

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ELISANDRA DETONI

CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL TECNOLÓGICO DE *Myrcianthes pungens* (guabiju)

PONTA GROSSA

2025

ELISANDRA DETONI

CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL TECNOLÓGICO DE *Myrcianthes pungens* (guabiju)

Tese de Doutorado apresentada como requisito para obtenção do Título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof. Dra Aline Alberti

PONTA GROSSA

2025

D482 Detoni, Elisandra
Caracterização e potencial tecnológico de *Myrcianthes pungens* (Guabiju) /
Elisandra Detoni. Ponta Grossa, 2025.
174 f.

Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de
Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de
Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Aline Alberti.

1. Otimização. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Compostos bioativos. 4.
Atividade antioxidante. 5. Iogurte. I. Alberti, Aline. II. Universidade Estadual de
Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664.01

TERMO DE APROVAÇÃO

ELISANDRA DETONI

“Caracterização e potencial tecnológico de *Myrcianthes pungens* (Guabiju)”

Tese aprovada como requisito para obtenção do grau de Doutor(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador: **Profa. Dra. Aline Alberti - UEPG-PR**

Documento assinado digitalmente
 **ALINE ALBERTI**
Data: 27/06/2025 17:46:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Aline Alberti
UEPG-PR - Presidente

Documento assinado digitalmente
 **CRISTIANE CANAN**
Data: 29/06/2025 08:53:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Cristiane Canan
UTFPR-PR - Membro Titular Externo

 Documento assinado digitalmente
LAIS BENVENUTTI YOMKIL
Data: 30/06/2025 09:54:29-0300
CPF: ***.034.699-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Laís Benvenutti
UFSC-SC - Membro Titular Externo

Documento assinado digitalmente
 **MARINA TOLENTINO MARINHO**
Data: 02/07/2025 16:07:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Marina Tolentino Marinho
UEPG-PR - Membro Titular Interno

Documento assinado digitalmente
 **ALESSANDRO NOGUEIRA**
Data: 02/07/2025 17:04:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alessandro Nogueira
UEPG-PR - Membro Titular Interno

Ponta Grossa, 27 de junho de 2025.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar cada passo dessa jornada.

Aos meus familiares, especialmente meu esposo Maico e minha filha Manuella, pela compreensão, incentivo e paciência. Sem vocês, não teria chegado tão longe.

Aos meus amigos, por entenderem minha ausência nessa etapa de minha vida.

Aos meus colegas do laboratório da maçã, do CTA, da química que junto trilharam o desenvolvimento da minha pesquisa. A todos agradeço pelas conversas, ensinamentos, dedicação de tempo nas muitas tarefas executadas, e claro pelos cafés compartilhados! Em especial, a Isabela Sola, minha companheira de muitas análises, conselhos e sorvetes! Obrigada por todo seu empenho.

À técnica de laboratório Denise Mendes, por todo aprendizado e ajuda prestada.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelos conhecimentos transmitidos, principalmente a minha orientadora Aline Alberti pela oportunidade, confiança e todo conhecimento compartilhado.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela infraestrutura fornecida.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo suporte financeiro concedido.

A todos que de tantas formas puderam contribuir com essa realização: obrigada!

RESUMO

O desenvolvimento de produtos enriquecidos com compostos naturais tem sido amplamente investigado em diversas pesquisas, devido à uma maior demanda de consumo. Diferentes espécies vegetais podem fornecer compostos de interesse para diversos segmentos industriais. A *Myrcianthes pungens* (guabijú), é considerada fonte de compostos bioativos, aos quais são atribuídas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Como o guabijú demonstra ser uma matéria prima promissora, o objetivo da pesquisa foi avaliar o potencial tecnológico dos extratos e óleos essenciais extraídos das folhas e frutos do guabijuzeiro. O estudo foi conduzido em 5 etapas (capítulos), sendo inicialmente demonstrado dados da literatura sobre os compostos já identificados no guabijú, além de informações sobre constituintes químicos em óleo essencial de espécies da família *Myrtaceae* e técnicas para separação de compostos. No capítulo 2 foram avaliadas as características físico químicas dos frutos, folhas e sementes. Observou-se que os frutos avaliados continham baixa acidez e elevado teor de açúcares, como a frutose (7,14 g 100 g⁻¹). As sementes demonstraram maior predominância do ácido succínico (87,01 mg 100 g⁻¹) e maior soma dos minerais cálcio, potássio e sódio. As folhas indicaram conteúdo superior de cinzas e proteínas (5,57 e 4,82 g 100 g⁻¹) além da maior concentração de carotenoides (562,15 µg g⁻¹). No capítulo 3, efetuou-se a otimização da extração dos compostos bioativos das folhas e frutos do guabijú, empregando um planejamento experimental aliado a metodologia de superfície de resposta (MSR). Foram analisadas diferentes combinações de concentração de solvente (acetona e etanol), razão soluto: solvente e temperatura. A MSR sugeriu como melhor condição para obtenção de compostos bioativos dos extratos dos frutos, no caso do uso do etanol, a concentração de 50,6%, razão soluto: solvente 1:30 e temperatura de 50 °C, enquanto que para extratos elaborados com acetona, concentração de 46%, razão soluto: solvente 1:10 e temperatura de 50 °C. A otimização da extração para maximizar o teor de bioativos dos extratos foliares, indicou para o uso com o solvente etanol a combinação dos fatores concentração de solvente 30%, razão soluto solvente 1:30 e temperatura de 25 °C. Já para o emprego da acetona a aplicação das condições concentração de solvente 70%, razão soluto solvente 1:30 e temperatura de 40 °C resultou na melhor condição. Com a utilização dos parâmetros otimizados observou-se que a combinação com o etanol extraiu maior conteúdo de compostos fenólicos nos frutos de guabijú (2666,27 mg kg⁻¹) e a solução com acetona obteve maior teor para as folhas (6555,32 mg kg⁻¹). Ambos extratos demonstraram capacidade antimicrobiana frente a microrganismos patogênicos. No capítulo 4, os extratos otimizados que indicaram a maior concentração de compostos bioativos foram aplicados na elaboração de iogurtes. A incorporação dos extratos das folhas e frutos em proporções distintas (5 e 10%) favoreceu ao aumento na concentração de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas, assim como da atividade antioxidante em todas as formulações enriquecidas, embora com resultado mais expressivo na amostra com extrato das folhas (FO10). Contudo, a viabilidade das bactérias lácticas foi mantida durante 21 dias de armazenamento, na faixa de 10⁶ e 10⁹ UFC g⁻¹. Na última etapa, as folhas e frutos do guabijú foram empregadas na extração do óleo essencial (OE), os quais revelaram a predominância de compostos químicos da classe dos sesquiterpenos hidrocarbonetos (57,89%), que em conjunto com demais constituintes identificados demonstraram aroma considerado frutado-herbáceo-amadeirado. Nos OE obtidos constatou-se potencial antioxidante e antimicrobiano, cujo valores da CIM foram mais expressivos no OE das folhas, especialmente contra *E. coli* e *Salmonella* (80,92 e 80,16 µg mL⁻¹). Os achados dessa pesquisa contribuem para a valorização do guabijuzeiro como fonte de compostos naturais, com potencial de aplicação em produtos alimentícios, como o iogurte.

Palavras-chave: Compostos bioativos. Capacidade Antioxidante. Atividade Antimicrobiana. Iogurte. Compostos químicos.

ABSTRACT

The development of products enriched with natural compounds has been widely investigated in several studies, due to greater consumer demand. Different plant species can provide compounds of interest to different industrial segments. The *Myrcianthes pungens* (guabijú) is considered a source of bioactive compounds, to which antioxidant and antimicrobial properties are attributed. Thus, as guabijú has proven to be a promising raw material, the objective of the research was to evaluate the technological potential of the extracts and essential oils extracted from the leaves and fruits of the guabijú tree. The study was conducted in 5 stages (chapters), initially demonstrating data from the literature on compounds already identified in guabijú, in addition to information on chemical constituents in essential oil of species of the *Myrtaceae* family and techniques for separating compounds. In chapter 2, the following were evaluated the physical and chemical characteristics of the fruits, leaves and seeds. It was observed that the fruits evaluated contained low acidity and high sugar content, such as fructose ($7.14 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$). The seeds demonstrated a greater predominance of succinic acid ($87.01 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) and a greater sum of the minerals calcium, potassium and sodium. The leaves showed higher ash and protein content (5.57 and $4.82 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) in addition to the highest concentration of carotenoids ($562.15 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$). In chapter 3, the extraction of bioactive compounds from guabijú leaves and fruits was optimized, using an experimental design combined with the response surface methodology (RSM). Different combinations of solvent concentration (acetone and ethanol), solute:solvent ratio and temperature were analyzed. The RSM suggested that the best conditions for obtaining bioactive compounds from fruit extracts, in the case of using ethanol, would be a concentration of 50.6%, solute:solvent ratio of 1:30 and a temperature of $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$, while for extracts prepared with acetone, a concentration of 46%, solute:solvent ratio of 1:10 and temperature of $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$. The optimization of extraction to maximize the bioactive content of leaf extracts indicated the combination of the factors solvent concentration 30%, solute-solvent ratio 1:30 and temperature of $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for use with the solvent ethanol. For the use of acetone, the application of the conditions solvent concentration 70%, solute-solvent ratio 1:30 and temperature of $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ resulted in the best condition. Using the optimized parameters, it was observed that the combination with ethanol extracted a higher content of phenolic compounds in the guabijú fruits ($2666.27 \text{ mg kg}^{-1}$) and the solution with acetone obtained a higher content for the leaves ($6555.32 \text{ mg kg}^{-1}$). Both extracts demonstrated antimicrobial capacity against pathogenic microorganisms. In chapter 4, the optimized extracts that indicated the highest concentration of bioactive compounds were applied in the preparation of yogurts. The incorporation of leaf and fruit extracts in different proportions (5 and 10%) favored an increase in the concentration of phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins, as well as antioxidant activity in all enriched formulations, although with a more expressive result in the sample with leaf extract (FO10). However, the viability of lactic acid bacteria was maintained during 21 days of storage, in the range of 10^6 and 10^9 CFU g^{-1} . In the last stage, the guabijú leaves and fruits were used to extract the essential oil (EO), which revealed the predominance of chemical compounds from the hydrocarbon sesquiterpene class (57.89%), which together with other identified constituents demonstrated an aroma considered fruity-herbaceous-woody. The obtained EOs showed antioxidant and antimicrobial potential, with MIC values being more expressive in the EOs from the leaves, especially against *E. coli* and *Salmonella* (80.92 and $80.16 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$). The findings of this research contribute to the appreciation of guabijú as a source of natural compounds, with potential for application in food products, such as yogurt.

Keywords: Bioactive compounds. Antioxidant capacity. Antimicrobial activity. Yogurt. Chemical compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Frutos de guabijú maduro	18
Figura 2 - Características de folhagem, tronco e flores de guabijuzeiro	19
Figura 3 - Estrutura química de terpenos, terpenoides e fenilpropenos	26
Figura 4 - Esquema de destilação para óleo essencial.....	29
Figura 5 - Modelo de aparelho Clevenger.....	30
Figura 6 - Linha do tempo: principais avanços da cromatografia	41
Figura 7 - Principais componentes de um sistema CLAE.....	44
Figura 8 - Componentes principais de um cromatógrafo a gás	46
Figura 9 - Resumo gráfico das etapas desenvolvidas.....	50
Figura 10 - Características visuais dos frutos, sementes e folhas do guabijuzeiro.....	56
Figura 11 - Fluxograma geral para obtenção dos extratos otimizados e análises executadas ...	70
Figura 12 - Extratos de guabijú com etanol obtidos por meio do planejamento Box-Behnken	79
Figura 13 - Extratos de guabijú com acetona obtidos por meio do planejamento Box-Behnken	83
Figura 14 - Superfície de resposta demonstrando o efeito das variáveis independentes no ponto ótimo de otimização dos extratos de guabijú com etanol (1) e acetona (2).....	91
Figura 15 - Extratos das folhas do guabijuzeiro com etanol obtidos por meio do planejamento Box-Behnken.....	93
Figura 16 - Extratos das folhas do guabijuzeiro com acetona obtidos por meio do planejamento Box-Behnken.....	95
Figura 17 - Superfície de resposta exibindo o efeito das variáveis independentes no ponto ótimo do extrato das folhas de guabijuzeiro com etanol (1) e acetona (2)	101
Figura 18 - Atividade antimicrobiana dos extratos otimizados de etanol e acetona com frutos de guabijú (%)	105
Figura 19 - Atividade antimicrobiana dos extratos otimizados de etanol e acetona com folhas de guabijuzeiro (%)	106
Figura 20 – Processamento sintetizado do iogurte	112
Figura 21 - Alterações de acidez, pH, sinérese e capacidade de retenção de água em amostras de iogurte controle e enriquecidos com extratos das folhas e frutos de guabijú durante 21 dias de armazenamento refrigerado	122
Figura 22 - Características visuais das formulações de iogurte	126

Figura 23 - Atividade antimicrobiana de iogurtes enriquecidos com extratos das folhas e frutos do guabijú (%).....	134
Figura 24 - Principais etapas de obtenção e avaliação do óleo essencial.....	140

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos bioativos do fruto guabijú.....	20
Tabela 2 - Compostos químicos identificados em espécies da família <i>Myrtaceae</i>	32
Tabela 3 - Composição físico-química de <i>Myrcianthes pungens</i>	57
Tabela 4 - Perfil de açúcares, ácidos orgânicos, carotenoides e minerais de <i>Myrcianthes pungens</i>	62
Tabela 5 - Planejamento experimental aplicado para extração de compostos bioativos das folhas e frutos de guabijú.....	72
Tabela 6 - Parâmetros individuais dos compostos analisados por CLAE	77
Tabela 7 - Antocianinas totais (AT), compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante dos extratos de guabijú com etanol (GBE).....	81
Tabela 8 - Antocianinas totais (AT), compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante dos extratos de guabijú com acetona (GBA).....	86
Tabela 9 - Efeitos das variáveis independentes (X_1 : concentração de solvente etanol; X_2 : razão soluto: solvente e X_3 : temperatura) sobre a concentração das antocianinas totais (AT), compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante DPPH....	88
Tabela 10 - Efeitos das variáveis independentes (X_1 : concentração de solvente acetona; X_2 : razão soluto:solvente e X_3 : temperatura) sobre a concentração de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante FRAP	90
Tabela 11 - Valores preditos e experimentais do ponto ótimo das extrações de etanol e acetona com guabijú	92
Tabela 12 - Compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante dos extratos das folhas de guabijú com etanol (FOE)	94
Tabela 13 - Compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante dos extratos das folhas de guabijú com acetona (FOA)	96
Tabela 14 - Efeitos das variáveis independentes (X_1 : concentração de solvente etanol, X_2 : razão soluto: solvente e X_3 : temperatura) sobre a concentração dos compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante ABTS	98
Tabela 15 - Efeitos das variáveis independentes (X_1 : concentração de solvente acetona, X_2 : razão soluto: solvente e X_3 : temperatura) sobre a concentração de compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP	100

Tabela 16 - Valores preditos e experimentais do ponto ótimo das soluções de etanol e acetona com as folhas do guabijuzeiro	102
Tabela 17 - Perfil fenólico dos extratos otimizados das folhas e frutos de guabijuzeiro com etanol (FOE; GBE) e acetona (FOA; GBA).....	103
Tabela 18 - Composição físico-química em diferentes amostras de iogurte	124
Tabela 19 - Efeito do enriquecimento dos extratos com folhas e frutos de guabijú na concentração de bioativos nas formulações de iogurte	128
Tabela 20 - Efeito do enriquecimento dos extratos das folhas e frutos de guabijú sob a viabilidade de bactérias lácticas totais (UFC g ⁻¹).....	133
Tabela 21 - Composição química de OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro.....	147
Tabela 22 - Compostos fenólicos e atividade antioxidante dos OE de fruto e folha do guabijuzeiro	149
Tabela 23 - Atividade antimicrobiana de óleo essencial dos frutos e folhas do guabijuzeiro	151

LISTA DE SIGLAS

ABTS	((2,2'-azino-di (ácido 3-etil-benzotiazolina-sulfônico-(6))
AChE	Acetilcolinesterase
AGE	Equivalentes de ácido gálico
ANOVA	Análise de variância
ATT	Acidez titulável total
AT	Antocianinas totais
C	Controle
CHO	Carboidrato
CFT	Compostos fenólicos totais
CG	Cromatografia gasosa
CRA	Capacidade de retenção de água
CTE	Equivalentes de catequina
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLUE	cromatografia líquida de ultra eficiência
CIM	Concentração mínima inibitória
EM	Espectrometria de massa
DPPH	2,2-difenil-2-picrilhidrazil
FE	Fase estacionária
FM	Fase móvel
FR	Fruto
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
FO	Folha
FOA	Folha acetona
FOE	Folha etanol
FT	Flavonoides totais
GBA	Guabijú acetona
GBE	Guabijú etanol
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IR	Índice de refração
KCAL	Kilocaloria
LDL	<i>Low density liprotein</i>
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta

MH	Monoterpenos hidrocarbonetos
MO	Monoterpenos oxigenados
ND	Não detectado
OE	Óleo essencial
PDA	Detector de fotodiodo
pH	Potencial hidrogeniônico
SH	Sesquiterpenos hidrocarbonetos
SO	Sesquiterpenos oxigenados
SST	Sólidos solúveis totais
ST	Sólidos totais
TE	Equivalentes de Trolox
TPTZ	<i>2,4,6-Tris(2-Pyridyl)-S-Triazine</i>
UFC	Unidade formadora de colônia
UHT	<i>Ultra-High Temperature</i>
UV-VIS	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
OBJETIVOS	17
CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
1.1 GUABIJÚ (<i>Myrcianthes pungens</i>)	18
1.2 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	24
1.2.1 Histórico e Definição.....	24
1.2.2 Composição Química	25
1.2.3 Extração de Óleo Essencial	27
1.2.4 Óleo Essencial de Plantas Nativas do Brasil: Espécies da Família <i>Myrtaceae</i>	30
1.3 USO DE EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS	37
1.4 TÉCNICAS PARA SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS	40
1.4.1 Métodos cromatográficos: definição e histórico	40
1.4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	43
1.4.3 Cromatografia gasosa (CG)	45
1.5 CONCLUSÃO.....	47
CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DOS FRUTOS, FOLHAS E SEMENTES DE <i>Myrcianthes pungens</i>	48
2.1 INTRODUÇÃO.....	48
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
2.2.1 Materiais	49
2.2.2 Métodos	50
2.2.3 Características físicas da espécie.....	50
2.2.4 Determinação da Umidade a 105 °C	51
2.2.5 Determinação de Cinzas	51
2.2.6 Determinação de Lipídios Totais.....	51
2.2.7 Determinação de Proteína Bruta.....	52
2.2.8 Determinação de Carboidratos	52
2.2.9 Determinação de Acidez Titulável Por Volumetria Potenciométrica	52
2.2.10 Determinação do pH.....	53
2.2.11 Determinação de Sólidos Solúveis Totais	53
2.2.12 Determinação de Carotenoides	53
2.2.13 Determinação da Cor.....	54
2.2.14 Determinação dos Ácidos Orgânicos e Açúcares Individuais por CLAE	54
2.2.15 Determinação de Minerais.....	55
2.2.16 Análise Estatística	55
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
2.3.1 Composição físico-química das folhas, frutos e sementes de guabijuzeiro	56
2.3.2 Conteúdo de açúcares, ácidos, carotenoides e minerais de <i>Myrcianthes pungens</i>	61

2.4 CONCLUSÃO.....	66
CAPÍTULO 3: OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE FRUTOS E FOLHAS DE <i>Myrcianthes pungens</i>.....	67
3.1 INTRODUÇÃO.....	67
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	69
3.2.1 Materiais	69
3.2.2 Métodos	70
3.2.3 Elaboração dos Extratos	71
3.2.4 Planejamento experimental.....	71
3.2.5 Antocianinas Totais	73
3.2.6 Atividade Antioxidante: ABTS	73
3.2.7 Atividade Antioxidante: DPPH	74
3.2.8 Atividade Antioxidante: FRAP	74
3.2.9 Compostos Fenólicos Totais.....	75
3.2.10 Flavonóides Totais.....	75
3.2.11 Compostos Fenólicos Individuais.....	76
3.2.12 Atividade antimicrobiana	77
3.2.13 Análise Estatística	78
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
3.3.1 Planejamento experimental para extração com frutos de guabijú	78
3.3.2 Otimização da extração dos frutos guabijú.....	87
3.3.3 Planejamento experimental para extração com folhas do guabijuzeiro	92
3.3.4 Otimização da extração das folhas do guabijuzeiro	98
3.3.5 Perfil fenólico dos pontos ótimos	102
3.3.6 Atividade antimicrobiana	104
3.4 CONCLUSÃO.....	107
CAPÍTULO 4: ELABORAÇÃO DE IOGURTE COM ENRIQUECIMENTO DE EXTRATOS DAS FOLHAS E FRUTOS DE <i>Myrcianthes pungens</i>.....	109
4.1 INTRODUÇÃO.....	109
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	111
4.2.1 Materiais	111
4.2.2 Métodos	112
4.2.3 Produção de iogurte	112
4.2.4 Preparo dos iogurtes enriquecidos com extrato dos frutos e folhas do guabijuzeiro	112
4.2.5 Avaliação das características dos iogurtes.....	113
4.2.6 Determinação da Acidez Titulável Total e pH	113
4.2.7 Determinação da capacidade de retenção de água e sinérese	114
4.2.8 Determinação da Umidade	114
4.2.9 Determinação de Cinzas	114
4.2.10 Determinação de Lipídios Totais.....	115
4.2.11 Determinação de Proteína Bruta.....	115
4.2.12 Determinação de Carboidratos Totais	116
4.2.13 Determinação do Valor energético	116
4.2.14 Análise de Cor	116
4.2.15 Perfil de Textura	116

4.2.16 Antocianinas Totais	117
4.2.17 Atividade Antioxidante: ABTS	117
4.2.18 Atividade Antioxidante: DPPH	118
4.2.19 Atividade Antioxidante: FRAP	118
4.2.20 Compostos Fenólicos Totais.....	119
4.2.21 Flavonoides Totais.....	119
4.2.22 Contagem de Bactérias Láticas Totais	120
4.2.23 Atividade Antimicrobiana	120
4.2.24 Análise Estatística	121
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	121
4.3.1 Características físicas e químicas de iogurtes enriquecidos com extratos de guabijú...	121
4.3.2 Avaliação de compostos bioativos em formulações de iogurte durante o armazenamento	127
4.3.3 Viabilidade de bactérias lácticas e atividade antimicrobiana durante o armazenamento	132
4.4. CONCLUSÃO	135
CAPÍTULO 5: EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS E FOLHAS DE	
<i>Myrcianthes pungens</i>	137
5.1 INTRODUÇÃO.....	137
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	138
5.2.1. Materiais	138
5.2.2. Métodos	139
5.2.3 Extração do óleo essencial.....	140
5.2.4 Índice de Refração	141
5.2.5 Composição Química do Óleo Essencial por Cromatografia gasosa (CG).....	141
5.2.6 Compostos Fenólicos Totais.....	142
5.2.7 Atividade Antioxidante: ABTS	143
5.2.8 Atividade Antioxidante: DPPH	143
5.2.9 Atividade Antimicrobiana	144
5.2.10 Análise Estatística	145
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	145
5.3.1 Características do óleo essencial	145
5.3.2 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos óleos essenciais.....	149
5.3.3 Atividade antimicrobiana	151
5.4 CONCLUSÃO.....	154
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	156
REFERÊNCIAS	157

INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos enriquecidos com compostos naturais possui uma crescente demanda, impondo desafios para as indústrias alimentícias e pesquisadores que buscam por ingredientes inovadores que possibilitem melhorias nutricionais e funcionais aos produtos. As várias técnicas de processamento e aditivos utilizados são aliadas contra a deterioração causada por microrganismos e para garantir produtos com características aceitáveis ao consumo. No entanto, alguns conservantes sintéticos vêm sendo substituídos por compostos naturais antioxidantes e antimicrobianos, em função das mudanças em hábitos alimentares da população e por serem associados a efeitos adversos a saúde.

Diversas espécies vegetais têm sido amplamente estudadas por seu potencial antimicrobiano, a citar *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), *Allium* ssp. (alho), *Cinnamomum* ssp. (canela), *Origanum vulgare* L. (orégano), *Citrus limon* (limão) e *Thymus vulgaris* L. (tomilho) (Ahmed; Hiremath; Jacob, 2017; Mishra *et al.*, 2020). Os efeitos inibitórios contra os microrganismos são associados aos compostos químicos ativos presentes nos óleos essenciais e extratos obtidos dessas plantas, como terpenos e polifenóis. Diante do interesse na utilização de compostos naturais, novas fontes vegetais vem sendo exploradas.

Entre as espécies, a *Myrcianthes pungens*, pertencente à família *Myrtaceae*, nativa da região sul do Brasil e popularmente conhecida como guabijú, é relatada como fonte de compostos bioativos e por suas propriedades antioxidantes. O guabijuzeiro é uma árvore perene com folhas de ápice espinhosa e que apresenta pequenos frutos comestíveis, caracterizados pela sua suculência, baixa acidez e coloração roxa escura na casca, quando maduros. Além disso, estão associados à espécie, propriedades medicinais como as antidiarreicas, estimulantes, estomacais e tônicas encontradas na folha e tronco do guabijuzeiro. Outros efeitos foram evidenciados nos extratos e óleos essenciais das folhas do guabijuzeiro, destacando-se o potencial bactericida e antifúngico frente a espécies microbianas de importância para segurança de alimentos, tais como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* (Desoti *et al.*, 2011; Jesus *et al.*, 2021).

Contudo, para maximizar o conteúdo dos constituintes bioativos obtidos de matrizes vegetais, a utilização de processos de extração sob condições otimizadas revela-se fundamental. A definição de parâmetros, como tipo de solvente e temperatura, pode favorecer ao aumento no teor de compostos dos extratos, potencializando suas propriedades como a atividade antioxidante e antimicrobiana. Adicionalmente, a aplicação de extratos otimizados pode

promover maior eficácia nutricional em formulações alimentícias, devido maior concentração de compostos de interesse.

Entre os produtos passíveis de enriquecimento, destacam-se os derivados lácteos fermentados, mais especificamente o iogurte, cuja aceitação está relacionada as suas características nutritivas e funcionais. Além do mais, as novas tendências indicam a busca por iogurtes que ofereçam novos sabores, redução de açúcar e a presença de compostos naturais a base de plantas, assim proporcionando a esse segmento da indústria láctea ampla possibilidade de expansão.

Dessa forma, considerando a importância dos derivados lácteos para o consumo humano e para o setor de laticínios, bem como a crescente demanda por ingredientes naturais que possam ser explorados de novas fontes e a capacidade de aplicação de novos compostos, essa pesquisa tem como objetivo avaliar o potencial tecnológico das folhas e frutos do guabijuzeiro como matéria prima para elaborar extratos e obter óleos essenciais, visando sua aplicação em derivados lácteos fermentados.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial tecnológico das folhas e frutos de *Myrcianthes pungens* (guabijú) como matéria prima para elaboração de extratos e obtenção de óleos essenciais.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição físico-química das folhas, sementes e frutos do guabijú;
- Otimizar a extração de compostos bioativos das folhas e frutos do guabijuzeiro;
- Extrair o óleo essencial das folhas e frutos do guabijuzeiro;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos e óleo essencial obtidos;
- Identificar os compostos químicos dos extratos otimizados e óleo essencial obtido;
- Analisar o potencial antimicrobiano dos extratos otimizados e óleo essencial das folhas e frutos do guabijuzeiro contra microrganismos patogênicos;
- Avaliar a capacidade bioativa e antimicrobiana dos extratos otimizados na aplicação em iogurtes.

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 GUABIJÚ (*Myrcianthes pungens*)

A espécie *Myrcianthes pungens*, pertencente à família *Myrtaceae* e popularmente conhecida como guabijú, é nativa do Brasil com maior predominância nos estados do Sul do país e em países como Argentina, Uruguai e Paraguai. Os frutos (Figura 1) são pequenas bagas arredondadas (medindo entre 2 a 3 cm de diâmetro), possuem a polpa amarelada, de uma a duas sementes, baixa acidez e quando maduros, a casca é roxa escura de aspecto aveludado (Dalla Nora *et al.*, 2014a; Della Betta *et al.*, 2018; Raphaelli *et al.*, 2023).

Figura 1 - Frutos de guabijú maduro



Fonte: A autora (2025).

O consumo dos frutos é geralmente *in natura* e podem ser empregados na elaboração de licores, sucos, geleias e sorvetes. Também são relatados como fonte de compostos bioativos, como compostos fenólicos, carotenoides e antocianinas e por suas propriedades antioxidantes (Dalla Nora *et al.*, 2014a; Seraglio *et al.*, 2018; Detoni *et al.*, 2024). A espécie não apresenta exploração comercial.

A árvore do guabijuzeiro pode atingir entre 15 e 25 metros de altura e tem como habitat matas ciliares e encostas de rios e morros. As folhas possuem ápice espinhosa, coloração verde brilhante e podem medir de 3 a 7 cm de comprimento e até 5 cm de largura, as flores são amareladas e melíferas e o tronco tortuoso acinzentado com casca lisa (Franco *et al.*, 2019; Souza *et al.*, 2020; Raphaelli *et al.*, 2023).

Devido suas características de folhagem e tronco, é também cultivado em ambientes domésticos, empregado na ornamentação de cidades ou em plantios mistos com a finalidade de conservação. Sua floração ocorre nos meses de setembro a novembro e a frutificação de

dezembro a fevereiro, podendo oscilar conforme as variações climáticas da região (Veit; Schwarz; Guerra, 2019; Raphaelli *et al.*, 2023). Na Figura 2, são demonstrados os aspectos das folhas, tronco e flores da planta.

