também seu potencial como indicador de pH em filme para aplicação em embalagens de alimentos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foram utilizados os seguintes reagentes: Mueller Hinton Agar (Kasvi), Mueller Hinton Broth (Kasvi), nitrito de sódio P.A. – ACS (Dinâmica, 97%), cloreto de sódio PA ACS (Reatec, álcool etílico ABS. P.A – ACS (Dinâmica), água ultrapura (MILLIQ), água destilada, MS grau metanol (Merck® (Darmstadt, Alemanha), ácido fórmico, MS grau metanol (Merck® (Darmstadt, Alemanha) e os seguintes reagentes da marca sigma aldrich: ácido gálico, morina, catecol, naringenina, siringaldeído, isovanilina, hidroxibenzaldeído, quercitina, ácido salicílico, ácido siríngico, ácido clorogênico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido *p*-hidroxibenzóico, naringina, ácido cafeico, vanilina, ácido *p*-cumárico, ácido sinápico, aldeído coniferílico, catequina, sinapaldeído, rutina, siringaldazina, teobromina, epicatequina, baicalina, luteolina, kaempferol, ácido quínico, ácido málico, cafeína, crisina, cumarina, ácido resorcílico, ácido nicotínico e ácidos fumáricos, gelatina em pó P.A (Dinâmica), alginato de sódio P.A (Dinâmica), glicerina P. A – ACS (Dinâmica), cloreto de potássio P.A. – ACS (Dinâmica), acetato de sódio anidro P.A – ACS (Dinamica) ácido clorídrico.

2.2 Material vegetal

Os subprodutos do processamento de polpa de *Euterpe edulis* M. foram obtidos de agroindústria da região de Ivaiporã-PR. O subproduto foi desidratado em estufa de ventilação forçada a 50 °C por 48 h. O material seco foi triturado em moinho analítico e classificado em mesh 48 em peneiras tipo Tyler (Bertel ASTM) com agitador mecânico (Marconi, MA 750) por 10 min para padronização e homogeneização.

2.3 Obtenção do extrato

A obtenção dos extratos do subproduto de *E. edulis* M. foi realizada de acordo com Garcia *et al.* (2019) com modificações. Para isso foi utilizado equipamento de agitação orbital considerando a proporção massa/volume 1:20 e variáveis de rotação (80, 130 e 180 rpm), utilizando como solvente etanol 50% e 70%, conforme Tabela 1. As extrações foram realizadas a 25 °C por 30 min e posteriormente centrifugada à 3000 rpm por 15 min. Após, os extratos foram congelados e posteriormente liofilizados e armazenados à -20°C.

Tabela 1. Parâmetros de extração do subproduto de *Euterpe edulis* M.

Tratamento	Etanol (%)	Rotação (rpm)
T1	50	80
T2	50	130
T3	50	180
T4	70	180

2.4 Atividade antibacteriana dos extratos do subproduto de *Euterpe edulis* M.

2.4.1 Microrganismos

As bactérias usadas no experimento foram Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644) e Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhi ATCC 19214 e *Escherichia coli* ATCC 25922).

2.4.2 Preparo e padronização do inóculo

Para os ensaios foi preparada a diluição da massa celular bacteriana a partir do cultivo por 24 h em ágar Mueller Hinton. A concentração de células bacterianas foi ajustada utilizando solução salina estéril 0,85% (m/v) usando a Escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) e posteriormente conferida em espectrofotômetro (SpectraMax Plus 384 Microplate Reader) a 625 nm. Após foi feita a diluição da suspensão 1:10 em meio de cultura Muller Hinton Broth, obtendo-se como inóculo $1,5 \times 10^7$ UFC/mL, a qual foi utilizada para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM).

2.4.3 Método de microdiluição em caldo

Foi realizado um screening para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de cada microrganismo frente a cada extrato de subproduto de *Euterpe edulis* M. Para cada microrganismo, foi realizada uma suspensão padronizada em solução salina 0,85%. A CIM foi determinada conforme o método de microdiluição em caldo (CLSI, 2015) modificado para produtos naturais. Os extratos foram analisados nas concentrações de 0,08 a 40 mg/mL.

Para isso, 50 µL de caldo Muller Hinton foram adicionados em cada poço da microplaca, posteriormente foram adicionados os extratos e realizado a diluição seriada (1:2) em um volume total de 100 µL da solução (meio de cultura e amostras). Após a diluição seriada, 50 µL do inóculo foi adicionado a cada poço e submetido à incubação a 35 °C por 24 h. A leitura foi realizada com a adição de 20 µL de revelador 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (Reatec®) a 1,0% em cada poço seguida de incubação das microplacas a 35 °C por 20 min. A CIM foi definida como a menor concentração que resultou na inibição do crescimento visual. A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada pelo subcultivo de 10 µL de cada poço negativo e do controle positivo. Foi utilizado o aditivo nitrito de sódio (0,20 a 100 mg/mL) como padrão. Os extratos que apresentaram melhor CIM foram selecionados e posteriormente submetidos à análise de efeito da combinação entre o extrato e o conservante sintético nitrito de sódio (sinergismo).

2.4.4 Efeito da combinação entre extratos de subproduto *Euterpe edulis* M. e nitrito de sódio

Foram analisados o efeito potencial sinérgico antibacteriano entre os extratos que apresentaram melhor CIM (T2 e T4) de subproduto de *E. edulis* M. com o padrão nitrito de sódio em *S. aureus* ATCC 29213 e *S. enterica* Typhi ATCC 29214. As amostras foram diluídas separadamente baseadas na concentração feita para análise da CIM do extrato de subproduto e nitrito de sódio. Posteriormente, em um tubo estéril foi adicionado 1 mL de nitrito de sódio e 1 mL do extrato, diluídos anteriormente. Os tubos foram agitados em vórtex e prosseguiu-se a análise conforme protocolo da CIM. O extrato que apresentou melhor efeito sinérgico (T2) foi submetido a análise de identificação fitoquímica.

