



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO TECNOLÓGICO

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DA ACEROLA

Ana Júlia Almeida César Rocha

Florianópolis,

2019

Ana Júlia Almeida César Rocha

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DA ACEROLA

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina apresentado como requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr^a. Patrícia Poletto

Coorientador: Dr. Sidnei E. Bordignon

Florianópolis

2019

FOLHA DE APROVAÇÃO

À minha família.

AGRADECIMENTOS

À minha família, que sempre me incentivou e me deu apoio incondicional. Com certeza é por causa de vocês que cheguei até aqui.

Aos meus amigos e colegas de graduação, vocês com certeza me deram suporte e fizeram tudo se tornar mais prazeroso.

Aos meus amigos do colégio, que se mantiveram sempre presentes, mesmo cada um seguindo um caminho diferente.

À Prof^a Patrícia Poletto, pela oportunidade de realização deste trabalho e por toda dedicação por compartilhar comigo seu conhecimento

Ao meu coorientador Dr. Sidnei E. Bordignon, por me auxiliar na realização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Engenharia Bioquímica que sempre me ajudaram, ao Laboratório de Engenharia Bioquímica (LIEB) pelo espaço cedido para a realização dos experimentos A Universidade Federal de Santa Catarina por todos os recursos disponibilizados.

Muito Obrigada.

“A única forma de chegar no impossível, é acreditar que é possível”

Lewis Carrol

RESUMO

A contaminação dos alimentos por microrganismos ainda é um sério problema para a indústria alimentícia. Alternativas para a conservação e aumento da vida de prateleira são alvo de pesquisa para melhoria da qualidade da indústria. Estudos com compostos de origem natural que possam substituir os sintéticos chamam a atenção como saída à garantia de um alimento seguro e livre de contaminação. O principal objetivo deste trabalho foi caracterizar os extratos da acerola verde (*Malpighia emaraginata*) (suco concentrado e extratos dos resíduos do processo de produção do suco) visando determinar suas atividades antioxidantes e antimicrobianas. Os extratos dos resíduos foram obtidos por extração com água em ultrassom. A presença de compostos que possuem característica antimicrobiana na composição da fruta acerola foram determinados por medidas de polifenóis totais, vitamina C e atividade antioxidante. A análise para atividade antimicrobiana contra fungos filamentosos, levedura *Candida albicans* e a bactéria *Staphylococcus aureus* se deu pelo método de perfuração e difusão em ágar, onde os compostos presentes na amostra de estudo se difundem no meio de cultura inoculado com o microrganismo inibindo seu crescimento. Os resultados referentes à inibição do crescimento dos microrganismos são obtidos visualmente através da medida dos halos de inibição formados no meio. O suco concentrado apresentou concentração de compostos fenólicos superior aos extratos obtidos dos resíduos como esperado. A borra e bagaço apresentaram resultados satisfatórios quando comparados com extratos analisados por diferentes autores para os mesmos resíduos de acerola. Na avaliação da atividade antimicrobiana, apenas o suco concentrado mostrou-se eficiente, o que poderia ser justificado pela diferença de concentração dos extratos obtidos dos resíduos. O suco concentrado da acerola se mostrou efetivo a inibição de *C. albicans* ATCC 10213 e *S. aureus* ATCC 25923 apresentado halos de inibição de 20 e 15 mm, respectivamente, confirmando a atividade antibacteriana e antifúngica de compostos bioativos presentes na fruta e resíduo como polifenóis, vitamina C e antioxidantes. A caracterização da polpa e resíduos da fruta como borra e bagaço, direcionada a inibição dos microrganismos, sugere uma aplicabilidade alternativa dos subprodutos na indústria trazendo a reutilização do resíduo como conservante.

Palavras chave: *Malpighia emaraginata*. Atividade antimicrobiana. Compostos bioativos.

ABSTRACT

Contamination of food by micro-organisms still a serious problem for the food industry. Alternatives to shelf life are being researched to improve the quality of the industry. Studies with compounds of natural origin that can replace the synthetics call attention as an exit to guarantee a food safe and free of contamination. The main objective of this work was to characterize the extracts of the green acerola (*Malpighia emaraginata*) (concentrated juice and extracts of the residues from the juice production process) in order to determine its antioxidant and antimicrobial activities. The extracts of the residues were obtained by extraction with water on ultrasound. The presence of antimicrobial compounds in the acerola fruit composition were determined by measurements of total polyphenols, vitamin C and antioxidant activity. The analysis for antimicrobial activity against filamentous fungi, *Candida albicans* yeast and *Staphylococcus aureus* was performed by the agar diffusion method, where the compounds present in the study sample diffuse in the culture medium inoculated with the microorganism, inhibiting its growth. Results regarding inhibition of growth of microorganisms are obtained visually by measuring the inhibition halos formed in the medium. Concentrated juice showed higher phenolic concentration than extracts obtained from the residues as expected. The sludge and bagasse presented satisfactory results when compared to extracts analyzed by different authors for the same acerola residues. In the evaluation of the antimicrobial activity, only the concentrated juice proved to be efficient, which could be justified by the difference in concentration of the extracts obtained from the residues. The concentrated juice of acerola was effective inhibition of *C. albicans* ATCC 10213 and *S. aureus* ATCC 25923 presented inhibition halos of 20 and 15 mm, respectively, confirming the antibacterial and antifungal activity of bioactive compounds present in the fruit and residue as polyphenols, vitamin C and antioxidants. The characterization of pulp and fruit residues as sludge and bagasse, directed to the inhibition of microorganisms, suggests an alternative applicability of the by - products in the industry, bringing the reuse of the residue as preservative.

Keywords: *Malpighia emaraginata*. Antimicrobial activity. Bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Etapas do processamento do suco da acerola.....	19
Figura 2: Ensaio de perfuração em ágar para análise da ação antimicrobiana do extrato da acerola.....	30
Figura 3: Avaliação da atividade antifúngica do extrato de acerola em placa inoculada com o fungo <i>A. brasilienses</i>	34
Figura 4: Avaliação da atividade antifúngica do extrato de acerola em placa inoculada com fungo isolado do ambient.	35
Figura 5: Avaliação da atividade antifúngica do extrato de acerola em placa inoculada com fungo isolado do ambiente.....	36
Figura 6: Avaliação da atividade antifúngica do extrato da acerola em placas inoculadas com <i>C.albicans</i>	38
Figura 7: Avaliação da atividade antifúngica do extrato da acerola em placas inoculadas com <i>C.albicans</i>	40
Figura 8: Avaliação da atividade antibacteriana do extrato da acerola em placas inoculadas com <i>S.aureus</i>	41
Figura 9: Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato da acerola em placas inoculadas com <i>C.albicans</i>	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características da fruta acerola em diferentes estágios de maturação.....	18
Tabela 2: Composição dos meios de cultivo das placas usados para os microrganismos testados	28
Tabela 3: Comparação entre as concentrações dos compostos dos extratos da acerola obtidos neste trabalho e na literatura	33
Tabela 4: Atividade antimicrobiana de extratos de frutas contra <i>S. aureus</i> e <i>C. albicans</i>	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVO GERAL	14
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	ACEROLA	15
3.2	ACEROLA – POTENCIAIS APLICAÇÕES	16
3.3	PROCESSAMENTO DA ACEROLA	18
3.4	REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DA ACEROLA.....	20
3.5	CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS PRESENTES NA ACEROLA	20
3.5.1	Compostos fenólicos	20
3.5.2	Vitamina C	21
3.6	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	22
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1	SUCO DE ACEROLA E RESÍDUOS	25
4.2	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	25
4.3	CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS	25
4.3.1	Compostos fenólicos totais (CFT)	25
4.3.2	Atividade antioxidante	26
4.3.3	Vitamina C	26
4.3.4	Massa seca dos extratos	26
4.4	CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	27
4.4.1	Microrganismos	27
4.5	PREPARO DO MEIO DE CULTURA	27
4.5.1	Fungos filamentosos	27
4.5.2	<i>Candida albicans</i>	27
4.5.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	28
4.6	REATIVAÇÃO DAS CEPAS E LEVEDURAS	28
4.7	TESTE DE DIFUSÃO POR PERFURAÇÃO EM ÁGAR.....	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1	ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DE POLIFENÓIS TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VITAMINA C NOS EXTRATOS DE ACEROLA	31

5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE ACEROLA	33
5.2.1 Ação do extrato da acerola frente aos fungos filamentosos	33
5.2.2 Ação do extrato de acerola frente à <i>C. albicans</i>	37
5.2.3 Ação do extrato de acerola frente ao <i>S.aureus</i>	40
5.3 POTENCIAL ANTIMICROBIANO DOS EXTRATOS DA ACEROLA	44
6 CONCLUSÕES	48
6.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata* DC) é uma fruta típica das Américas e foi introduzida no Brasil na década de 1950. Hoje o país é um dos maiores produtores e exportadores da fruta e seus produtos industrializados, como o suco e polpa. É produzida em praticamente todo o território brasileiro, com destaque para região nordeste do país.

A demanda do mercado pelo consumo de acerola vem aumentando significativamente nos últimos tempos devido à maior informação sobre os compostos presentes na fruta e seus componentes bioativos. Sua alta concentração de vitamina C é um grande atrativo econômico, sendo hoje utilizada para a produção de conservantes naturais de alimentos e produtos nutracêuticos. Essas características aumentam as possibilidades de aplicabilidade dos compostos bioativos da fruta e assim, seu valor comercial.

Os resíduos da fruta provenientes das etapas de prensagem e clarificação do suco, como bagaço e borra respectivamente também foram caracterizados e avaliados segundo a alta presença de compostos bioativos. O descarte dos subprodutos do processamento da fruta gera alto impacto ambiental, com gasto de energia, água e desperdício de matéria-prima.

A reutilização do resíduo em outros produtos como conservantes e suplementos alimentares de alto valor agregado diminui os impactos ambientais e gera lucro às empresas.

Em estudos já realizados para caracterização do resíduo de acerola foi possível verificar que quantidades significativas de antocianinas, compostos fenólicos e vitamina C estão presentes nos subprodutos da fruta.

Outro viés para a aplicação dos compostos presente na fruta é no que diz respeito à atividade antimicrobiana. A contaminação dos alimentos por microrganismos ainda é um sério risco na indústria. Métodos e substâncias naturais, tornam-se saídas alternativas à conservação através de compostos sintéticos, e cada vez mais pertinentes à indústria.

A maioria das doenças ocasionadas por intoxicação alimentar ocorre por organismos patogênicos presentes nos alimentos. Muitos microrganismos encontrados hoje como contaminantes e causadores de doenças se tornaram resistentes à drogas e antibióticos. Encontrar outros compostos eficazes ao combate à contaminação de alimentos por microrganismos se torna cada vez mais relevante à tecnologia da indústria.

A atividade antimicrobiana referente à compostos fenólicos presentes em frutas vêm sendo forte alvo de pesquisa. A acerola já demonstrou ter efeito antimicrobiano frente à certas espécies de bactérias e fungos, porém sua aplicabilidade na indústria e ação como conservante ainda é pouco explorada.

Este trabalho busca caracterizar o suco concentrado de acerola verde e seus resíduos. A caracterização se limita à presença de polifenóis totais, atividade antioxidante, vitamina C e atividade antimicrobiana. Os extratos testados neste trabalho fazem parte de uma tese de doutorado em desenvolvimento, a qual testou métodos de extração dos compostos a partir desses resíduos.

2 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo principal caracterizar extratos da acerola verde (*Malpighia emarginata*) (suco concentrado e extratos dos resíduos) visando a determinação das atividades antioxidantes e antimicrobianas.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para que o objetivo geral fosse alcançado, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

1. Caracterizar os extratos visando a determinação da concentração da vitamina C, polifenóis totais e antioxidantes;
2. Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos frente a fungos filamentosos (*Aspergillus brasiliensis*) ATCC 16404, levedura (*Candida albicans*) ATCC 10213 e bactéria (*Staphylococcus aureus*) ATCC 25923.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ACEROLA

Acerola (*Malpighia emaraginata* DC) é uma fruta nativa da América Central e nordeste da América do Sul. O mercado mundial de frutas tropicais tem uma produção que gera em torno de 82 milhões de ton por ano e arrecada em torno de 5,4 bilhões de dólares por ano (RUFINO et al, 2009). O Brasil é o maior produtor mundial de frutas tropicais apresentando posição geográfica e condições climáticas desejáveis para a produção do gênero, com 47% da sua produção voltada para o mercado de comercialização de frutas *in natura* e 53% dedicado ao processamento dos gêneros tropicais. É o terceiro na comercialização e processamento de frutas no geral, seguido pela China e a Índia (REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017).

A acerola foi introduzida inicialmente no Brasil no estado de Pernambuco, em 1955 pela universidade rural de Pernambuco (UFRPE) com sementes oriundas de Porto Rico. Sua produção se espalhou pelo Nordeste e outras regiões do país. Hoje é produzida em praticamente todo o território Brasileiro, com exceção da região sul devido ao clima da região apresentar temperaturas mais baixas, não sendo favorável à cultura da espécie. Sua comercialização no país teve início na década de 80, com destaque para os estados da região nordeste (RITZINGER; RITZINGER, 2011).