Figura 2 - Características de folhagem, tronco e flores de guabijuzeiro



Fonte: A autora (2025).

Nota: Destaque: botões das flores do guabijuzeiro.

Na Tabela 1 estão apresentados os compostos bioativos de maior predominância identificados no fruto guabijú, em estudos anteriores.

Tabela 1 - Compostos bioativos do fruto guabijú

COMPOSTO	CONCENTRAÇÃO*	REFERÊNCIA
Flavonoides (mg 100 g⁻¹)		
Isoquercitrina	1,41 a 11,05	(Andrade <i>et al.</i> , 2011; Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018)
Quercitina	1,68 a 8,24	(Andrade <i>et al.</i> , 2011; Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018)
Hiperosídeo	14,17 a 27,97	(Andrade <i>et al.</i> , 2011)
Epigallocatequina galato	0,97 a 4,25	(Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018)
Kaempferol	0,11 a 1,08	(Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018)
Catequina	2,37 a 194,81	(Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018; Spinelli <i>et al.</i> , 2023)
Pinobanksina	0,05 a 0,47	(Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018)
Epicatequina	0,07 a 9,6	(Spinelli <i>et al.</i> , 2023; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Ácidos Fenólicos (mg 100 g⁻¹)		
Ácido gálico	4,38 a 754,10	(Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018; Spinelli <i>et al.</i> , 2023; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Ácido siríngico	0,11 a 187,20	(Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Ácido ferúlico	0,13 a 11,13	(Seraglio <i>et al.</i> , 2018; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Ácido <i>p</i> cumárico	0,06 a 0,17	(Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018)
Ácido protocatecuíco**	0,06 a 46,84	(Della Betta <i>et al.</i> , 2018; Seraglio <i>et al.</i> , 2018; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Ácido elágico	4,7 a 4873,01	(Spinelli <i>et al.</i> , 2023; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Ácido cafeico	0,11 a 8,54	(Machado <i>et al.</i> , 2024)
Antocianinas (µg g⁻¹)		
Malvidina-3-glicosídeo	692 a 7223,51	(Dalla Nora <i>et al.</i> , 2014a; Spinelli <i>et al.</i> , 2023; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Cianidina -3-glicosídeo	134,57 a 1460	(Dalla Nora <i>et al.</i> , 2014a; Spinelli <i>et al.</i> , 2023; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Delfinidina -3-glicosídeo	289 a 2380	(Spinelli <i>et al.</i> , 2023; Machado <i>et al.</i> , 2024)
Pelagornidina -3-glicosídeo	110 a 210	(Machado <i>et al.</i> , 2024)
Peonidina -3-glicosídeo	810 a 1960	(Machado <i>et al.</i> , 2024)
Cloreto de cianidina	232,74	(Dalla Nora <i>et al.</i> , 2014a)
Cloreto de malvidina	111,21	
Cloreto de peonidina	195,20	
Delfinidina 3-β-D- glicosídeo	4249,31	
Carotenoides (µg 100 g⁻¹)		
<i>Trans</i> -luteína	1022,23	(Dalla Nora <i>et al.</i> , 2014a)
Zeaxantina	126,72	
β-criptoxantina	1634,36	
β-caroteno	2012,84	
α-caroteno	192,85	

Fonte: A autora (2025).

Nota: * Dados expressos em base seca; ** ácido 3,4-di-hidroxibenzóico.

A isoquercitrina, quercitina, epicatequina e catequina foram os compostos flavonoides em maior concentração identificados no fruto guabijú, os quais são associados a propriedades antioxidantes capazes de reduzir o estresse oxidativo, assim como kaempferol, epigallocatequina galato e pinobanksina (Velloso *et al.*, 2011; Marcucci *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2016). O composto hiperosídeo identificado no estudo de Andrade *et al.* (2011) é um flavonoide com efeitos anti-inflamatórios, antidepressivos, antivirais e dentre outros, usado em tratamentos clínicos (Guo *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012).

O ácido elágico, gálico e siríngico foram os ácidos fenólicos de maior predominância relatados para o guabijú. Destacou-se também a presença do ácido ferúlico, *p* cumárico, ácido protocatecuico (ácido 3,4-di-hidroxibenzóico) e ácido cafeico (Della Betta *et al.*, 2018; Seraglio *et al.*, 2018, Spinelli *et al.*, 2023; Machado *et al.*, 2024).

Seraglio *et al.* (2018) e Della Betta *et al.* (2018) avaliaram a concentração de alguns ácidos fenólicos em diferentes estágios de amadurecimento do guabijú e destacaram maior conteúdo de ácido gálico, ferúlico, *p* cumárico e ácido 3,4-di-hidroxibenzóico no estágio intermediário de maturação do fruto, enquanto o ácido siríngico foi identificado em maior concentração no estágio maduro. Essa redução no teor de compostos na fase madura do fruto, foi associada pelos autores, à diminuição do metabolismo primário do fruto.

Efeitos biológicos como atividade antimicrobiana foram descritas para o ácido gálico frente a microrganismos de interesse para indústria alimentícia, tais como a *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua* e *Bacillus subtilis* (Sun *et al.*, 2014). Os ácidos elágico, siríngico, ferúlico, *p* cumárico e ácido 3,4-di-hidroxibenzóico são associados a atividade antioxidante, com potencial uso em substituição a antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos. Efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e anticancerígenos também foram relatados (Srinivasulu *et al.*, 2018; Machado *et al.*, 2024).

Diferentes tipos de antocianinas foram identificados para o fruto guabijú (Tabela 1) podendo ser destacada a predominância dos glicosídeos de malvidina, delphinidina, peonidina e cianidina (Dalla Nora *et al.*, 2014a; Spinelli *et al.*, 2023; Machado *et al.*, 2024).

O conteúdo total de antocianina para o guabijú também foi investigado, destacando-se teores de 64,57 a 245,31 mg 100 g⁻¹ em frutos com diferentes estágios de maturação (Seraglio *et al.*, 2018); de 20,8 a 152,0 mg 100 g⁻¹ para frutos desidratados a 60 °C e *in natura* (Bombana *et al.*, 2021) e 19,22 a 220,12 mg 100 g⁻¹ para guabijú *in natura* e liofilizado (Detoni *et al.*, 2021).

As antocianinas são derivadas da classe dos flavonoides e são responsáveis pela coloração azul, laranja, rosa, vermelha e púrpura em uma ampla gama de plantas (Schwartz *et*

al., 2017). Esses compostos são atrelados a atividade antioxidante que inibe a oxidação das moléculas causada pelos radicais livres proporcionando efeitos benéficos ao organismo, tais como a atividade anti-inflamatória e proteção contra doenças neurodegenerativas (Chen *et al.*, 2015; Dragano; Marques, 2016).

Como alternativa a corantes sintéticos, as antocianinas podem ser aplicadas a variados produtos alimentícios. Em suas formas mais estáveis, como a acilada, esses grupos podem proporcionar coloração de maior permanência, contribuindo para melhores aspectos na aparência dos alimentos. Também podem ser consideradas corantes com valor agregado, devido ao potencial antioxidante associado a vários benefícios à saúde (Schwartz *et al.*, 2017).

Os carotenoides identificados por Dalla Nora *et al.* (2014a) para o guabijú foram descritos na Tabela 1. Observou-se a maior quantidade para o β -caroteno, seguido pelos compostos β -criptoxantina, *trans*-luteína, α -caroteno e zeaxantina. Os autores relataram ainda que o β -caroteno representou 40,4% do teor total de carotenoides do fruto.

Dentre as funções mais importantes dos carotenoides para a dieta de humanos e outros animais está a capacidade de atuar como precursores da vitamina A. β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina são os compostos mais promissores a executar esta função, considerando sua estrutura capaz de produzir retinal (Cooperstone; Schwartz, 2016). Ressalta-se ainda que o β -caroteno é amplamente utilizado como corante em alimentos, tanto na forma natural quanto a sintética (Schwartz *et al.*, 2017).

Efeitos biológicos associados a composição bioativa do guabijú foram evidenciados em estudos. Os extratos de guabijú foram investigados por Andrade *et al.* (2011) quanto a seus efeitos nos leucócitos polimorfonucleares, demonstrando atividade inibitória significativa de 83,32% a 92,95%. O estudo sugeriu que os polifenóis do guabijú suprimem a migração celular por uma ação direta sobre os leucócitos polimorfonucleares, devido a propriedades antioxidantes desses compostos.

Os extratos do guabijú verde e maduro foram avaliados em relação a inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE), associada ao avanço da doença neurodegenerativa de Alzheimer (Silveira *et al.*, 2011). Os dados obtidos indicaram que todos os extratos avaliados inibiram a enzima AChE, para as concentrações testadas (25 a 600 μ g). Os autores ressaltaram que a composição química do guabijú, como os terpenos, tanto no estágio verde ou maduro foram os componentes promissores para redução da atividade da AChE (Silveira *et al.*, 2011).

O guabijú liofilizado foi avaliado quanto ao efeito protetor contra a cisplatina, um agente antitumoral que pode causar danos às células saudáveis, no estudo de Dalla Nora *et al.*

(2014b). Os autores constataram que ingestão do guabijú liofilizado por ratos, atuou diminuindo os níveis de colesterol total, LDL e gordura no fígado dos animais. A dieta suplementada com guabijú não causou aumento no peso corporal dos animais e demonstrou efeito protetor em relação ao estresse oxidativo causado pela cisplatina. Esses resultados foram associados a ação de fitoquímicos presentes no guabijú.

Outras propriedades de interesse associadas à espécie *Myrcianthes pungens* podem ser encontradas nas folhas, sementes e óleo essencial do guabijuzeiro. Os extratos das folhas do guabijuzeiro produzidos com diferentes solventes foi avaliado por Desoti *et al.* (2011). Os efeitos bacteriostático e bactericida foram observados contra bactérias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus*, e Gram negativas: *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*. Também foi constatada a atividade antifúngica contra *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*. A atividade antimicrobiana observada pelos autores foi associada aos constituintes químicos presentes no extrato da folha, pertencentes a classe dos flavonoides, esteroides e taninos.

Almeida *et al.* (2017) avaliaram o efeito gastroprotetor dos extratos metanólicos das cascas, polpa, sementes, folhas e fruto inteiro do guabijú frente a úlcera péptica induzida em camundongos. Os autores evidenciaram que todas as concentrações avaliadas (0,025; 0,125 e 0,250 mg 100 g⁻¹) para todos os extratos, com exceção ao das sementes e dos frutos inteiros, foram eficazes nas lesões causadas. Destacaram também que o mecanismo da ação gastroprotetora pode estar relacionado à presença dos flavonoides quercetina, quercitrina, catequina e epicatequina presentes nas partes da planta avaliada.

Os efeitos antimicrobianos também foram relatados para o óleo essencial de folhas do guabijuzeiro, sendo o principal microrganismo afetado o *Staphylococcus aureus* (Jesus *et al.*, 2021). A atividade antibacteriana evidenciada pode ser devida a composição fitoquímica do óleo essencial identificada no estudo. Os sesquiterpenos hidrocarbonetos e os sesquiterpenos oxigenados são os principais atuantes na bicamada lipídica bacteriana, sendo assim responsáveis pelo efeito antimicrobiano do óleo essencial de folhas do guabijuzeiro.

O guabijú é uma espécie que tem sido estudada ao longo dos anos em função das propriedades descritas. Embora seja um ingrediente promissor para uso na indústria de alimentos, se faz necessário à validação dos efeitos de seus constituintes em uma matriz alimentar, sendo de interesse a manutenção dos efeitos associados a espécie.

1.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

1.2.1 Histórico e Definição

Os óleos essenciais são usados desde os primórdios da história humana em diversas finalidades, tanto na elaboração de perfumes e cosméticos como para aplicações na culinária, na melhoria do sabor dos alimentos (Sonwa, 2000).

Ao longo dos anos podem destacar-se usos dos óleos essenciais pelos antigos egípcios na mumificação e na fumigação aromática em cerimônias religiosas, a qual era vista como uma manifestação divina na terra entre homens e deuses. Outros relatos sobre utilização de óleos essenciais foi em fins terapêuticos pelos asiáticos e na elaboração de fragrâncias refinadas por povos como os gregos, romanos, maias e astecas (Ríos, 2016).

Na Idade Média, com a queda do império romano e o surgimento do cristianismo, a aplicação de óleos essenciais foi explorada pelos alquimistas, que buscavam o “elixir da vida” para a longevidade infinita e também por mosteiros, que dedicavam o uso para obtenção de medicamentos para tratar e curar doenças, bem como a fabricação de derivados aromáticos (Silveira *et al.*, 2012; Sonwa, 2000).

Durante o período do Renascimento, o uso de óleos essenciais foi expandido para diversos países, principalmente com aplicações em perfumaria e cosméticos (Ríos, 2016).

Os óleos essenciais são produtos aromáticos e voláteis, considerados como metabólitos secundários, que podem ser extraídos de diversas partes das plantas, como raízes, folhas, cascas e flores (Ni *et al.*, 2021; Ríos, 2016). Nos vegetais, os óleos essenciais têm funções associadas a sobrevivência da espécie, exercendo efeitos de proteção contra patógenos.

Embora representem uma pequena fração da composição das plantas, as características aromáticas e biológicas dos óleos essenciais são buscadas por indústrias farmacêuticas, alimentícias e de fragrâncias (Stratakos; Koidis, 2016).

No Brasil, a RDC nº 725 de 1 de julho de 2022 da ANVISA os define como:

Aromatizante natural volátil de origem vegetal obtido por processo de destilação por arraste com vapor de água, de destilação a pressão reduzida ou por outro processo físico adequado, podendo se apresentar isolado ou misturado com outro óleo essencial, compreendendo o retificado, o desterpenado e o concentrado (BRASIL, 2022).

Cabe ainda destacar, de acordo com a legislação, que os óleos retificados são aqueles que foram submetidos a um processo de destilação fracionada, a fim de concentrar seus

componentes; os óleos concentrados são aqueles que foram parcialmente desterpenados; e os desterpenados aqueles em que foram retirados quase todos os seus terpenos (Brasil, 2022).

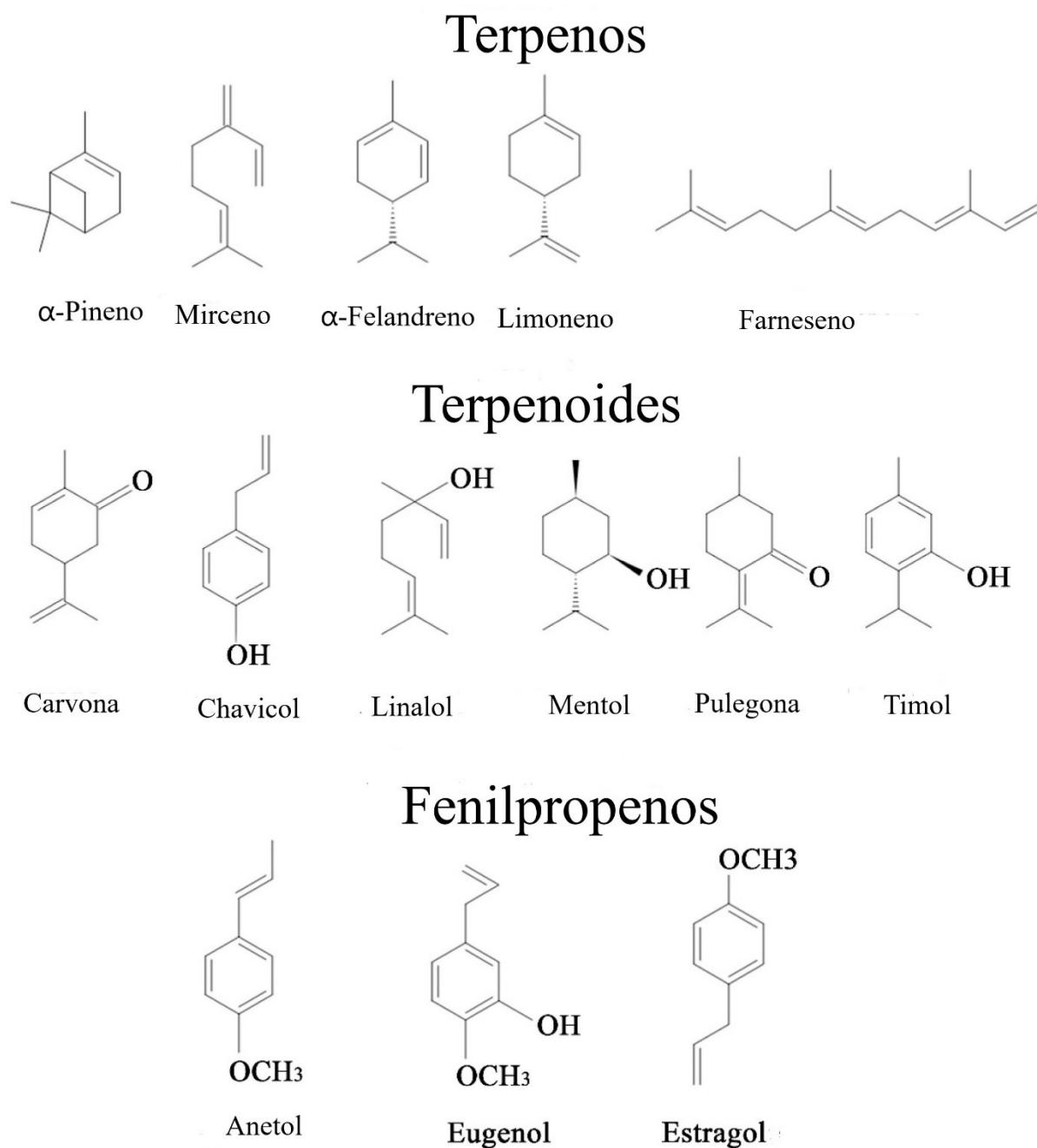
Outra denominação referida ao óleo essencial é a de óleo volátil, em função de algumas características físico-químicas observadas no produto, como por exemplo o odor intenso da planta da qual foi extraído, o fato de serem geralmente líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente e principalmente a volatilidade (Ríos, 2016; Silveira *et al.*, 2012).

Dentre outros atributos dos óleos essenciais destacam-se o sabor picante, tons incolores ou pouco amarelados, baixo rendimento de extração, solubilidade em solventes orgânicos e pouco solúveis em água. Esses compostos são rapidamente absorvidos na pele, se misturam bem aos óleos vegetais e geralmente possuem baixa densidade (Ríos, 2016).

1.2.2 Composição Química

A composição química dos óleos essenciais é formada por diversos constituintes aromáticos individuais. Os componentes principais provêm dos terpenos e fenilpropanoides (Ni *et al.*, 2021; Ríos, 2016).

Os terpenos são de forma geral, estruturados em unidades de isopreno (blocos de cinco carbonos) ligados entre si por ligação 1-4, também chamada de “cabeça-cauda”. Quando em sua estrutura química ocorre a presença de oxigênio, o composto é então denominado terpenoide e pode exercer funções químicas diferentes como álcoois, aldeídos, fenóis, ésteres, dentre outros (Felipe; Bicas, 2017). Na Figura 3 estão representadas as estruturas dos principais componentes dos óleos essenciais.

Figura 3 - Estrutura química de terpenos, terpenoides e fenilpropenos

Fonte: Adaptado de Ni *et al.* (2021).

Terpenos são as estruturas mais comuns em óleos essenciais e podem ter diversas combinações, formando assim, monoterpenos, diterpenos, triterpenos e sesquiterpenos (Ni *et al.*, 2021). Os monoterpenos e sesquiterpenos são compostos com baixo peso molecular (C10 e C15 respectivamente) e alta volatilidade, importantes por conferir o aroma dos produtos naturais. Para moléculas de peso molecular maior, como os diterpenos e triterpenos, a contribuição para formação de aromas é menor, no entanto estes compostos são de interesse em processos industriais, como a fixação de aroma (Felipe; Bicas, 2017; Lindsay, 2017).

Os fenilpropanóides, são caracterizados por apresentarem na estrutura um grupo fenol (grupo hidroxila funcional e um anel aromático). Nesta estrutura podem haver cadeias ligadas ao anel fenólico ou combinações da estrutura básica (C6-C3) formando oligômeros (Cunha *et al.*, 2018; Dong; Lin, 2021).

A formação dos fenilpropanóides ocorre principalmente pela via do ácido chiquímico, responsável por fornecer compostos de sabor derivados de aminoácidos aromáticos e constituintes voláteis associados aos óleos essenciais. Essa rota metabólica também é responsável pela síntese de outros produtos naturais em plantas, como os ácidos fenólicos, antocianinas, flavonoides, ligninas e taninos (Lindsay, 2017; Dong; Lin, 2021).

A classe dos fenilpropanóides representa um grande grupo de produtos naturais, sendo compostos comumente encontrados em alimentos, aromas, vinhos e óleos essenciais. Essas estruturas sintetizam intermediários por meio de vias de aminoácidos aromáticos, como fenilalanina e tiramina, ou ainda outras vias especiais. Os fenilpropanóides são associados a diversos efeitos benéficos de interesse, como a atividade antioxidante, anti-inflamatória, cicatrizante, antiviral e dentre outras propriedades (Cunha *et al.*, 2018; Ni *et al.*, 2021).

Os óleos essenciais podem também ser constituídos por outros compostos voláteis ou não voláteis, quando obtidos por diferentes técnicas de extração ou solvente, podendo atribuir uma formação variável e complexa a estes produtos (Ríos, 2016; Stratakos; Koidis, 2016).

Aos constituintes identificados em óleos essenciais de forma majoritária, normalmente são atribuídos o odor característico da espécie e sua atividade biológica, como por exemplo o potencial antimicrobiano. Ou seja, há uma correlação entre composto químico e efeito proporcionado. Em alguns casos, constituintes minoritários podem exercer melhor desempenho em função de atuarem de forma sinérgica (Tongnuanchan; Benjakul, 2014).

Dessa forma, é de interesse que a proporção natural dos constituintes dos óleos essenciais seja mantida durante o processo de extração aplicado as plantas (Stratakos; Koidis, 2016). Assim, métodos diferentes são usados para extrair e separar constituintes dos óleos a fim de elucidar estruturas e identificar possíveis atividades biológicas para aplicação em diversas finalidades.

1.2.3 Extração de Óleo Essencial

A extração dos óleos essenciais das diversas partes de uma planta, pode ser realizada por diferentes técnicas. O método mais aplicado é a destilação, que pode ocorrer com uso de vapor ou água. Ambas formas de execução não utilizam solventes orgânicos e podem ter tempos

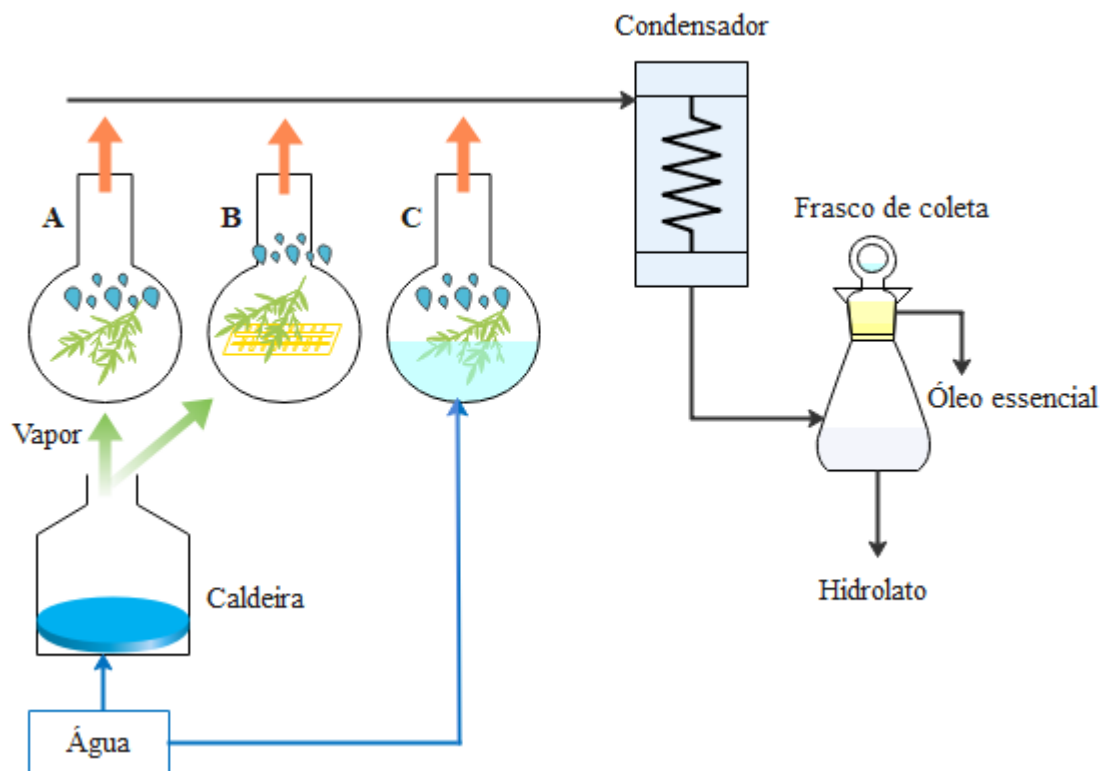
de extração entre 1 e 10 h. Cabe destacar que o tempo do processo pode ser influenciado pelo tipo de material a ser extraído. Algumas etapas antes da extração podem ser consideradas, como esmagamento no caso de sementes, corte ou trituração de folhas, cascas ou ramos e assim otimizar o processo (Silveira *et al.*, 2012; Palma *et al.*, 2013; Stratakos; Koidis, 2016)).

O processo de destilação consiste na exposição da amostra ao vapor da água ou água quente para liberar o óleo essencial das células vegetais através da evaporação. À medida que ocorre a condensação do material, eles são coletados e separados em um recipiente de coleta também chamado de frasco florentino. A água obtida do processo denominada hidrolato, contém substâncias aromáticas que podem ser empregadas na indústria de perfumaria (Stratakos; Koidis, 2016; Bruno; Almeida, 2021).

A separação de compostos por destilação pelo vapor de água é aplicada em materiais sensíveis à temperatura, como óleos, resinas, hidrocarbonetos e outras substâncias, capazes de se decompor no ponto de ebulição e que sejam insolúveis em água. O princípio da técnica é que os compostos sejam destilados a uma temperatura abaixo do ponto de ebulição dos constituintes individuais correspondentes. Os óleos essenciais contêm substâncias com pontos de ebulição de até 200 °C ou mais, mas na presença de vapor ou água fervente, essas substâncias são volatilizadas no ponto de ebulição da água (100 °C) à pressão atmosférica (Silveira *et al.*, 2012; Reyes-Jurado *et al.*, 2015; Božović *et al.*, 2017).

Na destilação com vapor, podem ocorrer dois processos: destilação por arraste a vapor ou vapor seco e a destilação direta a vapor. Na destilação por arraste a vapor, o vapor flui através do leito dos materiais sólidos e arrasta o óleo essencial para o condensador. Após, os materiais seguem para o frasco de coleta, onde são separados por diferença de polaridade, visto que o óleo essencial é apolar (Silveira *et al.*, 2012; Palma *et al.*, 2013; Stratakos; Koidis, 2016). O vapor que carrega os óleos essenciais é gerado fora do destilador e pode ser superaquecido a pressões moderadas. Esse método é bastante adequado na extração de terpenos que possuem ponto de ebulição acima de 150 °C (Palma *et al.*, 2013). A Figura 4 representa um esquema básico do processo de destilação e suas formas, para o óleo essencial.

Figura 4 – Esquema de destilação para óleo essencial



Fonte: A autora (2025).

Nota: A: Destilação por arraste a vapor; B: Destilação direta a vapor; C: Hidrodestilação.

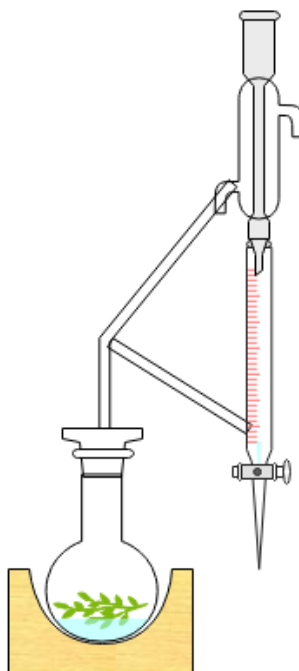
Já na destilação direta a vapor, o vegetal é apoiado sobre uma placa ou grade perfurada distante do fundo do destilador e não entra em contato direto com a água. O vapor que coleta o óleo essencial, pode ser gerado em uma caldeira dentro ou fora do destilador (Palma *et al.*, 2013; Tongnuanchan; Benjakul, 2014).

E na destilação com água, denominada de hidrodestilação, os materiais vegetais são imersos na água fervente. O vapor provoca a abertura das paredes celulares dos vegetais e ocorre a evaporação do óleo que está entre as células. Nesta técnica, a caldeira está dentro do destilador, sendo necessário agitação para evitar aglutinação (Palma *et al.*, 2013; Reyes-Jurado *et al.*, 2015).

Na hidrodestilação em pequena escala, geralmente laboratorial, é utilizado o aparelho tipo Clevenger, que consiste na adaptação de um balão, onde são adicionados o material vegetal e a água destilada. A água é aquecida até a formação de vapor. O óleo e a água são coletados na forma de vapor até o condensador. Após são recebidos no sistema de coleta e como são imiscíveis podem ser facilmente separados, formando o óleo e o hidrolato (Silveira *et al.*, 2012).

É importante monitorar a temperatura do processo para que não exceda 100°C, pois como ocorre o contato direto com a água por longos períodos, alguns compostos mais sensíveis podem ser degradados (Silveira *et al.*, 2012). Exemplo de aparelhagem é mostrado na Figura 5.