2.5 Identificação fitoquímica por UHPLC-MS/MS do extrato etanólico do subproduto de *Euterpe edulis* M.

O extrato do subproduto de *Euterpe edulis* M. (T2) foi caracterizado em relação ao perfil de compostos fenólicos por meio de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (UHPLC-MS/MS) (Shimadzu® modelo 8050 MS e Nexera® X2 HPLC). O volume de injeção usado foi de 1 µL. As fases móveis utilizadas foram água Milli-Q acidificada com 0,1% de ácido fórmico (A) e MS grau metanol (Merck® (Darmstadt, Alemanha)) (B), operada a uma vazão de 0,5 mL/min, em modo gradiente linear: 1–9 min (20% B), 10–15 min (40% B) e 16–30 min (10% B). A corrida foi

realizada usando uma coluna C18 (5 μm , 150 \times 4,6 mm, Shimadzu $\text{\textcircled{R}}$), sem pré-coluna. A temperatura da coluna e do amostrador automático foi mantida a 40 $^{\circ}\text{C}$. A operação do detector MS/MS ocorreu em modo de varredura por 15 min (taxa de varredura de até 30.000 u/s). Foi monitorado em fonte de ionização por eletrospray (EIS) positiva e negativa, escaneado com modo de monitoramento de múltiplas reações (MRM) (até 555 MRMs/s). A energia de colisão foi de -15 V (positiva) e 30 V (negativa). A vazão de gás de nebulização foi de 3 L/min e a de gás de secagem foi de 10 L/min. Os valores de temperatura, tensão de interface e corrente foram de 300 $^{\circ}\text{C}$, 3 kV e 7 μA , entretanto a temperatura de dessolvatação foi de 526 $^{\circ}\text{C}$. Foi utilizado argônio como gás de colisão em uma pressão máxima de 20 mPa. O tempo de permanência foi de 2 a 12 s. Para a quantificação dos compostos detectados foi utilizado o software Insight versão 5.123 (Shimadzu $\text{\textcircled{R}}$), de acordo com as curvas analíticas (10-250 $\mu\text{g/L}$) do seguintes compostos: morina, catecol, ácido gálico, naringenina, isovanilina, siringaldeído, hidroxibenzaldeído, quercitina, ácido siríngico, ácido salicílico, ácido clorogênico, ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido protocatecuico, ácido *p*-hidroxibenzóico, naringina, vanilina, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico, ácido sinápico, aldeído coniferílico, catequina, rutina, siringaldazina, teobromina, sinapaldeído, epicatequina, baicalina, luteolina, ácido quínico, ácido málico, kaempferol, cafeína, cumarina, crisina, ácido resorcílico, ácidos fumáricos e ácido nicotínico (Júnior *et al.*, 2025).

2.6 Produção de filmes à base de alginato e gelatina incorporados com extrato etanólico do subproduto de *E. edulis*

A elaboração dos filmes foi realizada de acordo com Chen *et al.* (2023) com modificações. Os filmes foram produzidos à base de alginato e gelatina, sendo incorporados com extrato etanólico do subproduto de *E. edulis* (T2) através da técnica de *casting*. Primeiramente 50 mL de água destilada foi adicionada em um béquer e aquecida até 70 $^{\circ}\text{C}$, posteriormente adicionou-se 0,75 g de alginato de sódio e a solução foi mantida em agitação e aquecimento até dissolução completa, após adicionou-se 0,18 g de glicerol e a solução foi agitada por 15 min e denominada solução A. Em outro béquer adicionou-se 50 mL de água destilada, 3,00 g de gelatina e 1,50 g de glicerol, a solução foi agitada à 90 $^{\circ}\text{C}$ por 15 min e a solução foi denominada solução B. Posteriormente, realizou-se a dispersão A + B sob agitação por 15 min e denominou-se solução C. Após a solução atingir 40 $^{\circ}\text{C}$, dividiu-se a solução em 4 béqueres distintos com 25 mL de solução cada um, a adicionou-se o extrato etanólico do

subproduto de *E. edulis* que apresentou melhor efeito sinérgico antibacteriano com o nitrito de sódio (T2) conforme Figura 1.