A área plantada com Acerola no Brasil tem cerca de dez mil hectares, ultrapassando Havá e Porto Rico que possuem maior tradição de plantio da cultura (OLIVEIRA; FILHO, n.d.). No Brasil a cultura tem destaque nos estados da Bahia (1.466 ha), Paraná (919ha), Rio Grande do Norte (800ha), Rondônia (723 ha), Pernambuco (604 ha), Minas Gerais (466 ha), São Paulo (423 ha), Paraíba (400 ha), Ceará (320 ha) e Pará (300 ha) como os dez maiores produtores, dentre os quais há um predomínio daqueles da Região Nordeste. Com isso a região apresenta também destaque no que se refere à exportação da fruta, sendo o responsável por 85% do que é exportado (OLIVEIRA; FILHO, n.d.).

Os dados disponíveis mostram que o Brasil tem uma base de produtividade média de 10 ton/ha e 150 mil toneladas de frutos produzidos principalmente na região nordeste. Assim o Brasil é um dos maiores produtores em larga escala de acerola, não só da fruta *in natura*, mas da polpa e do suco da fruta (REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017).

Quanto aos principais destinos da produção cerca de 60% permanece no mercado interno e 40% é direcionada ao mercado externo. Desses 60% que permanece no mercado

interno, 46% é destinado à indústria, 28% ao atacado, 19% ao varejo e outros 7% é destinado a cooperativas e associações de produtores (OLIVEIRA; FILHO, n.d.).

A acerola é uma fruta pequena com semente relativamente grande quando comparada ao seu tamanho. O consumo da fruta *in natura* é um pouco limitado, pois a fruta apresenta alta perecibilidade, logo seu processamento necessita de certa tecnologia para manutenção de seus nutrientes. A transformação do fruto em produtos processados possibilita absorver grande parte da produção, propiciando o consumo durante todo o ano e reduzindo parte do desperdício (CHIM; ZAMBIAZI; RUI CARLOS, 2013). Apesar disso a fruta apresenta um bom rendimento em polpa, cerca de 75% (GERMANNO et al., 2007). Os principais produtos comerciais da fruta são a polpa congelada e pasteurizada e o suco pasteurizado (GERMANNO et al., 2007).

No tocante ao mercado externo os principais produtos de exportação são a polpa integral, polpa concentrada, acerola em pó com 14% de vitamina C e acerola ultra-filtrada com 7% de vitamina C. Estados Unidos, Alemanha, França, Japão e Holanda são os principais países que absorvem a exportação brasileira (OLIVEIRA; FILHO, n.d.).

As maiores empresas produtoras de artigos à base de acerola que estão atuando no mercado global de extratos da fruta segundo a Future Markets Insight Survey são, Green Labs LLC, Nutrilite (Amway), empresa que forneceu o extrato utilizado no presente trabalho, Naturex, Nature's Power Nutraceuticals Corp, Florida Food Inc, Diana Naturals and Vita Forte (BELWAL et al., 2018).

A demanda do mercado pelo consumo de acerola aumentou significativamente nos últimos anos. Isso se dá ao fato de um maior conhecimento da presença de compostos como carotenóides, compostos fenólicos, alta atividade antioxidante e uma fonte rica em vitamina C (ácido ascórbico) (REZENDE et al., 2017).

3.2 ACEROLA – POTENCIAIS APLICAÇÕES

A acerola é conhecida pelas altas concentrações de vitamina C. Ela possui em torno de 800mg/100g de fruto maduro (CHIM; ZAMBIAZI; RUI CARLOS, 2013). Sendo hoje um de seus principais atrativos comerciais. Essa alta concentração de vitamina C vem sendo utilizada tanto para produção de conservantes de alimentos naturais, como para a fabricação de outros produtos nutracêuticos. Grandes empresas fornecedoras de insumos para a indústria de alimentos têm apresentado o extrato natural da acerola como uma alternativa efetiva aos conservantes, para indústria de carnes e panificação por exemplo. A empresa Dupont já vem utilizando a vitamina C para testes no melhoramento da massa de bolo para confeitaria, onde a

vitamina C atua tanto na parte oxidante, como no melhoramento do comportamento do glúten na massa. Disponível em: <www.food.dupont.com> . Outra empresa que já vem produzindo produtos enriquecidos com a vitamina C proveniente da acerola é a Duas Rodas, que vêm utilizando o potencial antioxidante do ácido ascórbico da Acerola, para a conservação de carnes (READER, 2019)

As frutas apresentam altas concentrações de compostos com importância biológica. Apontadas como forma de prevenção de patologias e benefícios na saúde humana, devido a presença em dietas ricas em antioxidantes. Atuam na redução do risco de alguns cânceres, doenças inflamatórias, cardiovasculares, catarata e doenças degenerativas (SILVA et al., 2014). Os antioxidantes de fontes naturais vêm ganhando relevância em relação aos antioxidantes sintéticos devido aos efeitos colaterais e toxicidade. A acerola se tornou forte candidata para o desenvolvimento e enriquecimento de produtos alimentícios considerados funcionais, ou seja, com efeitos benéficos à saúde e assim aumentando o potencial comercial da fruta (CRUZ et al., 2019), além disso o poder antioxidante da acerola também pode ser usado no aumento e melhoramento da qualidade de produtos da indústria, afim de evitar a rancidificação oxidativa de lipídios, que leva ao aparecimento de off-flavours indesejáveis, perda do valor nutricional e perda da qualidade do alimento (CRUZ et al., 2019). Tais características aumentam as possibilidades de aplicação industrial dos compostos presentes na acerola e assim sua importância comercial.

A composição da fruta também pode estar atrelada a fatores como condições climáticas, tratamento da cultura, localização geográfica, aplicação de pesticidas e tempo e condições de estocagem da própria (MEZADRI et al, 2008).

Entretanto a concentração destes compostos pode variar de acordo com o grau de maturação da fruta (CRUZ et al., 2019). Essa variação é mais evidente principalmente no que se refere à compostos fenólicos e carotenoides (SILVA et al., 2014). Outras análises mostram que a vitamina C pode ser reduzida em até 50% de sua concentração em comparação com a quantidade presente na fruta verde e na fruta já madura, conforme mostra a tabela 1 (VENDRAMINI; TRUGO, 2000). As proteínas são reduzidas em até 30% devido à degradação bioquímica ocasionada pela maturação.

Observou-se o aumento da acidez, açúcares e sólidos solúveis, e a perda de vitamina C e proteína, com a maturação da fruta (VENDRAMINI; TRUGO, 2000).

Tabela 1: Características da fruta acerola em diferentes estágios de maturação

Características	Imatura (verde)	Intermediária (amarela)	Madura (vermelha)
Vitamina C	2164	1065	1074
Proteína	1.2	0.9	0.9
Cinzas	0.4	0.4	0.4
Umidade	91	92.4	92.4
PH	3.7	3.6	3.7
Sólidos solúveis	7.8	7.7	9.2
Açúcares Redutores	3.3	4.2	4.4
Açúcares totais	4.3	4.3	4.4

*Todos os resultados em (g/100g)

Fonte: Vendramini e Trugo (2000).

Os subprodutos e resíduos da produção da acerola também podem ser interessantes como fontes de nutrientes e outras moléculas bioativas (ALBUQUERQUE et al., 2019). As fibras dietéticas presentes nos subprodutos podem ser adicionadas à alimentos com a função de prebióticos e assim garantir um reprocesso dos resíduos (ALBUQUERQUE et al., 2019).

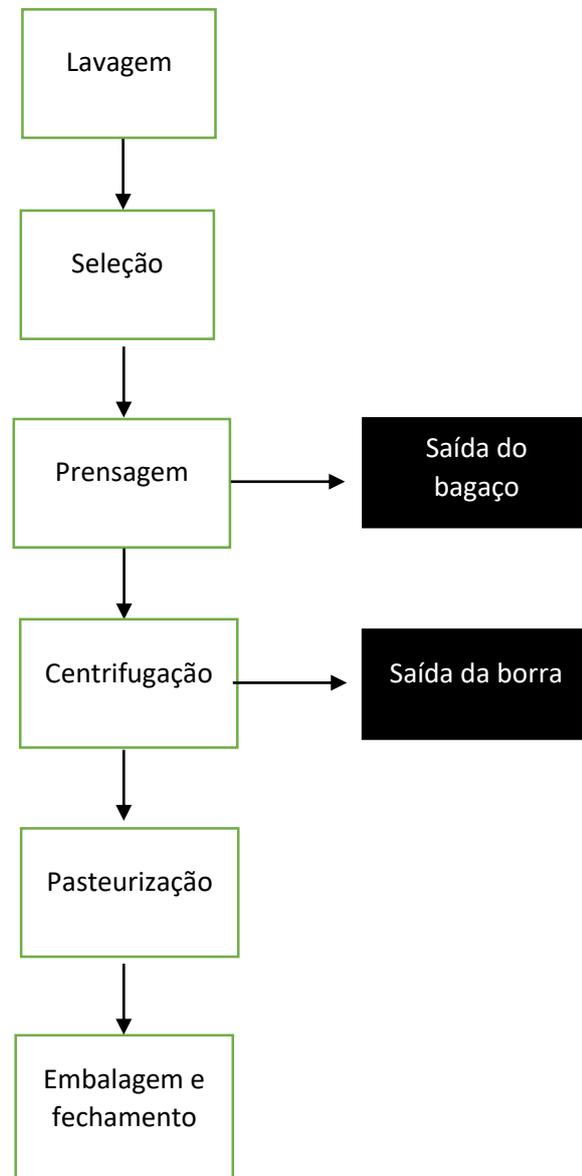
3.3 PROCESSAMENTO DA ACEROLA

O suco da acerola pode ser obtido de diferentes maneiras, como por prensagem ou extração da polpa. Previamente as frutas são selecionadas por sanidade, integridade física e uniformidade na coloração e maturação, são lavadas e após extraída, a polpa é desaerada e homogeneizada. A polpa pode ser transformada em suco simples ou suco concentrado (MAIA et al., 2007).

Os rendimentos do suco podem variar de acordo com o método de extração, mas é possível obter em média de 70 à 80% de rendimento (OLIVEIRA; FILHO, n.d.).

A maior parte do resíduo do processamento da acerola é proveniente das etapas de prensagem para obtenção da polpa e clarificação para obtenção do suco com baixo teor de sólidos. Após a prensagem tem-se o resíduo chamado de bagaço, caracterizado pela semente e casca. Na etapa de clarificação tem-se um resíduo caracterizado como borra por causa de sua consistência.

Figura 1: Etapas do processamento do suco da acerola



Fonte: Baseado em Maia et al. (2007)

Proveniente da etapa de prensa da fruta obtemos o bagaço, resíduo referente à casca e semente da fruta. Da etapa de centrifugação é retirada a borra do suco. Os diferentes resíduos produzidos pelo processamento da acerola são obtidos em diferentes etapas do processo.

3.4 REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DA ACEROLA

O processamento da Acerola em polpas, sucos, geleias e outros gera um resíduo proveniente da casca, semente e porções da fruta não comestível. Esse resíduo descartado representa cerca de 40% do volume da fruta. As partes inutilizadas da fruta acabam causando um impacto ambiental negativo, com gasto de energia e desperdício de matéria-prima. Aliado à busca por tecnologias limpas com menor geração de resíduos, a busca por reaproveitamento dos subprodutos da fruta se faz necessária (NOGUEIRA et al, 2019).

Em estudos realizados por (PRAKASH; BASKARAN, 2018) para caracterização do resíduo foi possível verificar que quantidades significativas de antocianinas, compostos fenólicos e vitamina C estão presentes nos resíduos. Compostos estes que podem ser utilizados como suplementos em produtos, enriquecendo-os nutricionalmente. Quantificando os compostos bioativos presentes na polpa e nos produtos secundários provenientes do processamento da fruta, foi possível notar que as quantidades de antocianinas e flavonoides contidos no subproduto do processamento eram maiores do que na polpa e produtos finais (PRAKASH; BASKARAN, 2018).

Uma das formas de reaproveitamento dos subprodutos da fruta é através da elaboração de farinhas (BRAGA et al, 2011). Considerando que o resíduo da acerola pode apresentar mais de 80% em água na sua composição, é necessário submetê-lo a um processo de secagem. A farinha obtida pode ser incorporada posteriormente em diversos produtos. A outra forma de reaproveitamento é a elaboração de extratos ricos em compostos da acerola utilizando diferentes processos de extração e solventes (TAMARA et al., 2016).

3.5 CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS PRESENTES NA ACEROLA

3.5.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos estão presentes em todas as frutas e verduras e possuem elevada atividade antioxidante. Sua atividade antioxidante está relacionada ao sequestro de radicais livres, interação entre enzimas, fatores de transcrição, e receptores que contribuem para a redução do estresse oxidativo (OLIVEIRA, 2015). Suas propriedades redutoras e sua estrutura química apresentam grande importância para o seu poder de neutralização, sequestro de radicais livres e quelação de metais, agindo na etapa de iniciação e propagação do processo oxidativo (OLIVEIRA, 2015).