Figura 5 – Modelo de aparelho Clevenger



Fonte: A autora (2025).

Existem algumas desvantagens associadas aos processos de destilação, como a formação de materiais indesejáveis como as ceras, as quais levam a uma redestilação do óleo, também pode ocorrer a degradação de compostos e alto consumo de energia quando o período de extração for relativamente alto (Božović *et al.*, 2017; Stratakos; Koidis, 2016).

No entanto, embora com o surgimento de novas técnicas de extração para óleo essencial, a destilação de arraste a vapor e a hidrodestilação são os processos mais utilizados. Os equipamentos empregam de tecnologia simples, baixo investimento e podem operar com pequenos e grandes volumes de material (Božović *et al.*, 2017).

1.2.4 Óleo Essencial de Plantas Nativas do Brasil: Espécies da Família *Myrtaceae*

O território brasileiro possui uma biodiversidade vegetal diversificada, sendo fonte de muitos compostos em espécies ainda desconhecidas quanto a sua potencialidade de usos. Considerando o crescente interesse em espécies nativas, devido a presença de compostos

fitoquímicos, pode-se inovar na oferta de produtos com alto valor agregado, como os óleos essenciais (Pawlowski *et al.*, 2021; Toledo *et al.*, 2020).

Os óleos essenciais podem ser extraídos de várias partes e espécies de plantas, como da família *Myrtaceae*. Essa família compreende inúmeras espécies de plantas lenhosas dentro da ordem *Myrtales* que contêm mais de 5650 espécies organizadas em 130-150 gêneros. Também é de relevância econômica e ecológica para o mundo, devido apresentar diversos gêneros de plantas com flores. A ocorrência das espécies se dá principalmente no Hemisfério Sul em diversos biomas, como a Mata Atlântica no Brasil (Schmidt *et al.*, 2020).

Os óleos essenciais de plantas nativas são fontes de importantes atividades biológicas com promissora aplicação em diversos ramos industriais, a destacar o setor alimentício. Para elevar este potencial são necessárias melhores elucidaciones sobre a composição fitoquímica e seu mecanismo de ação quando empregado em uma matriz alimentar. Nesse contexto, é importante mencionar que a variabilidade fitoquímica pode ser influenciada por diferentes fatores, desde a parte da planta em que é extraído o óleo essencial, como a localização geográfica da espécie, condições climáticas, período de coleta, método de extração e tratamentos aplicados ao material.

Dessa forma, esse tópico de revisão tem como ênfase os óleos essenciais extraídos de plantas nativas na região Sul do Brasil pertencentes a família *Myrtaceae*. Na Tabela 2 foram destacados os principais compostos fitoquímicos identificados para o guabijú e para outras espécies, assim como em qual parte da planta foram extraídos e seu percentual.

Tabela 2 – Compostos químicos identificados em espécies da família *Myrtaceae*

Espécie	Compostos majoritários (%)	Parte da planta	Referência
Guabijú (<i>Myrcianthes pungens</i>)	β-cariofileno (32,7)	Frutos	(Marin <i>et al.</i> , 2008)
	Germacreno D (14,2)		
	Biciclogermacreno (11,2)		
	β-cariofileno (10,1; 11,7)	Folhas	(Apel; Sobral; Henriques, 2006; Jesus <i>et al.</i> , 2021)
	β-elemeno (9,1)		
	Espatulenol (9,7)		
	1,8-Cineol (10,10)		
Cereja do Rio Grande (<i>Eugenia involucrata</i> DC)	Biciclogermacreno (7,92)	Frutos	(Marin <i>et al.</i> , 2008)
	β-cariofileno (10,1)		
	Espatulenol (7,8)		
	β-bisaboleno (7,2)	Folhas	(Toledo <i>et al.</i> , 2020; D'almeida <i>et al.</i> , 2021)
	Elixeno (26,5)		
	β-cariofileno (13,2)		
Pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.)	α-copaeno (8,4)	Frutos	(Marin <i>et al.</i> , 2008)
	Germacreno B (22,17)		
	Biciclogermacreno (19,76)		
	β-elemeno (10,86)	Folhas	(Victoria <i>et al.</i> , 2012; Santos <i>et al.</i> , 2018a; Ascari <i>et al.</i> , 2021)
	Ácido hexadecanóico (11,7)		
	(E)-β-ocimene (7,4)		
Goiaba Serrana (<i>Acca sellowiana</i>)	Germacreno B e α-selineno (7,2)	Frutos	(Marin <i>et al.</i> , 2008)
	Germacreno B (7,95; 21,2)		
	Óxido de selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona (19,3; 20,44; 36,37)		
	selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona epóxido (27,32)	Folhas	(Victoria <i>et al.</i> , 2012; Santos <i>et al.</i> , 2018a; Ascari <i>et al.</i> , 2021)
	β-cariofileno (12,6)		
	Espatulenol (9,27)		
Araçá (<i>Psidium cattleianum</i> Sabine)	Cariofileno (15,0)	Casca	(Elfarnini <i>et al.</i> , 2018; Smeriglio <i>et al.</i> , 2019; Guerra-Ramírez <i>et al.</i> , 2021)
	Germacreno D (14,0)		
	Ledeno (14,0)		
	γ-selineno (17,39)	Frutos	(Marin <i>et al.</i> , 2008)
	α-cariofileno (16,74)		
	β-cariofileno (10,37)		
Uvaia (<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess)	Benzoato de cis-3-hexenil (13,2; 17,7)	Frutos	(Rocha <i>et al.</i> , 2020; Garcia <i>et al.</i> , 2021; Souza <i>et al.</i> , 2021b)
	Elixeno (8,7; 10,9)		
	Espatulenol (8,6; 9,0)		
	β-cariofileno (22,5)	Folhas	(Stefanello <i>et al.</i> , 2009)
	β-selineno (10,1)		
	Neo-intermedeol (14,2)		
Uvaia (<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess)	α-pineno (24,25; 31,8)	Folhas e galhos	(Durazzini <i>et al.</i> , 2019 (Souza <i>et al.</i> , 2021a)
	β-cariofileno (20,45; 38,69)		
	1,8-Cineol (0,5; 55,8)		
	β-elemene (7,37)	Folhas e galhos	(Durazzini <i>et al.</i> , 2019 (Souza <i>et al.</i> , 2021a)
	Germacreno (3,93)		
	p-cimeno (33,4%)		
Uvaia (<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess)	Óxido de cariofileno (16,2)	Frutos	(Stefanello <i>et al.</i> , 2009)
	Limoneno (12,4)		
	α-terpineol e α-cadinol (5,4)		
	Limoneno (14,8)	Folhas e galhos	(Durazzini <i>et al.</i> , 2019 (Souza <i>et al.</i> , 2021a)
	Nerolidol (11,0)		
	α-cadinol (10,3)		
Uvaia (<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess)	β-cariofileno (17,82)	Folhas e galhos	(Durazzini <i>et al.</i> , 2019 (Souza <i>et al.</i> , 2021a)
	Biciclogermacreno (12,82)		
Uvaia (<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess)	Globulol (5,96)	Folhas e galhos	(Durazzini <i>et al.</i> , 2019 (Souza <i>et al.</i> , 2021a)

Fonte: A autora (2025).

A espécie em estudo, o guabijú, tem informações sobre seu óleo essencial relatado por Apel; Sobral; Henriques, (2006), Marin *et al.* (2008) e Jesus *et al.* (2021). Dentre os compostos fitoquímicos relatados para a espécie observou-se que o β -cariofileno foi identificado tanto para o óleo essencial das folhas quanto para os frutos. Ressalta-se uma maior predominância de β -cariofileno para o óleo essencial extraído a partir dos frutos inteiros de guabijú (32,7%) conforme relatado por Marin *et al.* (2008).

O β -cariofileno é um sesquiterpeno hidrocarboneto encontrado no óleo essencial de várias plantas como por exemplo da copaíba (*Copaifera reticulata*). Esse composto é caracterizado por exibir odor amadeirado e picante, sendo aplicado em alguns alimentos e bebidas para conferir sabor e aroma cítrico. Também é relatado por exibir potencial antioxidante e por propriedades anti-inflamatórias, neuroprotetoras, antidepressivas e antialérgicas (Ames-Sibin *et al.*, 2018).

No óleo essencial das folhas do guabijuzeiro, Jesus *et al.* (2021), avaliaram a atividade antimicrobiana frente a alguns microrganismos e o potencial antioxidante. Foram constatados efeitos inibitórios contra a bactéria *Staphylococcus aureus* e elevada atividade antioxidante pelo método de co-oxidação de β -caroteno/ácido linoleico. Os autores sugeriram que o efeito antimicrobiano foi proporcionado pela composição química do óleo, formada principalmente por sesquiterpenos hidrocarbonetos, os quais atuam na bicamada lipídica bacteriana.

A *Eugenia involucrata* DC. conhecida como cereja do Rio Grande, ou cereja do mato, possui frutos com coloração vermelho arroxeado quando maduros, que são popularmente consumidos de forma *in natura* (Schmidt *et al.*, 2020). São associados a cerejeira, em específico as folhas, propriedades terapêuticas e medicinais como a ação digestiva e o potencial antioxidante (Toledo *et al.*, 2020).

Marin *et al.* (2008) realizaram a extração do óleo essencial dos frutos da cerejeira e dentre os compostos fitoquímicos identificados destacaram-se β -cariofileno, espatulenol e β -bisaboleno em ordem decrescente de concentração. Todos os constituintes são parte da classe dos sesquiterpenos. A atividade antioxidante com uso do reagente DPPH também foi verificada, na qual o óleo essencial da cereja foi considerado como fonte promissora pelos autores.

Recentemente a *Eugenia involucrata* DC. foi avaliada por Toledo *et al.* (2020) quanto a composição química, atividade antioxidante e potencial antimicrobiano do óleo essencial extraído das folhas da cerejeira. Os autores relataram a presença majoritária de sesquiterpenos hidrocarbonetos no óleo essencial, representados principalmente pelos compostos elixeno, β -cariofileno e α -copaeno. Também evidenciaram atividade antioxidante no ensaio DPPH para a maior quantidade de óleo essencial testado (50 mg mL⁻¹). Para o potencial antimicrobiano foram

observados efeitos inibitórios e bactericidas para todas as bactérias Gram-positivas testadas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* e para a levedura *Candida albicans*. Os autores enfatizaram que a principal característica associada ao efeito antimicrobiano foi o perfil hidrofóbico dos compostos presentes no óleo.

Diferentes compostos fitoquímicos também foram identificados por D’Almeida *et al.* (2021) no óleo essencial extraído das folhas da cerejeira. Os maiores teores foram para o germacreno B, biciclogermacreno e β -elemeno, todos também da classe sesquiterpenos hidrocarbonetos. Os autores mencionaram que alterações nos constituintes do óleo essencial podem ocorrer em função das diferentes regiões de coleta das amostras, que pode ter impacto sobre características de odor e cor do produto final.

A pitanga (*Eugenia uniflora* L) é uma espécie amplamente difundida pelas regiões do Brasil, sendo que suas características botânicas, fitoquímicas ou farmacológicas estão entre as mais investigadas por pesquisadores (Costa *et al.*, 2020). Efeitos antimicrobianos, antifúngicos e antioxidantes já foram relatados. O óleo essencial dos frutos da pitangueira foi extraído e avaliado por Marin *et al.* (2008) e dentre os constituintes identificados, foi constatado o ácido hexadecanóico em maior concentração, seguidos por (E)- β -ocimene, germacreno B e α -selineno. Além de sesquiterpenos hidrocarbonetos, foi reportado pelos autores um percentual total de 24,5% para compostos monoterpenos, como (E)- β -ocimene.

As folhas da pitangueira também são fontes para extração de óleo essencial, conforme já analisadas por Victoria *et al.* (2012), Santos *et al.* (2018a) e Ascari *et al.* (2021). Em relação aos compostos químicos do óleo essencial da folha da pitangueira, foram descritos como predominantes, o germacreno B, óxido de selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona, β -cariofileno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido e espatulenol.

Victoria *et al.* (2012) relataram para o óleo essencial da folha da pitangueira atividade antioxidante em três diferentes ensaios (ABTS, DPPH e FRAP) e efeitos inibitórios contra as bactérias *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, bem como contra algumas cepas de fungos, a citar *Candida albicans*. Em contrapartida, Santos *et al.* (2018a) evidenciaram atividade antifúngica contra *Candida albicans* apenas para as maiores quantidades testadas do óleo essencial de 4096 $\mu\text{g mL}^{-1}$ quando comparado com 208,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ relatados por Victoria *et al.* (2012). A baixa atividade antifúngica foi associada a presença de compostos químicos diferentes aos relatos encontrados na literatura (Santos *et al.*, 2018a).

Acca sellowiana (sinônimo de *Feijoa sellowiana*) é uma *Myrtaceae* conhecida como goiaba serrana ou feijoa. A espécie tem como características principais frutos ovais com casca verde escura rugosa, polpa clara, cor mel, sabor doce ácido e aroma floral peculiar. A casca da

goiaba serrana é geralmente descartada por concentrar mais compostos resinosos e desta forma vem sendo objeto de estudo por vários pesquisadores, dada capacidade de extração de óleo essencial (Elfarnini *et al.*, 2018; Guerra-Ramírez *et al.*, 2021; Smeriglio *et al.*, 2019).

Cariofileno, germacreno D e ledeno, pertencentes ao grupo dos sesquiterpenos, foram os principais constituintes identificados por Elfarnini *et al.* (2018) ao extrair óleo essencial da casca da goiaba serrana. De forma similar Smeriglio *et al.* (2019) constataram α -cariofileno, β -cariofileno e γ -selineno como compostos principais. Ambos os autores destacaram uma baixa fração de constituintes aromáticos, como o 3-octanona e o metil-benzoato, relacionando os dados obtidos ao grau de maturação dos frutos utilizados.

O óleo essencial extraído da casca da goiaba serrana por Smeriglio *et al.* (2019) indicou forte atividade antioxidante nos métodos em que foi avaliado, sendo ABTS, DPPH, FRAP, ORAC e ensaio de branqueamento de β -caroteno. Os autores também observaram boa atividade quelante de ferro, sendo um fator importante na redução da disponibilidade de metais de transição. Destacaram ainda efeitos antimicrobianos do óleo essencial contra *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *Candida albicans*, sendo considerado bactericida contra *S. aureus*.

Guerra-Ramírez *et al.* (2021) avaliaram o óleo essencial obtido da casca da goiaba serrana de dois diferentes pomares. A composição fitoquímica resultou na predominância maior de benzoato de cis-3-hexenil, elixeno e espatulenol para ambas as amostras. Os autores destacaram que a presença de benzoato de cis-3-hexenil pode estar associada ao perfil aromático do óleo essencial, salientando que diferentes constituintes, principalmente de aroma, são mais evidentes em frutos da goiaba serrana com maior grau de maturação.

Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) é uma espécie amplamente distribuída, podendo ser encontrada da região Sul ao Nordeste do Brasil. Os frutos possuem coloração externa amarelo ou vermelho quando maduros, polpa succulenta levemente amarelada de sabor doce com moderada acidez, que podem ser consumidos *in natura* ou processados. A espécie é relatada por sua atividade antimicrobiana, antiproliferativa, anti-inflamatória e antioxidante associada a presença de diversos constituintes bioativos, como os compostos fenólicos (Pereira *et al.*, 2018; Garcia *et al.*, 2021).

Um dos produtos que pode ser extraído do araçá, é o óleo essencial. Marin *et al.* (2008) ao avaliá-lo, identificaram constituintes como β -cariofileno e β -selineno, pertencentes ao grupo dos sesquiterpenos hidrocarbonetos e neo-intermedeol um sesquiterpeno oxigenado. Os autores também documentaram o potencial antioxidante do óleo obtido, frente ao reagente DPPH.

As folhas do araçazeiro foram utilizadas por Rocha *et al.* (2020), Garcia *et al.* (2021) e Souza *et al.* (2021b) na extração de óleo essencial. O β -cariofileno, α -pineno e 1,8-cineol

foram os constituintes majoritários identificados nos produtos obtidos. Destacaram-se ainda os compostos β -elemeno e germacreno. Rocha *et al.* (2020) enfatizaram diferenças na composição química dos óleos essenciais obtidos das folhas de araçazeiro de genótipo amarelo e vermelho em diferentes fases fenológicas e locais de colheita. O óleo de araçá vermelho exibiu elevado percentual de *p*-cimeno (33,4%), enquanto o mirceno indicou maior predominância no óleo essencial extraído do araçá amarelo (21,6%).

Em relação a atividade biológica, Garcia *et al.* (2021) destacaram efeitos positivos contra *Acinetobacter baumannii*, uma bactéria Gram-negativa altamente infecciosa. No entanto para atividade antioxidante do óleo essencial das folhas do araçazeiro, uma baixa eliminação dos radicais DPPH foi observada para as concentrações testadas (de 0,125 a 1 mg mL⁻¹).

Souza *et al.* (2021b) na investigação do óleo essencial das folhas do araçazeiro, relataram elevado potencial antioxidante nos ensaios ABTS e DPPH. Esses autores também evidenciaram atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella enteritidis* nas menores concentrações de óleo utilizadas. Tais efeitos foram associados ao conteúdo de β -cariofileno presente no óleo essencial, visto que este composto pode atuar na despolarização e permeabilidade da membrana celular, tornando-a mais susceptível ao extravasamento e coagulação do citoplasma. Cabe também destacar, que para todos os fungos avaliados (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium musae*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Alternaria alternata* e *Penicillium digitatum*) não foram constatados efeitos antimicrobianos, fator que pode ser relacionado a resistência aos constituintes do óleo e a estrutura celular dos microrganismos avaliados (Souza *et al.*, 2021b).

Eugenia pyriformis Cambess, conhecida como uvaia ou uvalha é um fruto comestível com formato esférico de até 4 cm de diâmetro, cor amarelo-alaranjado que apresenta sabor ácido e adocicado, textura aveludada com casca fina e polpa carnososa (Sganzerla *et al.*, 2018). A espécie é considerada uma planta aromática que pode ser cultivada em pomares domésticos sendo relatada por seus compostos bioativos, como carotenoides e compostos fenólicos em variadas partes da planta (Stefanello *et al.*, 2009; Sganzerla *et al.*, 2018).

O óleo essencial dos frutos da uvaieira foi analisado por Stefanello *et al.* (2009) quanto a composição fitoquímica, sendo identificados em maior predominância óxido de cariofileno, limoneno, α -terpineol e α -cadinol. A maioria dos constituintes fazia parte dos sesquiterpenos (51,3%) seguidos dos monoterpenos (29,0%).

Para o óleo essencial extraído das folhas e galhos (parte aérea) da uvaieira, Durazzini *et al.* (2019) relataram como principais constituintes limoneno, nerolidol e α -cadinol,

semelhante a composição do óleo essencial dos frutos mencionada por Stefanello *et al.* (2009). Um fator importante observado por Durazzini *et al.* (2019) foi de que o óleo essencial da uvaieira exibiu atividade antileishmania contra o protozoário *Leishmania amazonense* causador da leishmaniose, um problema de saúde pública. Os efeitos observados foram atrelados a presença do limoneno, nerolidol e outros compostos em menor concentração já avaliados anteriormente.

Souza *et al.* (2021a) avaliaram o óleo essencial das folhas da uvaieira em relação a composição fitoquímica e atividade antimicrobiana. Como principais compostos identificados, destacaram β -cariofileno, biciclogermacreno e globulol, pertencentes ao grupo dos sesquiterpenos. Quanto atividade antimicrobiana, não foram evidenciados efeitos contra os fungos do gênero *Candida* ssp. nas concentrações empregadas, mas um moderado potencial antibacteriano foi obtido frente as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *S. aureus* resistente à meticilina.

De maneira geral, a composição fitoquímica de um óleo essencial pode ter diversos constituintes, alguns exibindo maior predominância e outros em teores reduzidos, mas que atuando em sinergismo são responsáveis por vários efeitos, conforme relatados anteriormente.

1.3 USO DE EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

As aplicações de compostos naturais, como extratos vegetais e óleos essenciais podem ser feitas em diversos segmentos industriais, tais como a indústria de aromas, corantes, farmácia e alimentos, dependendo das características do produto obtido, como a origem botânica da planta, qualidade obtida e potencial efeito do produto (Ni *et al.*, 2021; Ríos, 2016). A utilização dos extratos vegetais e óleos essenciais no setor alimentício vem ganhando destaque em função dos efeitos biológicos associados a estes produtos, principalmente o potencial antimicrobiano e antioxidante. Outro fator é a demanda por produtos com menor aplicação de conservantes sintéticos, como os corantes. Dessa forma, uma ampla gama de extratos vegetais pode fornecer compostos com função tecnológica (Christaki *et al.*, 2021; Ni *et al.*, 2021).

Um dos alimentos recentemente analisado como veículo para incorporação de compostos naturais é o iogurte. Esse derivado lácteo é obtido por meio da fermentação do leite pela ação das bactérias lácticas, que em conjunto de outros fatores proporcionam a textura cremosa e sabor característico. O iogurte é caracterizado por atribuir efeitos benéficos para a saúde em função de seu valor nutricional atribuído a presença de minerais, proteínas e vitaminas (Zhang *et al.*, 2019; Salama *et al.*, 2021). Dessa forma, para melhorar ainda mais a

funcionalidade do iogurte, Azizkhani e Parsaeimehr (2018) desenvolveram um iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus* LA5, *Lactobacillus fermentum* e *Bifidobacterium* Bb-12, acrescido dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum*, *Zataria multiflora* Boiss. e *Mentha piperita* (manjerição, zataria e hortelã pimenta, respectivamente). Dentre os efeitos observados, foi constatado que as contagens de *L. acidophilus*, *L. fermentum* e *Bifidobacterium* não foram afetadas pela presença dos óleos essenciais de manjerição e hortelã pimenta por até 7 e 14 dias, respectivamente. Para atividade antioxidante, todos os iogurtes formulados com os óleos essenciais exibiram maior atividade antioxidante, quando comparados a amostra controle, porém sendo mais expressiva para a amostra com óleo essencial de zataria.

A elaboração de iogurtes com extratos da casca de *Myrciaria cauliflora* Mart (jabuticaba) proporcionou cor intensa aos produtos, sendo atribuído a presença dos pigmentos de antocianinas, as quais demonstraram estabilidade durante o armazenamento de 28 dias dos produtos, conforme investigado por Machado *et al.*, (2023). A avaliação sensorial do produto com adição 0,5% do extrato das cascas revelou boa aceitação, indicando notas entre 7 e 8 para os atributos aparência, cor, aroma, textura, sabor e impressão geral, indicando assim que o extrato pode ser usado como um aditivo de cor em iogurtes. Em outro estudo, um iogurte grego desenvolvido por Kim, Kim e Choi (2023) com adição do xarope do bagaço da maçã demonstrou que o conteúdo de polifenóis aumentou, assim como houve a presença de atividade antioxidante nas formulações enriquecidas. Nesse mesmo contexto, a adição de extratos desenvolvidos com a casca de *Citrus reticulata* Blanco (laranja) em formulações de iogurte, foi analisada por Zaki *et al.* (2024). Os autores destacaram que a suplementação do iogurte aprimorou sensorialmente o sabor do produto final. Os dados sobre a composição do produto inferiram em elevado conteúdo fenólico e atividade antioxidante, sugerindo que o iogurte elaborado tem potenciais benefícios à saúde. Dessa forma, ambos relatos sugerem diferentes formas de aproveitamento de materiais vegetais na elaboração de extratos que demonstraram capacidade para incorporação em iogurtes.

Outro produto fonte de nutrientes com alto valor nutricional é o queijo. As várias etapas de fabricação dos queijos e a complexidade da matriz, o colocam exposto a condições ambientais diferenciadas, que podem ocasionar contaminações microbiológicas (Campos *et al.*, 2022; Gouvea; Rosenthal; Ferreira, 2017). A adição de óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) em queijo minas padrão foi avaliada por Campos *et al.* (2022). Os autores constataram que o teor aplicado de 0,02% (v/v) causou inibição das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* durante 30 dias de maturação dos queijos. Já para os fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium citrinum* houve inibição dos esporos por até 15 dias de

maturação, enquanto para *Fusarium oxysporum* não ocorreu germinação dos esporos ao longo dos 30 dias de maturação. Dados similares foram reportados por Bedoya-Serna *et al.* (2018) na avaliação antifúngica em queijo minas padrão utilizando óleo essencial de orégano. Os autores observaram que as nanoemulsões encapsuladas com óleo essencial foram eficazes contra o crescimento de *Cladosporium* ssp. *Fusarium* ssp. *Penicillium* ssp. em fatias de queijo minas padrão. Os efeitos observados foram relacionados aos constituintes do óleo essencial carvacrol e timol que têm capacidade de atuação sob a membrana celular dos microrganismos, causando alterações morfológicas e também interfere nas enzimas catalíticas responsáveis pelo fornecimento de energia.

As características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de sorvetes elaborados com os óleos essenciais extraídos das cascas de *Citrus aurantium* L. subsp. *dulcis*, *Citrus limon* L. e *Citrus reticulata* L. (laranja, limão e tangerina, respectivamente) foram investigadas por Tomar e Acarka (2019). Entre os dados obtidos os autores destacaram que os microrganismos *Salmonella* ssp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e coliformes totais não apresentaram crescimento microbiano nas amostras de sorvete com óleo essencial de laranja, limão e tangerina para todas as concentrações testadas (0,1; 0,3 e 0,5%). A análise sensorial das formulações de sorvete indicou maior aceitação para as amostras com óleo essencial de limão. No entanto todas as demais formulações tiveram escores maiores que a amostra controle. Dessa forma, os autores enfatizaram que a utilização de aditivos naturais resultou em produtos com boa aceitação sensorial e com potencial antimicrobiano para aplicação como conservantes e aromatizantes.

Também atuando na melhoria das propriedades de sorvetes, Gremski *et al.* (2019) desenvolveram uma formulação com enriquecimento do extrato otimizando contendo *Ilex paraguariensis* (erva mate) e *Melissa officinalis* (erva cidreira). Nos efeitos observados, foi constatado que a incorporação do extrato demonstrou a presença de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante no sorvete. A análise sensorial indicou um índice de aceitação geral de 83% do produto, enfatizando o potencial tecnológico de uso das espécies empregadas para produzir sorvetes.

Como demonstrado, existem diversos produtos promissores para aplicação de extratos vegetais e óleos essenciais, dada sua capacidade de atuar na preservação de alimentos, contribuído para o aumento da vida útil e também como compostos de cor e aroma natural. Cabe ressaltar que muitos dos efeitos são relacionados a composição química dos extratos e óleos essenciais e dessa forma se faz importante a elucidação desses compostos para melhor compreender como atuam frente as atividades biológicas exibidas.

1.4 TÉCNICAS PARA SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS

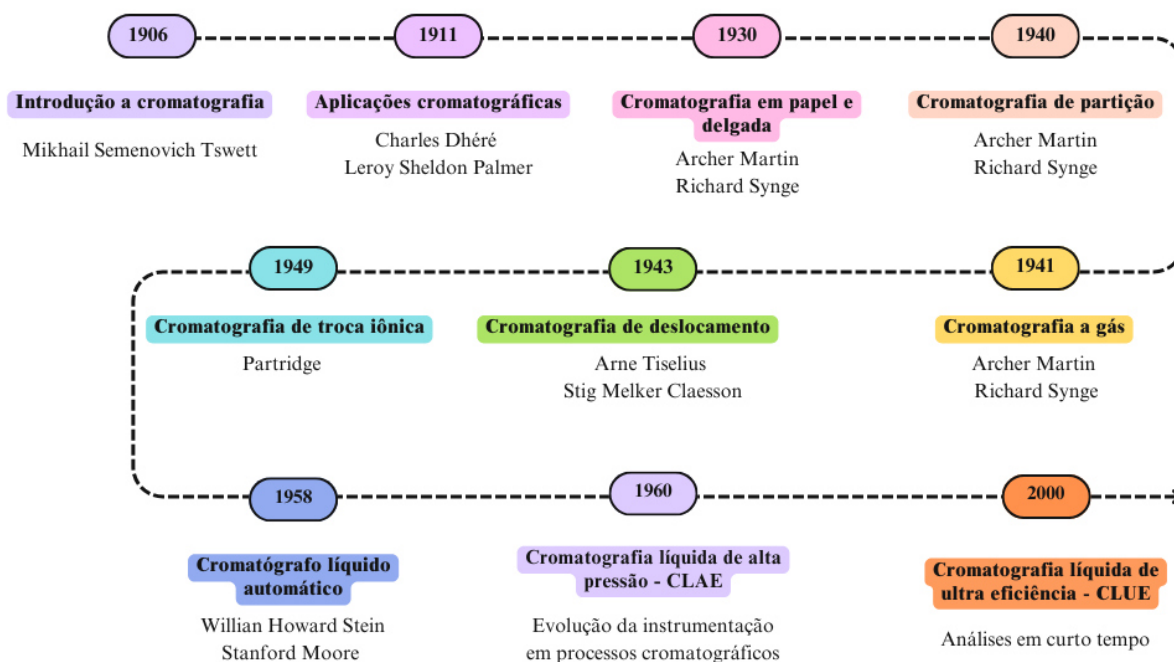
1.4.1 Métodos cromatográficos: definição e histórico

O termo cromatografia é proveniente de duas palavras gregas *chroma* e *grafein*, que significam cor e escrita, respectivamente. É uma técnica físico-química de separação de compostos fundamentada no deslocamento de componentes por diferentes interações e que está distribuída entre duas fases imiscíveis, denominadas de fase estacionária e fase móvel. A fase estacionária é fixa num suporte, em que na maioria dos processos cromatográficos é chamado de coluna. Enquanto a fase móvel geralmente é um líquido ou gás que percorre pela coluna. Assim, o estado físico da fase móvel é uma das principais formas de classificação da cromatografia (Araújo Filho *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2018).