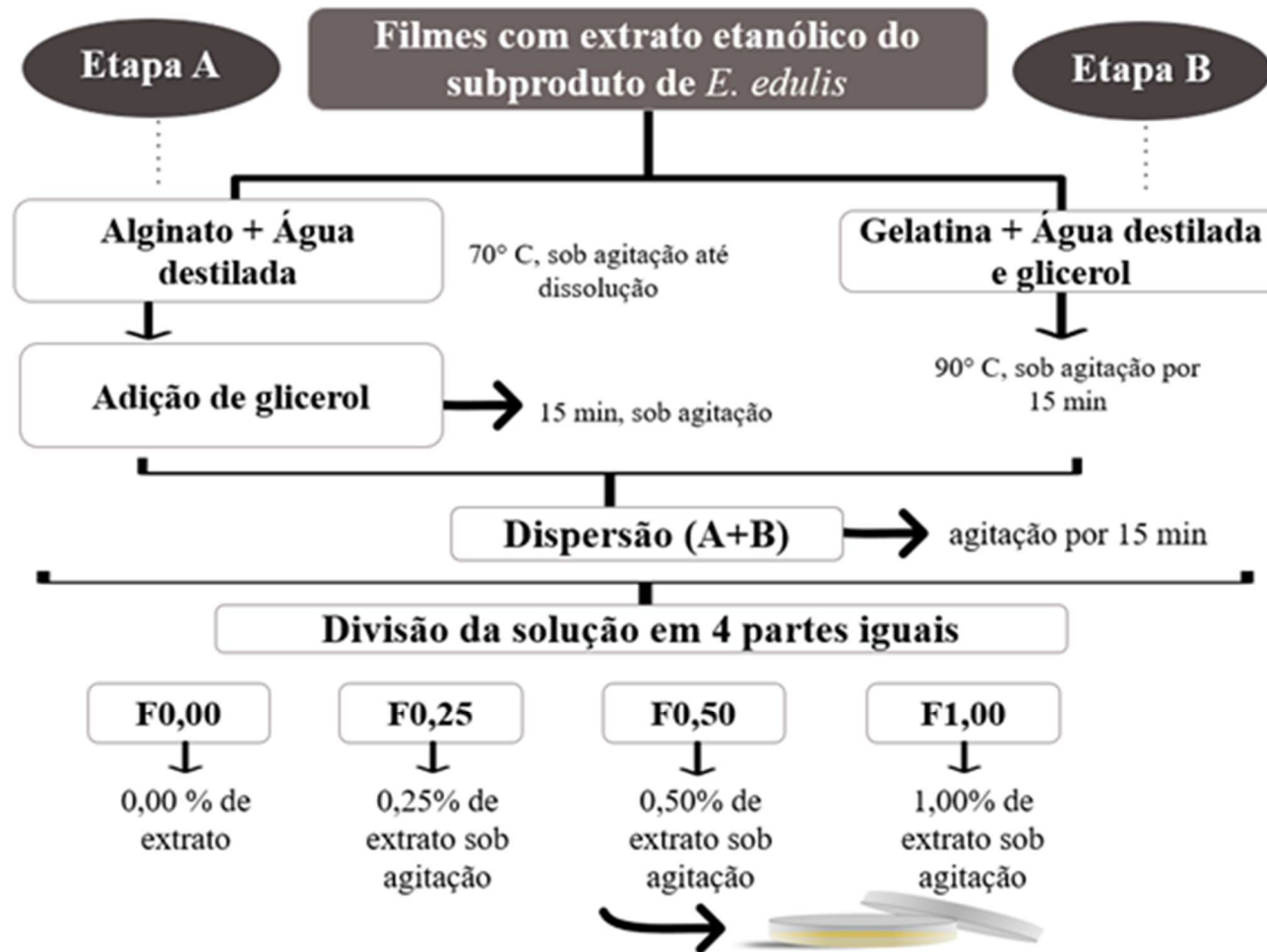


Figura 1. Fluxograma do desenvolvimento dos filmes à base de alginato de sódio e gelatina com incorporação de extrato etanólico do subproduto de *Euterpe edulis* M T2.

Fonte: Autores

O extrato foi adicionado nas soluções sob agitação por 10 min e 24 mL da solução de cada béquer foi vertida em placas de acrílico (90 x 15 mm) e submetidas à secagem a 40 °C por 48 h.

2.7 Potencial indicador de pH dos filmes à base de alginato e gelatina incorporados com extrato etanólico do subproduto de *E. edulis* M.

O potencial dos filmes como indicador de pH foi realizado conforme Zheng *et al.* (2022) com modificações, por meio de uma solução tampão fosfato em pH 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9. Os filmes foram cortados (1 x 1 cm), adicionados em tubos com as soluções dos respectivos pHs e posteriormente as amostras foram fotografadas.

2.8 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos filmes incorporados com extrato do subproduto de *E. edulis* M. (T2)

A análise espectral dos filmes incorporados com extrato T2, gelatina em pó, alginato de sódio e extrato (T2), foi realizada em espectrofotômetro de infravermelho, modelo Cary 630 FTIR, da marca Agilent Technologies, utilizando um acessório de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de diamante. Todos os espectros foram obtidos na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , com 64 varreduras e precisão de 4 cm^{-1} .

2.9 Análise estatística

Todos os testes foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos através da média \pm desvio padrão e analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para determinar se houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos. A análise foi realizada utilizando o software InfoStat® 2020.

3 RESULTADOS

3.1 Atividade antibacteriana

A Tabela 2 apresenta os valores obtidos de CIM e CBM dos extratos etanólicos de *E. edulis* M. em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e o controle nitrito de sódio.

Todos os extratos tiveram ação antibacteriana frente às bactérias avaliadas, a qual os valores de CIM foram entre 10 a 40 mg/mL, destacando-se os extratos T2 e T4. O extrato T2 apresentou menor CIM (10 mg/mL) para quase todas as cepas bacterianas avaliadas, exceto para *L. monocytogenes* que apresentou CIM de 20,00 mg/mL. Já o extrato T4 apresentou CIM de 10 mg/mL para 3 das cinco bactérias testadas. Além disso, é possível observar que a menor CIM (10 mg/mL) apresentada pelos extratos é próxima da CIM apresentada pelo nitrito de sódio (12,5 mg/mL) utilizado como padrão neste trabalho.

A menor CBM dos extratos foram 40,0 mg/mL, enquanto a menor CBM do nitrito de sódio foi de 25 mg/mL. De forma geral, os extratos apresentaram efeito bacteriostático.