Os compostos fenólicos também apresentam atividade antimicrobiana, podendo inibir o crescimento de microrganismos, sendo essa atividade de grande interesse para a indústria de alimentos para a conservação dos produtos, podendo aumentar vida de prateleira dos mesmos. (PAPUC et al, 2017). A grande vantagem é o fato de serem compostos naturais que vem a atender a demanda por produtos que substituam os sintéticos. A ação antimicrobiana dos compostos fenólicos tem sido avaliada contra uma grande gama de microrganismos e os polifenóis da classificação dos flavonoides tem apresentado atividade interessante e recebido mais atenção ultimamente, devido ao amplo espectro e maior atividade microbiana frente à outros compostos fenólicos (OLIVEIRA, 2015).

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos. Quando presentes em vegetais podem estar em formas livres ou complexadas a açúcares e proteínas. Dentre eles, destacam-se os flavonoides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os antioxidantes fenólicos mais comuns de fonte natural (ANGELO; JORGE, 2007). Os compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da autoxidação (ANGELO; JORGE, 2007).

Dentre os compostos fenólicos já identificados presentes na acerola destacam-se os flavonoides (quercetina e kaempferol), antocianinas (cianidinas), ácidos fenólicos (coumárico, ferúlico, siríngico, cafeico e gálico) e carotenoides (β -caroteno, α -caroteno e luteína) (DELVA; SCHNEIDER, 2013).

3.5.2 Vitamina C

A quantidade de vitamina C presente na acerola apresenta diferenças de acordo com a variedade genética da fruta, estágio de maturação, época da colheita, método de cultura, fertilidade e disponibilidade de nutrientes no solo, clima e local do cultivo. Assim a acerola apresenta em torno de 800mg/100g de vitamina C no fruto maduro (MATSUURA et al., 2007). A quantidade necessária diariamente para uma mulher adulta é de 75mg/dia e para um homem adulto é equivalente a 90mg/dia. Logo o consumo de três acerolas por dia seria o suficiente para satisfazer a necessidade de vitamina C de uma pessoa adulta (PRAKASH; BASKARAN, 2018).

A vitamina C é hidrossolúvel, ou seja, solúvel em água e pouco solúvel em solventes orgânicos. Participa das reações químicas doando hidroxilas para outras moléculas. Tem forte poder antioxidante, uma vez que neutraliza as espécies reativas de oxigênio. Pode ser utilizada

como co-fator para reações enzimáticas, como a síntese de aminoácidos. Plantas tem a capacidade de sintetizar vitamina C a partir de produtos da reação de glicólise (CHIM; ZAMBIAZI; RUI CARLOS, 2013).

Estudos realizados para avaliar atividade antimicrobiana da vitamina C, apontaram inibição do crescimento da bactéria *Escherichia coli*, quando tratadas em caldo TSB (*Tryptical soy broth*) com a concentração de 5 mg/ml de vitamina C (VERGHESE; RAMYA; KANUNGO, 2017).

Outros ensaios realizados com biofilmes de plasma pré-tratados com vitamina C, mostraram que a vitamina C melhora a atividade bactericida no filme, e reduz a viabilidade de 10 para 2% de *E.coli* e outras bactérias (HELGADÓTTIR et al., 2017).

3.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A deterioração e contaminação dos alimentos causadas por microrganismos representa um problema sério, que ainda não foi totalmente controlado. Mesmo com o avanço das técnicas de conservação alimentar, a contaminação de alimentos por microrganismos é um sério risco na indústria de alimentos (OLIVEIRA, 2015).

A resistência aos antibióticos e drogas convencionais pelos organismos patogênicos vem impulsionando a busca e a pesquisa por novas formas de conservação alimentar, somado à crescente preferência dos consumidores por alimentos livres de aditivos químicos e conservantes sintéticos. O desenvolvimento de novas técnicas de conservação está cada vez mais direcionado a compostos de origem natural para manutenção da segurança alimentar e aumento da vida de prateleira dos produtos (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013).

Os compostos bioativos provenientes de plantas e frutas tem chamado a atenção para o seu potencial como conservantes de alimentos devido aos poucos efeitos colaterais e menor toxicidade em comparação com os conservantes de origem sintética (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013).

A maioria das doenças que ocorrem a recém-nascidos devido à intoxicação alimentar provém de microrganismos patogênicos presentes nos alimentos (PATANKAR, 2019). Além da contaminação que ocorre no processo produtivo, desde o recebimento da matéria-prima até a mesa do consumidor, ocasionada por toxinas liberadas também por microrganismos (PATANKAR, 2019). Por isso a adição de conservantes aos alimentos se faz necessária e a procura por conservantes de origem natural com menos efeitos colaterais a longo prazo vem

crecendo nos últimos tempos (PATANKAR, 2019). Os compostos naturais presentes em frutas apresentam mais uma funcionalidade interessante à indústria de alimentos.

Os compostos fenólicos representam um grande grupo de metabólitos secundários das plantas que apresentam atividade antimicrobiana e podem surgir como uma alternativa natural à conservação de alimentos. A atividade antimicrobiana de compostos fenólicos presente em frutas foi relatado em diferentes trabalhos: fruta da planta *Metaplexis japônica* (WEI et al, 2019) , framboesa (DUTREIX et al, 2018), maracujá e maçã (LIMA et al., 2018), Frutos silvestres (RADOVANOVIĆ et al, 2013) e diferentes resíduos de frutas (AYALA-ZAVALA et al., 2011). Segundo Perlin (2017), o mecanismo de ação dos polifenóis sobre os microrganismos ainda não foi bem esclarecido, principalmente devido a diversidade de estruturas dentro das classes de polifenóis. Os mesmos autores sugerem que a destruição dos microrganismos seja função de diferentes interações como ligação de hidrogênios, efeitos hidrofóbicos, forças lipofílicas, bem como a formação de ligações covalentes com a membrana celular dos microrganismos.

A acerola já demonstrou ter efeito antibacteriano contra espécies de *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus* e *Brochothrix thermosphacta*, quando testado *in vitro* e *in situ*, o qual mostrou forte inibição para esses microrganismos. Atividade antimicrobiana contra *S.aureus* já foi relatada na literatura como moderada e relacionada com a fração contendo flavonoides da parte comestível da fruta (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013). Com foco na indústria de alimentos, o extrato de acerola foi testado como antimicrobiano em carnes. Os resultados mostraram que as bactérias inoculadas foram inativadas e o produto preservou suas principais características sensoriais durante 21 dias a 4°C.

O Estudo realizado por (TANADA, 2007) aponta o uso do suco da acerola como agente bacteriostático contra bactérias termo e ácido resistentes. O ensaio quantificou sólidos solúveis e outros componentes do suco da acerola, como vitamina C, sólidos solúveis e compostos fenólicos na ação contra bactérias termo acidofílicas (TANADA, 2007).

Porções de flavonoides oriundos de acerolas liofilizadas foram estudadas em relação à capacidade antimicrobiana nas partes comestíveis e não comestíveis: a porção comestível liofilizada de frutos maduros mostrou atividade antimicrobiana moderada, enquanto que porções comestíveis liofilizadas verdes e porção não comestível liofilizada verdes do fruto apresentaram propriedade antimicrobiana clara contra a cepa de *S. aureus*, ou seja parte do resíduo (DELVA, 2013).

A atividade antimicrobiana pode ser atribuída aos taninos e flavonoides, como a quercetina que apresentam capacidade de inativar enzimas e complexando com proteínas extracelulares estabelecendo um provável mecanismo de ação antimicrobiano. A ruptura total de membranas de microrganismos pode ser dada por flavonoides de caráter lipofílicos (MENDES et al., 2011).

Apesar de ser possível encontrar alguns estudos sobre a atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos de origem natural ainda são poucos os artigos que apontam sua aplicabilidade na indústria. Sua ação como conservantes ainda é pouco explorada. Um pequeno número de estudos científicos aponta a capacidade antimicrobiana dos compostos provenientes da acerola.

Nesse trabalho, o extrato de acerola verde concentrado obtido da empresa Nutrilite do Brasil foi caracterizado quanto à presença de polifenóis totais, atividade antioxidante, vitamina C e atividade antimicrobiana. Além disso, extratos obtidos dos resíduos do processamento da acerola também foram caracterizados. Os extratos testados neste trabalho fazem parte de uma tese de doutorado em desenvolvimento, a qual testou métodos de extração dos compostos a partir desses resíduos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SUCO DE ACEROLA E RESÍDUOS

As amostras do suco concentrado e dos resíduos provenientes da borra e bagaço de acerola, foram doadas pela empresa Nutrilite do Brasil (Ubajara – CE).

4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

O suco concentrado da acerola em sua forma líquida, e não sofreu nenhum tipo de tratamento para ser utilizado no presente trabalho.

O resíduo in natura obtido da borra do suco da acerola sofreu um procedimento de secagem em estufa à vácuo com temperatura de até 45°C, seguido de trituração de todo o resíduo em um triturador do tipo TURREX e peneirado em peneira de 150mm, para obtenção de um substrato uniforme. A base seca e uniformizada sofreu um pré-tratamento com ultrassom, foi utilizada a razão de 2% de sólidos (pó da borra) em água destilada pura. O pré-tratamento foi realizado utilizando 50% da potência do equipamento de Ultrassom de 20 kHz por 5 minutos contínuos com a amostra imersa em banho de gelo. Na sequência, todo o conteúdo foi submetido a extração em shaker de agitação orbital na temperatura de 45°C e 150 rpm de agitação, por 20 minutos e foram congelados até o momento das análises.

4.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS

4.3.1 Compostos fenólicos totais (CFT)

A variação da quantidade de compostos fenólicos presentes nos extratos concentrados e resíduos foram avaliadas baseado no método colorimétrico descrito por (SINGLETON et al. 1999) com algumas modificações. 20 µL das amostras (previamente diluídas se necessário) serão adicionadas de 1580 µL de água destilada e 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu em microtubos de 2 mL. Após 8 minutos de reação, 300 µL de solução de carbonato de sódio 20% (m/v) será adicionado ao meio reacional e os microtubos agitados por 10 segundos em um agitador vortex mixer. Após incubação a 40 °C por 30 minutos, a absorbância das amostras será lida a 765 nm em espectrofotômetro. A concentração dos compostos fenólicos será obtida

através de uma curva de calibração, construída previamente com ácido gálico (GAE), relacionando os valores lidos de absorvância com o teor de ácido gálico em gramas por litro da amostra (g/L).

4.3.2 Atividade antioxidante

As amostras serão avaliadas pela metodologia DPPH (BLOIS, 1958). O método é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância a 515 nm. Um volume de 50 µL da amostra previamente diluída é misturado com 1950 µL da solução de DPPH ($6,3 \times 10^{-5}$ M). Após 60 minutos de reação, a absorvância é medida em 517 nm e os resultados expressos em mg de Trolox/mL obtidos através de curva de calibração previamente construída.

4.3.3 Vitamina C

A vitamina C foi determinada pelo método do oxalato (COUTO & CANNIATTI-BRAZACA, 2010). As análises foram conduzidas em microtubos, onde (0,2 mL) de amostra de extrato concentrado (1:400) e dos extratos dos resíduos com diluição (1:15) foram misturados com 1,5 mL de uma solução de oxalato de sódio (0,005 mol/L) e deixado em repouso por cinco minutos para extrair a vitamina. As leituras de absorvância foram realizadas a 266nm utilizando a solução de oxalato de sódio como branco em cubetas de quartzo de 10 nm de percurso óptico. A curva de calibração foi realizada feita com ácido L-ascórbico padrão. Os resultados devem ser expressos em mg/L de ácido ascórbico. A curva de calibração foi construída com ácido L-ascórbico como padrão com concentração variando de 2 a 64 mg/L.

4.3.4 Massa seca dos extratos

A massa seca dos extratos foi determinada pelo método de análise gravimétrica. Os microtubos utilizados para análise, foram secos em estufa a 105°C por 48 horas. alíquotas de 0,2 mL das amostras foram colocadas nos microtubos de plásticos previamente secos e foram submetidas à secagem em estufa a 105°C por 24h. Após o tempo de secagem os microtubos com as amostras foram depositados no desssecador por 20 minutos e pesados.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.4.1 Microrganismos

Para a realização deste trabalho foi utilizada a levedura *C.albicans* ATCC 10213 obtida por isolamento e cedida pelo departamento de microbiologia, infectologia e parasitologia (MIP) pertencente ao centro de ciências biológicas da UFSC, o fungo *A. brasilienses* ATCC 16404, também obtido por isolamento e cedido pelo MIP ,outros dois fungos isolados do ambiente e de espécies desconhecidas e a bactéria *S.aureus* ATCC 25923 também cedida pelo departamento de microbiologia, infectologia e parasitologia.

4.5 PREPARO DO MEIO DE CULTURA

4.5.1 Fungos filamentosos

Os fungos filamentosos foram cultivados no meio PDA (*potato dextrose agar*), o meio foi preparado pesando 3,52g do meio comercial, da marca HIMEDIA e adicionado 150 mL de água destilada. A concentração final obtida da solução foi de 23,4g/L de solução. A solução foi autoclavada, por 15 minutos em 121°C para obter um meio completamente esterilizado e isento de outros microrganismos que pudessem interferir na análise.

4.5.2 *Candida albicans*

As leveduras foram cultivadas em meio de cultura YEPD (*yeast extract peptone dextrose*). Para o preparo de uma solução de volume de 400 mL do meio cultura, foram adicionados 4g de extrato de levedura, da marca BD, 8g de peptona também da marca BD, 8g de glicose da marca VETEC. Para o preparo das placas de Petri foram adicionados 8g de ágar da marca HIMEDIA em 200mL da solução.