Esse método para a separação de compostos foi nomeado pela primeira vez em 1906 pelo botânico russo Mikhail Semenovich Tswett em um artigo que descreveu seu experimento para separação dos pigmentos clorofila e xantofila em um extrato vegetal (Araújo Filho *et al.*, 2021; Pacheco *et al.*, 2015). O pesquisador Tswett desenvolveu um aparato constituído por um tubo de vidro com torneira, preenchido com grãos de carbonato de cálcio (CaCO_3) que entre os espaços continha o líquido éter de petróleo. Ao introduzir a amostra no tubo e aplicar mais éter de petróleo, Tswett promoveu a separação dos pigmentos em bandas coloridas (Araújo Filho *et al.*, 2021). A Figura 6 demonstra os principais avanços ocorridos ao longo do tempo da história da cromatografia.

Ao longo dos anos, alguns pesquisadores contribuíram para o desenvolvimento da cromatografia, reproduzindo o método de Tswett para separação e purificação de compostos. Um grupo de trabalho coordenado por Charles Dhéré na Europa a partir de 1911, tinha interesse em substâncias puras e desta forma aprimorou o aparato utilizado na técnica de cromatografia melhorando a separação de compostos, como as frações da clorofila. Na mesma época, o norte americano Leroy Sheldon Palmer aplicou a cromatografia principalmente na separação dos carotenoides, seguindo as recomendações de Tswett (Araújo Filho *et al.*, 2021; Pacheco *et al.*, 2015).

Figura 6 - Linha do tempo: principais avanços da cromatografia



Fonte: a autora (2025).

Após a década de 1930, vários avanços ocorreram no campo de análises cromatográficas, sendo importante destacar a introdução da cromatografia em papel e de camada delgada, pelos pesquisadores Archer Martin e Richard Synge. Ambas técnicas passaram a ter grande aplicação nos laboratórios químicos (Kolomnikov *et al.*, 2018; Pacheco *et al.*, 2015). Em meados de 1940, Martin e Synge desenvolveram a cromatografia denominada de partição, a qual foi utilizada na separação dos aminoácidos das proteínas. A separação de constituintes era fundamentada na diferença de partição das substâncias entre duas fases líquidas (uma fase estacionária imobilizada e a fase móvel imiscível em água). A esses pesquisadores também é atribuído o descobrimento da cromatografia a gás, que embora não fosse o objeto do estudo de Martin e Synge, foi enfatizado em seus artigos de pesquisa.

A cromatografia a gás foi desenvolvida entre 1940 e 1950 e teve a contribuição de vários pesquisadores para a evolução da técnica (Kolomnikov *et al.*, 2018; Pacheco *et al.*, 2015). O grande impulso para o rápido crescimento da cromatografia a gás ocorreu em função de sua importância na análise da composição do petróleo. Dessa forma, indústrias e pesquisadores adotaram a técnica em suas aplicações, tornando-a como a primeira técnica instrumental disponível comercialmente (Ismail, 2017; Bartle, Myers, 2002). Com o passar das décadas a cromatografia gasosa foi sendo aperfeiçoada, resultando em um melhor perfil cromatográfico dos compostos. A boa otimização do sistema demonstrava cromatogramas com

picos finos e bem separados que podia ser aplicado a amostras complexas (Araújo Filho *et al.*, 2021).

Outros destaques ao longo dos anos foram a introdução da cromatografia de deslocamento em 1943 por Arne Tiselius e Stig Melker Claesson, dois pesquisadores da Suécia. O método compreendeu a separação de compostos por adsorção no topo da coluna cromatográfica. Essa metodologia foi aperfeiçoada anos mais tarde por outro pesquisador, Partridge, que promoveu a separação de substâncias utilizando colunas em que a fase estacionária era composta por resina de troca iônica (Pacheco *et al.*, 2015).

Willian Howard Stein e Stanford Moore foram dois grandes pesquisadores do campo bioquímico que contribuíram para o avanço na separação de aminoácidos em diversas amostras, a citar a composição do leite materno. Além das várias publicações destacando as descobertas bioquímicas, Stein e Moore projetaram o primeiro cromatógrafo líquido automático em 1958, impulsionando assim empresas e pesquisadores do ramo científico (Pacheco *et al.*, 2015).

Após a década de 1960, os processos da cromatografia líquida clássica foram evoluindo devido melhorias nas tecnologias aplicadas, levando assim ao desenvolvimento da cromatografia líquida de alta pressão, assim chamada em função das grandes pressões de trabalho que utilizava para deslocar os líquidos através da coluna. Porém, o processo foi renomeado para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), termo utilizado atualmente (Pacheco *et al.*, 2015).

Com a utilização da CLAE, a instrumentação da técnica foi sendo aprimorada desde o emprego de bombas para pressurização, sistema de aquecimento e detecção além da aplicação de colunas que proporcionavam maior seletividade de compostos. Cabe ressaltar as melhorias no tempo de análise, inicialmente a separação de constituintes poderia levar semanas e conforme as tecnologias foram aplicadas ao processo, alguns dias ou horas eram suficientes para determinar os compostos em amostras (Pacheco *et al.*, 2015).

Um fator importante associado a grandes mudanças era o surgimento de colunas. Pode-se destacar que as colunas usadas continham partículas irregulares de sílica com tamanho de 40 a 50 μm , que logo evoluíram para partículas esféricas e diâmetros menores, entre 30 e 40 μm e depois 10 a 30 μm . Os processos de construção de colunas avançaram de tal forma que na década de 1990 haviam colunas com partículas de 1,5 μm . No entanto, a utilização de colunas construídas com essas partículas requeria que o sistema cromatográfico empregasse a maior pressão de trabalho suportada (4000 e 6000 psi), acelerando o desgaste de outros componentes, como da bomba, além de produzir picos finos que poderiam não ser detectados corretamente (Pacheco *et al.*, 2015).

Em meados dos anos 2000, com o intuito de otimizar os processos cromatográficos existentes surgiu a técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE). A empresa Waters® lançou comercialmente um cromatógrafo capaz de trabalhar em pressões elevadas (15000 psi), assim como detectores para picos finos, possibilitando a aplicação de colunas com partículas pequenas. No sistema CLUE, o processo de separação de compostos foi melhorado gerando tempo de análise reduzido quando comparado ao CLAE, sendo que em alguns minutos era possível executar todo processo. Dessa forma também houve menor consumo de solvente da fase móvel e consequentemente aumentou a produtividade na análise (Araújo Filho *et al.*, 2021; Pacheco *et al.*, 2015).

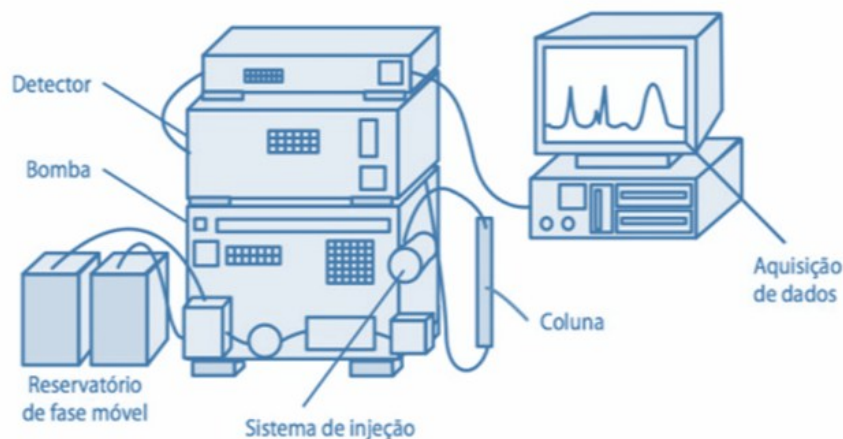
Embora a CLUE apresente benefícios notáveis, muitos laboratórios e empresas fazem uso do CLAE, o qual está disponível mundialmente. Além de ser método oficial em vários processos do FDA e de farmacopeias. Dessa forma, a revisão segue destacando detalhes da fundamentação em CLAE.

1.4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A separação de compostos por cromatografia líquida ocorre em função da interação do analito entre duas fases, a fase móvel e a fase estacionária. A fase móvel (FM) é um líquido e a fase estacionária (FE) é um sólido ou um líquido retido sobre um sólido, conhecida como coluna. A FM deve ser de elevado grau de pureza, pois além do fornecimento de dados concisos, também atua na manutenção da vida útil dos componentes do sistema, principalmente a coluna (Rosa; Gauto; Gonçalves, 2013; Araújo Filho *et al.*, 2021).

A coluna utilizada na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é fechada e composta de material que emprega micropartículas (3, 5 ou 10 μm) geralmente esféricas. Dessa forma para que ocorra a separação de compostos, é utilizado um sistema formado basicamente por uma bomba com capacidade de fazer pressão e deslocar a FM através da coluna, injetor, detector, além de reservatório para FM e sistema para aquisição dos dados. Os cromatógrafos também exibem desgaseificador em linha e forno para coluna, assim como todo sistema de injeção e obtenção de dados de forma automática (Rosa; Gauto; Gonçalves, 2013; Araújo Filho *et al.*, 2021). Na Figura 7 foram demonstradas as principais partes de um sistema CLAE.

Figura 7 - Principais componentes de um sistema CLAE



Fonte: Adaptado de Rosa; Gauto; Gonçalves (2013).

A instrumentação para CLAE foi elaborada para promover processos mais eficientes, com maior resolução na detecção e quantificação de compostos, quando comparada a cromatografia líquida clássica. A separação por CLAE pode ser aplicada para isolar e purificar um ou mais compostos de uma amostra, assim como obter informações quantitativas ou qualitativas sobre um ou mais componentes de uma mistura, como por exemplo em extratos vegetais. Na separação de compostos por CLAE, existem diferentes métodos que podem ser empregados, a depender da finalidade, bem como características da amostra a ser avaliada (Nahar; Onder; Sarker, 2019; Araújo Filho *et al.*, 2021).

De maneira geral, os modos cromatográficos mais utilizados são a cromatografia em fase reversa e em fase normal. Em fase reversa a FM é composta por uma mistura aquosa com solventes orgânicos, como acetonitrila, metanol ou etanol, sendo sempre mais polar do que a FE. A seletividade de compostos é alterada por mudanças na composição da FM, mudança na FE e variação na temperatura do forno. Na cromatografia em fase normal, a FE é mais polar que a FM. A FM é formada por uma mistura de solventes orgânicos sem a presença de água, enquanto a FE é composta por adsorventes como sílica e alumina. A seletividade da FM passa por mudanças na alteração do percentual do solvente forte ou com a troca de solvente. É importante destacar que independente do modo de operação, a amostra precisa ser sempre solúvel na fase móvel, inclusive quando a composição da FM for gradiente. A eluição por gradiente ocorre quando há variação contínua na composição do solvente da FM e a isocrática tem-se uma composição constante do solvente (Araújo Filho *et al.*, 2021).

Os detectores são responsáveis pela identificação e quantificação de compostos na amostra. O detector mais empregado em sistema de CLAE é o Ultravioleta-visível (UV-Vis

e/ou PDA), no qual a detecção ocorre devido a absorção de radiação eletromagnética pelo analito na faixa do UV-Vis estabelecida na análise. Salienta-se que para quantificar o teor de um composto, na maioria das vezes, os dados do cromatograma do analito são comparados com cromatogramas de soluções padrões, empregadas na construção de curvas de calibração. A utilização da CLAE acoplada com técnicas mais sofisticadas como a espectrometria de massas e a ressonância magnética nuclear é um sistema já empregado em diversos processos laboratoriais para elucidar estruturas mais complexas, bem como análise de elementos traços (Nahar; Onder; Sarker, 2019; Araújo Filho *et al.*, 2021).

Por ser uma técnica versátil, a CLAE é empregada em diversos ramos desde o controle de qualidade de amostras, separação e identificação de substâncias dos ramos farmacêuticos, alimentos, efluentes, pesticidas dentre outros. Em pesquisas científicas, existem numerosos estudos que fomentam o uso da técnica. Cabe destacar informações relacionadas a identificação de compostos em matrizes vegetais, como antocianinas, carotenoides, taninos e flavonoides.

Wanderley *et al.* (2022) em uma operação padrão com a técnica CLAE demonstraram o perfil fenólico das polpas de goiaba serrana e uvaia, identificando e quantificando ácidos hidroxibenzóicos e flavonóis como ácido elágico e quercetina. De forma similar, Irakli, Chatzopoulou e Ekateriniadou (2018) identificaram compostos fenólicos individuais em extratos das folhas de *Olea europaea* L. (oliveira), destacando principalmente a abundância de oleuropeína na composição.

Coelho *et al.* (2018) avaliaram os açúcares e ácidos orgânicos de forma simultânea utilizando CLAE, em amostras de vinhos e sucos de uva. A técnica permitiu um processo mais rápido na obtenção de dados das amostras, sendo considerado adequado por exibir dados consistentes com outras pesquisas. Machado *et al.* (2024) investigaram os compostos fenólicos e antocianinas individuais em diferentes partes do fruto guabijú (casca, semente e polpa) e suas frações fenólicas por meio da CLAE acoplada a espectrometria de massas. Dentre os dados, foram identificados um total 81 compostos fenólicos nas partes da fruta e suas frações fenólicas, além da quantificação de seis diferentes antocianinas nos extratos das cascas do fruto. Dessa forma, a CLAE tem capacidade de identificar diversos compostos em uma ampla gama de matrizes, sendo ainda mais promissora quando combinada com outras técnicas.

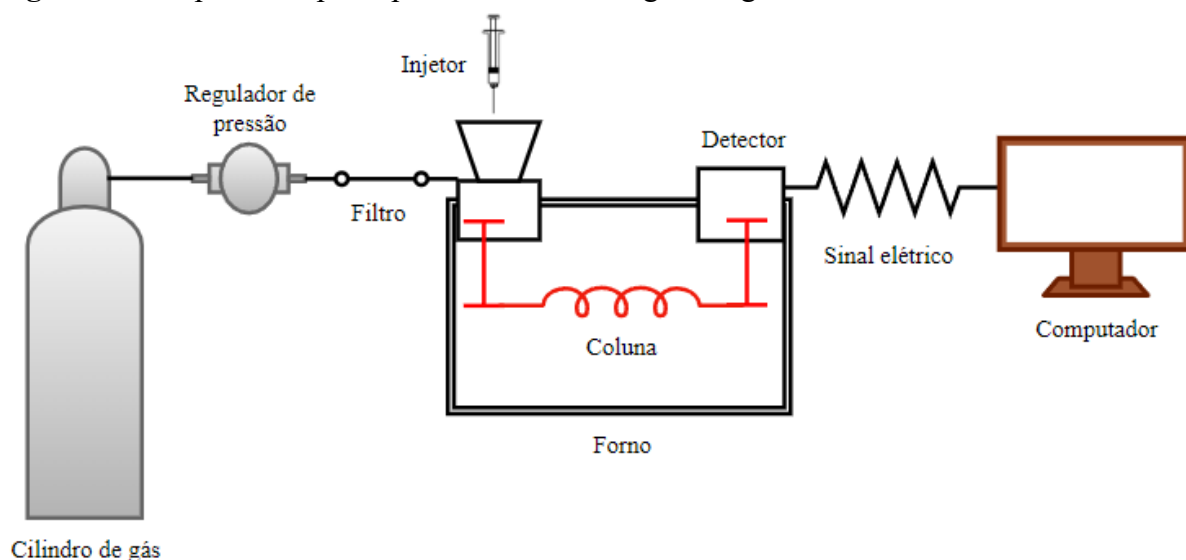
1.4.3 Cromatografia gasosa (CG)

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação de compostos em que a fase móvel é um gás. Denominado como gás de arraste, sua principal tarefa é transportar os analitos

volatilizados que foram introduzidos na coluna cromatográfica. A fase móvel é um gás inerte e dessa forma não interage quimicamente com as moléculas da amostra ou da fase estacionária. O gás utilizado deve ser de elevada pureza e compatível com sistema de detecção usado. Normalmente são usados hélio, hidrogênio e nitrogênio (Araújo Filho *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2018).

O cromatógrafo a gás é normalmente constituído por um injetor, detector e uma coluna cromatográfica, a qual interliga suas extremidades nos instrumentos mencionados. O detector gera um sinal elétrico que é enviado ao computador que contém o *software* para aquisição dos dados. A coluna é aquecida em um forno ao longo da análise e interligado ao sistema há o cilindro de gás com um regulador de pressão e filtros (Araújo Filho *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2018). Na Figura 8, demonstrou-se um esquema das principais partes de um cromatógrafo.

Figura 8- Componentes principais de um cromatógrafo a gás



Fonte: a autora (2025)

Dentre as formas de detecção mais empregadas em CG, está o acoplamento com a espectrometria de massa (EM). Essa combinação instrumental proporciona a separação cromatográfica da amostra e também um espectro de massa para cada composto da amostra. As moléculas da amostra são ionizadas e os íons produzidos são transferidos ao analisador, sendo separados de acordo com a sua massa-carga (m/z) e transferidos ao detector. O detector transmite o sinal para geração de espectros, os quais podem ser identificados através do banco de dados do sistema (Milhorne *et al.*, 2018; Araújo Filho *et al.*, 2021).

A CG-EM tem uma extensa aplicação, desde a detecção de fármacos, explosivos, pesticidas, análise ambiental, petroquímica, ciências forenses, análise de aromas e/ou voláteis em alimentos e bebidas até a identificação de amostras desconhecidas (Maji; Roy; Sinha, 2023).

Em estudos utilizando matrizes vegetais, é possível evidenciar uma diversidade cada vez maior de espécies em investigação. Bombardelli *et al.* (2019) analisaram os compostos voláteis de extratos elaborados com frutos de araçá vermelho em diferentes condições de secagem, aplicando CG-EM. Os autores constataram diferentes classes de compostos, como terpenos, ésteres e aldeídos, além do hidroximetilfurfural, um composto prejudicial à saúde humana. Nesse mesmo contexto, Sanabria *et al.* (2018) avaliaram os compostos voláteis da polpa da jabuticaba, destacando constituintes da classe dos terpenos como o limoneno, β cariofileno e ésteres como acetato de etila.

Um produto comumente avaliado por CG-EM é o óleo essencial, visto que a maioria dos compostos químicos podem ser identificados. Jesus *et al.* (2021) aplicaram a técnica na determinação dos componentes químicos em óleo essencial obtido das folhas do guabijuzeiro, sendo possível identificar 98,81% dos compostos detectados. De forma similar, Barbosa *et al.* (2020) avaliaram compostos presentes em óleo essencial da casca de *Myrciaria floribunda* (camboim), constatando um total de 26 compostos (96,86%). Em óleo essencial de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) Harkat-Madouri *et al.* (2015) também identificaram 26 diferentes compostos, totalizando 98,82% da composição. Assim, a CG-EM é uma ferramenta versátil na aquisição de informações de diferentes compostos.

1.5 CONCLUSÃO

Diante do exposto, constatou-se que a espécie *Myrcianthes pungens*, contém elevado potencial como fonte de compostos bioativos, tanto por meio da obtenção dos extratos vegetais, como de seu óleo essencial. Os compostos presentes em diferentes frações da planta indicaram efeitos biológicos como a atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória, que podem ser de interesse em diversas áreas, incluindo a indústria de alimentos. Dessa forma, para ampliar a capacidade de aplicação da espécie, se faz necessário conhecer a composição física e química de seus componentes para assim otimizar condições que visem melhorar sua forma de aplicação em produtos alimentícios. Nesse contexto, estudos *in vitro* com aplicação de métodos convencionais podem se mostrar adequados na obtenção de resultados e assim contribuir para futuramente aplicar processos de maior complexidade.

CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DOS FRUTOS, FOLHAS E SEMENTES DE *Myrcianthes pungens*

RESUMO: A espécie *Myrcianthes pungens* é nativa do Brasil, com predominância em estados da região Sul do país. Suas principais características compreendem árvores com o tronco de casca lisa, folhas com ápice espinhosa e flores amareladas. Os frutos contêm de uma a duas sementes e quando maduros apresentam coloração da casca roxa escura, polpa amarelada, doce e succulenta. São comestíveis e apresentam alto potencial para industrialização. Visando fornecer dados sobre a composição físico química, o objetivo do capítulo foi caracterizar os frutos, sementes e folhas *in natura* da espécie. Dessa forma, avaliou-se as características biométricas, rendimento de polpa, conteúdo de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos, além de parâmetros cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°), teor de açúcares, carotenoides, ácidos orgânicos e minerais. Os frutos avaliados continham diâmetro médio de 21,96 mm e demonstraram maior percentual de polpa 38,69%. As folhas indicaram conteúdo superior de cinzas e proteínas (5,57 e 4,82 g 100 g⁻¹) enquanto nas sementes observou-se maior teor de carboidratos (48,76 g 100 g⁻¹). Os dados colorimétricos indicaram frutos com tonalidades escuras, característico da espécie. Nas folhas constatou-se menor conteúdo de frutose e glicose (0,93; 1,11 g 100 g⁻¹, respectivamente) em relação aos frutos e sementes, e não houve presença de sacarose e ácidos orgânicos. As sementes apresentaram teor maior de ácido succínico (87,01 mg 100 g⁻¹) e maior soma dos minerais cálcio, potássio e sódio. As folhas resultaram na maior concentração de carotenoides (562,15 µg g⁻¹) sugerindo ser uma nova fonte desses compostos. A investigação das folhas, frutos e sementes do guabijuzeiro, forneceu dados sobre a composição físico química que podem nortear futuras pesquisas científicas, promovendo o interesse e valorização da espécie.

Palavras-chave: Guabijú. Colorimetria. Açúcares. Carotenoides. Minerais.

2.1 INTRODUÇÃO

Espécies nativas com potencial nutricional e funcional tem despertado crescente interesse, visto que a exploração de novas fontes pode resultar em produtos com maior valor agregado para diferentes ramos industriais. A família *Myrtaceae*, compreende inúmeras espécies de plantas, dentre as quais tem-se a *Myrcianthes pungens*, conhecida por guabijú. A espécie é uma árvore nativa do Brasil, com ocorrência nos estados de São Paulo até o Rio Grande do Sul, podendo ser encontrada em todas as formações florestais, exceto a restinga litorânea e floresta Atlântica, assim como em países vizinhos como Argentina, Uruguai e Paraguai (Franco *et al.*, 2019; Souza *et al.*, 2020; Raphaelli *et al.*, 2023).

As características principais da espécie compreendem tronco com casca lisa, folhas com coloração verde e ápice espinhosa, flores amareladas e melíferas, além de produzir frutos pequenos e comestíveis, com diâmetro de até 2 cm, que contém de uma a duas sementes. A

espécie não apresenta exploração comercial, porém existe potencial para industrialização (Veit; Schwarz; Guerra, 2019; Raphaelli *et al.*, 2023).

Dados sobre a composição físico química dos frutos e sementes já foram documentados, enfatizando-se nos frutos teor de umidade aproximado de 80%, baixo conteúdo de acidez, além da presença de açúcares, carotenoides e minerais, enquanto as sementes podem ser consideradas boas fontes de carboidratos, assim como de minerais. Além do mais, efeitos antioxidantes e antimicrobianos também foram avaliados na espécie (Seraglio *et al.*, 2018; Bombana *et al.*, 2021). No entanto, informações sobre as folhas do guabijuzeiro são escassas.

A investigação das características físico químicas da espécie pode fornecer dados relevantes sobre seu valor nutricional, além de indicar possibilidades de aproveitamento tecnológico integral de suas diferentes partes. Diante disso, o objetivo deste capítulo foi analisar as características físico químicas das folhas, frutos e sementes de guabijú.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Materiais

As folhas do guabijuzeiro foram coletadas no período do outono (mês de abril), enquanto os frutos foram colhidos na estação do verão (janeiro), durante o período de maturação. Ambos materiais vegetais foram obtidos em uma coleta e de uma árvore, em diferentes galhos da planta e de uma única região da cidade de Francisco Beltrão (latitude: 26° 04' 52" S; longitude: 53° 03' 18" W; altitude: 570 m), Paraná (Brasil). As amostras adquiridas foram selecionadas quanto a coloração roxa escura dos frutos e ausência de danos físicos visíveis, tanto para os frutos como para as folhas. Na sequência os materiais foram higienizados em água corrente, embalados em sacos plásticos e congelados em freezer a -18 °C (Gelopar®, GPC-57, Curitiba, PR, Brasil) para posterior análises. A espécie foi identificada no herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (Ponta Grossa, PR, Brasil) possuindo exsicata com o código 22958 e o fruto se apresenta tombado na carpoteca.

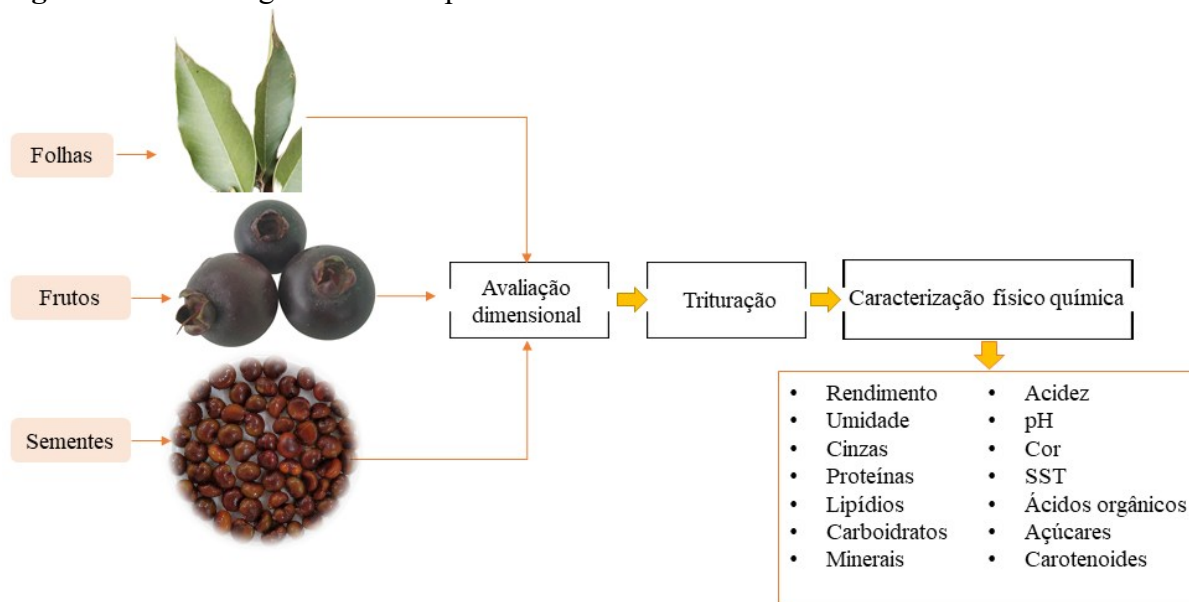
Os reagentes utilizados nas análises físico químicas desse capítulo foram hexano e éter de petróleo adquiridos da Êxodo® (Sumaré, SP, Brasil), a mistura catalítica de sulfato de cobre e sulfato de potássio ($\text{CuSO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4$), ácido sulfúrico (H_2SO_4 , Biotec®, Pinhais, PR, Brasil), hidróxido de sódio (NaOH), ácido bórico (H_3BO_3) ácido clorídrico (HCl) e acetona ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$; Reatec®, Colombo, PR, Brasil). Todos possuíam grau analítico. Na determinação dos ácidos orgânicos foram usados padrões de grau HPLC (*High-performance liquid chromatography*):

ácido L-ascórbico, cítrico, succínico e L-(-) málico, além do ácido sulfúrico, ambos adquiridos da *Sigma-Aldrich*® (EUA).

2.2.2 Métodos

Para utilização dos materiais vegetais, os frutos foram cortados manualmente para remoção das sementes e triturados em liquidificador (Philips Walita, RI 1764, 350 W), assim como as folhas. A Figura 9 ilustra as etapas do processo desenvolvidas nesse capítulo.

Figura 9 - Resumo gráfico das etapas desenvolvidas



Fonte: A autora (2025).

2.2.3 Características físicas da espécie

As folhas, frutos e sementes do guabijuzeiro tiveram suas dimensões determinadas por meio da medida do tamanho. Foram selecionados aleatoriamente 25 folhas, frutos e sementes da espécie de uma coleta de 2 kg aproximadamente. Com auxílio de um paquímetro digital (1137-150, *Insize*, SP, Brasil) mediu-se a altura e largura das folhas, diâmetro horizontal e altura dos frutos, assim como a espessura e circunferência das sementes. O peso das amostras foi determinado através da média da pesagem das amostras (*Shimadzu*®, BL3200H; d=0,01g). O rendimento do fruto foi determinado mediante a pesagem de suas partes separadamente (casca, polpa e semente) cujo valor foi dividido pela massa total do fruto inteiro e expresso em porcentagem (base úmida).

2.2.4 Determinação da Umidade a 105 °C

A umidade das folhas, frutos e sementes do guabijú foi determinada por secagem em estufa a 105 °C até peso constante (Quimis®, Q317M, Diadema, SP, Brasil), segundo método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz – IAL (2008). Foram pesados 5,0 g de cada amostra e dispostas em cadinhos previamente secos e pesados, que foram submetidos a secagem durante 6 h. Após, as amostras foram retiradas da estufa em intervalos de 1 h e pesadas até obter peso constante. Os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de amostra.

2.2.5 Determinação de Cinzas

As cinzas foram determinadas conforme o IAL (2008). Cinco (5,0) g de cada amostra (folhas, frutos e sementes) foram pesados em cadinho previamente calcinado e resfriado em dessecador até temperatura ambiente. Na sequência, as amostras foram incineradas em mufla (Jung®, Modelo 0910, Blumenau, SC, Brasil) a 550 °C até as cinzas ficarem brancas, por aproximadamente 6 h. Após, os cadinhos foram resfriados em dessecador e as cinzas obtidas, pesadas. Os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de amostra.