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM) (mg/mL) dos extratos de subproduto de *Euterpe edulis* M. e nitrito de sódio de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Bactérias	T1	T2	T3	T4	Nitrito de sódio
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	40,00 ± 0,00 ^{dC}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	20,00 ± 0,00 ^{cB}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	>40,00	40,00 ± 0,00 ^{bA}	40,00 ± 0,00 ^{bA}	40,00 ± 0,00 ^{bA}	25,00 ± 0,00 ^{aA}
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	20,00 ± 0,00 ^{cB}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	20,00 ± 0,00 ^{cB}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	>40,00	40,00 ± 0,00 ^{aA}	>40,00	40,00 ± 0,00 ^{aA}	100,00 ± 0,00 ^{bC}
<i>Salmonella enterica</i> Typhi ATCC 19214	10,00 ± 0,00 ^{aA}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	>40,00	>40,00	>40,00	>40,00	100,00 ± 0,00 ^{aC}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20,00 ± 0,00 ^{cB}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	20,00 ± 0,00 ^{cB}	20,00 ± 0,00 ^{cC}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	40,00 ± 0,00 ^{aA}	>40,00	40,00 ± 0,00 ^{aA}	>40,00	50,00 ± 0,00 ^{bB}
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	10,00 ± 0,00 ^{aA}	20,00 ± 0,00 ^{dB}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	14,30 ± 0,00 ^{cB}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	40,00 ± 0,00 ^{aA}	>40,00	40,00 ± 0,00 ^{aA}	>28,57	>100,00

T1= etanol 50% e 80 rpm, T2= etanol 50% e 130 rpm, T3= etanol 50% e 180 rpm e T4= etanol 70% e 180 rpm. Os valores são a média ± desvio padrão do experimento realizado em triplicata. A análise estatística empregada foi análise de variância (ANOVA), e as diferenças entre as médias determinadas pelo teste de Tukey. Valores na mesma linha com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$), valores na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

3.2 Efeito da combinação entre extratos de subproduto *Euterpe edulis* M. e nitrito de sódio

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados do efeito da combinação entre o nitrito de sódio e o extrato do subproduto de *E. edulis* (T2 e T4).

Tabela 3. Efeito da combinação entre extratos de subproduto de *Euterpe edulis* e nitrito de sódio em bactérias Gram-positivas e Gram-negativa

Cepa bacteriana		T2	Nitrito de sódio
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	CIM Isolada	10,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	CIM combinada	2,50 ± 0,00	6,250 ± 0,00
<i>S. enterica</i> Typhi ATCC 29214	CIM Isolada	10,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	CIM combinada	2,50, ± 0,00	6,25 ± 0,00
		T4	
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	CIM Isolada	10,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	CIM combinada	5,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
<i>S. enterica</i> Typhi ATCC 29214	CIM Isolada	10,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00
	CIM combinada	5,00 ± 0,00	12,50 ± 0,00

T2= etanol 50% e 130 rpm e T4= etanol 70% e 180 rpm. Os valores são a média ± desvio padrão do experimento realizado em triplicata.

Quando combinados extrato e nitrito de sódio apresentaram redução da sua CIM, entretanto, combinado com T4 não apresentou redução na CIM do nitrito de sódio. Além disso, T2 apresentou uma maior redução da CIM do extrato, de 10 para 2,5 mg/mL tanto para *S. aureus* quanto para *S. enterica* Typhi.

3.3 Identificação fitoquímica por UHPLC do extrato etanólico do subproduto de *Euterpe edulis* M.

A identificação fitoquímica foi realizada no extrato T2, por apresentar melhor espectro antibacteriano e efeito sinérgico em relação aos demais extratos avaliados. Os compostos encontrados são apresentados na Tabela 4. Foram identificados 30 compostos no extrato T2, dos quais estão presentes flavonóides, ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos, ácidos orgânicos e alcalóides.

Tabela 4. Composição por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas ($\mu\text{g/g}$) do extrato etanólico do subproduto de *Euterpe edulis* M. extraído em proporção 1:20 (m/v) com etanol 50% por 130 rpm (T2).

Classe	Composto	$\mu\text{g/g}$
Flavonoide	Rutina	$459,36 \pm 18,18$
	Naringenina	$303,28 \pm 5,21$
	Luteolina	$238,20 \pm 6,80$
	Epicatequina	$208,70 \pm 4,12$
	Catequina	$173,20 \pm 2,60$
	Kaempferol	$144,27 \pm 12,07$
	Quercetina	$79,96 \pm 0,14$
	Naringenina	$58,36 \pm 0,21$
	Luteolina	$4,65 \pm 0,17$
Ácido fenólico	Ácido Protocatecuico	>700
	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	>700
	Ácido Resorcílico	>700
	Ácido Vanílico	$676,63 \pm 7,70$
	Ácido Siringico	$452,03 \pm 10,40$
	Vanilina	$170,24 \pm 15,39$
	Ácido Ferúlico	$105,15 \pm 1,78$
	Ácido Gálico	$60,15 \pm 4,24$
	Ácido Clorogênico	$44,72 \pm 2,59$
	Ácido <i>p</i> -cumárico	$30,71 \pm 2,12$
	Ácido Sinápico	$23,21 \pm 1,61$
Ácido Cafeico	$20,25 \pm 1,66$	
Aldeído fenólico	Hidroxibenzaldeído	$37,91 \pm 2,14$
	Siringaldeído	$37,73 \pm 0,90$
	Isovanilina	$17,69 \pm 0,89$
	Coniferil Aldeído	$13,32 \pm 1,27$
Ácido orgânico	Ácido Nicotínico	$291,44 \pm 7,39$
	Catecol	$94,43 \pm 5,49$
	Ácido Quínico	>700
	Ácido Málico	$96,60 \pm 1,94$
Alcalóide	Cafeína	$12,67 \pm 1,11$

3.4 Filmes de alginato e gelatina incorporados com extrato etanólico do subproduto de *Euterpe edulis* M. (T2)

Na Figura 2, encontram-se as imagens dos filmes à base de alginato de sódio e gelatina incorporados com o extrato T2 e também do filme controle.