Após o preparo da solução a mesma foi autoclavada, por 15 minutos em 121°C, para obtenção de um meio completamente esterilizado e isento de outros microrganismos que pudessem interferir na análise.

O meio de cultura isento de ágar foi utilizado como meio nutriente para reativação das células da *C.albicans*. Retirou-se amostras do microrganismo da placa com a alça de platina e

inoculou no caldo nutriente. O recipiente contendo o caldo nutriente com as células foi levado ao agitador orbital (*shaker*), onde permaneceu em agitação por 48 horas a 30°C.

4.5.3 *Staphylococcus aureus*

Para o microrganismo em questão o meio mais adequado para cultivo o é o PCA (*plate count agar*) da marca HIMEDIA. Foram utilizados 4,7 g do meio pronto para o preparo de 200 mL de solução. Foi obtida uma solução com concentração final de 23,5g/L de solução.

O meio foi então dissolvido em água destilada e autoclavado por cerca de 20 minutos em 121°C.

Os meios de cultura são descritos de maneira exemplificada na tabela 2.

Tabela 2: Composição dos meios de cultivo das placas usados para os microrganismos testados

Microrganismo	Meio de cultura
Fungos filamentosos (<i>A. brasiliensis</i> e isolados do ambiente)	PDA (peptone dextrose agar) 23,46 g/L do meio comercial
Levedura (<i>Candida albicans</i>)	YEPD (yeast extract peptone dextrose) Composição 70 g/L: extrato de levedura (10); peptona (20); glicose (20), ágar (20).
Bactéria (<i>Staphylococcus aureus</i>)	PCA (plate count agar) 23,5g/L do meio comercial

Fonte: Própria (2019).

O meio de cultura contendo o ágar, depois de esterilizado e ressolubilizado no microondas em potência baixa pelo período de 5 minutos foi vertido ainda aquecido nas placas de Petri de 9 cm de diâmetro para posterior solidificação.

4.6 REATIVAÇÃO DAS CEPAS E LEVEDURAS

As cepas de levedura e bactéria foram reativadas para posterior inoculação nas placas durante o teste de atividade antimicrobiana. O meio YEPD, sem a presença do ágar, foi utilizado para reativação das cepas de *C. albicans* e caldo nutriente (8g/L) para *S. aureus*. Para reativação, retirou-se amostras do microrganismo da placa estoque com a alça de platina e inoculou-se no

meio. Os frascos foram levados ao shaker, onde permaneceram em agitação por 48 horas a 30°C.

4.7 TESTE DE DIFUSÃO POR PERFURAÇÃO EM ÁGAR

A avaliação do potencial antifúngico do extrato da acerola foi realizado através de um ensaio *in vitro*, baseado na metodologia apresentada por Perlin (2017). O teste de perfuração em ágar foi realizado conforme descrito a seguir.

As culturas contendo as células reativadas (*C. albicans* e *S. aureus*) foram inoculadas nas placas pelo espalhamento de uma alíquota de 100 µL contendo o microrganismo. A alíquota foi espalhada por toda a extensão da placa até a completa absorção pelo meio de cultura com o auxílio da alça de Drigalsky.

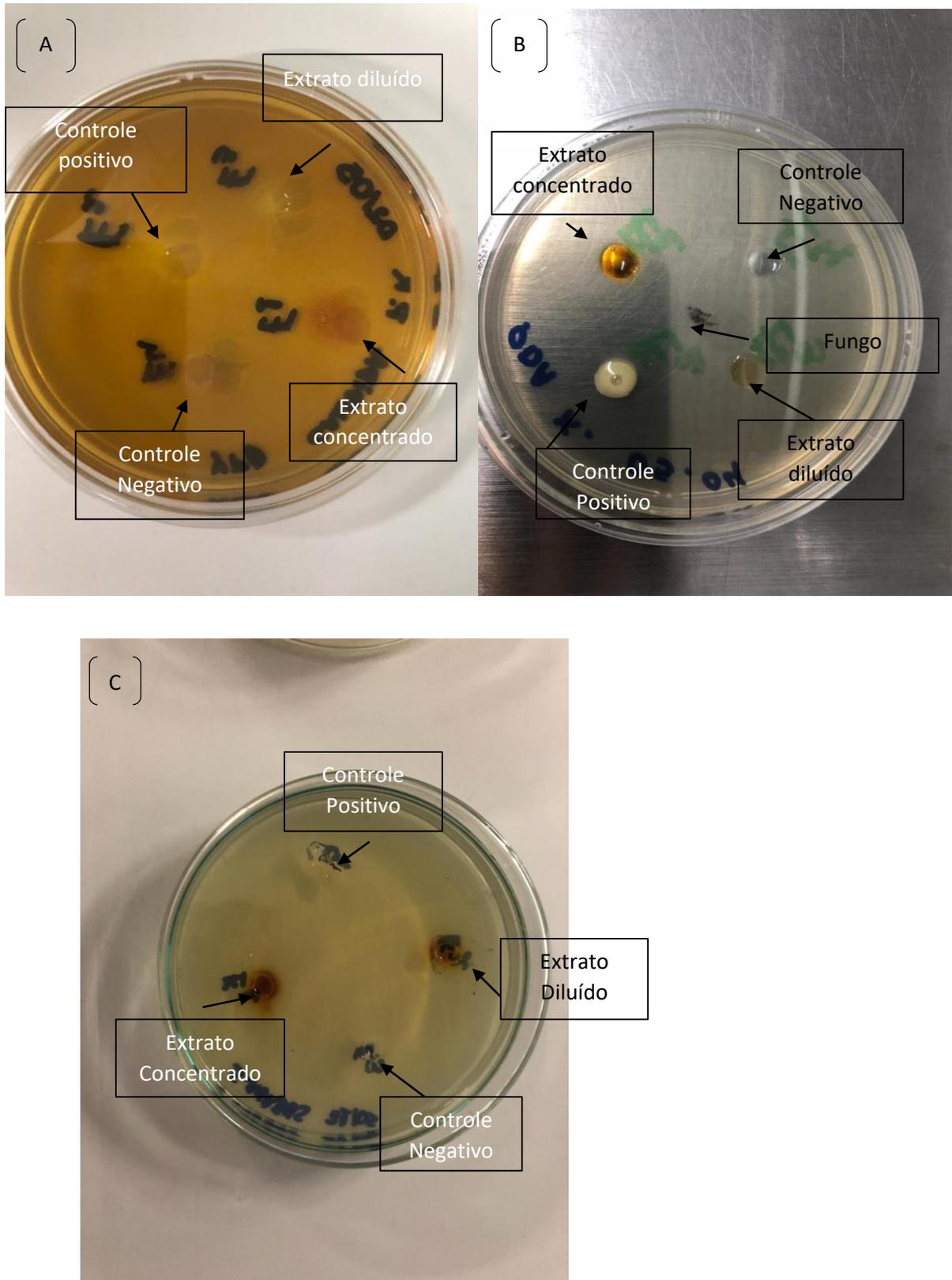
No caso dos fungos, estes foram repicados a partir da placa estoque e inoculados no centro da placa teste com o auxílio da alça de platina.

Então as placas foram perfuradas, utilizando ponteiras das pipetadoras de 1000 µL, para a criação de quatro poços de 6 mm que receberam as alíquotas de 200 µL do suco concentrado da acerola, suco diluído 1:5, e extratos dos resíduos da borra e bagaço a serem testados. Como controle positivo foram utilizados a nistatina (nistatina 100.000UI/ml), fármaco comumente utilizado para o combate de infecções fúngicas, e o antibiótico ampicilina ambos utilizados na concentração de 500mg/L preparado em solução aquosa 1:2, como controle negativo foram utilizados os meios de cultura YEPD isento de ágar e caldo nutriente esterilizados. Com o auxílio de seringas de 15 mL os extratos e os controles foram filtrados em microfiltros de 0,2 µm antes de serem aplicados nas placas para retirada de possíveis microrganismos e outros contaminantes que pudessem interferir no estudo. A Figura 2 mostra os poços perfurados na placa para os testes com os diferentes microrganismos.

Todas as etapas acima descritas e sua preparação foram realizadas dentro da câmara de fluxo contínuo e os ensaios realizados em duplicatas.

As placas foram levadas à estufa de cultura bacteriológica e mantidas por 37°C pelo período de 72 horas.

Figura 2: Ensaio de perfuração em ágar para análise da ação antimicrobiana do extrato da acerola



Fonte: Própria (2019).

OBS.: Poço E1 temos o extrato concentrado, no poço E2 o controle positivo, no poço E3 extrato diluído e no poço E4 o controle negativo. (a) *C. albicans*, (b) *A. brasiliensis*, (c) *S. aureus*

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção, os resultados obtidos quanto à caracterização da composição dos extratos de acerola medidos em polifenóis totais, atividade antioxidante, vitamina C e avaliação da atividade antimicrobiana são apresentados. Todos os ensaios de atividade antimicrobiana referem-se ao método de difusão usando a técnica de perfuração de poços em ágar.

Nesse método, o microrganismo é desafiado frente à uma substância biologicamente ativa em um meio de cultura sólido e relaciona-se o tamanho do halo de inibição de crescimento do microrganismo com a concentração da substância em estudo (NAVES et al., 2013). Nesse estudo, as respostas obtidas foram apenas qualitativas (visuais) quanto a formação do halo de inibição e a indicação do potencial do extrato de acerola como antimicrobiano.

A técnica de difusão em ágar é semi-quantitativa e fundamenta-se na difusão da substância a ser ensaiada em meio sólido. Consiste em aplicar uma quantidade da amostra com concentração conhecida na superfície do ágar que foi previamente inoculado com uma quantidade padrão de células do microrganismo em estudo (PERLIN, 2017). Após o microrganismo ser inoculado aplica-se a técnica de perfuração de poços no meio ágar. As amostras são então aplicadas nos poços para que esta seja difundida no meio.

A difusão da amostra criará um gradiente circular de difusão. O microrganismo irá se multiplicar. Se houver atividade antimicrobiana na amostra em estudo, uma zona de inibição do crescimento irá aparecer ao redor do poço em que a amostra com atividade antimicrobiana está contida. A zona de inibição é medida em milímetros e pode ser classificada em três categorias: inibição total, inibição parcial ou sem inibição (SCORZONI et al., 2016).

5.1 ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DE POLIFENÓIS TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VITAMINA C NOS EXTRATOS DE ACEROLA

A Tabela 3 apresenta os dados de caracterização dos extratos de acerola. Os dados para borra e bagaço são apresentados em g/L e em mg/100 g de resíduo para que comparações pudessem ser feitas entre os extratos e o suco concentrado, e os extratos e dados da literatura.

Comparando os resultados do suco concentrado e os extratos da borra e bagaço caracterizados no presente trabalho, é possível avaliar diferenças significativas no teor dos compostos avaliados. O conteúdo de compostos fenólicos, vitamina C e atividade antioxidante presentes no suco concentrado difere significativamente, apresentando teores maiores do que os conteúdos apresentados pela borra e bagaço, como já esperado.

Os resultados de caracterização mostram que o resíduo da borra de suco é mais rico em polifenóis e vitamina C que o bagaço, que é composto de cascas e sementes. Para borra e bagaço a comparação com outros artigos da literatura também se faz pertinente. Os valores apresentados no presente trabalho são muito similares com os valores de outros trabalhos para os resíduos provenientes da mesma etapa de processamento da fruta. Quando comparados com o teor de compostos fenólicos apresentados nas amostras utilizadas por Delva e Goodrich-Schneider (2013), que analisou a parte comestível da frutas, os valores se mostram superiores. Já o resultado apresentado por Rezende et al. (2013), que avaliou o extrato do bagaço de acerola, resultado muito similar foi encontrado.

Pequenas divergências de resultados podem ser atribuídas ao método de extração utilizado, diferente do apresentado no presente estudo. Os artigos da literatura usaram uma solução da amostra com solventes orgânicos, ao contrário do utilizado neste estudo, em que foi usada água para extração dos resíduos.

Para o conteúdo de vitamina C presente no suco concentrado do presente trabalho e em outros extratos concentrados apresentados na literatura foram bem similares. O teor de vitamina C difere quando compara-se o suco concentrado com o suco não concentrado, o que pode ser devido ao fator de concentração de cada suco no seu processamento.

A variação na quantidade dos compostos presentes no trabalho comparado aos citados da literatura podem estar relacionados aos diferentes locais de obtenção e plantio da fruta utilizados para o estudo, estágio de maturação em que a fruta foi colhida, além de fatores ligados ao solo e clima apresentam forte influência na produção de polifenóis em plantas e frutas.

Os dados obtidos dessa caracterização foram utilizados para discutir os resultados obtidos na avaliação da atividade antioxidante dos extratos.