2.2.6 Determinação de Lipídios Totais

Os lipídios totais foram analisados mediante extração em aparelho Soxhlet (Tecnal®, Sebelin TE-188, Piracicaba, SP, Brasil) (IAL, 2008). Cinco (5,0) g das amostras (folhas, frutos e sementes) foram pesados em papel filtro qualitativo (0,16mm, Unifil®, Calibre Scientific, Alvorada, RS, Brasil), os quais foram devidamente fechados e transferidos para o conjunto de extração Soxhlet. O extrator foi acoplado a um balão de fundo chato, previamente seco em estufa a 105 °C, resfriado em dessecador e pesado. O balão continha o solvente hexano em quantidade suficiente para cobrir o papel filtro com a amostra durante o período de extração de aproximadamente 4h. Transcorrido esse tempo, os balões com os resíduos extraídos foram dispostos em estufa a 105 °C até peso constante. Na sequência, os balões foram resfriados em dessecador e pesados. A diferença entre pesos (balão ao final do procedimento e inicial) foi utilizada para cálculo da quantidade de lipídios totais, expresso em g 100 g⁻¹ de amostra.

2.2.7 Determinação de Proteína Bruta

A determinação da proteína bruta ocorreu pelo método de Kjeldahl, conforme metodologia IAL (2008). Pesou-se 1,0 g da amostra (folhas, frutos e sementes) em tubos de Kjeldahl, ao qual foi adicionado 6 g da mistura catalítica e 6 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após, os tubos foram colocados no bloco digestor em capela e aquecidos até atingir 350 °C pelo tempo necessário para que o material fosse digerido (tornando-se uma solução verde escura).

Após o resfriamento dos tubos, os mesmos foram acoplados ao conjunto de destilação do nitrogênio (Marconi MA-036, Piracicaba, SP, Brasil), no qual adicionou-se hidróxido de sódio 50% até a viragem da cor para marrom, indicando assim sua neutralização. Na sequência as amostras foram destiladas sob aquecimento para frasco *Erlenmeyer* contendo 10 mL de ácido bórico 2% e indicador misto até a solução tornar-se verde claro. A solução obtida foi titulada com ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ até obter-se a coloração rosa. A conversão do teor de nitrogênio em proteína foi feita utilizando o fator de conversão 6,25 conforme metodologia e os resultados expressos em g 100 g⁻¹ de amostra.

2.2.8 Determinação de Carboidratos

O conteúdo de carboidratos totais + fibras das amostras de folhas, frutos e sementes *in natura* de guabijú foi determinado por diferença (100 – (lipídeos totais + proteína bruta + cinzas + umidade)). O resultado foi expresso em g 100 g⁻¹ de amostra.

2.2.9 Determinação de Acidez Titulável Por Volumetria Potenciométrica

A acidez das amostras de folhas, frutos e sementes de guabijú *in natura* foi determinada por volumetria potenciométrica, que é indicada em casos de soluções coloridas (IAL, 2008). Foram pesados 10,0 g de amostra em béquer de 250 mL e acrescentado 100 mL de água deionizada, agitando-a de forma moderada. Após, com uso de pHmetro (Tecnal®, Tec-3 MP, Piracicaba, SP, Brasil) devidamente calibrado, o eletrodo foi mergulhado na solução e a amostra foi titulada (*Witeg, Titrex, Germany*) com hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ até a faixa de pH 8,2-8,4. O resultado foi expresso em g de ácido cítrico 100 g⁻¹ de amostra.

2.2.10 Determinação do pH

O pH foi mensurado segundo a metodologia descrita pelo IAL (IAL, 2008) onde 10,0 g de cada amostra (folhas, frutos e sementes *in natura*) foram homogeneizadas em 100 mL de água destilada, sendo agitado moderadamente. O pHmetro (Tecnal, Tec -3 MP, Piracicaba, SP, Brasil), foi calibrado com as soluções tampão 4 e 7 e na sequência efetuou-se a leitura das amostras e os valores registrados.

2.2.11 Determinação de Sólidos Solúveis Totais

Os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados com uso do refratômetro de Abbé (Megabrix, AR 1000S, Brasil). Foram transferidas ao prisma do equipamento aproximadamente duas gotas da polpa do fruto guabijú e identificados os valores na escala. O resultado foi corrigido a 20 °C e expresso em °Brix.

2.2.12 Determinação de Carotenoides

Os carotenoides foram determinados de acordo com Rodriguez-Amaya (2001). Realizou-se uma extração com 30 mL de acetona e 0,5 g de amostra (folhas e frutos de guabijú). O extrato foi incubado e permaneceu sob agitação por uma hora a 30 °C (Marconi, incubadora MA832, Piracicaba, SP, Brasil). Após, a amostra foi lavada com acetona e filtrada a vácuo (Biomec Brazil Pump, Eco 740, São Paulo, Brasil) com filtro qualitativo (0,16mm, Unifil®, Calibre Scientific, Alvorada, RS, Brasil). Em funil de separação, foi adicionado 25 mL de éter de petróleo com pequenas quantidades do extrato de acetona seguido de água. A fase inferior foi desprezada e a amostra foi lavada com éter de petróleo para remoção total da acetona. A solução obtida foi colocada em balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume final completado com éter de petróleo. Do extrato obtido foram retiradas alíquotas para leitura da absorbância em espectrofotômetro (Mini UV 1240, Shimadzu®) em comprimento de onda de 450 nm (β -caroteno) e 470 nm (licopeno). O teor de carotenoides foi calculado conforme a Equação 1.

$$(\mu\text{g g}^{-1}) = (((\text{ABS} * V * 10^6) / (\epsilon * L * 100))) / m \quad (1)$$

Onde:

ABS = Absorbância no comprimento de onda específico;

V = volume final da solução (mL);

ϵ = Coeficiente de extinção (β -caroteno = 3450; Licopeno = 2592);

m = Massa de amostra (g);

L = caminho óptico (1 cm).

2.2.13 Determinação da Cor

A análise da cor foi realizada em colorímetro (HunterLab®, MiniScan EZ 4500L, Reston, VA, USA) onde as amostras das folhas, frutos e sementes do guabijuzeiro foram dispostas em placas de vidro para leitura. As amostras dos frutos foram analisadas na parte interna (polpa) e na parte externa (casca). Os parâmetros medidos foram: L^* , a^* e b^* , onde L^* indica a luminosidade (0 = preto e 100 = branco) e a^* e b^* representam as coordenadas de cromaticidade (+ a^* = vermelho, - a^* = verde; + b^* = amarelo, - b^* = azul). Os valores de C^* (chroma = $\sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$) e h° (ângulo hue = $\tan^{-1} b^*/a^*$) foram calculados.

2.2.14 Determinação dos Ácidos Orgânicos e Açúcares Individuais por CLAE

Para análise dos ácidos orgânicos, adaptou-se a metodologia de Santos *et al.*, (2018b). Foram utilizados o fruto guabijú e semente liofilizada (T °C: -40; vácuo: 720 μ Hg; Terroni®, LS3000, São Carlos, SP, Brasil) e a folha seca (T °C: 40 /18h; Estufa de circulação de ar, TE-394/2, Tecnal®, Piracicaba, SP, Brasil). Os extratos foram elaborados com água deionizada (1:10; m/v) sendo ambos incubados a 30 °C sob agitação constante durante 30 min (Marconi, incubadora MA832, Piracicaba, SP, Brasil). Na sequência, os extratos foram filtrados em papel filtro qualitativo (0,16mm, Unifil®, Calibre Scientific, Alvorada, RS, Brasil) e armazenados a -18 °C (Gelopar®, GPC-57, Curitiba, PR Brasil). Os ácidos orgânicos (L-ascórbico, cítrico, succínico e L-(-) málico) foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Shimadzu®, LC-2040C 3D Plus, Japão). Os extratos elaborados foram filtrados em filtro de seringa (0,22 μ m de nylon) antes das análises. O cromatógrafo era equipado por bomba quaternária, degaseificador e autoinjeter acoplado a um detector de arranjo de fotodiodos (PDA LC-2030/2040). A separação dos compostos foi realizada em coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm) a 30 °C. A fase móvel era constituída por uma solução aquosa de ácido sulfúrico 0,005M sob fluxo de 0,5 mL min⁻¹ em sistema de eluição isocrático. A identificação dos ácidos orgânicos foi realizada comparando o tempo de retenção e espectros com os de padrões. As corridas foram monitoradas a 210 nm. A quantificação foi realizada através de curvas de

calibração dos padrões (ac. ascórbico: $y = 34734101,356x + 304608$; ac. cítrico: $y = 1E^{07}x + 104211$; ac. málico: $y = 1E^{07}x - 26273$ e ac. succínico: $y = 6E^{06}x + 43859$).

Os açúcares individuais glicose, frutose e sacarose foram determinados nas mesmas condições dos ácidos orgânicos, sendo para essa análise utilizado o sistema CLAE (bomba quaternária, desgaseificador e autoinjeter) acoplado a um detector de índice de refração *Waters®* RI 2414 (*Milford* MA, EUA). A identificação dos açúcares nas amostras ocorreu por comparação dos tempos de retenção dos padrões de referência, sendo quantificado com base nas curvas de calibração (sacarose: $y = 7,71E^{06}x + 83246$; glicose: $y = 9,35E^{06}x - 37747$; frutose: $y = 9,14E^{06}x + -75598$).

2.2.15 Determinação de Minerais

A composição de minerais foi realizada a partir da decomposição úmida das amostras dos frutos, folhas e sementes de guabijú em forno micro-ondas (*Multivawe* GO®, Anton Par, Graz, Áustria), utilizando-se 4 mL de ácido nítrico 65% (v v⁻¹) (HNO₃) e 1 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v v⁻¹) (H₂O₂) (Gonzaléz; Herrador, 2006). As amostras digeridas foram avolumadas para 15 mL utilizando-se água ultrapura e os minerais cálcio, potássio e sódio foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama (AA 240-FS, Varian). O elemento Ca foi determinado por absorção, enquanto os elementos Na e K por emissão atômica. Foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco com corrente, acetileno como combustível e ar comprimido como oxidante. Para cada mineral foi construída uma curva padrão com soluções de referencia a partir de uma solução mista de 100 mg L⁻¹. Os resultados foram expressos em mg kg⁻¹ de amostra. Esta análise foi realizada pela Central Analítica Multiusuário de Medianeira (CEANMED) da UTFPR, campus Medianeira.

2.2.16 Análise Estatística

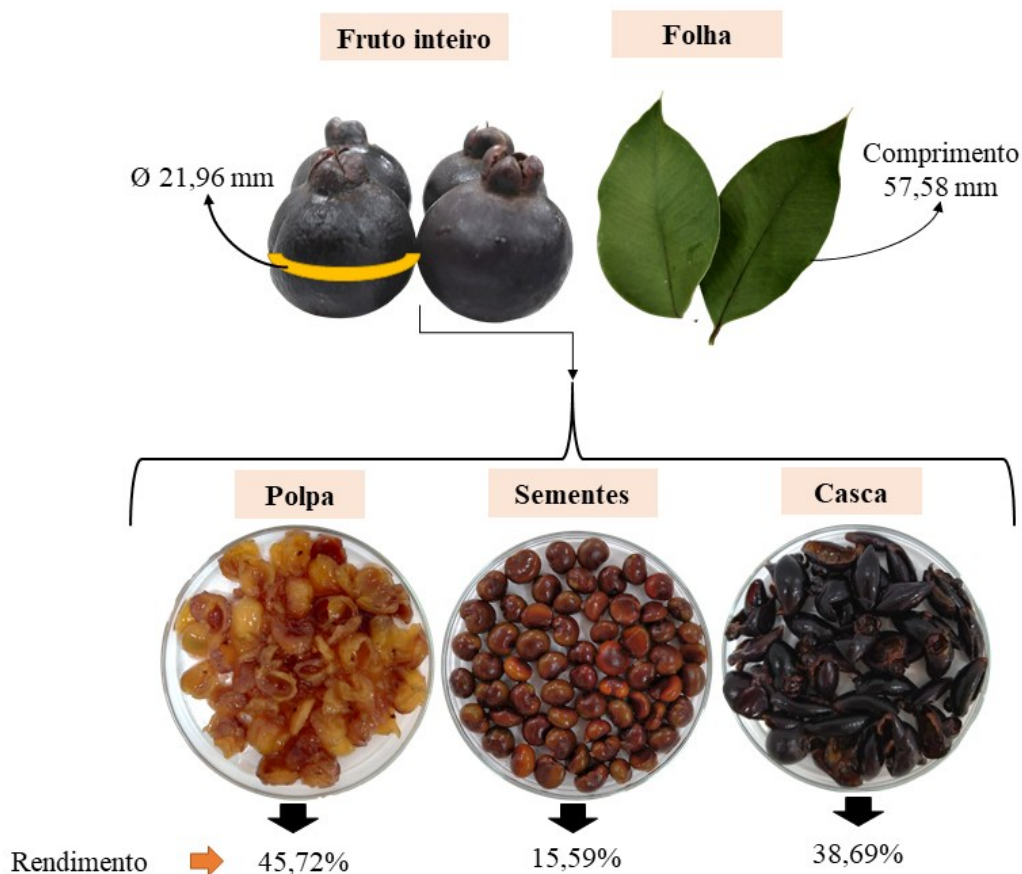
Os dados obtidos nas análises físico químicas foram expressos pela média $\pm$ desvio padrão e avaliados estatisticamente por meio de ANOVA e Teste de Fisher LSD (*Fisher Least Significance Difference*), considerando as amostras como fonte de variação. Foi utilizado o critério estatístico ao nível de significância de 5% com auxílio do *software Statistica* versão 8.0 (*Statsoft* Inc., *Tulsa*, OK, USA).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Composição físico-química das folhas, frutos e sementes de guabijuzeiro

Os frutos de guabijú avaliados apresentaram diâmetro médio de $21,96 \pm 0,94$ mm, altura de $22,27 \pm 0,73$ mm, peso de $6,03 \pm 0,69$ g e possuíam de uma a duas sementes. As folhas indicaram comprimento de $57,58 \pm 4,04$ mm, largura de $27,42 \pm 1,89$ mm e peso de $0,31 \pm 0,05$ g. Nas sementes do fruto, observou-se circunferência média de $11,56 \pm 0,55$ mm, espessura de $7,80 \pm 0,86$ mm e peso de $0,91 \pm 0,08$ g. As características visuais do fruto, semente e das folhas foram demonstradas na Figura 10.

Figura 10 - Características visuais dos frutos, sementes e folhas do guabijuzeiro



Fonte: A autora (2025).

Dentre os dados biométricos reportados para a espécie, Griebeler *et al.* (2019) constatarem 17,38 mm de comprimento e 16,05 mm de largura em frutos de guabijú, enquanto nas sementes as médias dimensionais foram de 8,10; 9,56 e 6,49 mm em comprimento, largura e espessura, respectivamente. Assumpção, Dalmaso e Bragança (2017) documentaram

diâmetro médio de 19,06 mm e peso do fruto inteiro de 4,32 g, assim como medidas em comprimento, largura e espessura de 10,48; 8,84 e 9,37 mm, além do peso de 0,34 g para as sementes do guabijú. Rodrigues *et al.* (2021) destacaram para as folhas do guabijuzeiro largura média de 2,61 cm e comprimento de 6,16 cm, similar as dimensões obtidas nas folhas avaliadas.

De modo geral, os frutos e sementes analisados demonstraram características biométricas superiores a dados já catalogados. Essas diferenças nas dimensões entre frutos de uma mesma espécie podem ocorrer devido fatores ambientais como a incidência de chuvas durante o período de desenvolvimento dos frutos e características genéticas como a idade das árvores (Griebeler *et al.*, 2019).

Nos dados sobre rendimento das partes dos frutos analisados, evidenciou-se que 45,72% era representado por polpa, 38,69% de casca e 15,59% de semente. Comportamento similar foi reportado por Assumpção, Dalmaso e Bragança (2017) para o guabijú, indicando percentual para polpa de 62,96%, 29,17% de casca e 7,87% para semente.

Na Tabela 3 foram dispostos os dados referentes as características físico químicas das folhas, frutos e sementes do *Myrcianthes pungens*.

Tabela 3 - Composição físico-química de *Myrcianthes pungens*

Parâmetros*	Amostras			
	Fruto	Folha	Semente	
Umidade (g 100 g ⁻¹)	78,44 ^a ± 0,40	42,91 ^c ± 0,28	47,05 ^b ± 0,11	
Cinzas (g 100 g ⁻¹)	0,69 ^c ± 0,03	5,57 ^a ± 0,10	1,12 ^b ± 0,05	
Proteína bruta (g 100 g ⁻¹)	2,17 ^b ± 0,58	4,82 ^a ± 0,47	2,03 ^b ± 0,00	
Lípidios totais (g 100 g ⁻¹)	0,31 ^c ± 0,02	1,66 ^a ± 0,05	1,30 ^b ± 0,03	
CHO (g 100 g ⁻¹)	18,38 ^c ± 0,27	45,02 ^b ± 1,34	48,76 ^a ± 0,47	
ATT (g ac. cítrico 100 g ⁻¹)	0,33 ^b ± 0,01	0,44 ^b ± 0,06	1,73 ^a ± 0,10	
pH	4,62 ^c ± 0,02	5,59 ^a ± 0,01	5,04 ^b ± 0,02	
SST (° Brix)	17,34 ± 0,62	-	-	
Cor				
	Polpa	Casca		
L*	15,47 ^b ± 0,55	7,38 ^d ± 0,40	33,77 ^a ± 0,17	10,53 ^c ± 0,24
a*	3,41 ^a ± 0,18	-0,31 ^c ± 0,01	-4,78 ^d ± 0,14	2,55 ^b ± 0,01
b*	9,41 ^b ± 0,36	1,90 ^d ± 0,03	11,42 ^a ± 0,29	4,97 ^c ± 0,36
Croma (C*)	10,01 ^b ± 0,28	1,93 ^d ± 0,03	12,38 ^a ± 0,92	5,59 ^c ± 0,31
Ângulo Hue (h°)	70,06 ^c ± 1,64	99,37 ^b ± 0,22	112,72 ^a ± 0,60	62,77 ^d ± 1,73

Fonte: a autora (2025).

Nota: ATT: Acidez titulável total; CHO: carboidratos; SST: Sólidos solúveis totais; *Dados expressos em base úmida; Médias ± desvios padrão das amostras em triplicata; ^{a, b, c, d} letras sobrescritas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Fisher (p < 0,05).

Em todas as amostras analisadas (fruto, folha e semente) foram constatadas diferenças significativas para os parâmetros de umidade, cinzas, lipídios e carboidratos. Nos dados resultantes para as proteínas observou-se que entre o fruto e semente não houveram diferenças nos teores identificados ($p > 0,05$).

Para o teor de umidade, Seraglio *et al.* (2018), Detoni *et al.* (2021) e Bombana *et al.* (2021) reportaram dados de 83,21; 77,11 e 77,49 g 100 g⁻¹ para guabijú e 45,70% em sementes, semelhante ao identificado nas amostras analisadas. Em frutos da mesma família (*Myrtaceae*), como a *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Eugenia pyriformis* Cambess (uvaia), *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba) e *Syzygium cumini* (jambolão) foram descritos teores de umidade entre 84,56 e 93,29 g 100 g⁻¹ (peso fresco), sendo superiores ao fruto analisado (Paiva *et al.*, 2023; Sganzerla *et al.*, 2018; Seraglio *et al.*, 2018). As folhas do guabijuzeiro demonstraram menor teor de umidade em relação as folhas de *Ilex paraguariensis* (erva mate) e *Spondias tuberosa* Arruda Câmara (umbuzeiro) nas quais foram documentados teores de 60,62%-65,27% e 75,02%, respectivamente (Frizon; Nisgoski, 2020; Ferreira; Campos; Medeiros, 2020). O teor de umidade nas folhas pode ser afetado pela disponibilidade de água no solo onde as plantas foram cultivadas. Considerando que o solo abriga a água e os nutrientes para o crescimento das plantas, a escassez de água pode causar alterações fisiológicas na planta e influenciar no conteúdo de água das folhas.

Entre os aspectos físico químicos avaliados (cinzas, proteínas e lipídios) destacou-se que as folhas do guabijuzeiro exibiram teores significativamente maiores em comparação ao fruto e semente, com exceção ao conteúdo de carboidratos totais, que foi maior nas sementes (Tabela 3). Os frutos de guabijú exibiram uma menor concentração de lipídios em relação a polpas de *Psidium guineense* Swartz (araçá da praia) e *Eugenia dysenterica* DC. (cagaita) avaliados por Schiassi *et al.* (2018) com dados de 1,05% e 0,49%. Em contrapartida, o fruto guabijú analisado demonstrou maior conteúdo sob os parâmetros de proteínas, cinzas e carboidratos totais (Tabela 3) em comparação aos frutos de araçá da praia (0,42%; 0,43% e 6,87%) e cagaita (0,77%; 0,30% e 8,09%).

Nas folhas do guabijuzeiro, constataram-se teores mais elevados de cinzas (5,57 g 100 g⁻¹), proteínas (4,82 g 100 g⁻¹) e lipídios (1,66 g 100 g⁻¹) em comparação aos valores obtidos por Ferreira, Campos e Medeiros (2020) e Sarker, Oba e Daramy (2020) em folhas de umbuzeiro (proteína: 1,75; cinzas: 3,46 g 100 g⁻¹) e *Amaranthus lividus* (caruru do brejo) com teores de 3,58; 3,46 e 0,29 g 100 g⁻¹ (proteína, cinzas e lipídios, respectivamente). As sementes de guabijú, foram recentemente avaliadas por Bombana *et al.* (2021), sendo possível verificar dados similares no conteúdo de cinzas, proteínas e carboidratos (1,14%; 2,38% e 44,97%),

embora o teor de lipídios identificado no estudo atual tenha sido inferior ao encontrado pelo autor, de 2,50%. O resíduo de cinzas estima o conteúdo mineral total em alimentos (Miller, 2017), logo infere-se que há um teor maior de minerais nas folhas do guabijuzeiro.

O parâmetro de acidez titulável total (ATT) indicou o maior índice significativo para as sementes, enquanto os frutos e folhas não expressaram diferenças entre si. Entretanto, todos valores de pH foram distintos entre as amostras e o menor resultado significativo foi constatado para o fruto ($p < 0,05$). Nos frutos o valor de acidez obtido ($0,33 \text{ g ácido cítrico } 100 \text{ g}^{-1}$) foi maior em comparação aos frutos de guabijú avaliados por Seraglio *et al.* (2018) e Detoni *et al.* (2021) cujos dados foram 0,02; 0,16 e $0,22 \text{ g ácido cítrico } 100 \text{ g}^{-1}$. Em polpas de *Psidium guajava* (goiaba) e pitanga vermelha, Paiva *et al.* (2023) destacaram índices de acidez de 1,29 e $3,42 \text{ g ácido cítrico } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente. E em frutos de *Myrciaria dubia* (camu – camu) maduros foram detectados valores de $2,4 \text{ g ácido cítrico } 100 \text{ g}^{-1}$ (Souza; Silva; Aguiar, 2020). A acidez determinada nas folhas do guabijuzeiro ($0,44 \text{ g ácido cítrico } 100 \text{ g}^{-1}$), indicou menor teor em relação as folhas de *Moringa oleífera* (acácia-branca), com dados de $0,57 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e conteúdo superior as folhas de *Pereskia Aculeata* Mill (ora-pro-nóbis), com acidez de $0,043 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ (Câmara *et al.*, 2019; Moro *et al.*, 2021). A acidez obtida na semente de guabijú ($1,73 \text{ g ácido cítrico } 100 \text{ g}^{-1}$) foi superior as sementes do camu-camu analisado por Grigio *et al.* (2017) que indicou ATT de $4,33 \text{ mg ácido cítrico } 100 \text{ g}^{-1}$. As alterações na acidez em frutos de mesma espécie podem ser atribuídas a influência de fatores como os métodos de cultivo, tipo de solo, disponibilidade de água, estágio de maturação e outros elementos que influenciam o desenvolvimento das plantas (Paiva *et al.*, 2023).

Nos dados de pH observou-se que o resultado obtido no fruto (4,62) foi similar aos frutos de guabijú avaliados por Detoni *et al.* (2021) com valores de 4,63 e 4,69 e ligeiramente menor ao pH de 5,32 obtido por Seraglio *et al.* (2018). Em outras espécies, identificaram-se dados de pH 3,24 e 3,39 em genótipos de *Eugenia involucrata* (cereja do Rio Grande), pH 4,11 em polpas de goiaba e 3,18 em pitangas vermelhas (Mayer *et al.*, 2022; Paiva *et al.*, 2023). As folhas de guabijuzeiro exibiram maior valor de pH (5,59) entre amostras avaliadas e dados similares as folhas de acácia-branca e ora-pro-nóbis, com dados de 5,70 e 5,03, respectivamente (Câmara *et al.*, 2019; Moro *et al.*, 2021). O pH da semente de guabijú (5,04) foi similar ao obtido por Bombana *et al.* (2021) com dados de 4,96 e relativamente maior ao valor registrado na semente de camu-camu de 3,96 (Grigio *et al.*, 2017). Pequenas alterações no pH podem ser associadas a presença de ácidos orgânicos e sais minerais, os quais apresentam efeito tamponante. Em algumas espécies, o poder tamponante pode causar também mudanças na acidez e não interferir significativamente no pH (Aroucha *et al.*, 2010).

Na determinação dos sólidos solúveis totais (SST), o resultado obtido para o fruto de guabijú (17,34 °Brix) foi superior ao guabijú investigado por Dalla Nora *et al.* (2014), Seraglio *et al.* (2018) e Detoni *et al.* (2021) com 15,00; 14,00 e 17,03 °Brix, respectivamente. Índices de SST foram evidenciados em espécies de grumixama amarela (15,63°Brix), araçá (12 °Brix) e jabuticaba (16 °Brix) apresentando-se inferiores aos dados registrados para o guabijú avaliado (Mendonça; Vieites, 2019; Schiassi *et al.*, 2018; Almeida *et al.*, 2020). O SST é um parâmetro utilizado para verificar a maturidade de frutos ou vegetais na colheita, indicando a quantidade de açúcares presentes na amostra. Quanto mais elevado °Brix, maior o grau de maturação da fruta, o que sugere também alta doçura. Esse parâmetro é influenciado conforme a variedade da cultivar, condições do solo, processamento e fatores climáticos (Castro *et al.*, 2015; Prasad; Jacob; Siddiqui, 2018).

Na análise de cor foram observadas diferenças significativas em todos os parâmetros (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) para todas as amostras avaliadas (Tabela 3). A escala de L^* varia do preto (0) ao branco (100), indicando que cores mais escuras são representadas por valores menores e o oposto indica cores mais claras (Ferreira; Spricigo, 2017). Dessa forma, constatou-se menor valor de L^* para a casca do fruto (7,38) e maior resultado na amostra de folha (33,17). Dados superiores ao encontrado na casca do guabijú foram reportados por Detoni *et al.* (2021) na casca dos frutos (L^* : 21,11-21,65), semelhante ao reportado por Souza, Silva e Aguiar (2020) na casca do camu-camu com L^* de 26,77, refletindo assim em tons mais escuros para espécie do presente estudo. Em folhas de erva mate frescas, foram evidenciados valores de L^* semelhantes, de 30,97 e 32,94, enquanto folhas de ora-pro-nóbis exibiram valor de L^* relativamente maior, de 44,22, sugerindo coloração mais claras às folhas do guabijuzeiro (Frizon; Nisgoski, 2020; Moro *et al.*, 2021).

A coordenada a^* expressou dados negativos para a folha e casca do guabijú, (Tabela 3) destacando assim predominância da cor verde. Já a semente e polpa de guabijú exibiram dados com tendência a cor vermelha (2,55; 3,41; respectivamente). No parâmetro b^* constatou-se maior proximidade com a cor amarela, visto que os dados obtidos para todas as amostras foram positivos. Esse mesmo comportamento foi observado por Frizon e Nisgoski (2020) em folhas de erva mate, onde destacaram-se valores negativos de a^* (-8,50 e -4,48) e positivos para b^* com dados de 7,92 e 15,07. Para casca e polpa de guabijú, Detoni *et al.* (2021) mencionaram dados similares, indicando valores negativos para coordenada a^* : -0,82; -1,07 (casca) e positivos para b^* : 25,85; 14,66 (polpa). Nesse mesmo contexto, Bombana *et al.* (2021) constatarem tons próximos ao verde para a casca (a^* : -1,91) e avermelhados para a semente e polpa do fruto guabijú (a^* : 7,99 e 8,25). A tendência a tons amarelados também foi mencionada

pelo autor em todas as amostras (b^* : 3,04; 4,86 e 1,00 para casca, semente e polpa), corroborando com os valores obtidos (Tabela 3).

O parâmetro de croma (C^*), que determina a intensidade da saturação da cor resultou em maior valor na folha e menor na casca do guabijú (12,38; 1,93, respectivamente). Em folhas de ora-pro-nóbis, Moro *et al.* (2021) documentaram valor C^* relativamente maior ao das folhas de guabijuzeiro com dados de 15,43. Por outro lado, dados similares a casca do guabijú, foram reportados por Pereira *et al.* (2020) em polpa da pitanga preta, indicando valor de C^* : 2,18.