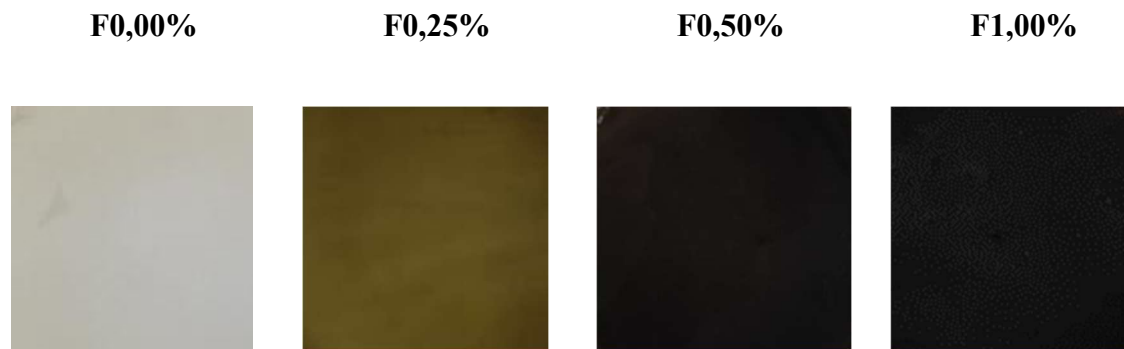


Figura 2. Filmes de alginato e gelatina incorporados com diferentes concentrações de extrato do subproduto de *E. edulis* (T2). F0,00% = Filme com 0,00% de extrato; F0,25% = Filme com 0,25% de extrato; F0,50% = Filme com 0,50% de extrato; F1,00% = Filme com 1,00% de extrato.

Conforme mostrado nas imagens dos filmes, todas as formulações apresentaram capacidade formadora de filme, fácil manipulação e homogeneidade. Sendo que conforme o aumento da concentração de extrato a cor do filme também aumentou.

3.5 Potencial indicador de pH dos filmes incorporados com extrato do subproduto de *E. edulis* M. (T2)

As imagens dos filmes em soluções tampão em diferentes pHs estão apresentadas na Figura 3, onde pode-se observar que conforme a mudança de pH os filmes mudaram de cor. Apresentando-se em pH próximo de 3 em tons de vermelho enquanto em pH mais próximo de 9 em tons de verde. Nota-se também que a mudança de cor ficou mais evidente nos filmes que foram incorporados com a menores quantidades de extrato (F0,25% e F0,50%).

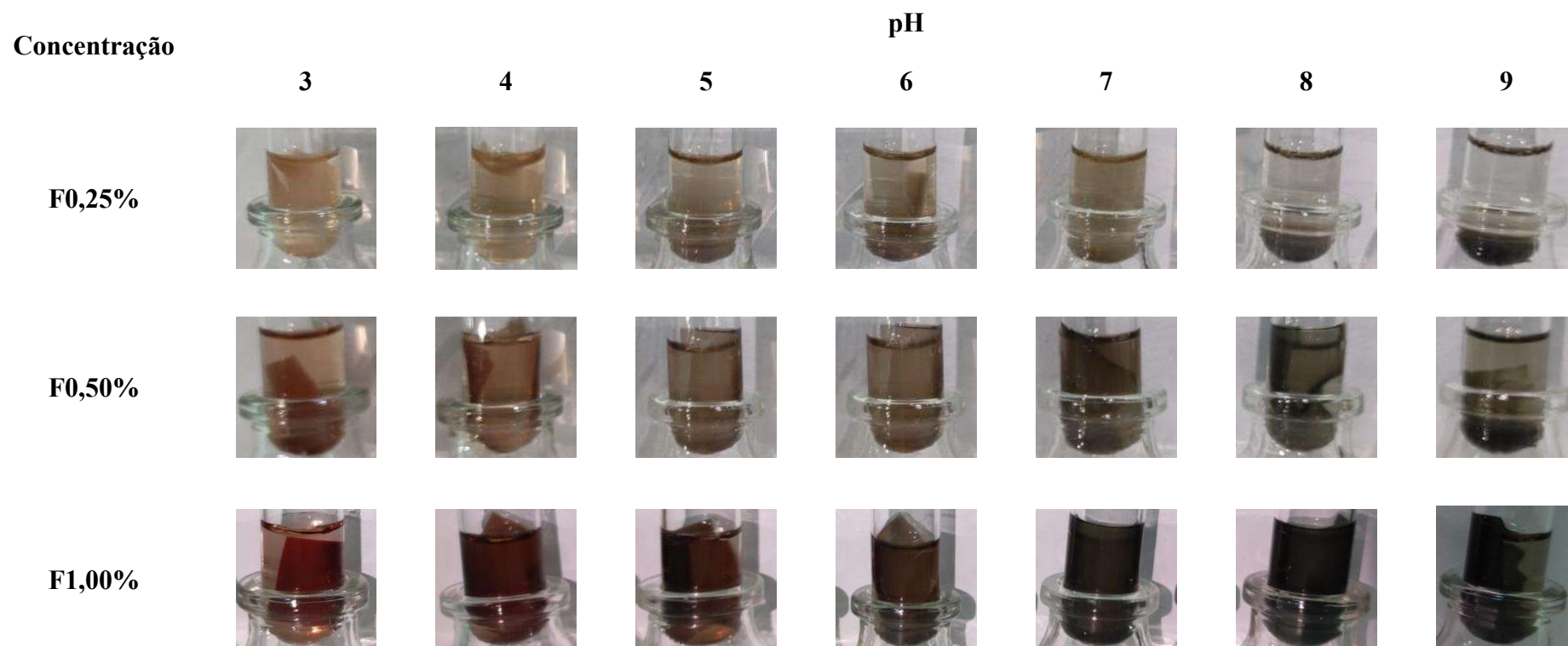


Figura 3. Filmes à base de alginato e gelatina incorporados com diferentes concentrações de extrato do subproduto de *E. edulis* (T2= etanol 50% e 130 rpm) em pH variando de 3 a 9. F0,00% = Filme com 0,00% de extrato; F0,25% = Filme com 0,25% de extrato; F0,50% = Filme com 0,50% de extrato; F1,00% = Filme com 1,00% de extrato.