Tabela 3: Comparação entre as concentrações dos compostos dos extratos da acerola obtidos neste trabalho e na literatura

Extratos de acerola	Polifenóis Totais	Atividade antioxidante	Vitamina C	Referência
	(g/L)	(mmol/L)	(g/L)	
Suco concentrado*	266,5 ± 6,2	294,6 ± 3,5	3,0 ± 0,05	Presente trabalho
Suco concentrado	3,8	17,7	4,3	Mezadri et al (2008)
Suco não concentrado	1,4	1,7	0,4	Mezadri et al (2008)
^aBorra	1,5	9,8	0,2	Presente trabalho
^aBagaço	0,9	4,5	0,06	Presente trabalho
	(mg/100g)	(mmol/100g)	(mg/100g)	
Borra	3116,7 ± 203,5	19,6 ± 0,6	434,0 ± 0,6	Presente trabalho
Bagaço	1801,4 ± 7,3	8,9 ± 0,2	123,8 ± 6,7	Presente trabalho
Bagaço	1068	19,5	489	Rezende et al (2017)
Parte comestível	1628,5	13,6	1161	Delva & Goodrich-Schneider (2013)

* Fornecido pela Nutrilite do Brasil

a Os desvio padrões das análises correspondem a menos de 5% da média.

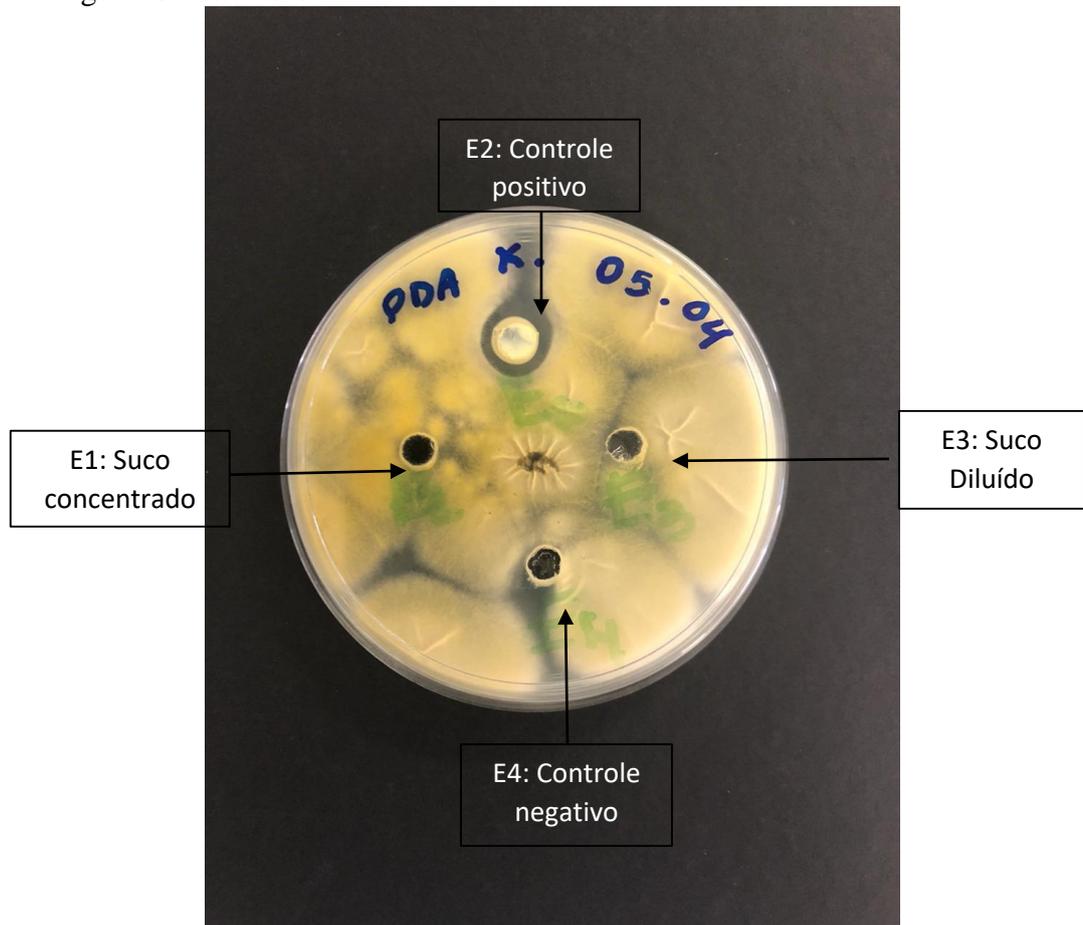
Fonte: Própria (2019).

5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE ACEROLA

5.2.1 Ação do extrato da acerola frente aos fungos filamentosos

A atividade antifúngica foi realizada apenas com o suco concentrado e diluído (1:5). O ensaio para análise da atividade antimicrobiana do extrato da acerola frente ao fungo *A. brasilienses* e a outros dois fungos isolados do ambiente e de espécie desconhecida não foi satisfatório, como mostra as figuras 3, 4 e 5. O ensaio foi avaliado pelo método de difusão em placas.

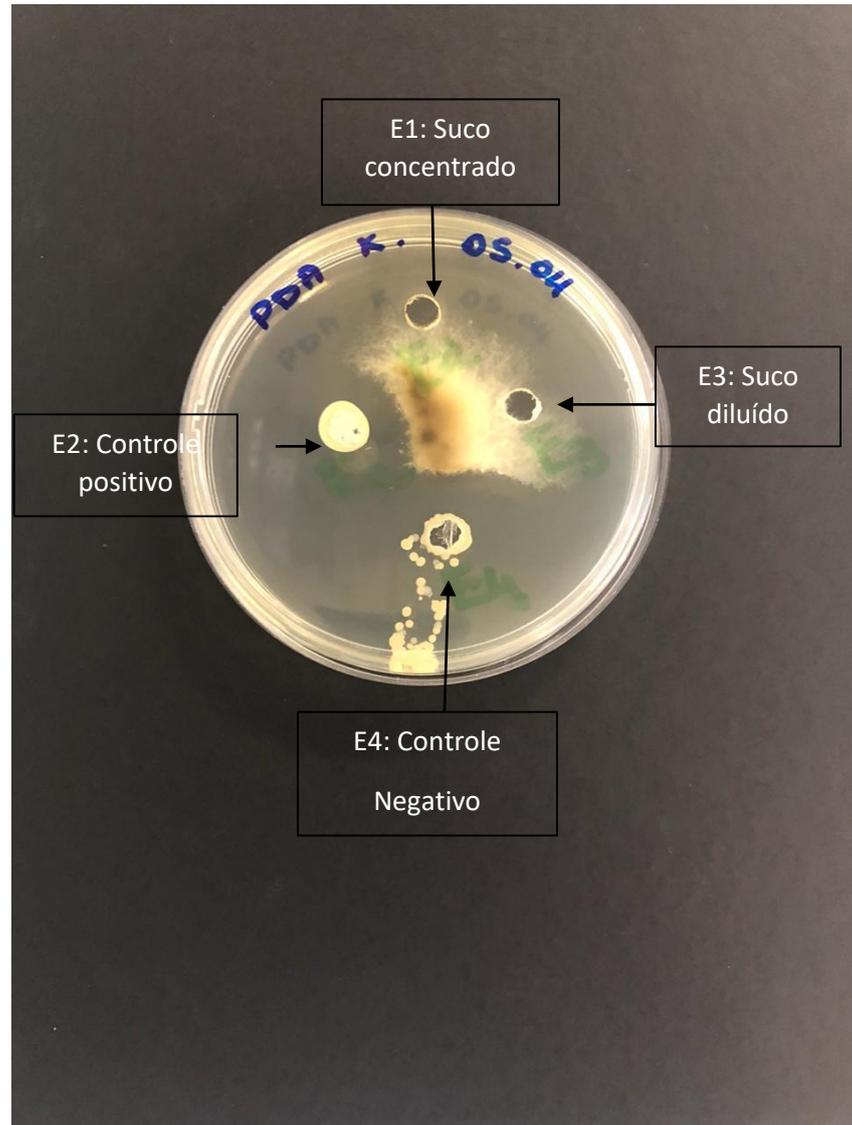
Figura 3: Avaliação da atividade antifúngica do extrato de acerola em placa inoculada com o fungo *A. brasilienses*.



Fonte: Própria (2019).

Obs.: O poço E1 refere-se ao extrato concentrado, E2 ao controle positivo, E3 ao extrato diluído e E4 ao controle negativo.

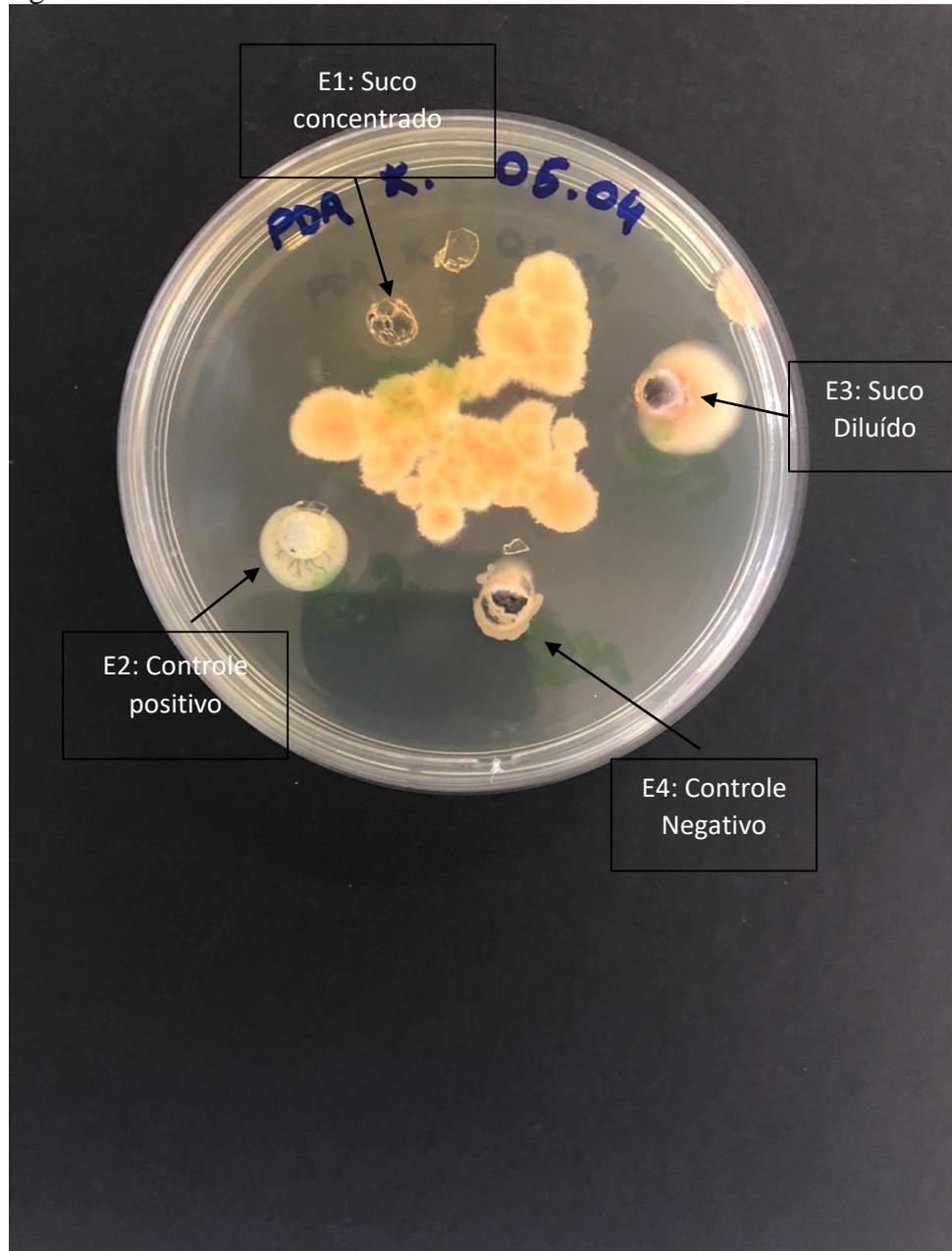
Figura 4: Avaliação da atividade antifúngica do extrato de acerola em placa inoculada com fungo isolado do ambiente.



Fonte: Própria (2019).

Obs.: O poço E1 refere-se ao extrato concentrado, o poço E2 ao controle positivo, o poço E3 ao extrato diluído e o poço E4 o controle negativo.

Figura 5: Avaliação da atividade antifúngica do extrato de acerola em placa inoculada com fungo isolado do ambiente



Fonte: Própria (2019).

Obs.: O poço E1 refere-se ao extrato concentrado, o poço E2 ao controle positivo, o poço E3 ao extrato diluído e o E4 o controle negativo.

Os fungos não apresentaram sensibilidade frente ao suco concentrado e diluído, não apresentando halos de inibição nos poços que correspondiam aos extratos. Acredita-se que como os fungos necessitam de um tempo de crescimento longo na placa é possível que os compostos tenham se perdido por volatilização ou outros motivos antes que os fungos atingissem a área de difusão destes compostos e assim os mesmos não poderiam causar inibição

ao crescimento dos microrganismos. Segundo Curtis (2018) a aplicação do método de difusão se limita a microrganismos de crescimento rápido, o que parece não se adequar a esses fungos.

Após o período de 72 horas, a placa com *A. brasiliensis* apresentou crescimento do fungo por toda sua superfície com exceção da pequena zona de inibição causada pelo controle positivo (Fig. 3).

Já os fungos isolados do ambiente, mesmo após 72 horas, não apresentaram crescimento satisfatório para o estudo, não havendo crescimento por uma extensão considerável da placa. Porém foi possível perceber a zona de inibição causada pelo controle positivo presente no poço E2 (Fig. 4).