O ângulo hue (h°) entre 0° e 90° indica transição na tonalidade da cor vermelho para o amarelo, sendo constatado nas sementes e polpa do fruto ($62,77^\circ$ e $70,06^\circ$, respectivamente). Valores para h° de 90° a 180° demonstram variação nos tons da cor amarelo para verde e foi verificado para as amostras das folhas e casca do guabijú com valores de $112,72^\circ$ e $99,37^\circ$. Na avaliação de polpas de pitangas, Pereira *et al.* (2020) mencionaram ângulo h° de $20,78^\circ$ e $50,25^\circ$ para as variedades vermelha e roxa, sendo inferior aos dados obtidos para polpa de guabijú ($70,06^\circ$) o que reforça sua tonalidade mais amarela. Por outro lado, Pereira *et al.* (2020) indicaram também que as sementes de pitanga resultaram em h° de $87,24^\circ$ e $76,35^\circ$ exibindo coloração mais próximo do amarelo em relação as sementes do guabijú. Diversos pigmentos naturais são responsáveis pela coloração das plantas, dentre carotenoides, antocianinas, betalainas e clorofilas. Esses compostos desempenham papéis fisiológicos nas plantas e também podem apresentar bioatividade com potenciais efeitos à saúde (Schwartz *et al.*, 2017).

2.3.2 Conteúdo de açúcares, ácidos, carotenoides e minerais de *Myrcianthes pungens*

Na Tabela 4, são demonstrados os valores obtidos para os parâmetros de açúcares, ácidos orgânicos, minerais individuais e carotenoides de frutos, folhas e sementes de guabijú.

Tabela 4 – Perfil de açúcares, ácidos orgânicos, carotenoides e minerais de *Myrcianthes pungens*

Parâmetros	Frutos	Folhas	Sementes
Açúcares (g 100 g⁻¹)*			
Sacarose	1,19 ^A ± 0,02	-	1,19 ^A ± 0,04
Glicose	5,46 ^a ± 0,08	1,11 ^c ± 0,01	2,56 ^b ± 0,01
Frutose	7,14 ^a ± 0,12	0,93 ^c ± 0,01	3,62 ^b ± 0,01
Soma total dos açúcares	13,79	2,04	7,37
Ácidos (mg 100 g⁻¹)**			
Ácido cítrico	6,53 ± 0,12	-	-
Ácido succínico	78,87 ^B ± 1,36	-	87,01 ^A ± 0,60
Ácido málico	18,46 ± 0,30	-	-
Ácido ascórbico	1,65 ± 0,02	-	-
Soma total dos ácidos	105,50		87,01
Carotenoides (µg g⁻¹)*			
β-caroteno	41,54 ^B ± 5,11	309,63 ^A ± 39,75	-
Licopeno	51,43 ^B ± 5,78	252,52 ^A ± 50,61	-
Soma total dos carotenoides	92,97	562,15	-
Minerais (mg kg⁻¹)**			
Potássio (K)	3571,30 ^a ± 298,80	2311,60 ^b ± 178,20	328,50 ^c ± 24,70
Sódio (Na)	1245,70 ^b ± 29,40	1636,70 ^a ± 128,10	926,50 ^c ± 65,10
Cálcio (Ca)	590,80 ^c ± 18,40	3605,70 ^b ± 191,00	6431,60 ^a ± 156,70
Soma total de minerais	5407,80	7554,00	7686,60

Fonte: a autora (2025).

Nota: *Dados expressos em base úmida; **Dados expressos em base seca; Médias ± desvios padrão das amostras em triplicata; ^{a,b,c} letras minúsculas sobrescritas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Fischer (p < 0,05); letras maiúsculas diferentes nas linhas (^{A, B}) indicam diferença significativa pelo teste T (p < 0,05).

Na composição individual dos ácidos orgânicos, foram identificados os ácidos cítrico, málico, ascórbico e succínico no fruto; sendo este último o único identificado nas sementes. Nas folhas não foram evidenciados constituintes ácidos. O ácido predominante nos frutos de guabijú foi o succínico (78,87 mg 100 g⁻¹), semelhante ao evidenciado por Silva *et al.* (2018) para a *Plinia cauliflora* (jabuticaba), porém em concentração maior ao da espécie estudada (0,61 g 100 g⁻¹). Também foram documentados teores mais elevados de constituintes ácidos nas espécies de *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Acca sellowiana* (feijoa) e *Eugenia pyriformis* Cambess (uvaia), sugerindo o guabijú como um fruto de baixa acidez (Cardoso *et al.*, 2021; Wanderley *et al.*, 2022). Nas sementes de *Elaeagnus multiflora* Thunb. (cereja silver berry), Lachowicz-Wiśniewska *et al.* (2021) investigaram a presença de compostos ácidos e dentre eles identificaram o ácido succínico na amostra. Já em sementes de *Eugenia candolleana* (cambuí roxo), Soares *et al.* (2022) identificaram em maior predominância o ácido cítrico (1,89 g 100 g⁻¹), além de málico e tartárico. Os ácidos succínico e málico são aplicados como reguladores de acidez e associados ao aumento da atividade antioxidante em matérias primas (Lachowicz-Wiśniewska *et al.*, 2021)

Os ácidos orgânicos, assim como os açúcares, contribuem principalmente na formação do sabor dos frutos. Esses compostos tendem a diminuir na fase de amadurecimento dos frutos,

implicando geralmente em menor acidez e aumento na concentração dos açúcares (Famiani *et al.*, 2015; Batista-Silva *et al.*, 2018). Os ácidos orgânicos junto de outros fatores, influenciam no pH de frutas e vegetais, sendo que um maior conteúdo de ácido resulta em um pH mais baixo devido ao fornecimento de íons de hidrogênio (Prasad; Jacob; Siddiqui, 2018).

A análise cromatográfica dos açúcares constatou em maior predominância a frutose nos frutos e sementes de guabijú, seguidos da glicose, sendo o maior conteúdo nos frutos. Para as folhas constatou-se o menor conteúdo significativo de açúcares (total de 2,04 g 100 g⁻¹), sendo predominante a glicose. A sacarose quantificada representou 1,19 g 100 g⁻¹ para frutos e sementes, enquanto nas folhas não foi identificado (Tabela 4).

Seraglio *et al.* (2018) não evidenciaram sacarose no fruto de guabijú maduro avaliado, apenas a glicose e frutose que juntos somaram 81,22 g 100 g⁻¹ (peso seco) enfatizando conteúdo superior ao resultado do presente estudo (somatório de 63,98 g 100 g⁻¹ de fruto seco, dados não mostrados). Em frutos da mesma família, Nehring *et al.* (2022) quantificaram os açúcares frutose e glicose para *Eugenia brasiliensis* (grumixama), que mesmo em seu estágio totalmente maduro demonstraram menor teor em relação do fruto guabijú (4,40 a 5,28 de frutose; 3,17 a 4,17 de glicose em g 100 g⁻¹ de fruto fresco). Nas espécies *Plinia trunciflora* e *Plinia cauliflora* (jabuticaba), Silva *et al.* (2018) reportaram a presença de sacarose, frutose e glicose, que somadas demonstraram conteúdo de 9,85 e 11,22 g 100 g⁻¹ de fruto fresco, indicando menor quantidade do que o encontrado no fruto guabijú analisado (13,79 g 100 g⁻¹).

Em folhas de *Vaccinium corymbosum* L. (mirtilo), Akšić *et al.* (2019) constataram também maior predominância de glicose com teores de 4,78 a 7,32 mg g⁻¹, porém em menor conteúdo ao observado nas folhas do guabijuzeiro (1,11 g 100 g⁻¹). Outros açúcares de menor relevância, como a frutose, sacarose e galactose foram relatados pelos autores supracitados. Comportamento similar foi observado por Chung e Youn (2020), os quais reportaram para as folhas de *Camellia sinensis* (chá verde), conteúdo de 11,42 a 23,05 mg 100 mL⁻¹ de glicose, além da sacarose (12,58-16,86 mg 100 mL⁻¹), oscilando conforme o tratamento aplicado nas folhas do chá verde.

Em sementes maduras de cambuí roxo, Soares *et al.* (2022) identificaram os açúcares frutose, glicose e sacarose, sendo o conteúdo mais predominante na sacarose (1,23 g 100 g⁻¹). De forma similar, Farias *et al.* (2020) reportaram em sementes de uvaia maior teor para a sacarose (13,52 mg g⁻¹, em peso seco). Os açúcares analisados em semente de grumixama compreenderam frutose (1,13%), glicose (1,01 %) e sacarose (0,36%) com teores relativamente menores ao evidenciado nas sementes de guabijú (Nascimento *et al.*, 2017).

Os principais açúcares encontrados em frutas e vegetais são a sacarose, glicose e frutose e suas proporções tem variação que interferem no sabor, visto que a frutose possui maior doçura que a sacarose que é mais doce que a glicose (Prasad; Jacob; Siddiqui, 2018). O equilíbrio entre açúcares e ácidos desempenha um papel importante na percepção do sabor de frutas e vegetais. Uma alta quantidade de açúcar pode minimizar a sensação da acidez, assim como a composição de ácidos de uma amostra pode afetar a percepção dos açúcares. O ácido málico tende a realçar a percepção da sacarose, enquanto o cítrico pode camuflar a percepção de frutose e sacarose (Watkins, 2017). Dessa forma, a considerar os níveis de açúcar e SST, o guabijú analisado pode ser caracterizado como um fruto doce.

Os carotenoides determinados em teores de β -caroteno e licopeno resultaram em valores significativamente diferentes entre as amostras, sendo mais expressivos nas folhas, principalmente para o β -caroteno ($309,63 \mu\text{g g}^{-1}$). O conteúdo total de carotenoides do fruto guabijú ($92,97 \mu\text{g g}^{-1}$) foi menor ao reportado para grumixama amarela com $185,83 \mu\text{g g}^{-1}$ e maior em relação a *Myrciaria glazioviana* popular “cabeludinha” com teores de $67,78 \mu\text{g g}^{-1}$ e *Psidium cattleianum* Sabine, o araçá, com $6,27 \mu\text{g } \beta\text{-caroteno g}^{-1}$ (Denardin *et al.*, 2015; Mendonça; Vieites, 2019). Os pigmentos carotenoides fornecem as cores amarelas, laranja e vermelhas para maioria das frutas e plantas. Dentre suas propriedades químicas está a capacidade de proteção das células contra danos oxidativos, em função do potencial antioxidante exibido pela maioria dos carotenoides (Schwartz *et al.*, 2017).

A soma dos carotenoides nas folhas do guabijuzeiro resultou em $562,15 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo superior as folhas de erva mate avaliadas por Thewes *et al.* (2016) que exibiram teores médios de 236,9 a $440,3 \mu\text{g g}^{-1}$. Em folhas de *Arbutus unedo* L. (medronheiro) o conteúdo total de carotenoides oscilou de 0,06 a $0,27 \text{mg g}^{-1}$, sendo inferior ao obtido nas folhas do guabijuzeiro (Žlabur *et al.*, 2020). Em tecidos que possuem clorofila, como é o caso das folhas, os carotenoides têm sua cor camuflada e geralmente teores mais elevados destes compostos ocorrem onde há maior concentração de clorofila. Os carotenoides atuam como pigmentos secundários sendo responsáveis na captação da energia da luz por meio da fotossíntese. Desempenham papel fotoprotetor eliminando espécies reativas ao oxigênio e são precursores do ácido abscísico, composto regulador do crescimento nas plantas (Schwartz *et al.*, 2017). Dessa forma, salienta-se que as folhas do guabijuzeiro podem ser uma fonte promissora para extração de pigmentos carotenoides.

Nos minerais avaliados, observou-se maior conteúdo de potássio (K) nos frutos, enquanto cálcio (Ca) foi mais predominante nas folhas e sementes do guabijú (Tabela 4). De forma similar, Seraglio *et al.* (2018) evidenciaram para o fruto guabijú de diferentes estágios

de maturação, maior conteúdo de K, (3110,32 e 9603,64 mg 100 g⁻¹), assim como Detoni *et al.* (2021) para frutos de diferentes colheitas (6973,76 e 7010,19 µg g⁻¹) e Bombana *et al.* (2021) para a polpa e casca do guabijú avaliados separadamente (82,62; 218,16 mg 100 g⁻¹, respectivamente). Em frutos como a jabuticaba, jambolão e grumixama, o mineral K expressou maior conteúdo também, com teores entre 589,30 a 5099,30 mg 100 g⁻¹ (Seraglio *et al.*, 2018; Nehring *et al.*, 2022). O potássio geralmente é o principal mineral identificado em frutas por apresentar maior mobilidade no xilema e não ser eliminado na transpiração da planta. Esse mineral está atrelado a síntese de açúcares e maturação dos frutos, além de atuar na formação de muitas proteínas e processos enzimáticos nas plantas (Moraes *et al.*, 2021; Nehring *et al.*, 2022). No organismo humano atua em diversas funções, sobretudo na polarização de membranas, responsáveis ao funcionamento de músculos e transmissão nervosa (Miller, 2017; Sousa *et al.*, 2022).

Em folhas de *Vitis vinifera* L. (videira), Maia *et al.* (2021) constataram dentre os minerais avaliados que Na, Ca e K representaram as maiores concentrações para todos os genótipos avaliados da espécie, destacando-se com maior relevância o teor de K, de 2817,77 a 4046,22 µg g⁻¹. De forma similar ao observado em folhas de guabijuzeiro, Olivari *et al.* (2020) relataram para o perfil mineral das folhas de erva mate, um maior conteúdo de Ca, com valor médio de 3450 mg kg⁻¹. Em outro contexto, Biel e Jaroszevska (2016) documentaram para folhas de *Rubus idaeus* L. (framboesa) menor conteúdo de Na (3,87 g kg⁻¹) em relação as demais espécies avaliadas; de *Rubus fruticosu* L. (amora-preta), *Aronia melanocarpa* L. (chokeberry) e *Hippophae rhamnoides* L. (espinheiro-marítimo), as quais indicaram dados de 0,42; 0,35 e 0,11 g kg⁻¹, respectivamente, cujos valores foram menores ao evidenciado nas folhas do guabijuzeiro (1636,70 mg kg⁻¹).

No perfil mineral das sementes de guabijú, Bombana *et al.* (2021) relataram a predominância do mineral K (287,31 mg 100 g⁻¹), seguindo do Ca (141,29 mg 100 g⁻¹), diferente ao observado no presente estudo, onde obteve-se maior concentração de Ca (6431,6 mg kg⁻¹) e na sequência Na e K. De forma similar, Freitas *et al.* (2019) reportaram maior conteúdo de K em diferentes genótipos de sementes de camu-camu, com teores de 2470 a 4111 mg kg⁻¹, seguidos de magnésio (Mg) e Ca. Em sementes *in natura* de *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jaca), o mineral Ca representou o menor conteúdo entre os macronutrientes, indicando 146,1 mg 100 g⁻¹, dados relativamente menores ao da semente de guabijú (Sousa *et al.*, 2022). O Ca é um elemento da composição da parede celular nas plantas, atuando na manutenção de sua integridade e permeabilidade (Guedes *et al.*, 2015). Entre as inúmeras funções atribuídas ao Ca, estão os efeitos regulatórios em processos fisiológicos e bioquímicos de plantas e animais

como fotossíntese, coagulação sanguínea, fosforilação oxidativa, contração muscular e transmissão de impulsos nervosos. Sua deficiência no organismo afeta a formação de ossos e dentes (Miller, 2017; Biel; Jaroszevska, 2016).

Em síntese, constatou-se relevante conteúdo total de elementos minerais nas partes do guabijuzeiro, sendo nos frutos $5704,80 \text{ mg kg}^{-1}$, enquanto para as folhas e sementes $7554,0$ e $7686,6 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente. O conteúdo de minerais das partes das plantas, principalmente as comestíveis é interferido pela genética da planta, fertilidade do solo e ambiente em que se desenvolvem (Miller, 2017). Embora as sementes e folhas não representem atualmente a fração comestível da espécie, esses dados contribuem na obtenção de fontes alternativas para exploração de minerais.

2.4 CONCLUSÃO

As folhas, frutos e sementes de guabijú demonstraram características físico químicas distintas entre si, a destacar teores mais elevados de cinzas e proteínas nas folhas. Os açúcares foram representados principalmente pelo elevado teor de frutose identificado, o qual reforça o sabor doce relatado para o fruto. Entre os ácidos orgânicos avaliados, houve maior predominância do ácido succínico, com dados significativamente maiores nas sementes. O teor de carotenoides foi superior na amostra das folhas, assim como o mineral cálcio, destacando uma possível fonte desses compostos. Salienta-se que em folhas de guabijuzeiro, o presente estudo é o primeiro a relatar dados sobre sua composição físico química. Os dados obtidos para folhas, frutos e sementes de guabijú demonstraram informações de grande relevância sobre suas características físicas e químicas, contribuindo para um melhor entendimento das propriedades dessa espécie e suas potenciais aplicações em diversas áreas, como em alimentos, farmácia e nutrição. Além do mais, essas informações podem servir de base para nortear novos projetos e promover a valorização da espécie.

CAPÍTULO 3: OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE FRUTOS E FOLHAS DE *Myrcianthes pungens*

RESUMO: *Myrcianthes pungens* é uma árvore frutífera popularmente conhecida como guabijú, que tem sido relatada como fonte de compostos bioativos, como os compostos fenólicos, os quais podem atuar sob o potencial antioxidante e antimicrobiano reportado para espécie. A extração desses compostos pode ser realizada por diferentes combinações de fatores, os quais podem fornecer processos otimizados na maximização de compostos. Dessa forma aplicou-se o planejamento Box-Behnken e a metodologia de superfície de resposta para obter extratos otimizados dos frutos e folhas do guabijuzeiro, nos quais determinou-se o perfil fenólico e o potencial antimicrobiano contra os microrganismos *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica*. Os extratos foram elaborados por meio da maceração utilizando diferentes concentrações de solvente (etanol ou acetona), razão soluto: solvente e temperatura. Foram avaliados os compostos fenólicos totais, flavonoides totais, antocianinas totais e atividade antioxidante pelos métodos ABTS, FRAP e DPPH nos extratos obtidos. Os ensaios otimizados foram analisados quanto ao perfil fenólico por CLAE e atividade antimicrobiana frente a microrganismos patogênicos. Soluções com etanol foram mais eficientes na extração das antocianinas (2773,48 mg kg⁻¹), compostos fenólicos (32385,64 mg AGE kg⁻¹) e FRAP (446,67 mmol TE kg⁻¹), enquanto as soluções com acetona indicaram melhores resultados para os flavonoides (7847,68 CAT kg⁻¹) e atividade antioxidante ABTS (984,12 mmol TE kg⁻¹) nos frutos de guabijú. Nos extratos foliares, os compostos fenólicos (102289,92 mg AGE kg⁻¹) e atividade antioxidante por DPPH (942,38 mmol TE kg⁻¹) e FRAP (1374,01 mmol TE kg⁻¹) indicaram melhor resultado em soluções elaboradas com acetona. Já as extrações com soluções de etanol obtiveram maiores concentrações para os flavonoides (29582,44 CAT kg⁻¹) e atividade antioxidante ABTS (2698,64 mmol TE kg⁻¹). O perfil fenólico obtido com os extratos otimizados para os frutos indicou maior extração de compostos com soluções de etanol (2666,27 mg kg⁻¹), enquanto a acetona exibiu maior conteúdo para as folhas (6555,32 mg kg⁻¹). Ambos extratos inibiram os microrganismos avaliados, sendo que um percentual na faixa de 30 a 79% foi observado nos extratos foliares do guabijuzeiro. Os dados obtidos destacaram que tanto as folhas como os frutos do guabijú possuem compostos com efeitos biológicos importantes e podem servir de base em futuras investigações da espécie.

Palavras-chave: Guabijú. Planejamento Experimental. Atividade Antioxidante. Antimicrobiano. Perfil fenólico.

3.1 INTRODUÇÃO

A família *Myrtaceae* abriga inúmeras espécies entre os biomas do Brasil. *Myrcianthes pungens*, popularmente conhecida como guabijú, é uma árvore pertencente a essa família e predominante nos estados do sul do país. Suas características compreendem tronco com casca lisa, folhas verdes brilhantes com ápice pontiagudo e ocorrência de frutificação. Os frutos são pequenos e arredondados, possuem a polpa amarelada, com uma a duas sementes e quando maduros a casca é roxa escura de aspecto aveludado. Seu consumo é geralmente *in natura* (Dalla Nora *et al.*, 2014; Della Betta *et al.*, 2018).

O guabijuzeiro é descrito na literatura por demonstrar a presença de constituintes polifenólicos na composição. Nos frutos tem destaque as antocianinas como a delfinidina, cianidina e malvidina e compostos fenólicos como kaempferol, ácido gálico e catequina, os quais são em grande parte responsáveis pela atividade antioxidante atribuída a espécie (Dalla Nora *et al.*, 2014; Seraglio *et al.*, 2018; Machado *et al.*, 2024). Nesse mesmo contexto, a atividade gastroprotetora *in vivo* contra úlcera, foi associada aos compostos quercetina, quercitrina, catequina e epicatequina identificados nos extratos provenientes das folhas e frutos de guabijú (Almeida *et al.*, 2017). Dessa forma, pode-se salientar que a composição fenólica do guabijú pode ter forte relação com efeitos benéficos para a saúde.

Para realizar a extração de compostos bioativos em espécies vegetais podem ser aplicados diferentes métodos e condições. A escolha da tecnologia empregada no processo de extração, tipo de solvente, tempo ou temperatura, assim como as características da amostra, refletem em fatores que podem ser fundamentais na obtenção de extratos com riqueza de constituintes químicos. Dentre os processos extrativos convencionais mais empregados está a maceração, um método simples e barato que permite lidar com volumes diferenciados de massa e solvente, o qual geralmente é aplicado na extração de compostos em plantas (Oliveira, 2014; Tambun; Alexander; Ginting, 2021; Cacique *et al.*, 2020).

Aliado à finalidade de otimizar os parâmetros aplicados em processos de extração, são utilizadas técnicas de modelagem estatística e matemática, como a metodologia de superfície de resposta (MSR). Esse método busca determinar condições ótimas das variáveis de controle, visando uma resposta adequada sobre um determinado fator de interesse, baseado em um planejamento experimental. Dentre os *designs* experimentais mais utilizados na MSR, o planejamento de Box-Behnken é comumente aplicado em pesquisas por empregar menos níveis para cada fator, requerendo assim um número de experimentos menor (Khuri; Mukhopadhyay, 2010; Oliveira, 2014).

Portanto, o objetivo desse capítulo foi otimizar a extração das antocianinas, flavonoides, compostos fenólicos e atividade antioxidante dos frutos e folhas de guabijuzeiro avaliando o efeito das variáveis concentrações de solvente (acetona ou etanol), razão soluto: solvente e temperatura por meio da MSR. As condições ótimas obtidas em cada extrato foram empregadas na determinação do perfil fenólico individual e atividade antimicrobiana.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Materiais

As folhas do guabijuzeiro foram coletadas no período do outono (mês de abril), enquanto os frutos foram colhidos na estação do verão (janeiro), durante o período de maturação. Ambos materiais vegetais foram obtidos em uma coleta e de uma árvore, em diferentes galhos da planta e de uma única região da cidade de Francisco Beltrão (latitude: 26° 04' 52" S; longitude: 53° 03' 18" W; altitude: 570 m), Paraná (Brasil). As amostras adquiridas foram selecionadas quanto a coloração roxa escura dos frutos e ausência de danos físicos visíveis, tanto para os frutos como para as folhas. Na sequência os materiais foram higienizados em água corrente, embalados em sacos plásticos, selados e congelados em freezer a -18 °C (Gelopar®, GPC-57, Curitiba, PR, Brasil) para posterior análises.

Os reagentes álcool etílico absoluto (C₂H₆O; Dinâmica®, Indaiatuba, SP, Brasil) e acetona (C₃H₆O; Reatec®, Colombo, PR, Brasil) foram utilizados para elaboração dos extratos aquosos com os frutos e folhas do guabijuzeiro. Para as análises de antocianinas totais, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP utilizaram-se reagentes de grau analítico, sendo: cloreto de potássio (KCl) e acetato de sódio (C₂H₃NaO₂) obtidos da Biotec® (Cotia, SP, Brasil) nitrito de sódio (NaNO₂; Química Moderna, Barueri, SP, Brasil), cloreto de alumínio (AlCl₃) e persulfato de potássio (K₂S₂O₈) adquiridos da Synth® (Diadema, SP, Brasil), hidróxido de sódio (NaOH), ácido clorídrico (HCl), metanol (CH₃OH), carbonato de sódio (Na₂CO₃) e Folin-Ciocalteu adquiridos da Êxodo® (Sumaré, SP, Brasil). Também utilizou-se (+)-catequina (C₁₅H₁₄O₆), ácido gálico (C₇H₆O₅), ABTS+ (2,2'-azino-di (ácido 3-etil-benzotiazolina-sulfônico-(6)), Trolox (C₁₄H₁₈O₄; 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil), TPTZ (2,4,6-tris (2-piridil)-s-triazina) e cloreto férrico (FeCl₃) adquiridos da Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA).

Para determinação do perfil fenólico das amostras foram utilizados reagentes padrões, com grau HPLC (*High-performance liquid chromatography*): ácido gálico, catequina, ácido cafeico, epigallocatequina, ácido transferrúlico, rutina, quercetina, furfural, ácido siríngico, coniferaldeído, ácido elágico, avicularina e quercitrina, obtidos da Sigma-Aldrich®, além de ácido acético, metanol e acetonitrila (J.T. Baker®, Phillipsburg, NJ, EUA).

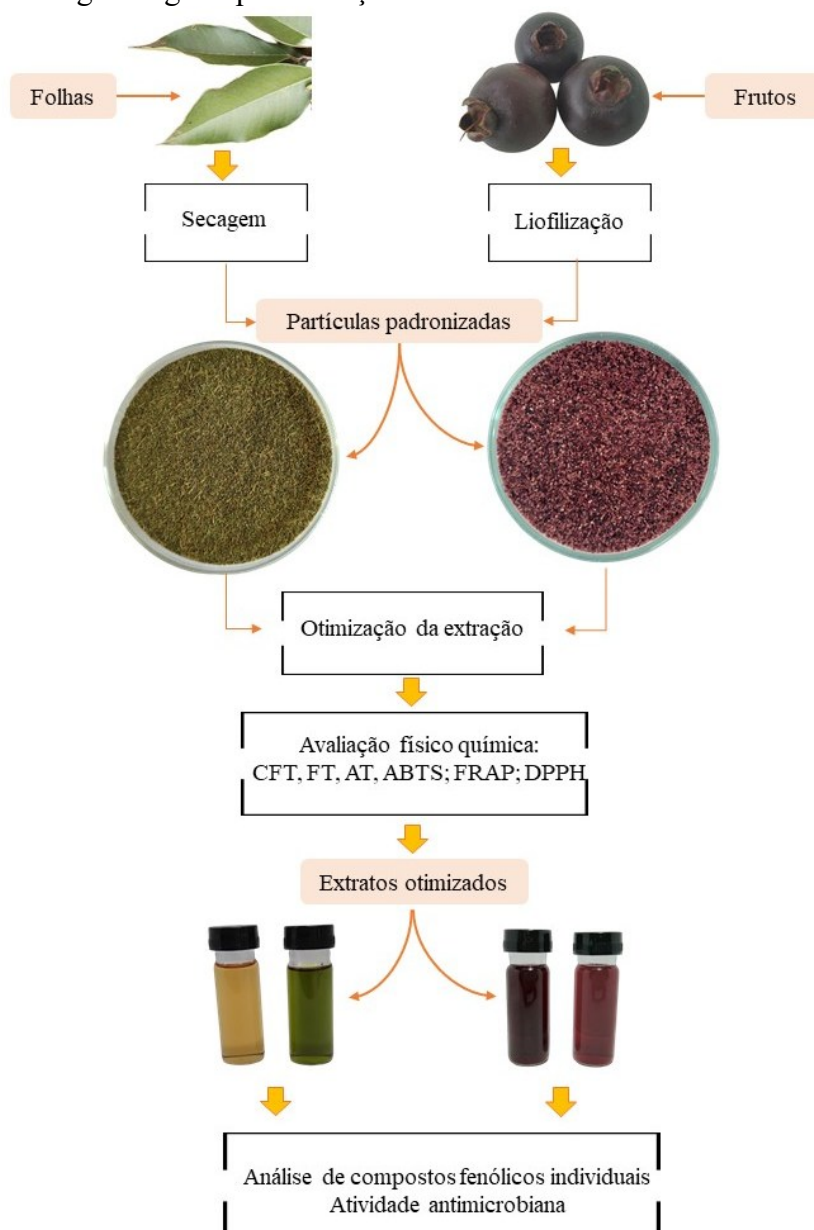
Na análise antimicrobiana foram utilizados: caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e *Mueller Hinton Broth*, ambos adquiridos da Kasvi (São José dos Pinhais, PR, Brasil), ágar

bacteriológico (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil), cloreto de sódio (NaCl) e DMSO (dimetil sulfóxido; C₂H₆SO) obtidos da Neon (Suzano, SP, Brasil).

3.2.2 Métodos

O fluxograma geral para obtenção dos extratos otimizados das folhas e frutos do guabijuzeiro e análises executadas nesse capítulo, foram demonstradas na Figura 11.

Figura 11 - Fluxograma geral para obtenção dos extratos otimizados e análises executadas



Fonte: a autora (2025).

Nota: CFT: Compostos fenólicos totais, FT: flavonoides totais, AT: antocianinas totais, ABTS: ((2,2'-azino-di (ácido 3-etil-benzotiazolina-sulfônico-(6))), FRAP: *Ferric Reducing Antioxidant Power*, DPPH: 2,2-difenil-2-picrilhidrazil.