3.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos filmes incorporados com extrato do subproduto de *E. edulis* M. (T2)

Na Figura 4 estão mostrados os espectros FTIR para as amostras de filme compostos por alginato de sódio, gelatina e extrato de *E. edulis* M. Os filmes de alginato e gelatina ao serem incorporados com extrato etanólico de *E. edulis* M. (T2) demonstraram espectros FTIR similares com o filme controle (F0,00%), mantendo as mesmas posições e conjuntos de bandas.

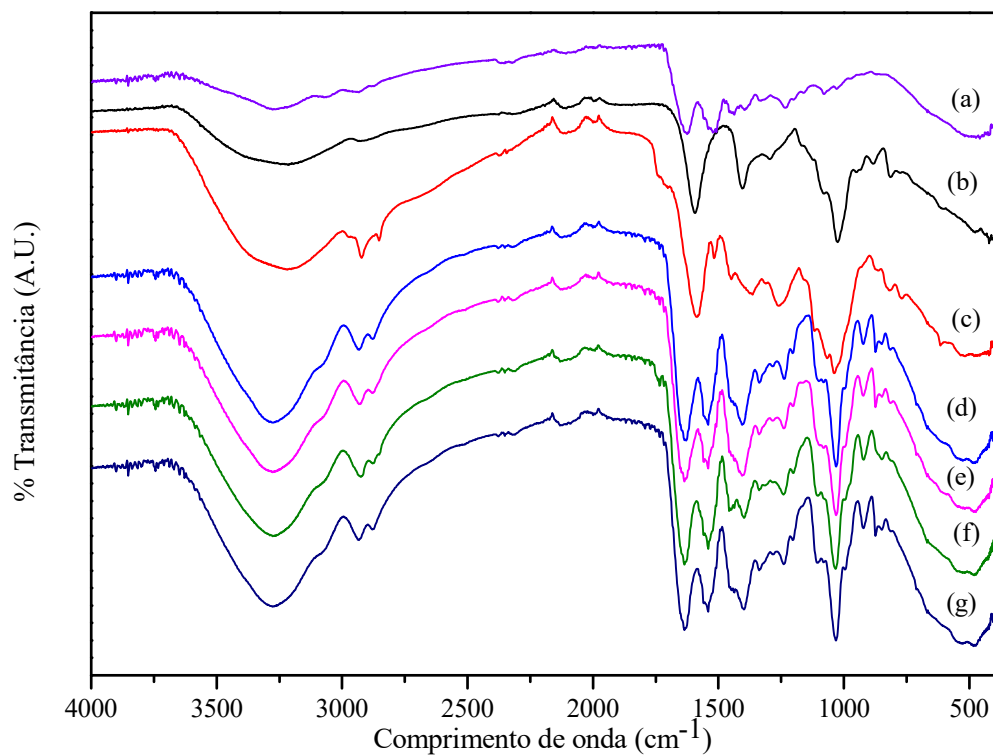


Figura 4: Espectros FTIR de (a) gelatina, (b) alginato de sódio, (c) extrato de *E. edulis* M. (d) F0,00%, (e) F1,00%, (f) F0,50 e (g) F0,25%.

4 DISCUSSÃO

O extrato do subproduto de *Euterpe edulis* M. apresentou atividade antibacteriana frente às cinco cepas bacterianas testadas, no qual a menor CIM (10 mg/mL) foi apresentada para o extrato T2 em sua maioria. Resultados semelhantes já foram reportados para o extrato etanólico do subproduto de *E. edulis*, com CIM variando entre 5 e >20 mg/mL contra *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *L. monocytogenes* MRSA (Garcia *et al.*, 2019), o que reforça seu amplo espectro de ação.

Os ácidos fenólicos foram a maior classe de compostos identificados no extrato T2 (> 3683,09 ± 47,49 µg/g de extrato). Esses compostos apresentam mecanismos de ação antibacteriana complexos, atuando por diferentes vias simultâneas, provocam a desestabilização das membranas celulares bacterianas por meio da hiperacidificação e do aumento da permeabilidade, ocasionando o vazamento de componentes intracelulares (Lobiuc *et al.*, 2023). Além disso, exercem efeito inibitório sobre enzimas fundamentais para a manutenção da célula, como a DNA girase, a topoisomerase e a D-alanina ligase. Também afetam o metabolismo bacteriano ao interferirem em vias bioquímicas essenciais, reduzirem a atividade das bombas de efluxo e modularem a expressão gênica, resultando em prejuízos à adaptação, à viabilidade e à sobrevivência microbiana (Vargas-Anaya *et al.*, 2025).

Os flavonoides também apresentados como uma das principais classes presentes em T2, apresentam mecanismos de ação antibacteriana diversos e envolvem múltiplos alvos celulares, incluindo a inibição da função da membrana citoplasmática, a interferência na síntese de ácidos nucleicos, a redução da adesão bacteriana e da formação de biofilmes, a inibição do metabolismo energético, a alteração da permeabilidade da membrana, o bloqueio de porinas na membrana celular e a atenuação da patogenicidade microbiana (Xie *et al.*, 2015).

Dessa forma, o extrato do subproduto de *E. edulis* M. possui potencial para ser utilizado como conservante na indústria alimentícia. Contudo, alguns desafios como a necessidade de altas concentrações e mudanças indesejáveis nas propriedades sensoriais dos alimentos podem surgir no uso de aditivos naturais. Assim, a combinação de compostos naturais com conservantes sintéticos podem contribuir para garantir tanto a segurança microbiana quanto à aceitabilidade sensorial (Batista *et al.*, 2019). Também é importante a combinação com nitrito de sódio para aplicação em alimento, pois além de antibacteriano, é responsável por coloração e sabor característicos, contribuindo para a aceitabilidade em produtos cárneos (Stoica *et al.*, 2022).