O controle negativo presente no poço E4 apresentou contaminação mesmo após ser filtrado para o preparo das placas (Fig. 4 e 5). Os poços E1 e E3 que continham os extratos concentrado e diluído respectivamente não apresentaram zonas de inibição. Mesmo com o pouco crescimento do fungo nas áreas próximas aos poços, foi possível perceber que o microrganismo apresentou pouca ou nenhuma sensibilidade aos compostos do extrato que haviam se difundido na placa (Fig. 3,4 e 5).

Nas figuras 4 e 5 não foi observado crescimento em áreas próximas dos poços que continham o extrato concentrado, o controle positivo e negativo. Por isso o presente ensaio não foi considerado satisfatório para avaliação da ação antifúngica frente ao respectivo microrganismo.

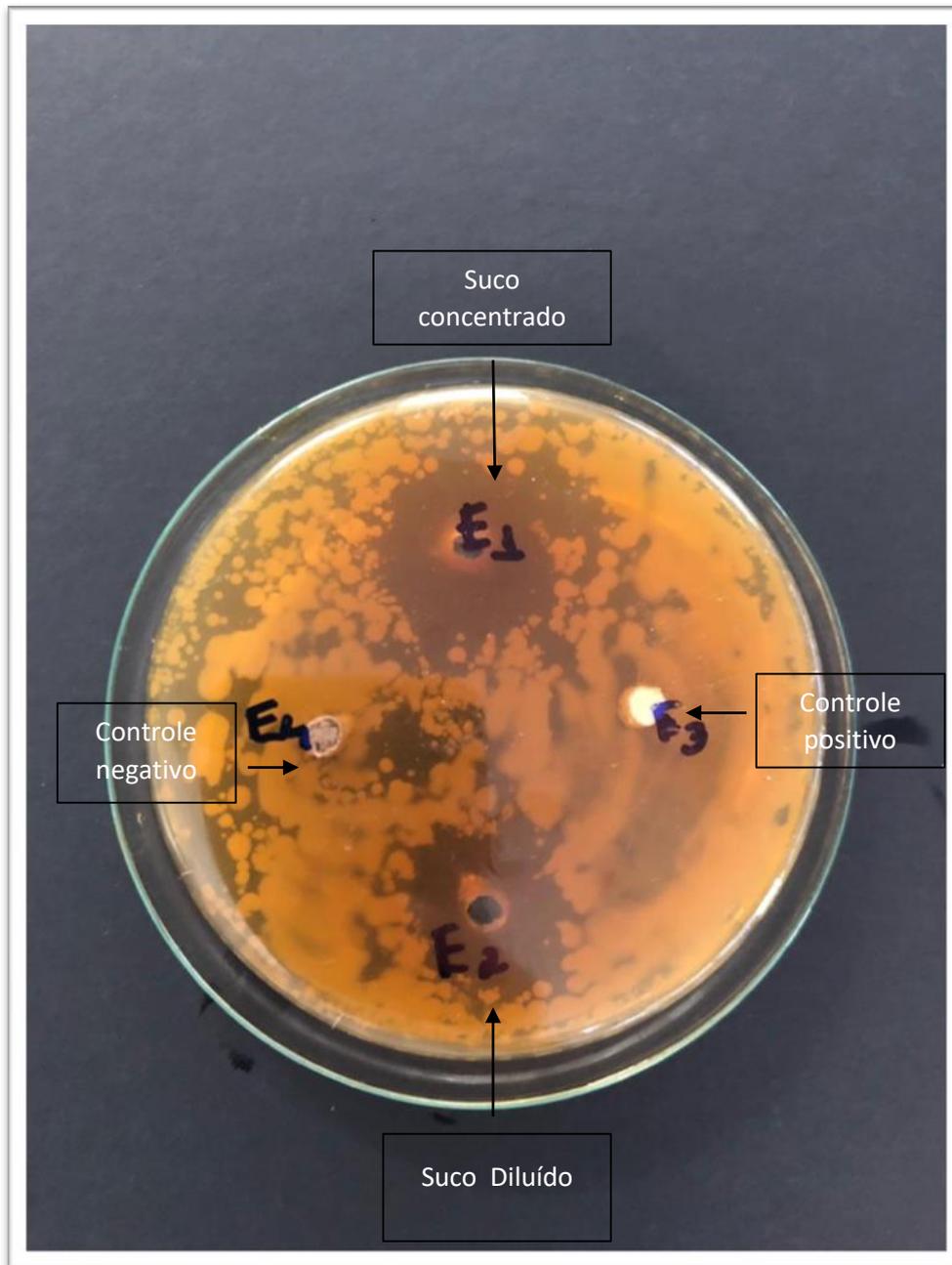
Caso o resultado fosse positivo o que se esperaria para os três testes realizados com os fungos filamentosos, era que o fungo em estudo crescesse por toda a extensão da placa, com exceção das áreas próximas aos poços contendo os extratos e o controle positivo. Formando assim um halo ou zonas de inibição visíveis no meio de cultura.

Não foram encontrados outros estudos com a análise da atividade antimicrobiana de extratos de frutas frente a outros fungos filamentosos, como no caso do presente ensaio para comparação.

5.2.2 Ação do extrato de acerola frente à *C.albicans*

No presente ensaio foi encontrado sensibilidade das leveduras frente ao extrato concentrado da acerola e o extrato diluído (1:5). As leveduras não mostraram sensibilidade frente aos resíduos provenientes do bagaço (prensa) e borra (decanter). Apenas o suco concentrado e o diluído apresentaram zona de inibição visível afim de que fosse possível medir (Fig. 6). O controle positivo infelizmente não apresentou zona de inibição.

Figura 6: Avaliação da atividade antifúngica do extrato da acerola em placas inoculadas com *C.albicans*



Fonte: Própria (2019).

Obs.: O poço E1 é referente ao extrato concentrado, E2 ao extrato diluído, E3 ao controle positivo e E4 ao controle negativo.

As zonas de inibição das amostras foram medidas e comparadas com a zona de inibição encontrada em outros estudos feitos com o extrato da acerola frente o mesmo microrganismo. O diâmetro do halo de inibição referente ao extrato concentrado foi de 30 mm em comparação com o ensaio realizado por (Motohashi et al., 2004) onde os diâmetros dos halos de inibição das amostras variaram entre 12 mm e 13 mm. Os autores preparam os extratos a partir da fruta fresca utilizando diferentes solventes. A partir do resultado obtido nesse trabalho, considerou-

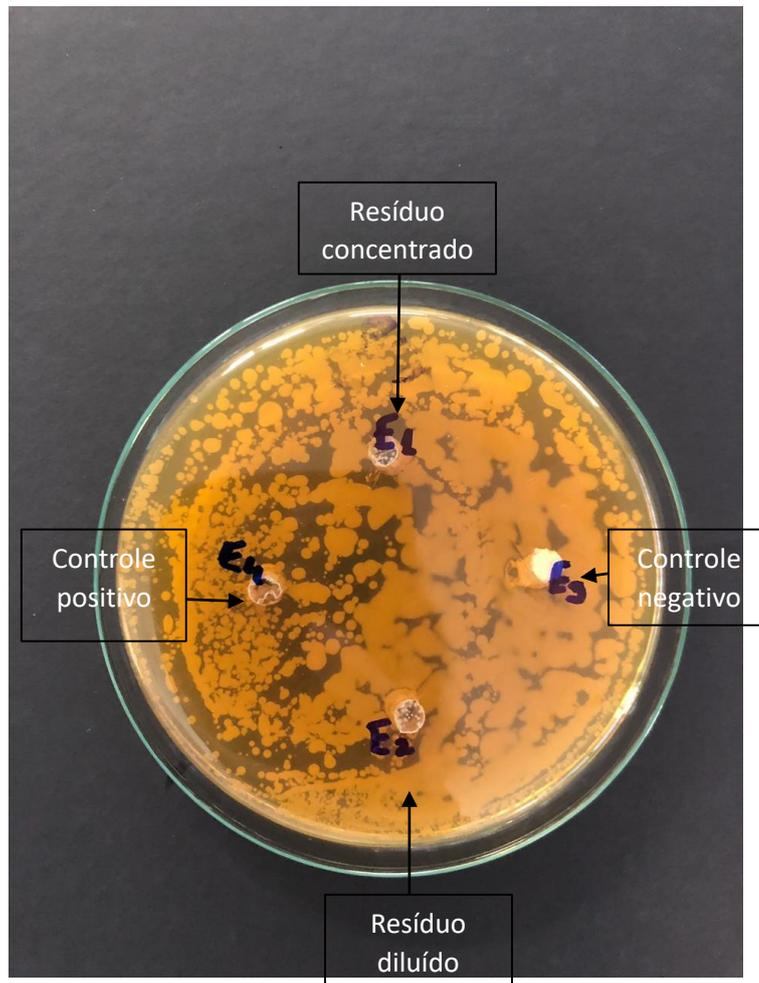
se que o extrato concentrado apresentou alta inibição do crescimento da *C.albicans* na região onde a amostra estava difundida no ágar.

O extrato diluído apresentou um halo de inibição de 20 mm de diâmetro. O resultado aponta que o extrato de acerola pode ser eficiente na inibição do microrganismo e varia com sua concentração.

Comparando os resultados obtidos com o trabalho de Motohashi et al. (2004), o extrato da acerola apresentou zonas de inibição consideráveis frente à levedura. Os halos de inibição maiores podem ser explicados pelo suco estar concentrado e ter maior conteúdo de compostos fenólicos. O extrato seco do suco concentrado foi de 411 mg/mL enquanto a extrato de acerola usado por Motohashi et al., (2004) foi de 10 mg/mL.

Em oposição aos resultados obtidos com o extrato da acerola, os ensaios realizados com os extratos dos resíduos provenientes da borra e bagaço não apresentaram nenhum resultado positivo (Fig. 7). Acredita-se que o principal motivo do resíduo da acerola não ser eficaz contra o crescimento dos microrganismos decorre da diferença de concentrações presentes no suco concentrado e nos resíduos os quais apresentaram extrato seco igual 411mg/mL e 13,5mg/mL para a borra e bagaço, respectivamente.

Figura 7: Avaliação da atividade antifúngica do extrato da acerola em placas inoculadas com *C.albicans*.



Fonte: Própria (2019).

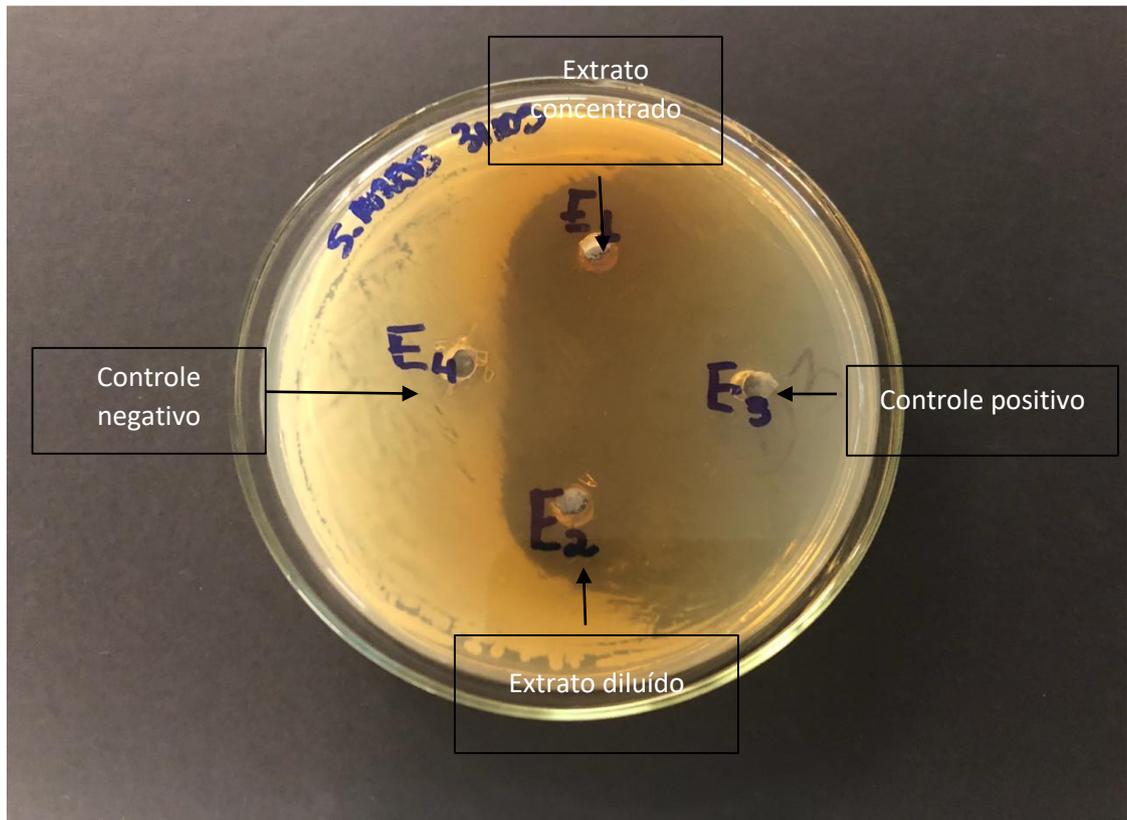
Obs.: O poço E1 é referente ao extrato concentrado, E2 ao extrato diluído, E3 ao controle negativo e E4 ao controle positivo.