3.2.3 Elaboração dos Extratos

As folhas do guabijuzeiro foram secas em estufa de secagem com circulação e renovação de ar (Tecnal®, TE-394/2, Piracicaba, SP, Brasil) a 40 °C por 18 h, enquanto os frutos de guabijú foram cortados manualmente para remoção das sementes, congelados em ultrafreezer a -80 °C (NuAire®, Glacier NU-9668, *Minnesota*, EUA), para posterior processo de liofilização (Terroni®, LS3000, São Carlos, SP, Brasil) sob as condições de -40 °C com vácuo: 720µmHg. Em seguida, ambas amostras foram trituradas em liquidificador convencional e o pó obtido foi padronizado em peneiras para análise granulométrica, sendo utilizado as partículas com 425 µm (malha 40).

Os extratos foram elaborados com soluções aquosas de acetona ou etanol por um período de 30 min. Utilizaram-se diferentes condições na extração, variando a concentração do solvente (folhas: 30, 50 e 70%; frutos: 40, 60 e 80%), razão soluto: solvente (1:10; 1:20 e 1:30, p/v) e temperatura (folhas: 10, 25 e 40 °C; frutos: 10, 30 e 50 °C), conforme planejamento experimental (Tabela 5). Após, os extratos das folhas foram centrifugados a 2224 g (Med. Instruments®, MPW-351, Varsóvia, Polônia) durante 15 min, filtrados em papel filtro qualitativo (0,16mm, Unifil®, Calibre Scientific, Alvorada, RS, Brasil) e armazenados a -18 °C (Gelopar®, GPC-57, Curitiba, PR Brasil). Os extratos dos frutos foram submetidos apenas ao processo de filtração.

3.2.4 Planejamento experimental

Para otimizar as condições do processo de extração e avaliar os efeitos dos parâmetros da concentração das soluções aquosas de acetona ou etanol (X_1), razão soluto: solvente (X_2) e temperatura (X_3), aplicou-se o planejamento experimental de Box - Behnken (1960) em três níveis com a metodologia de superfície de resposta, conforme disposto na Tabela 5 para as amostras das folhas e frutos de guabijú. Cada nível foi codificado como -1 (mínimo), 0 (ponto central) e +1 (máximo). Os parâmetros dos experimentos foram determinados com base em dados da literatura e com experimentos preliminares realizados com as amostras.

Tabela 5 - Planejamento experimental aplicado para extração de compostos bioativos das folhas e frutos de guabijú

Experimentos	Concentração (X ₁)	Razão soluto: solvente (X ₂)	Temperatura (X ₃)
1	-1	0	-1
2	+1	0	-1
3	-1	0	+1
4	+1	0	+1
5	-1	-1	0
6	+1	-1	0
7	-1	+1	0
8	+1	+1	0
9	0	-1	-1
10	0	-1	+1
11	0	+1	-1
12	0	+1	+1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

Valores reais					
	Folhas	Frutos	Folhas e Frutos	Folhas	Frutos
-1	30 %	40 %	1:10	10 °C	10 °C
0	50 %	60 %	1:20	25 °C	30 °C
+1	70 %	80 %	1:30	40 °C	50 °C

Realizaram-se quinze experimentos para cada amostra (folha e fruto) com os solventes acetona e etanol separadamente, a fim de avaliar o padrão de resposta e desenvolver modelos para maximizar a extração do teor de antocianinas totais (exceto nas folhas), compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante. Para ajustar os dados experimentais das variáveis analisadas foi utilizada uma equação polinomial de segunda ordem (Equação 2).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

Onde Y é a resposta predita, β_0 , β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes de regressão para os termos lineares, quadráticos e as interações, respectivamente, e X_i , e X_j , são as variáveis independentes (Bruns; Scarmino; Barros Neto, 2006). A significância estatística dos termos nas equações de regressão foi determinada por análise de variância (ANOVA) para cada resposta. Os termos não significativos foram removidos do modelo inicial e os dados foram avaliados apenas para os parâmetros significativos ($p \leq 0,05$). Os ajustes foram analisados por *p lack-of-fit* e o coeficiente de regressão ajustado (R^2 ajustado). Os parâmetros otimizados obtidos para as variáveis independentes foram aplicados experimentalmente nos termos significativos a fim de validar o modelo predito. O ponto otimizado foi extraído em triplicata e na sequência analisado.

3.2.5 Antocianinas Totais

As antocianinas totais foram determinadas por pH diferencial, conforme Giusti e Wrolstad (2001). Em uma microplaca de poços foram adicionados 10 µL do extrato de guabijú com 290 µL de solução de cloreto de potássio 0,025 M (pH 1), em seguida efetuou-se a leitura da absorbância no comprimento de onda de 510 nm e 700 nm em leitor de microplaca (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, Synergy-Biotek®, Winooski, VT, USA). Esse mesmo procedimento foi realizado para a solução tampão de acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5). O teor total de antocianina das amostras foi calculado e expresso em malvidina-3-glicosídeo, conforme a Equação 3.

$$mg\ kg^{-1} = \frac{[(ABS_{510} - ABS_{700})]_{pH1} - [ABS_{510} - ABS_{700}]_{pH4,5} \times MM \times D \times 1000}{\epsilon \times L} \quad (3)$$

Onde:

ABS510 = Absorbância lida no comprimento de onda de 510 nm;

ABS700 = Absorbância lida no comprimento de onda de 700 nm;

MM = massa molecular da malvidina-3-glicosídeo (493,43 g/mol);

D = fator de diluição da amostra x fator de diluição da análise;

ε = Absortividade molar (2800)

3.2.6 Atividade Antioxidante: ABTS

A avaliação da capacidade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS⁺ ((2,2'-azino-di (ácido 3-etil-benzotiazolina-sulfônico-(6))), foi avaliada conforme Re *et al.* (1999), com algumas adaptações. Inicialmente preparou-se o reagente ABTS⁺, sendo misturados uma solução de ABTS (7 mmol L⁻¹) com uma solução de persulfato de potássio 2,45 mmol L⁻¹ na proporção de 1:1. Essa solução ficou em repouso ao abrigo da luz por 16 horas. Transcorrido esse tempo, foram transferidos 4 mL da solução para um balão volumétrico de 200 mL sendo o volume ajustado com água deionizada.

Em uma microplaca de poços, foram adicionados 20 µL de amostra previamente diluída e 280 µL da solução de ABTS⁺ sendo sequencialmente repousada e mantida ao abrigo da luz por 30 min. Após o tempo de reação, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, Synergy-BioTek®, Winooski, VT, EUA) a 734 nm. Em paralelo, uma curva padrão (50 a 500 µmol L⁻¹) foi construída utilizando Trolox em diferentes concentrações, seguindo-se o mesmo procedimento executado para as amostras. Após obtenção da equação da reta ($y = 0,1827x +$

3,9372; $R^2 = 0,9865$), as leituras das absorbâncias da amostra foram substituídas para realização de cálculos e obtenção dos resultados, que foram expressos mmol TE kg^{-1} .

3.2.7 Atividade Antioxidante: DPPH

A atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil) foi determinada conforme metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) com algumas modificações. O reagente foi diluído em metanol sob abrigo da luz.

Os extratos das folhas e frutos do guabijú, foram diluídos adequadamente e alíquotas de 50 μL foram transferidas para tubos de ensaio com rosca. Em seguida, adicionou-se 1,9 mL do radical DPPH e com auxílio do vórtex (KMC-1300 V Vision Scentific®, Daejeon-Si, Coreia do Sul) os tubos foram agitados. As amostras ficaram em repouso por 30 min em ambiente protegido da luz. Esse processo também foi realizado para uma amostra em branco, sendo substituído o volume por água. Após este período, 300 μL foram pipetados para um microplaca de poços e a leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer, Synergy-BioTek®, Winooski, VT, EUA*) a 517 nm. A curva padrão (50 a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foi construída utilizando Trolox em diferentes concentrações, seguindo-se o mesmo procedimento executado para as amostras. Após obtenção da equação da reta, foram efetuados cálculos para obtenção dos resultados, que foram expressos em mmol equivalente de Trolox (mmol TE kg^{-1}).

3.2.8 Atividade Antioxidante: FRAP

A determinação da atividade antioxidante pela redução do ferro (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi efetuada conforme Benzie e Strain (1996).

O reagente FRAP foi preparado pela mistura do tampão de acetato de sódio (300 mmol, pH 3,6), com uma solução de TPTZ 10 mmol e solução de cloreto férrico 20 mmol na proporção de 10:1:1 (v/v/v). Dos extratos das folhas e frutos, previamente diluídas, foram transferidas alíquotas de 10 μL para uma microplaca de poços, sendo sequencialmente adicionado 290 μL do reagente FRAP. As amostras foram protegidas da luz e repousadas por 30 min. Após, foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer, Synergy-BioTek®, Winooski, VT, EUA*) a

595 nm. Também foi realizado este processo para uma amostra em branco, sendo substituído o volume por água.

Em paralelo foi plotada uma curva de calibração com Trolox (100 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em diferentes concentrações, seguindo-se o mesmo processo executado para as amostras. As absorbâncias das amostras obtidas foram substituídas na equação da reta ($y = 0,0007x - 0,0047$; $R^2 = 0,991$) e os resultados expressos mmol TE kg^{-1} .

3.2.9 Compostos Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, 1999), com algumas adaptações. O procedimento consistiu em transferir 50 μL dos extratos, previamente diluídos, para tubos de ensaio e na sequência adicionou-se 4,2 mL de água deionizada seguidos de 250 μL do reagente de Folin Ciocalteu. Os tubos foram agitados com auxílio do vórtex (*Vision Scientific®*, KMC-1300 V, *Daejeon-Si*, Coreia do Sul) e após 3 min acrescentou-se 500 μL de carbonato de sódio 20%. As amostras foram novamente agitadas no vórtex e ficaram em repouso por 1 h sob abrigo da luz em temperatura ambiente. Após, foram pipetados 300 μL para uma microplaca de poços e efetuou-se a leitura em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, *Synergy-BioTek®*, *Winooski*, VT, EUA) a 725 nm. Também preparou-se um teste em branco aplicando-se o mesmo procedimento, sendo a amostra substituída por 50 μL de água.

Uma curva padrão com ácido gálico (20 a 200 mg L^{-1}) foi construída utilizando-se as mesmas condições da amostra, para obter a equação da reta ($y = 0,0007x + 0,0006$; $R^2 = 0,995$). As absorbâncias das amostras obtidas foram substituídas na equação da reta para calcular o resultado que foi expresso em $\text{mg equivalente de ácido gálico (mg AGE kg}^{-1})$.

3.2.10 Flavonóides Totais

Os flavonóides totais foram determinados com base na metodologia proposta por Zhishen; Mengcheng e Jianming (1999). Aliquotas de 250 μL dos extratos dos frutos e folhas do guabijuzeiro previamente diluídos, foram adicionados à 2 mL de água deionizada contida em tubos de ensaio. Logo após, colocou-se 120 μL de nitrito de sódio 0,5 mol L^{-1} , agitou-se em vórtex (*Vision Scientific®*, KMC-1300 V, *Daejeon-Si*, Coreia do Sul) e deixou-se em repouso

por 5 min. Após foram adicionados 120 µL de cloreto de alumínio 10 % e 5 min depois foram acrescentados 800 µL de hidróxido de sódio 1 mol L⁻¹. Na sequência as amostras foram agitadas em vórtex e 300 µL foram pipetados para uma microplaca de poços para leitura da absorbância em 510 nm, em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, Synergy-BioTek®, Winooski, VT, EUA). Um teste em branco foi realizado aplicando-se o mesmo procedimento, sendo a amostra substituída por 250 µL de água.

Construiu-se também uma curva padrão com catequina (20 a 200 mg L⁻¹) usando o mesmo procedimento realizado para a amostra, para obtenção da equação da reta ($y = 0,0023x - 0,0052$; $R^2 = 0,9982$). As absorbâncias obtidas foram substituídas na equação da reta para cálculo do resultado, que foi expresso mg equivalente de catequina (mg CTE kg⁻¹).

3.2.11 Compostos Fenólicos Individuais

Os compostos fenólicos individuais foram analisados apenas nos extratos otimizados dos frutos de guabijú e folhas com ambos solventes utilizados (acetona e etanol), conforme metodologia adaptada de Alberti *et al.* (2014). Os extratos foram rotaevaporados (Tecnal®, TE-211, Piracicaba, SP, Brasil), liofilizados (Terroni®, LS3000, São Carlos, SP, Brasil), reconstituídos em solução de ácido acético 2,5%: metanol (3:1; v/v) e filtrados em filtro de seringa (0,22 µm de *nylon*) antes da análise. A determinação dos compostos ocorreu por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo (*Shimadzu*®, LC-2040C 3D Plus, Quioto, Japão) equipado com bomba quaternária, injetor automático de amostras e detector de arranjo de diodos (PDA LC-2030/2040). A separação foi realizada em uma coluna *Symmetry C18* (4,6 x 150 mm, 3,5 µm) a 20 °C.

A fase móvel era constituída de ácido acético 2,5% (solvente A) e acetonitrila (solvente B), aplicados segundo o seguinte gradiente: 3-9% de B (0-5 minutos), 9-16% de B (5-15 minutos), 16-36,4% de B (15-33 minutos), seguido de uma eluição isocrática a 100% de B (5 minutos) e recondicionamento da coluna (3% de B, 10 minutos). O fluxo utilizado foi 1,0 mL min⁻¹. As corridas foram monitoradas no intervalo de 200 nm a 400 nm. A identificação dos compostos fenólicos foi realizada comparando o tempo de retenção e espectros com os de padrões. A quantificação foi realizada através de curvas de calibração de compostos padrões. Na Tabela 6 foram dispostos os parâmetros cromatográficos de cada composto fenólico analisado por CLAE.

Tabela 6 - Parâmetros individuais dos compostos analisados por CLAE

Composto	TR	Abs. max	Equação da reta (mg kg ⁻¹)	R ²
Ácido cafeico	11,9	323,0	y = 21170x - 117801	0,997
Ácido elágico	34,4	255,0	y = 72104x - 1987,8	0,996
Ácido gálico	3,3	271,0	y = 31332x - 27051	0,991
Ácido siríngico	19,0	275,0	y = 97168x + 853,2	0,999
Ácido transferrúlico	18,3	322,0	y = 67556x - 284328	0,998
Avicularina	21,2	353,7	y = 19875x - 29203	0,998
Catequina	9,0	279,8	y = 5716,4x - 54087	0,987
Coniferaldeído	27,0	340,0	y = 133278x - 20651	0,999
Epigallocatequina	13,1	274,0	y = 9173,5x - 79487	0,85
Furfural	9,8	275,0	y = 99727x + 3397,1	0,999
Quercetina	29,5	376,2	y = 28863x - 164590	0,835
Quercitrina	21,9	348,9	y = 20504x - 34187	0,989
Rutina	19,1	354,0	y = 10082x - 58113	0,996

Fonte: a autora (2025).

Nota: TR: tempo de retenção; abs max: absorbância máxima.

3.2.12 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos foi analisada em relação as cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica* spp. *enterica* (ATCC 13076) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Cada cultura foi inoculada em placa de Petri estéril contendo caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) com ágar bacteriológico 1,5%, devidamente preparados conforme instrução do fabricante e incubada em estufa a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h (Quimis®, Q316-24, Diadema, SP, Brasil). Transcorrido esse período, os inóculos foram suspensos em solução salina 0,9 % a uma concentração de 10^8 UFC mL⁻¹ (turbidez da escala 0,5 de McFarland's) para obtenção da cultura de trabalho.

Para determinação da atividade antimicrobiana, foi usada a técnica de microdiluição em caldo, de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012), calculada como a porcentagem de inibição bacteriana (Equação 4). Os extratos otimizados das folhas e frutos de guabijú foram rotaevaporados (Tecnal®, TE-211, Piracicaba, SP, Brasil), liofilizados (Terroni®, LS3000, São Carlos, SP, Brasil) e ressuspensos em DMSO 5 % (v/v). Para utilização na análise, cada extrato foi diluído sequencialmente e filtrado em filtro de seringa (0,22 µm de nylon).

Em microplacas estéreis (Kasvi®, KC12-096, São Jose dos Pinhais, PR, Brasil) foram adicionados 180 µL de caldo *Mueller Hinton* (*Mueller Hinton Broth*), 20 µL de amostra diluída e 10 µL do inóculo do microrganismo, sendo incubadas em estufa a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. Após, foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate*

Spectrophotometer, Synergy-BioTek®, Winooski, VT, EUA) a 630 nm. O controle positivo foi determinado mediante o crescimento microbiano sem a presença da amostra.

$$\text{Inibição (\%)} = 100 - [(\text{Abs amostra} \times 100) / \text{Abs controle positivo}] \quad (4)$$

Onde:

Abs amostra: absorbância do crescimento bacteriano na presença do extrato;

Abs controle positivo: absorbância do crescimento bacteriano sem o extrato.

3.2.13 Análise Estatística

Os dados obtidos das análises realizadas foram avaliados estatisticamente por meio de ANOVA e Teste de Fisher LSD (*Fisher Least Significance Difference*), utilizando o critério estatístico ao nível de significância de 5% e expressos pela média $\pm$ desvio padrão. O planejamento experimental de Box-Behnken e as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software Statistica* versão 8.0 (*Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA*).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção foi efetuada a disposição dos dados referente as extrações realizadas com o planejamento experimental, aplicando os solventes etanol ou acetona com os frutos e folhas do guabijuzeiro.

3.3.1 Planejamento experimental para extração com frutos de guabijú

3.3.1.1 Extração de compostos do guabijú usando etanol como solvente

Os extratos obtidos do fruto guabijú com soluções aquosas de etanol, por meio da aplicação do planejamento experimental Box-Behnken, foram demonstrados na Figura 12. A quantificação das antocianinas totais, compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante FRAP, DPPH e ABTS foram expressos na Tabela 7.

Figura 12 - Extratos de guabijú com etanol obtidos por meio do planejamento Box-Behnken



Os dados obtidos para as antocianinas totais (AT) extraídas com soluções de etanol, resultaram em teores de 345,04 (GBE6) a 2773,48 (GBE12) mg kg⁻¹ expresso em malvidina-3-glicosídeo. A maior concentração significativa ($p < 0,05$) foi observada no ensaio GBE12, extraído com a combinação da concentração mediana de etanol (60%), maior razão soluto: solvente (1:30) e temperatura máxima de extração (50 °C). Da mesma forma, essa condição empregada favoreceu também a atividade antioxidante ABTS (ensaio GBE12; 474,26 mmol TE kg⁻¹). A extração das antocianinas foi afetada nos ensaios GBE6 e GBE8, os quais não indicaram diferenças significativas entre si. Em ambas combinações, a concentração de etanol 80% e temperatura de 30 °C eram fatores em comum. Já uma redução significativa foi constatada na atividade antioxidante ABTS, apenas em GBE6 (concentração de etanol 80%; temperatura: 10 °C e razão: 1:20).

A utilização de solventes orgânicos binários contendo água, são geralmente adotados em processos de extração de compostos bioativos. A água promove o inchaço do material vegetal, aumentando a superfície de contato, além de atuar na extração da parte mais hidrofílica dos compostos glicosilados. O etanol atua sob o rompimento de ligações entre o material vegetal e os solutos, aumentando a recuperação de compostos. E ainda é um dos solventes de maior preferência em função da disponibilidade, menor toxicidade e por ser obtido de fonte renovável. Assim, etanol e água formam um meio favorável a extração de diversos constituintes (Ćujić *et al.*, 2016; Mokrani; Madani, 2016; Arruda; Pereira; Pastore, 2017). Yılmaz, Karaaslan e Vardin (2015) reportaram em seu estudo com bagaço de *Prunus cerasus* L. (cereja ácida) que extrações mais eficientes de antocianinas e compostos fenólicos ocorreram na aplicação de etanol em concentrações entre 40% a 60%. O mesmo foi observado por Porto e Natolino (2018) para o bagaço de *Vitis vinifera* L. (uva) em que as antocianinas diminuíram seu rendimento nas concentrações de etanol maior que 62%.

Em geral, temperaturas mais elevadas aplicadas ao processo de extração influenciam na taxa de migração dos compostos, devido à redução na viscosidade do solvente, que aumenta

sua penetração nas estruturas vegetais (Ćujić *et al.*, 2016; Mokrani; Madani, 2016; Arruda; Pereira; Pastore, 2017). No bagaço de cereja ácida, Yilmaz, Karaaslan e Vardin (2015) mencionaram que o aumento da temperatura proporcionou melhor rendimento de extração das antocianinas em específico para cianidina-3-glicosilrutinosídeo, chegando a um máximo em 71 °C. De forma oposta Blackhall *et al.* (2018) reportaram que as antocianinas totais de *Prunus avium* L. (cereja doce) atingiram um conteúdo máximo a 37 °C e foram afetadas em temperaturas abaixo (4 °C e 22 °C) e acima (52 ° e 70 °C). As antocianinas são consideradas pigmentos sensíveis as elevações de temperatura, podendo acarretar em redução de seu conteúdo. No entanto seu mecanismo de degradação por ação do calor não está totalmente elucidado, e sua estabilidade está atrelada as características estruturais da antocianina presente na amostra. De modo geral, antocianinas aciladas são mais estáveis termicamente em relação as estruturas não aciladas (Schwartz *et al.*, 2017).

A proporção disponível na razão soluto: solvente é um fator relevante em extrações de compostos de matrizes vegetais. Chen *et al.* (2018) enfatizaram que o aumento na proporção de solvente (de 20 para 30 e 40 mL/g) foi benéfico para extração das antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante ABTS e FRAP nos extratos de *Lycium ruthenicum* Murr. (goji berry preto). Silva *et al.* (2019a) na avaliação da casca de *Hymenaea courbaril* L. (jatobá), destacaram que a relação amostra: solvente de 1:10 demonstrou o menor teor dos compostos fenólicos e flavonoides. A eficiência de processos extrativos pode estar associada a maior disponibilidade de solvente em relação ao material vegetal, que assim tem maior capacidade de penetração nas células, levando o soluto a se dissolver no solvente (Ćujić *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2018).

Para os compostos fenólicos totais do guabijú (CFT) os valores obtidos oscilaram de 9245,64 a 32385,64 mg AGE kg⁻¹ (Tabela 7), sendo que a concentração mediana de etanol (60%) em conjunto da maior razão soluto: solvente (1:30) e temperatura mínima de extração (10 °C) indicou melhor extração (ensaio GBE11). Esse mesmo comportamento foi observado para o potencial antioxidante DPPH (ensaio GBE11: 266,54 mmol TE kg⁻¹). Ćujić *et al.* (2016) reportaram um conteúdo maior de compostos fenólicos totais em frutos de *Aronia melanocarpa* (chokeberry) ao aumentar a razão soluto: solvente, sendo que em 1:30 os dados obtidos atingiram valores máximos (13,4 mg AGE g⁻¹).

Tabela 7- Antocianinas totais (AT), compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante dos extratos de guabijú com etanol (GBE)

Ensaios	AT mg kg ⁻¹	CFT mg AGE kg ⁻¹	FT mg CTE kg ⁻¹	FRAP mmol TE kg ⁻¹	DPPH mmol TE kg ⁻¹	ABTS mmol TE kg ⁻¹
GBE1	1869,54 ^e ± 50,10	25742,67 ^{cde} ± 567,64	5749,50 ^d ± 39,90	259,32 ^{ef} ± 14,23	162,01 ^{cd} ± 10,26	315,72 ^e ± 10,11
GBE2	552,11 ^j ± 16,65	16039,60 ⁱ ± 2263,08	3565,50 ^j ± 120,94	144,93 ⁱ ± 3,64	122,77 ^f ± 4,86	196,90 ^k ± 3,21
GBE3	2468,15 ^b ± 38,14	22828,85 ^{fg} ± 2466,14	7682,02 ^a ± 105,21	347,85 ^b ± 15,96	125,98 ^f ± 2,08	307,44 ^f ± 6,03
GBE4	1176,87 ⁱ ± 56,62	11702,03 ^j ± 326,65	4105,04 ⁱ ± 19,88	201,88 ^h ± 10,06	163,08 ^c ± 9,84	286,65 ^g ± 0,95
GBE5	1277,92 ^h ± 30,54	23830,09 ^{efg} ± 434,99	4802,54 ^g ± 160,12	266,78 ^{ef} ± 3,42	122,89 ^f ± 2,81	209,70 ⁱ ± 1,75
GBE6	345,07 ^k ± 11,34	9245,64 ^k ± 163,32	2463,48 ± 19,88 ^k	126,21 ^k ± 8,28	52,66 ^g ± 2,60	134,29 ^m ± 3,61
GBE7	1480,10 ^g ± 32,53	23096,41 ^{fg} ± 1462,67	7131,29 ^b ± 51,40	348,62 ^b ± 14,72	144,10 ^d ± 8,42	396,22 ^b ± 0,54
GBE8	412,72 ^k ± 8,09	10938,38 ^k ± 485,17 ^j	4647,91 ^h ± 51,15	178,85 ⁱ ± 7,70	213,03 ^b ± 4,76	256,00 ^h ± 2,98
GBE9	1447,37 ^g ± 70,62	19715,71 ^h ± 984,82	4137,00 ⁱ ± 19,98	446,67 ^a ± 3,64	146,53 ^{de} ± 2,80	231,46 ⁱ ± 4,14
GBE10	1117,01 ⁱ ± 35,91	29665,96 ^b ± 1239,20	4748,43 ^{gh} ± 39,96	273,35 ^c ± 8,17	128,90 ^{ef} ± 1,28	323,84 ^d ± 0,97
GBE11	2285,21 ^c ± 24,40	32385,64 ^a ± 1462,67	5640,61 ^d ± 102,81	292,33 ^d ± 15,14	266,54 ^a ± 2,76	319,20 ^{de} ± 4,99
GBE12	2773,48 ^a ± 66,04	24871,43 ^{def} ± 494,87	6351,30 ^c ± 104,35	325,85 ^c ± 5,51	161,07 ^c ± 9,77	474,26 ^a ± 6,61
GBE13	1889,04 ^e ± 37,89	26051,52 ^{cd} ± 1124,12	5054,31 ^f ± 68,42	255,27 ^f ± 17,21	128,34 ^{ef} ± 8,97	179,80 ^l ± 1,92
GBE14	1748,63 ^f ± 37,62	22189,85 ^g ± 1491,97	4727,69 ^{gh} ± 68,65	230,54 ^g ± 4,07	123,49 ^f ± 7,63	355,72 ^c ± 1,44
GBE15	2107,35 ^d ± 94,58	27363,00 ^c ± 1170,02	5442,05 ^e ± 39,51	203,18 ^h ± 6,39	150,27 ^{cd} ± 9,06	226,84 ⁱ ± 3,46

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: Equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; TE: equivalentes de Trolox; Medias ± desvios padrão das amostras; ^{a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m} letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Fisher (p<0,05).

O aumento da proporção de etanol pode contribuir para uma dissolução mais eficiente dos compostos. Embora estudos indiquem que o aumento da temperatura nas extrações, tenha um impacto mais positivos no rendimento dos CFT, como reportado por Arruda, Pereira e Pastore (2017) em frutos de *Annona crassiflora* (araticum/marolo); Hossain e Hossain (2021) em *Baccaurea ramiflora* (uva birmanesa); Garofulić *et al.* (2020) em frutos de *Pistacia lentiscus* (lentisco), no presente estudo observou-se que a aplicação de baixa temperatura contribuiu para uma extração mais eficiente, indicando que os CFT do guabijú podem ter uma estrutura com maior tendência de hidrólise, considerando que elevadas temperaturas degradam tecidos vegetais e compostos presentes, reduzindo o rendimento de extração. Adicionalmente, temperaturas de extração mais elevadas podem provocar aumento da pressão de vapor do solvente, diminuindo sua tensão superficial, causando a redução do teor de compostos (Yılmaz; Karaaslan; Vardin, 2015; Arruda; Pereira; Pastore, 2017; Bamba *et al.*, 2018).

Nos ensaios realizados com os extratos do guabijú para o parâmetro dos flavonoides (FT), a melhor condição aplicada na extração foi a concentração mínima do solvente (40%), razão soluto: solvente mediana (1:20) e temperatura máxima (50 °C), conforme verificado no ensaio GBE3, o qual exibiu teor de 7682,02 mg CTE kg⁻¹. A água é um solvente polar, dessa forma uma concentração menor de etanol pode ter aumentado a polaridade da solução, contribuindo na dissolução dos compostos flavonoides (Arruda; Pereira; Pastore, 2017; Chen *et al.*, 2018).

Na avaliação antioxidante por meio do método FRAP foram verificados dados de 126,21 (GBE6) a 446,67 (GBE9) mmol TE kg⁻¹. O maior potencial antioxidante ($p < 0,05$) foi constatado na extração em que foi utilizada a concentração média de etanol (60%) aliada a menor razão soluto: solvente (1:10) e temperatura (10 °C), indicado no ensaio GBE9. Semelhante aos CFT do guabijú, constatou-se que o potencial antioxidante FRAP foi mais eficiente na extração com emprego de menor temperatura. Os dados corroboram com Hossain e Hossain (2021) na análise da casca de uva birmanesa, que além atingir maior valor em concentrações de solvente de cerca de 60%, a capacidade antioxidante FRAP foi reduzida em temperaturas elevadas.