Embora poucos estudos abordem especificamente a atividade antibacteriana de extratos de subprodutos de *E. edulis* M., há evidências sobre sua elevada capacidade antioxidante e seu perfil fitoquímico. Segundo Morais *et al.* (2022), *E. edulis* apresenta teor significativamente maior de fenóis totais em comparação a *E. oleracea*, além de superior teor de antocianinas. Esses compostos incluem ácido vanílico, rutina, quercetina, kaempferol, miricetina, apigenina, cianidina-3-O-rutinosídeo e apigenina.

No extrato etanólico do subproduto de *E. edulis* M. (T2) foram identificados 30 compostos, com predominância de ácidos fenólicos, ácido protocatecuico (>700), ácido vanílico (676,63), ácido siríngico (452,03), e do flavonoide rutina (459,36). Garcia *et al.* (2019), ao avaliarem extrato etanólico (70%) da casca de *E. edulis*, identificaram 19 compostos fenólicos, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos e antocianinas derivadas de cianidina. De forma complementar, Vieira *et al.* (2017) caracterizaram no extrato de *E. edulis* flavonóis (rutina, miricetina, quercetina, kaempferol-3-rutinosídeo e kaempferol), flavonas (apigenina, luteolina), catequina, além de antocianinas como pelargonidina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-O-rutinosídeo e cianidina-3-O-glicosídeo. Os compostos mais abundantes foram cianidina-3-O-rutinosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo e pelargonidina-3-O-glicosídeo, bem como rutina, ácido elágico e quercetina (compostos não antociânicos).

As antocianinas presentes em *E. edulis* M. desempenham papel importante tanto na atividade bioativa antimicrobiana quanto na estabilidade e funcionalidade de formulações alimentícias. Essas moléculas podem ocorrer em quatro formas químicas principais, cuja predominância é fortemente dependente do pH do meio. Em condições fortemente ácidas (pH \approx 1), predomina o cátion flavílio, caracterizado por coloração vermelha intensa e elevada solubilidade. Na faixa de pH entre 2 e 4, a forma quinoidal, de coloração azulada, torna-se mais representativa. Entre pH 5 e 6, ocorre a conversão para as formas pseudobase carbinol e chalcona, ambas incolores. Em pH superior a 7, observa-se degradação progressiva das antocianinas, cuja intensidade varia de acordo com os substituintes estruturais presentes na molécula. Em intervalos de pH entre 4 e 6, pode haver coexistência dessas quatro espécies químicas, sendo o cátion flavílio fundamental para o equilíbrio estrutural do sistema (Enaru *et al.*, 2021). Os filmes incorporados com o extrato do subproduto de *E. edulis* no presente estudo, apresentaram coloração variável em função do pH, conforme Figura 3, com tons avermelhados em pH próximo de 3 e coloração esverdeada em pH aproximado de 9. Esse comportamento cromático pode estar associado ao fato de que a incorporação foi realizada utilizando-se o extrato bruto, e não antocianinas purificadas, o que implica na presença de outros compostos

fenólicos e metabólitos secundários capazes de interagir com as antocianinas e influenciar a percepção de cor e o perfil de resposta ao pH.

A Figura 4 mostra os espectros de FTIR da gelatina, do alginato, do extrato e dos filmes. No alginato puro, duas bandas de absorção características em 1593 cm^{-1} e 1407 cm^{-1} foram detectadas e atribuídas à vibração de estiramento assimétrico e à vibração de estiramento simétrico do grupo COO^- , respectivamente (Dong *et al.*, 2006; Bhatia *et al.*, 2024; Lopes *et al.*, 2017). As bandas de absorção características da gelatina em 1630 cm^{-1} , 1545 cm^{-1} e 1234 cm^{-1} foram atribuídas à Amida I (vibração de estiramento $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{N}$), Amida II e Amida III (principalmente vibração de flexão N-H e vibração de estiramento C-N), respectivamente (Dong *et al.*, 2006; Bhatia *et al.*, 2024; Lopes *et al.*, 2017). Finalmente, a banda de absorção larga em torno de 3272 cm^{-1} foi devida à vibração de estiramento do O-H ligado ao N-H . O extrato de *E. edulis* M. exibe bandas típicas de fenólicos e flavonoides. Banda alargada em 3230 , referente ao estiramento OH , em 1586 cm^{-1} referente à carbonila dos ácidos fenólicos, e múltiplas bandas entre 1126 e 1003 cm^{-1} que estão associadas às ligações entre C-O de fenóis e éteres (Dong *et al.*, 2006; Bhatia *et al.*, 2024; Lopes *et al.*, 2017).

O espectro do filme F0 combina as bandas da gelatina e do alginato de sódio evidenciando a contribuição das duas substâncias para a formação dos filmes. A banda referente à carbonila se deslocou para maior comprimento de onda (1634 cm^{-1}) quando comparada à banda no alginato de sódio puro (1593 cm^{-1}). A banda em 1545 da gelatina também está deslocada para 1531 cm^{-1} . Essas alterações evidenciam as interações entre o alginato e a gelatina durante o processo de formação do filme (Dong *et al.*, 2006; Bhatia *et al.*, 2024; Lopes *et al.*, 2017).

Os filmes contendo extrato etanólico do subproduto de *E. edulis* M. apresentam espectros FTIR com o mesmo conjunto de bandas e posições observadas no espectro do filme controle (F0), indicando que a estrutura química da matriz foi preservada. Resultados semelhantes são observados para filmes de polissacarídeos e proteínas, em que o acréscimo de compostos fenólicos leva, no máximo, à pequenas variações discretas de intensidade, mas não modifica as posições das bandas principais de FTIR (Janik *et al.*, 2023).