5.2.3 Ação do extrato de acerola frente ao *S.aureus*.

O presente ensaio apresentou resultado positivo. O microrganismo em estudo apresentou sensibilidade frente ao extrato concentrado e diluído da acerola. Com o resíduo os resultados não foram satisfatórios, o microrganismo não apresentou sensibilidade frente aos extratos dos resíduos da borra e bagaço da fruta.

A Figura 8 mostra o resultado da inibição do suco concentrado e diluído (1:5) frente ao crescimento de *S. aureus*. A placa utilizada possui 10 cm de diâmetro, foi possível medir 6 cm de extensão da placa em que ocorre a inibição do crescimento do *S.aureus* e 4 cm de crescimento, englobando a área do controle negativo. A distância (raio) da zona de crescimento até o centro do poço contendo o extrato concentrado foi de 15 mm e referente ao poço E2, contendo o extrato diluído foi de 10 mm.

Figura 8: Avaliação da atividade antibacteriana do extrato da acerola em placas inoculadas com *S.aureus*.



Fonte: Própria (2019).

Obs.: O poço E1 é referente ao extrato concentrado, E2 ao extrato diluído, E3 ao controle positivo e E4 ao controle negativo.

Analisando e comparando o ensaio com outros estudos o resultado foi considerado satisfatório. Segundo Delva e Goodrich-Schneider (2013) em ensaio também realizado através da técnica de difusão em placas para o microrganismo *S.aureus*, apresentou resultados positivos para a porção liofilizada da fruta, tanto das regiões comestíveis e não comestíveis e também para os diferentes estágios de maturação da mesma. A porção comestível liofilizada da fruta apresentou atividade antimicrobiana moderada para a fruta madura com uma zona de inibição de 3-4 mm, o extrato da fase intermediária de maturação não apresentou atividade antimicrobiana e o extrato liofilizado da fruta verde apresentou considerável atividade antimicrobiana com uma zona de inibição de 4-10 mm. O extrato liofilizado da porção não comestível da fruta, como semente e casca também apresentou zona de inibição de 4-10 mm. O estudo citado mediu a zona de inibição causada pelo controle positivo (ampicilina) e comparou com o tamanho das zonas de inibição causada pelos extratos e avaliou em moderada, satisfatória ou forte zona de inibição.

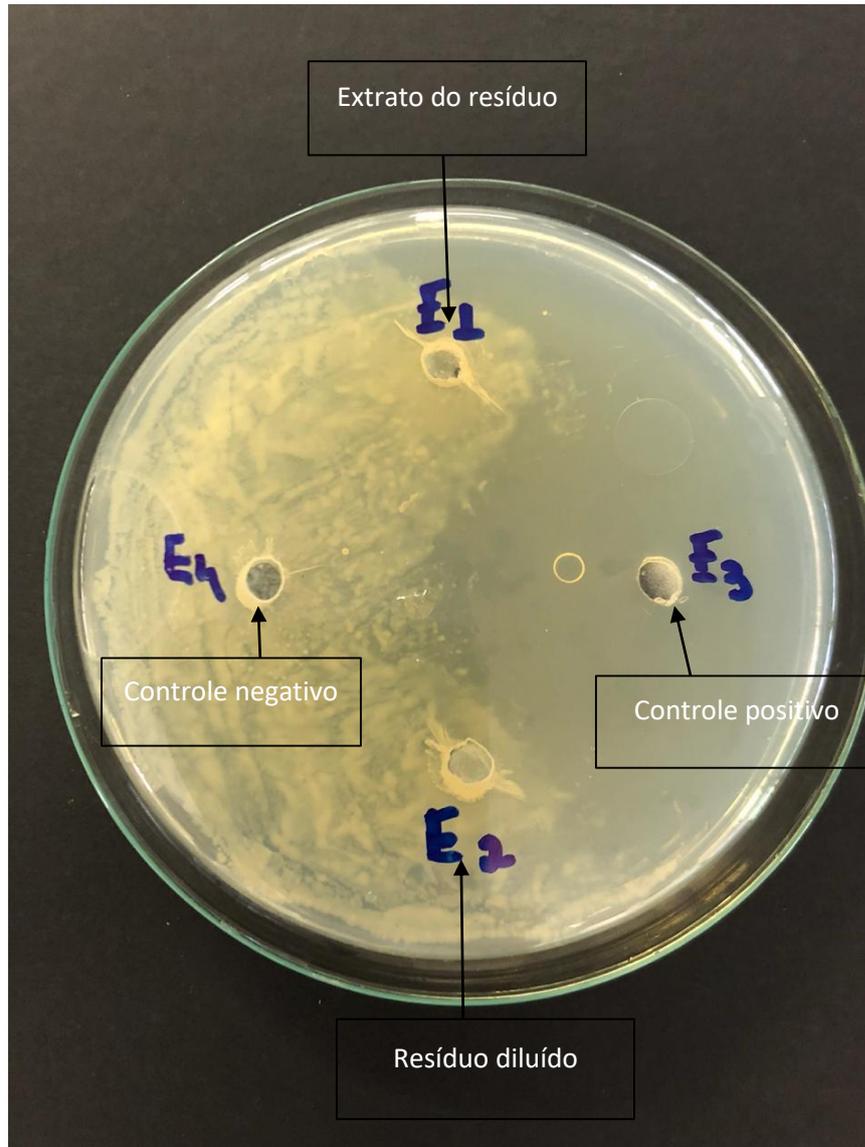
Outro estudo que realizou um ensaio similar também com *S.aureus* foi Motohashi et al. (2004), citado anteriormente. O resultado do ensaio foi positivo para a *S.aureus* com zonas de inibição que variam de 8 até 12mm na placa para as diferentes concentrações do extrato preparado com solventes orgânicos.

Para o presente estudo não foi possível medir a zona de inibição de acordo com o controle positivo, mas foi possível avaliar a forte inibição dos extratos e do controle positivo impedindo o crescimento do microrganismo por quase toda a extensão da placa. Observou-se o crescimento do *S.aureus* apenas na região da placa que continha o controle negativo.

Conclui-se que o extrato concentrado e diluído apresentaram forte inibição ao crescimento do *S.aureus* na região da placa onde as amostras estavam difundidas e revelaram-se efetivas na inibição do microrganismo.

Em contrapartida os ensaios realizados com os resíduos da fruta provenientes das partes não comestíveis, borra e bagaço, não se mostraram eficazes na inibição do microrganismo (Fig. 9). Foi possível visualizar apenas o halo de inibição causado pelo controle positivo. As regiões onde as amostras do resíduo concentrado e diluído estavam difundidas na placa não apresentaram halos visíveis e possíveis de serem mensurados.

Figura 9: Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato da acerola em placas inoculadas com *C.albicans*.



Fonte: Própria (2019).

Obs.: O poço E1 é referente ao extrato concentrado, E2 ao extrato diluído, E3 ao controle positivo e E4 ao controle negativo.

A placa de diâmetro de 9 cm apresentou inibição apenas na região do poço que continha o controle positivo difundido. Foi possível medir um raio de inibição de 45 mm.

Em comparação com o ensaio realizado por Delva e Goodrich-Schneider (2013) para a amostra proveniente da porção não comestível da fruta liofilizada frente ao mesmo microrganismo, a utilização do extrato com concentração de 25 mg/mL apresentou clara zona de inibição com variação de 4-10 mm. Os extratos utilizados nesse trabalho apresentavam concentrações abaixo disso, entre 20 e 13 mg/mL. Esta é uma possibilidade do presente ensaio

não ter apresentado zona de inibição para o resíduo, além de diferenças nos compostos presentes nos extratos em função dos métodos de extração realizados.

5.3 POTENCIAL ANTIMICROBIANO DOS EXTRATOS DA ACEROLA

Poucos trabalhos avaliaram o efeito antimicrobiano da acerola. Os resultados apontados nesse trabalho, bem como os resultados reportados na Tabela 4, indicam que a composição da acerola apresenta compostos com potencial interessante para aplicação na indústria de alimentos, e outros microrganismos podem ser testados a fim de avaliar, principalmente o efeito inibitório sobre bactérias deteriorantes.

Tabela 4: Atividade antimicrobiana de extratos de frutas contra *S. aureus* e *C. albicans*

Microrganismo	Extrato	Concentração (mg/mL)	Halo de inibição (mm)	Referência
<i>Staphylococcus aureus</i>	Acerola	411 - 215	10 – 15	Presente trabalho
	Acerola	25	4 – 10	Delva et al (2013)
	Acerola	100	8 – 12	Motohashi et al.(2004)
	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	250-1000	5 - 8	Carvalho et al.,(2014)
	<i>Metaplexis japonica</i>	2 – 64	17	Wei et al. (2019)
	Resíduos de noni	0,39	14,0	Santos et al. (2019)
	Frutos silvestres	0,125	14,8	Radovanović et al. (2013)
	Black chokeberry		10	Denev et al.(2019)
<i>Candida albicans</i>	Acerola	411	30-20	Presente trabalho
	Acerola	100	12-13	Motohashi et al.(2004)
	Black chokeberry		NAE	Denev et al.(2019)
<i>Brochotrix thermosphacta</i>	Acerola	8	24	Tremonte et al (2016)
<i>Pseudomonas spp.</i>	Acerola	8	17,5	Tremonte et al (2016)
<i>L.monocytogenes</i>	Acerola	0,5	7,5 – 9	Tamara et al.,(2017)
<i>E.coli</i>	Acerola	0,5	8,5 – 9,5	Tamara et al.,(2017)
<i>P.aeruginosa</i>	Acerola	0,5	9,3 – 10,5	Tamara et al., (2017)

Fonte: Própria (2019).

No que diz respeito a inibição a *C. albicans*, a atividade de extratos de plantas contra essa espécie tem sido relacionada com os compostos fenólicos dos extratos, sendo que diversos compostos como kaempferol, quercitina, rutina, ácido gálico, ácido ferúlico, entre outros apresentaram propriedades antifúngicas (MARTINS et al.). No trabalho de Denev et al (2019) os compostos quercitina e epicatequina foram avaliados contra *C. albicans* e apresentaram halos de inibição de 12 e 9 mm, respectivamente. Dentre os compostos fenólicos já identificados no extrato de acerola podem ser citados a quercitina, epicatequina, luteolina e kaempferol e os ácidos p-cumárico, cafeico e ferúlico (BATAGLION et al., 2015; BELWAL et al., 2018), os quais provavelmente contribuiriam com atividade bioativa apresentada contra *C. albicans*.

Motohashi et al. (2004) realizou o mesmo ensaio para os mesmos microrganismos, porém para os extratos foram produzidos com solventes orgânicos, como acetona, hexano e metanol. Seu estudo apresentou resultados positivos frente aos mesmos microrganismos, porém para comparação suas amostras apresentavam concentrações muito inferiores (10 mg/mL) as utilizadas no presente estudo (411 mg/mL, 215 mg/mL, 2,73 mg/mL).. Acredita-se que o fato do estudo apresentar resultados positivos frente a concentrações tão baixas do extrato sofre influência dos solventes orgânicos que podem extrair composto diferentes daqueles extraídos com água e que estes possam interferir na atividade antimicrobiana.

O presente estudo utilizou apenas a amostra bruta do suco concentrado e resíduos, as amostras não foram testadas em solução com nenhum tipo de solvente.

Denev et al. (2019) analisou o efeito antimicrobiano da fruta *Black chokeberry* frente a *C. albicans*. Apresentou resultados satisfatórios, porém este apresentou concentrações para cada um dos compostos fenólicos, quercitina, epicatequina e outros presentes na fruta. Assim não foi possível comparar as concentrações dos extratos testados com o presente trabalho. Apenas foi possível o estudo comparativo em relação aos tamanhos do halo de inibição.

As concentrações dos extratos também apresentaram efeito sobre o tamanho do halo de inibição como mostrado por Carvalho et al. (2010), para os ensaios de extratos de flores de camomila onde os extratos mais concentrados apresentaram maior halo de inibição contra diferentes bactérias (CARVALHO et al, 2014). No referido estudo para concentrações de 1000 mg/mL, 500 mg/mL e 250 mg/mL do extrato de camomila foi possível medir halos de inibição que variaram de 8 mm, 7 mm e 5 mm de diâmetro respectivamente, frente ao *S. aureus*.

Para comparação o presente estudo apresentou halos de inibição que variaram de 15 mm e 10 mm de diâmetro, frente ao mesmo microrganismo em concentração de 411 mg/mL e 215 mg/mL.

Analisando os resultados com os obtidos por Delva e Goodrich-Schneider (2013) o microrganismo *S.aureus* mostrou sensibilidade apenas à amostra de concentração de 25 mg/mL tanto para a o resíduo proveniente do bagaço como para o suco da polpa da acerola verde. Concentrações abaixo disso não foram eficientes.

O presente trabalho utilizou uma concentração muito inferior à utilizada por Delva e Goodrich-Schneider (2013), para o resíduo do bagaço, 13,5 mg/mL, logo a amostra utilizada apresentava teores menores de compostos fenólicos, antioxidantes e vitamina C, e não foi o suficiente para causar sensibilidade frente ao *S.aureus*.

Radovanović et al. (2013) apresentou em seu estudo a atividade antimicrobiana de frutos silvestres frente ao *S.aureus*. Obteve a inibição em uma concentração muito pequena do extrato 0,125 mg/mL, muito abaixo da apresentada no presente estudo. Porém por se tratar de outra fruta, avalia-se que as concentrações dos compostos bioativos podem variar consideravelmente e também a fruta apresenta outros compostos diferentes da acerola, tornando difícil a comparação dos resultados.

No trabalho de Tremonte et al. (2016), o extrato de acerola foi obtido por extração com fluido supercrítico e suspenso em solução hidroalcoólica (8% m/v) para os testes de atividade antimicrobiana. O extrato foi capaz de inibir bactérias da linhagem *Pseudomonas spp.* e *Brochothrix thermosphacta*. *S.aureus*, *Pseudomonas spp.* e *Brochothrix thermosphacta* são bactérias comumente encontradas no processo de deterioração de carnes e produtos da indústria cárnea. O efeito inibitório do extrato da acerola frente a esses microrganismos apresenta a possível utilidade do extrato como conservante desses produtos e aditivo da indústria.

No trabalho de Tamara et al. (2017), o extrato da acerola apresentou inibição frente a outros microrganismos não testados no presente trabalho. A concentração de 0,5 mg/mL causou sensibilidade aos microrganismos *L.monocytogenes*, *E.coli*, *P.aeruginosa*. A concentração utilizada pelo trabalho comparativo referente ao bagaço foi menor que a utilizada no presente estudo (13,5 mg/mL) para o mesmo resíduo, porém como são utilizados outros microrganismos, é possível que estes sejam inibidos em concentrações menores de compostos bioativos.

Os resíduos da borra e bagaço apresentaram concentrações muito abaixo das apresentadas pelo suco concentrado e diluído, logo a concentração dos compostos presentes nas amostras tem relação direta com a atividade antimicrobiana.

Os resultados atenderam às expectativas do que era esperado, pequenas diferenças nos valores dos resultados são esperados por não se tratarem de extratos provenientes da mesma planta.

Outros métodos e concentrações dos extratos devem ser testados para avaliar o potencial da acerola como antimicrobiano, principalmente para os extratos obtidos dos resíduos, os quais ainda não encontra-se muitos relatos na literatura.

6 CONCLUSÕES

Os compostos bioativos presentes no extrato concentrado da acerola verde, como polifenóis e vitamina C, mostraram-se efetivos a inibição de microrganismos como *S.aureus* e *C.albicans* através do método de difusão em ágar. Os resultados foram qualitativos, apresentando halos de inibição com diâmetros condizentes com os resultados encontrados na literatura para extratos de acerola e outras frutas frente aos mesmos microrganismos.

Os ensaios realizados com os resíduos provenientes do bagaço e borra da fruta não apresentaram os resultados esperados com os encontrados na literatura. Acredita-se que a divergência de metodologias utilizadas entre o presente trabalho e outros ensaios, como a utilização do resíduo em solução e não liofilizado tem influência nos resultados obtidos.

O aperfeiçoamento da técnica também se faz importante para obtenção de resultados satisfatórios. Os poucos artigos e estudos encontrados na literatura utilizando os mesmos extratos frente aos mesmos microrganismos e com a mesma metodologia, torna difícil a comparação dos resultados obtidos.

O tempo de realização do estudo é curto para encaminhar o ensaio para obtenção de outros parâmetros importantes como a mínima concentração inibitória (MIC).

A realização deste trabalho expande as possibilidades de estudo para aplicação de compostos presentes na polpa e resíduo da acerola como aditivos e conservantes naturais à indústria de alimentos.

6.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Liofilizar os extratos dos resíduos e testar diferentes concentrações contra a bactéria *S.aureus*, para identificar se o extrato do resíduo possui a mesma propriedade contra a bactéria que o suco da acerola.

REFERÊNCIAS

- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 66(1), p. 1-9, 2007.
- AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, 44(7), p. 1866–1874, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>>. Acesso em jan. 2019.
- BELWAL, T. et al. Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science and Technology**, 74(October 2017), p. 99–106, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.01.014>>. Acesso em jan. 2019.
- BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, 181(4617), p. 1199–1200, 1958. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/1811199a0>>. Acesso em jan. 2019.
- BRAGA, A. C. D. et al. Caracterização e obtenção de farinha do resíduo gerado no processo industrial de clarificação do suco de acerola. **Revista Semiárido de Visu**, 1(August 2014), p. 126–133, 2011.
- CARVALHO, A. F. et al. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 16(3), p. 521–526, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_159>. Acesso em jan. 2019.
- CHIM, J. F.; ZAMBIAZI, R. C.; RUI CARLOS, R. S. R. Estabilidade Da Vitamina C Em Néctar De Acerola Sob Vitamin C Stability in Acerola Juice Under Different Storage Conditions. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, 15(4), p. 321–327, 2013.
- COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30, p. 15-19, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/s0101-20612010000500003>>. Acesso em jan. 2019.
- CRUZ, R. G. et al. Comparison of the antioxidant property of acerola extracts with synthetic antioxidants using an in vivo method with yeasts. **Food Chemistry**, 277(June 2018), p. 698-705, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.099>>. Acesso em jan. 2019.
- CURTIS M.D.L. Aspergillus. **Salem Press Encyclopedia of Health**. 2018. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ers&AN=94416780&site=eds-live>>. Acesso em jan. 2019.

SILVA, L. M. R. et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, 143, p. 398–404, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.001>>. Acesso em jan. 2019.

ALBUQUERQUE, M. A. C. et al. Tropical fruit by-products water extracts of tropical fruit by-products as sources of soluble fibres and phenolic compounds with potential antioxidant, anti-inflammatory, and functional properties. **Journal of Functional Foods**, 52(December 2018), p. 724–733, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.002>>. Acesso em jan. 2019.

DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, 48(5), p. 1048–1056, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/ijfs.12061>>. Acesso em jan. 2019.

DELVA, L.; SCHNEIDER, R. G. Acerola (*Malpighia emarginata* DC): Production, Postharvest Handling, Nutrition, and Biological Activity. **Food Reviews International**, 29(2), p. 107–126, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/87559129.2012.714433>>. Acesso em jan. 2019.

DENEV, P. et al. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols reveal different antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities. **Food Chemistry**, 284(July 2018), p. 108–117, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.108>>. Acesso em jan. 2019.

DUTREIX, L. et al. Do raspberry extracts and fractions have antifungal or anti-adherent potential against *Candida* spp.? **International Journal of Antimicrobial Agents**, 52(6), p. 947–953, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.08.020>>. Acesso em jan. 2019.

GERMANNO, P. et al. **B-Caroteno, Ácido Ascórbico E Antocianinas Totais Em Polpa De Frutos**. 27(1), p. 104–107, 2007.

HELGADÓTTIR, S. et al. Vitamin C Pretreatment Enhances the Antibacterial Effect of Cold Atmospheric Plasma. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 7(February), p. 1–8, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00043>>. Acesso em jan. 2019.

LIMA, D. S. et al. Passion fruit and apple: from residues to antioxidant, antimicrobial and anti-Alzheimer's potential. **Ciência Rural**, 48(9), p. 7–10, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180076>>. Acesso em jan. 2019.

MAIA, G. A. et al. Effect of the processing on some components of acerola juice [Efeito do processamento sobre componentes do suco de acerola]. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(1), p. 130–134, 2007. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-34249024898&partnerID=40&md5=de870804d19d7e8262fd519de19a5c3e>>. Acesso em

jan. 2019.

MARQUES, T.R. et al. Metanolic extract of *Malpighia emarginata* bagasse: Phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 26(2), p. 191–196, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.015>>. Acesso em jan. 2019.

MARQUES, T.R. et al. Characterization of phenolic compounds, antioxidant and antibacterial potential the extract of acerola bagasse flour. **Acta Scientiarum. Technology**, 39(2), 143, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v39i2.28410>>. Acesso em jan. 2019.

MATSUURA, F. C. A. U. et al. Avaliações Físico-Químicas Em Frutos De Diferentes Genótipos De Acerola (*Malpighia Punicifolia* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, 23(3), p. 602–606, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/s0100-29452001000300032>>. Acesso em jan. 2019.

MEZADRI, T. et al. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, 21(4), p. 282–290, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.02.002>>. Acesso em jan. 2019.

MOTOHASHI, N. et al. Biological activity of Barbados cherry (*Acerola* fruits, fruit of *Malpighia emarginata* DC) extracts and fractions. **Phytotherapy Research**, 18(3), p. 212–223, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ptr.1426>>. Acesso em jan. 2019.

NAVES, P. L. F. et al. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, 12(2), 229, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.9771/cmbio.v12i2.6953>>. Acesso em jan. 2019.

NOGUEIRA, G. D. R. et al. Analysis of a hybrid packed bed dryer assisted by infrared radiation for processing acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue. **Food and Bioprocess Processing**, 114, p. 235–244, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.01.007>>. Acesso em jan. 2019.

OLIVEIRA, B. D. **Atividade antioxidante, antimicrobiana e anti- quorum sensing de extratos fenólicos de acerola (*malpighia emarginata*) e morango silvestre (*Rubus rosaefolius*)**. 91, 2015.

OLIVEIRA, J. R. P.; FILHO, W. S. S. (n.d.). **Situação da cultura da acerola no Brasil e ações da Embrapa Mandioca e Fruticultura em recursos genéticos e melhoramento**.

PAPUC, C. et al. Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life

Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 16(6), p. 1243–1268, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12298>>. Acesso em jan. 2019.

PATANKAR, P. M. S. No Title عمان سلطنة **ペインクリニック学会治療指針 2 . ペインクリニック学会治療指針 2**, 1–35. Disponível em: <<https://doi.org/1037//0033-2909.I26.1.78>>. Acesso em jan. 2019.

PERLIN, D. S. Antifungals. **Candida Albicans: Cellular and Molecular Biology: Second Edition**, 133, p. 471–489, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-50409-4_22>. Acesso em jan. 2019.

PRAKASH, A.; BASKARAN, R. Acerola, an untapped functional superfruit: a review on latest frontiers. **Journal of Food Science and Technology**, 55(9), p. 3373–3384, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-018-3309-5>>. Acesso em jan. 2019.

RADOVANOVIĆ, B. C. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of polyphenol extracts from wild berry fruits grown in Southeast Serbia. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 12(5), p. 813–819, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i5.23>>. Acesso em jan. 2019.

READER, E. E. **Aditivos ingredientes**. 1–19, 2019.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Comparison and optimization of conventional and ultrasound assisted extraction for bioactive compounds and antioxidant activity from agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **LWT - Food Science and Technology**, 85, p. 158–169, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.020>>. Acesso em jan. 2019.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Acerola: aspectos gerais da cultura. **Cultivo Tropical de Fruteiras**, 32(264), p. 17–25, 2011.

RUFINO, M. S. M. et al. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH {radical dot} system. **Food Chemistry**, 114(2), p. 693–695, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.098>>. Acesso em jan. 2019.

SANTOS, T. R. J.; DE AQUINO SANTANA, L. C. L. Antimicrobial potential of exotic fruits residues. **South African Journal of Botany**, 124, p. 338–344, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.031>>. Acesso em jan. 2019.

SCORZONI, L. et al. Searching new antifungals: The use of in vitro and in vivo methods for evaluation of natural compounds. **Journal of Microbiological Methods**, 123, p. 68–78, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.02.005>>. Acesso em jan. 2019.

SELIMOVIC, A. Direct spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical preparations using sodium oxalate as a stabilizer. **International Journal of ...**, (April), p. 106–109, 2011. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=20771223&AN=62241212&h=8jgdp7R%2F1b1opdlDsHmyDnhdcPCFJeF7JfYZANAoI1WQ21f1DEtmkSjFdC8rxxiJ9QilzmjL1qyCVQpkSn1%2BMg%3D%3D&crl=c>>. Acesso em jan. 2019.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, 299, p. 152–178, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)>. Acesso em jan. 2019.

TANADA, S. (2007). **Patent application publication**. 1(19).

TREMONTE, P. et al. Antimicrobial Effect of Malpighia Punicifolia and Extension of Water Buffalo Steak Shelf-Life. **Journal of Food Science**, 81(1), p.97–105, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1750-3841.13141>>. Acesso em jan. 2019.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (Malpighia puniceifolia L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, 71(2), p. 195–198, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00152-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00152-7)>. Acesso em jan. 2019.

VERGHESE, R. J.; RAMYA, S. R.; KANUNGO, R. In vitro antibacterial activity of vitamin C and in combination with ciprofloxacin against uropathogenic Escherichia coli. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, 11(12), DC01–DC05, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/31251.10960>>. Acesso em jan. 2019.

WEI, L. et al. Antibacterial and antioxidant flavonoid derivatives from the fruits of Metaplexis japonica. **Food Chemistry**, 289(January), p. 308–312, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.070>>. Acesso em jan. 2019.

ZIDA, A. et al. Substances naturelles actives sur Candida albicans, sources de nouveaux médicaments antifongiques : revue de la littérature. **Journal de Mycologie Médicale**, 27(1), p. 1–19, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.10.002>>. Acesso em jan. 2019.