Assim, os extratos de *E. edulis* apresentam potencial promissor como agentes naturais para a conservação de alimentos, podendo atuar como substitutos ou coadjuvantes de aditivos sintéticos, como o nitrito de sódio. Além da ação antimicrobiana apresenta potencial para ser utilizado em sistemas inteligentes de embalagens como indicador de pH, contribuindo para maior estabilidade e vida útil dos alimentos.

5 CONCLUSÕES

Conclui-se que os extratos do subproduto de *E. edulis* M. apresentaram atividade antibacteriana para todas as bactérias avaliadas, principalmente extrato T2 (proporção 1:20, etanol 50% por 130 rpm). O extrato T2 apresentou efeito sinérgico antibacteriano com nitrito de sódio frente à *S. aureus* e *S. Typhi*, pode assim substituir total ou parcialmente os aditivos sintéticos. A composição química do extrato mostrou flavonoides, ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos, ácidos orgânicos e alcalóides, sendo os principais compostos o ácido protocatecuico, ácido p-hidroxibenzoico e o ácido resorcílico.

Os filmes à base de alginato e gelatina incorporados com extrato de *E. edulis* apresentaram variação na cor em relação aos diferentes valores de pH, mostrando potencial para serem utilizados como indicador de pH em embalagens inteligentes na conservação de alimentos. Além disso os filmes ao serem incorporados com o extrato (T2), teve a estrutura química da matriz preservada, apresentando espectros FTIR com as mesmas posições e conjuntos de bandas que o filme controle (F0,00%). Todavia, são necessários estudos futuros que aprofundem melhor as suas características e suas possíveis aplicações.

Dessa forma, além de poder contribuir na conservação de alimentos com seus compostos bioativos, o aproveitamento do extrato do subproduto de *E. edulis* M. contribui para minimizar os impactos ocasionados pelo seu descarte incorreto, tornando assim o processamento mais sustentável. O presente estudo realizou análises *in vitro*, sendo necessárias análise em uma matriz alimentar para melhor compreensão da atividade antibacteriana e potencial indicador de pH do extrato de subproduto de *E. edulis* M.

6 AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Paranaense (UNIPAR), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e Fundação Araucária pela bolsa e financiamento da pesquisa.

7 REFERÊNCIAS

- Batista, A. F. P. *et al.* Inhibition of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by combined carvacrol and potassium sorbate *in vitro* and in tomato paste. **LWT – Food Science and Technology**, v. 100, p. 92-98, 2019.
- Bhatia, S. *et al.* A novel film based on a cellulose/sodium alginate/gelatin composite activated with an ethanolic fraction of *Boswellia sacra* oleo gum resin. **Food Science & Nutrition**, v. 12, n. 2, p. 1056-1066, 2024.
- Borges, G. D. S. C. *et al.* Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2128-2133, 2011.
- Chen, K. *et al.* A pH indicator film based on sodium alginate/gelatin and plum peel extract for monitoring the freshness of chicken. **Food Bioscience**, v. 53. 102584, 2023.
- Choi, I. *et al.* Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. **Food Chemistry**, v. 218, p. 122-128, 2017.
- CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests**. Approved Standard M07-A10. CLSI, Wayne, 2015.
- Dong, Z. *et al.* Alginate/gelatin blend films and their properties for drug controlled release. **Journal of Membrane Science**, v. 280, n. 1-2, p. 37-44, 2006.
- Enaru, B. *et al.* Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation. **Antioxidants**, 10, 1967, 2021.
- Garcia, J. A. A. *et al.* Chemical composition and biological activities of Juçara (*Euterpe edulis* Martius) fruit by-products, a promising underexploited source of high-added value compounds. **Journal of Functional Foods**. v. 55, p. 325-332, 2019.
- Godoy, R. C. B. *et al.* **Juçara (*Euterpe edulis* M.): importância ecológica e alimentícia**. Colombo: Embrapa Florestas. 24 p. (Documentos, 372), 2022.
- IBGE. **Produção de Açaí (Cultivo)**. 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/acai-cultivo/br>. Acesso em 01 de novembro de 2025.
- Inada, K. O. P. *et al.* Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**. v. 17, p. 422-433, 2015.
- Janik, W. *et al.* Modulation of physicochemical properties and antimicrobial activity of sodium alginate films through the use of chestnut extract and plasticizers. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 11530, 2023.

Júnior, F. D. B. *et al.* Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds and Flavonoids from Banana Inflorescence and Characterization of Its Fibrous Residue. **Separations**, v.12, 109, 2025.

Lobiuc, A. *et al.* Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. **Molecules**, v. 28, 1114, 2023.

Lopes, S. *et al.* Preparation and characterization of alginate and gelatin microcapsules containing *Lactobacillus rhamnosus*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 03, p. 1601-1613, 2017.

Morais, R. A. *et al.* Nutritional Composition and Bioactive Compounds of Native Brazilian Fruits of the Arecaceae Family and Its Potential Applications for Health Promotion. **Nutrients**, v. 14, 4009, 2022.

Schulz, M. *et al.* Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 228, p. 447-454, 2017.

Schulz, M. *et al.* Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, p. 14-26, 2016.

Stoica, M. *et al.* New Strategies for the Total/Partial Replacement of Conventional Sodium Nitrite in Meat Products: a Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, p. 514-538, 2022.

Vargas-Anaya, E. *et al.* Novel p-Hydroxybenzoic Acid Derivative Isolated from *Bacopa procumbens* and Its Antibacterial Activity. **Antibiotics**, v. 14, 591, 2025.

XIE, X. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 132-149, 2015.

Yan, J. *et al.* A pH indicator film based on chitosan and butterfly pudding extract for monitoring fish freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 177, p. 328-336, 2021.

Zheng, Y. *et al.* Two colorimetric films based on chitin whiskers and sodium alginate/gelatin incorporated with anthocyanins for monitoring food freshness. **Food Hydrocolloids**, v. 127, 107517, 2022.