Embora com mecanismos diferentes de investigar a atividade antioxidante dos ensaios, nos três métodos utilizados (ABTS, DPPH e FRAP) a condição aplicada nas extrações da máxima concentração de etanol (80%), menor razão soluto: solvente (1:10) e temperatura mediana (30 °C), interferiu de forma negativa, demonstrando menor capacidade antioxidante (ensaio GBE6). Salienta-se ainda que essa mesma condição afetou todos os demais parâmetros avaliados (antocianinas, compostos fenólicos e flavonoides) resultando nos menores teores de

compostos bioativos dos extratos com soluções de etanol, como pode ser visualizado em GBE6 (Tabela 7). Comportamento similar foi documentado por Ćujić *et al.* (2016), os quais destacaram em suas avaliações com os frutos de chokeberry que o teor de compostos fenólicos totais e antocianinas totais foram afetadas na concentração de etanol 70% e 96%, assim como no emprego da menor razão soluto: solvente (1:10). Em extrações com frutos de goji berry preto o conteúdo total de compostos fenólicos aumentou na aplicação de soluções com etanol na concentração de até 60%, enquanto que concentrações acima disso (70%, 80% e 90%) diminuiram seu teor (He; Du; Xu, 2018). Bamba *et al.* (2018) documentaram na avaliação de compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante DPPH que o aumento da concentração de etanol de 50% para 90% utilizado nas extrações com bagaço de *Vaccinium section Cyanococcus* spp (mirtilo), afetou negativamente os conteúdos obtidos. A extração de compostos bioativos de materiais vegetais aumenta até uma determinada concentração de etanol adicionada, visto que um máximo de compostos é extraído. Concentrações elevadas de etanol podem desnaturar constituintes, como as proteínas e dificultar a dissolução de compostos fenólicos da matriz vegetal para o solvente (Arruda; Pereira; Pastore, 2017).

3.3.1.2 Extração de compostos do guabijú usando acetona como solvente

Com o planejamento de Box-Behnken foram realizadas quinze extrações dos frutos de guabijú com soluções aquosas de acetona, as quais são demonstradas na Figura 13. Os parâmetros analisados nos ensaios obtidos: antocianinas totais, compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante FRAP, DPPH e ABTS foram dispostas na Tabela 8.

Figura 13 - Extratos de guabijú com acetona obtidos por meio do planejamento Box-Behnken



Fonte: A autora (2025).

As extrações das antocianinas totais com soluções aquosas de acetona apontaram concentrações significativas de 558,74 (GBA4) a 870,85 (GBA14) mg kg⁻¹ expresso em malvidina-3-glicosídeo dentre os ensaios realizados (Tabela 8). O maior índice de extração foi denotado no ponto central (ensaio GBA14), onde aplicou-se concentração de acetona 60%,

razão soluto: solvente 1:20 e temperatura de 30 °C. Combinações de extração que utilizaram a maior concentração da solução de acetona (80%) exibiram menor teor de antocianinas como constatado em GBA6 e GBA4, as quais não apresentaram diferenças significativas entre si. A acetona é um solvente orgânico utilizado nas extrações de diversos compostos de baixo e alto peso molecular, incluindo taninos, flavonóis e proantocianidinas. É um solvente polar-aprótico, que não possui hidroxilas disponíveis sendo considerada de polaridade intermediária. A utilização da água como mistura potencializa a extração de compostos, devido capacidade em quebrar complexos como de polifenol-proteína presente nas matrizes vegetais (Mokrani; Madani, 2016; Martínez-Ramos *et al.*, 2020).

Na extração dos compostos fenólicos totais (CFT), os ensaios GBA15 e GBA3 expressaram o maior conteúdo (27279,59 e 27086,09 mg AGE kg⁻¹, respectivamente) não demonstrando diferenças significativas ($p > 0,05$). A extração efetuada no ponto central (GBA15) e os fatores da baixa concentração de solvente (40%), razão soluto: solvente mediana (1:20) e temperatura máxima (50 °C) aplicadas em GBA3, contribuíram para os resultados mais expressivos. Por outro lado, um rendimento menor e não significativo na extração de compostos fenólicos foi constatado GBA2 e GBA8 ($p > 0,05$), ensaios que tinham como fator em comum concentração máxima de acetona (80%).

Os flavonoides totais (FT) resultaram em teores significativos de 4464,83 (GBA2) a 7847,68 (GBA3) mg CTE kg⁻¹. A combinação da mínima concentração de solvente (40%), razão soluto: solvente mediana (1:20) e temperatura máxima (50 °C) promoveram maior teor extraído desse composto (ensaio GBA3), assim como evidenciado na atividade antioxidante ABTS (Tabela 8). De forma oposta e como também observado nas extrações de AT e CFT, os extratos elaborados com combinações envolvendo a máxima concentração de acetona, 80% (GBA2 e GBA6), demonstraram dados menores para flavonoides (4464,83 e 4485,32 mg CTE kg⁻¹ respectivamente). Já o ABTS foi afetado negativamente pela combinação de concentração mediana da acetona (60%), mínima razão soluto: solvente e temperatura (1:10; 10 °C), como indicado no ensaio GBA9 (278,74 mmol TE kg⁻¹).

Na extração de compostos fenólicos e flavonoides de *Prunus persica* L. (pêssego), Mokrani e Madani, (2016) destacaram que as melhores extrações foram registradas principalmente, com soluções de acetona entre 20% e 60% de concentração, enquanto na atividade antioxidante DPPH e FRAP, o emprego de acetona 60% resultou no maior potencial. Os autores também relataram que a temperatura de 60 °C foi mais eficiente na extração dos flavonoides, enquanto a aplicação de 25 °C resultou no maior rendimento dos compostos fenólicos, semelhante ao constatado no presente estudo. Alberti *et al.* (2014) evidenciaram que

a concentração de acetona 65% resultou nas melhores extrações de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante DPPH e FRAP de frutos de maçã gala.

Para atividade antioxidante FRAP percebeu-se que as melhores condições de extração foram para os ensaios onde aplicou-se a maior temperatura (50 °C) ou a concentração mediana de solvente (60%), como visualizado em GBA3, GBA10 e GBA11 (356,19; 350,29 e 349,19 mmol TE kg⁻¹ respectivamente), os quais não apresentaram diferença significativa entre si. Houve menor potencial antioxidante na extração realizada com a combinação da concentração de 80% de solvente, razão soluto: solvente 1:20 e temperatura de 10 °C (ensaio GBA2). Salienta-se que a utilização de temperaturas mais elevadas favoreceu a solubilização dos compostos presentes na matriz vegetal, promovendo maior transferência de massa e também contribuindo fortemente para o aumento da atividade antioxidante. A adição de água com acetona pode ter promovido uma solução mais polar, causando maior eficiência de extração em comparação a adição de elevadas concentrações de acetona (>60%), dessa forma maior conteúdo de solvente levou a uma menor solubilização de compostos (Mokrani; Madani, 2016).

No método DPPH os resultados oscilaram entre 90,01 (GBA6) e 230,52 (GBA2) mmol TE kg⁻¹, sendo evidenciado dentre os ensaios que não houve diferenças significativas entre GBA2, GBA3 e GBA8 (230,52; 228,20; 222,75 mmol TE kg⁻¹, respectivamente). Ambos ensaios foram extraídos em condições de concentração, razão e temperatura distintas e demonstraram o maior potencial antioxidante (Tabela 8). Porém, observou-se entre os fatores aplicados que as maiores proporções na razão soluto: solvente (1:20 e 1:30) podem ter favorecido aos resultados mais eficientes. Esse potencial foi reduzido na extração em que foi utilizada a concentração de acetona 80%, aliado a mínima razão soluto: solvente, 1:10 e temperatura mediana de 30 °C como verificado em GBA6.

Na avaliação das soluções aquosas com acetona, evidenciou-se que o ensaio GBA3, o qual empregou as combinações de baixa concentração de solvente (40%), razão soluto: solvente mediana (1:20) e temperatura máxima (50 °C), demonstrou uma das melhores extrações dos compostos bioativos em todos os parâmetros analisados, com exceção das antocianinas. Em comparação dos dois solventes utilizados nas extrações dos compostos bioativos do guabijú, salienta-se que as soluções com etanol foram significativamente mais relevantes para extração das antocianinas, CFT e FRAP, resultando no maior conteúdo desses parâmetros. Enquanto as soluções com acetona indicaram melhores resultados para os FT e ABTS dos frutos. O DPPH não expressou diferença significativa entre as amostras com etanol ou acetona.

Tabela 8 - Antocianinas totais (AT), compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante dos extratos de guabijú com acetona (GBA)

Ensaios	AT (mg kg ⁻¹)	CFT (mg AGE kg ⁻¹)	FT (mg CTE kg ⁻¹)	FRAP (mmol TE kg ⁻¹)	DPPH (mmol TE kg ⁻¹)	ABTS (mmol TE kg ⁻¹)
GBA1	755,45 ^{de} ± 9,11	20422,93 ^d ± 162,79	7109,55 ^c ± 24,77	264,38 ^{de} ± 1,13	136,53 ^f ± 0,66	830,26 ^d ± 9,36
GBA2	606,97 ^{hi} ± 7,31	11419,08 ⁱ ± 1479,68	4464,83 ^l ± 43,33	177,41 ^g ± 10,34	230,52 ^a ± 2,01	577,57 ^h ± 10,87
GBA3	809,04 ^b ± 9,64	27086,09 ^a ± 163,86	7847,68 ^a ± 24,94	356,19 ^a ± 4,73	228,2 ^{ab} ± 6,02	984,12 ^a ± 1,68
GBA4	558,74 ^j ± 15,07	17415,41 ^f ± 906,36	5951,09 ⁱ ± 49,54	276,03 ^d ± 14,28	154,03 ^c ± 6,69	325,27 ^l ± 2,51
GBA5	607,58 ^{hi} ± 13,23	25752,25 ^b ± 164,41	6623,57 ^c ± 66,19	313,48 ^b ± 14,97	154,08 ^c ± 2,79	544,45 ⁱ ± 1,94
GBA6	566,69 ^j ± 4,82	14157,99 ^h ± 163,86	4485,32 ^l ± 12,47	191,53 ^f ± 2,95	90,01 ^h ± 1,68	423,61 ^j ± 1,19
GBA7	820,47 ^b ± 11,29	17213,23 ^f ± 1062,61	7519,81 ^b ± 64,25	307,24 ^{bc} ± 9,29	153,21 ^c ± 3,12	359,00 ^g ± 1,42
GBA8	624,21 ^h ± 9,48	10845,77 ⁱ ± 492,41	5799,26 ^j ± 37,47	201,99 ^f ± 1,71	222,75 ^{ab} ± 1,75	765,45 ^f ± 9,50
GBA9	735,55 ^c ± 15,91	18967,07 ^e ± 295,90	5682,46 ^k ± 12,49	252,50 ^e ± 2,00	193,36 ^c ± 3,81	278,74 ^m ± 13,75
GBA10	599,27 ^{hi} ± 2,11	23752,67 ^c ± 246,20	6764,01 ^d ± 33,04	350,29 ^a ± 6,13	198,50 ^c ± 6,60	431,02 ^j ± 5,40
GBA11	778,91 ^c ± 26,74	14961,29 ^{gh} ± 243,78	6127,65 ^h ± 37,10	349,19 ^a ± 7,03	160,99 ^{de} ± 6,99	909,90 ^c ± 4,65
GBA12	683,12 ^g ± 14,34	15242,79 ^g ± 731,34	6149,07 ^h ± 37,10	254,61 ^e ± 5,93	163,68 ^d ± 0,86	950,61 ^b ± 17,45
GBA13	708,38 ^f ± 7,54	24558,27 ^c ± 281,95	6265,73 ^g ± 42,91	308,36 ^{bc} ± 10,15	122,57 ^g ± 3,99	349,09 ^k ± 5,91
GBA14	870,85 ^a ± 17,05	24665,11 ^c ± 585,01	6259,44 ^g ± 49,38	277,37 ^d ± 7,98	199,45 ^c ± 9,94	808,96 ^e ± 7,95
GBA15	760,36 ^{cd} ± 11,10	27279,59 ^a ± 432,11	6358,16 ^f ± 65,76	296,18 ^c ± 4,71	220,33 ^b ± 7,06	816,89 ^{de} ± 6,23

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: Equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; TE: equivalentes de Trolox; Médias ± desvios padrão das amostras; ^{a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m} letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Fisher (p<0,05).

Diversos solventes podem ser utilizados na extração de compostos bioativos de materiais vegetais, como a água, metanol, etanol, acetona e acetonitrila. Cada solvente contém características diferentes que pode indicar um melhor poder extrativo sob determinada matriz alimentícia. Koraqi *et al.* (2023) reportaram que a acetona foi mais eficiente nas extrações de compostos fenólicos e flavonoides com frutos de *Fragaria x ananassa* Duch. (morango), similar ao reportado por Casagrande *et al.* (2019) no bagaço de uva. Pedro *et al.* (2020) destacaram que soluções etanólicas e metanólicas apresentaram melhor extração no conteúdo de compostos fenólicos das bagas de *Lycium barbarum* L. (goji berry), salientando que a mistura de solventes com água é relativamente mais eficiente que o sistema mono-solvente. Em cascas de *Mangifera indica* L. (manga), Martínez-Ramos *et al.* (2020) documentaram que a mistura de etanol-acetona resultou em maior conteúdo de compostos. Dessa forma, diferentes solventes influenciam na solubilidade das moléculas que compõe determinado composto, em função das variações químicas nos grupos funcionais que formam compostos fenólicos (Mokrani; Madani, 2016; Ćujić *et al.*, 2016; Koraqi *et al.*, 2023).

O etanol é considerado um solvente menos tóxico, seguro ao consumo humano e rotulado como de fabricação verde, sendo um dos mais empregados no processamento de alimentos. É recomendado para extração de flavonoides e seus glicosídeos, taninos e catecóis. A acetona, assim como o etanol, é um solvente orgânico polar, relatada para extração mais eficiente de proantocianidinas e compostos fenólicos de alto peso molecular como os taninos (Mokrani; Madani, 2016; Ćujić *et al.*, 2016; Koraqi *et al.*, 2023). A acetona e o etanol possuem diferentes polaridades e formas de ação sobre os compostos presentes na amostra. Tal fato pode ser associado a eficiência da extração dos compostos bioativos do guabijú, levando assim as variações observadas nos conteúdos relatados. Embora diferenças do teor dos bioativos tenham sido constatadas, para cada combinação aplicada foi possível evidenciar a capacidade de extração de compostos do guabijú.

3.3.2 Otimização da extração dos frutos guabijú

Nos ensaios realizados com etanol, os modelos para antocianinas totais (AT), compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante DPPH propostos na análise de regressão múltipla foram significativos ($p < 0,05$) e não apresentaram falta de ajuste significativo ($p \text{ lack-of-fit} > 0,05$), ambos podem ser visualizados na Tabela 9. No entanto, os resultados para atividade antioxidante FRAP e ABTS demonstraram falta de ajuste e não puderam ser descritos utilizando o modelo.

Tabela 9 - Efeitos das variáveis independentes (X_1 : concentração de solvente etanol; X_2 : razão soluto: solvente e X_3 : temperatura) sobre a concentração das antocianinas totais (AT), compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante DPPH

Variáveis resposta	Fatores	Coef. de Regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor	-95% de confiança	+95% de confiança
AT (mg kg ⁻¹)	Constante	1909,73	165,00	11,57	0,00	1546,57	2272,89
	X_1	-576,12	154,34	-3,73	0,00	-915,82	-236,41
	X_1^2	-711,92	225,93	-3,15	0,01	-1209,20	-214,64
	X_2	345,52	154,34	2,24	0,05	5,81	685,22
	R ² ajustado	0,65					
	p <i>lack of fit</i>	0,13					
CFT (mg AGE kg ⁻¹)	Constante	26034,73	921,67	28,25	0,00	24006,15	28063,30
	X_2	-5946,55	862,14	-6,90	0,00	-7844,11	-4048,99
	X_2^2	-8106,77	1262,04	-6,42	0,00	-10884,51	-5329,03
	X_2, X_3	-4366,12	1219,25	-3,58	0,00	-7049,67	-1682,56
	R ² ajustado	0,88					
	p <i>lack of fit</i>	0,68					
FT (mg CTE kg ⁻¹)	Constante	5083,25	107,54	47,27	0,00	4846,56	5319,93
	X_1	-1322,93	147,25	-8,98	0,00	-1647,02	-998,83
	X_2	952,46	147,25	6,47	0,00	628,36	1276,55
	X_3	474,27	147,25	3,22	0,01	150,18	798,37
	R ² ajustado	0,90					
	p <i>lack of fit</i>	0,48					
DPPH (μmol TE kg ⁻¹)	Constante	146353,79	8051,92	18,18	0,00	128810,17	163897,41
	X_2	42430,10	11025,54	3,85	0,00	18407,51	66452,69
	X_1, X_2	34788,52	15592,47	2,23	0,05	815,44	68761,59
	R ² ajustado	0,56					
	p <i>lack of fit</i>	0,16					

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; TE: equivalentes de Trolox.

A concentração de etanol (X_1) demonstrou correlação negativa linear nos parâmetros de antocianinas e flavonoides, indicando que concentrações máximas do solvente afetaram a extração desses compostos. Já em X_1^2 o efeito quadrático negativo indicou que o aumento da concentração de etanol favoreceu a extração das antocianinas até determinada concentração (60%) e depois começou a decair. Essas informações podem ser contrastadas com dados obtidos na Tabela 7, na qual foi constatado o menor conteúdo de antocianinas e flavonoides com a aplicação de etanol 80% (amostra GBE6). As antocianinas podem apresentar menor solubilidade no etanol do que em água, assim como outros compostos glicosilados podem ser melhor dissolvidos. Elevadas concentrações de etanol podem causar degradação do material vegetal (Arruda; Pereira; Pastore, 2017; Porto; Natolino, 2018).

Para a variável independente razão soluto: solvente (X_2), o coeficiente de regressão linear foi positivo para as antocianinas, flavonoides e DPPH evidenciando que as maiores proporções soluto: solvente (1:20 e 1:30) aplicadas favoreceram o rendimento na extração desses compostos. Os dados obtidos na Tabela 7 para GBE12, GBE3 e GBE11 (AT, FT, DPPH) reforçam essas informações, pois ambas extrações tinham como fator em comum razão soluto: solvente acima de 1:10, salientando os teores máximos obtidos. No entanto os compostos fenólicos foram influenciados negativamente por essa variável (X_2), tanto de forma linear como quadrática, indicando que a extração foi eficiente até um ponto máximo específico (1:20) e acima disso houve decréscimo no teor. Observou-se também que houve interação linear positiva entre X_1 e X_2 para o DPPH, enfatizando que baixas concentrações de etanol (40%) aliadas a menor razão soluto: solvente (1:10) afetaram o potencial antioxidante.

A temperatura (X_3) influenciou significativamente apenas os flavonoides, com o coeficiente de regressão linear positivo, destacando que a mínima temperatura afetou a extração desse composto. Na extração GBE3 (Tabela 7) empregou-se a temperatura máxima (50 °C), que resultou no maior conteúdo de flavonoides dentre os quinze ensaios realizados. Também constatou-se uma correlação linear entre X_2 e X_3 para os compostos fenólicos, porém negativa, sugerindo que a maior razão soluto: solvente (1:30) e temperatura (50 °C) reduziram o conteúdo dos CFT em extratos etanólicos

Para as extrações com solvente acetona, os modelos para os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante FRAP propostos na análise de regressão múltipla foram significativos ($p < 0,05$) e não apresentaram falta de ajuste significativo ($p \text{ lack-of-fit} > 0,05$) (Tabela 10). Porém, os dados para antocianinas totais, flavonoides totais, atividade antioxidante DPPH e ABTS indicaram falta de ajuste e não puderam ser descritos utilizando o modelo.

Tabela 10 - Efeitos das variáveis independentes (X_1 : concentração de solvente acetona; X_2 : razão soluto:solvente e X_3 : temperatura) sobre a concentração de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante FRAP

Variáveis resposta	Fatores	Coef. de Regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor	-95% de confiança	+95% de confiança
CFT (mg AG kg ⁻¹)	Constante	25500,99	1001,83	25,45	0,00	23190,77	27811,21
	X_1	-4579,53	613,49	-7,46	0,00	-5994,25	-3164,82
	X_1^2	-3826,87	903,04	-4,24	0,00	-5909,28	-1744,47
	X_2	-3045,86	613,49	-4,96	0,00	-4460,58	-1631,15
	X_2^2	-4681,80	903,04	-5,18	0,00	-6764,21	-2599,39
	X_3	2215,82	613,49	3,61	0,01	801,11	3630,54
	X_3^2	-2588,23	903,04	-2,87	0,02	-4670,64	-505,83
	R ² ajustado	0,91					
	P lack of fit	0,48					
FRAP (μmol TE kg ⁻¹)	Constante	298357,09	9284,49	32,14	0,00	277669,96	319044,22
	X_1	-48412,67	8684,84	-5,57	0,00	-67763,71	-29061,63
	X_1^2	-38205,83	12713,31	-3,01	0,01	-66532,85	-9878,81
	X_3	24207,22	8684,84	2,79	0,02	4856,18	43558,25
	X_2, X_3	-48094,50	12282,22	-3,92	0,00	-75461,00	-20728,00
	R ² ajustado	0,81					
	P lack of fit	0,29					

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: equivalente ácido gálico; TE: equivalentes de Trolox.

Em X_1 (concentração da solução acetona) observou-se um efeito linear negativo para os parâmetros de compostos fenólicos e FRAP, destacando que a menor concentração do solvente resultou em extrações mais eficientes. O efeito quadrático negativo (X_1^2) sugeriu que a adição de solvente até uma concentração específica (60%) favoreceu as extrações dos compostos, mas que acima dessa concentração interferiu no conteúdo extraído. Esse mesmo comportamento (linear e quadrático negativo) foi constatado para variável razão soluto:solvente (X_2), apenas nas extrações de compostos fenólicos.

A variável X_3 (temperatura) demonstrou relação linear positiva para os dois parâmetros, sugerindo que temperaturas mais elevadas contribuíram positivamente nas extrações de compostos fenólicos e da atividade antioxidante. No entanto o efeito quadrático negativo (X_3^2) indicou que acima de uma determinada temperatura pode ocorrer redução dos CFT. Também evidenciou-se uma interação linear negativa entre X_2 e X_3 em FRAP, sugerindo que maior proporção soluto: solvente e temperatura aumentam a atividade antioxidante. Koraqi *et al.* (2023) indicaram nas extrações com frutos de morango, que o aumento da temperatura extraiu mais compostos fenólicos e melhorou a atividade antioxidante.

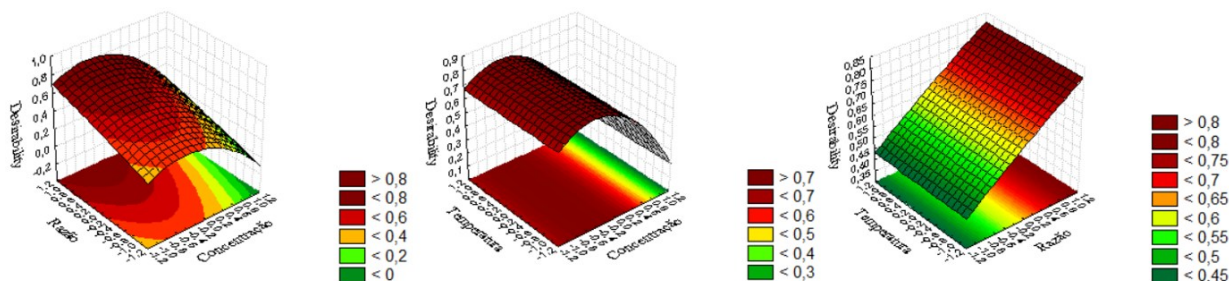
Em contraste com os dados obtidos na Tabela 8, pode-se inferir que as extrações mais eficientes dos compostos fenólicos e atividade antioxidante FRAP (ensaio GBA3) tinham como combinação a menor concentração de acetona (40%), razão soluto: solvente mediana (1:20) e temperatura máxima (50 °C), estando de acordo com os efeitos observados.

A otimização da extração para maximizar os teores das antocianinas totais, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante DPPH sugeriu que a extração com solvente etanol fosse realizada com a seguinte combinação de fatores: concentração de solvente 50,6%, razão soluto: solvente 1:30 e temperatura de 50 °C. Já para a maximização dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante FRAP das extrações com acetona, a otimização sugeriu que novas extrações aplicassem a condição da concentração de solvente a 46% de acetona, razão soluto: solvente 1:10 e temperatura de 50 °C.

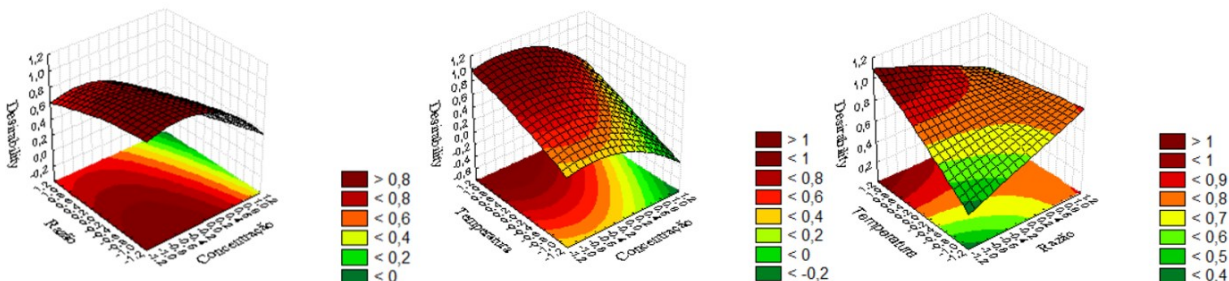
O efeito das variáveis independentes, concentração de solvente, razão soluto: solvente e temperatura sobre a concentração de compostos bioativos nos extratos de guabijú no ponto ótimo, pode ser visualizada na superfície de resposta da Figura 14 em extrações otimizadas com solvente etanol e acetona.

Figura 14 – Superfície de resposta demonstrando o efeito das variáveis independentes no ponto ótimo de otimização dos extratos de guabijú com etanol (1) e acetona (2)

1 - Etanol



2 - Acetona



Fonte: a autora (2025)

Os valores preditos e experimentais para as extrações com solução de etanol e acetona foram dispostos na Tabela 11. As condições experimentais da extração realizada com solvente etanol para os parâmetros das antocianinas totais e DPPH demonstrou valores próximos ao

valor predito. Nos compostos fenólicos totais o valor obtido experimentalmente encontrava-se dentro do intervalo de confiança (-95% a +95%), podendo ser considerado satisfatório. Por outro lado, os flavonoides totais não evidenciaram dados experimentais satisfatórios e para fins preditivos não podem seu modelo não pode ser considerado.

Tabela 11 - Valores preditos e experimentais do ponto ótimo das extrações de etanol e acetona com guabijú

Solvente	Parâmetros	Valor Predito	-95% de confiança	+95% de confiança	Experimental
Etanol	AT (mg kg ⁻¹)	2369,06	1983,64	2754,48	2343,65
	CFT (mg AGE kg ⁻¹)	28148,56	22414,62	33882,51	31567,27
	DPPH (mmol TE kg ⁻¹)	194,69	164,28	225,11	193,32
	FT (mg CTE kg ⁻¹)	5462,13	4699,64	6224,62	7046,01
Acetona	CTE (mg AG kg ⁻¹)	26273,49	21568,36	30978,61	28998,03
	FRAP (mmol TE kg ⁻¹)	385,82	338,16	433,48	387,72

Fonte: a autora (2025).

Nota: AT: antocianinas totais; AGE: equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; CFT: compostos fenólicos totais; FT: flavonoides totais; TE: equivalentes de Trolox.

Para a extração otimizada com solvente acetona, os parâmetros dos compostos fenólicos totais e FRAP resultaram em valores experimentais próximos do predito ou dentro do intervalo de confiança sendo assim considerados adequados ao modelo.

3.3.3 Planejamento experimental para extração com folhas do guabijuzeiro

3.3.3.1 Extração de compostos da folha do guabijuzeiro usando etanol como solvente

Os extratos obtidos por meio do planejamento experimental, a partir das folhas do guabijuzeiro com soluções aquosas de etanol foram demonstrados na Figura 15. A quantificação dos compostos bioativos dos extratos: compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP foram expressos na Tabela 12.

Figura 15 - Extratos das folhas do guabijuzeiro com etanol obtidos por meio do planejamento Box-Behnken



Fonte: A autora (2025).

Os compostos fenólicos totais (CFT) extraídos dos ensaios com etanol resultaram em dados significativos de 12623,76 (FOE2) a 64243,28 (FOE6) mg AGE kg⁻¹. O aumento da quantidade extraída desses compostos foi favorecido principalmente no experimento em que foi empregado a concentração máxima do solvente (70%) em conjunto com a mínima razão soluto: solvente (1:10) e temperatura mediana de 25 °C. Já a combinação do etanol 70% com a razão soluto: solvente 1:20 e temperatura mínima (10 °C) indicaram dados significativamente menores, como observado em FOE2. Esse mesmo comportamento foi observado para os flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante ABTS e FRAP (Tabela 12), destacando-se o ensaio FOE6 como a maior quantificação obtida, enquanto FOE2 revelou dados significativamente menores em CFT e FRAP. A capacidade antioxidante ABTS foi menos expressiva em FOE11 (202,61 mmol TE kg⁻¹), extraída com a combinação de fatores concentração de etanol mediana (50%), razão soluto: solvente máxima (1:30) e mínima temperatura (10 °C).

Pode-se ressaltar que a temperatura de 25 °C foi mais eficiente na dissolução dos compostos presentes nos extratos etanolicos da folha do guabijuzeiro. De forma similar, em folhas de *Moringa oleífera* L. (acácia branca), Lin *et al.* (2021) mencionaram que uma temperatura de 30 °C foi a mais adequada para extração de compostos fenólicos, e valores acima (40 a 70 °C) reduziram seu conteúdo. Temperaturas mais brandas podem ser interessantes para evitar a degradação de compostos que já estão solubilizados na matriz vegetal (Gullón *et al.*, 2017).

A menor proporção de soluto: solvente (1:10) sugeriu um consumo menor de etanol na extração, sendo um fator importante do ponto de vista industrial pois além de reduzir custos com solventes, a eficiência de extração dos compostos é maximizada (Dahmoune *et al.*, 2015). A estrutura química dos compostos fenólicos é diferente para cada matéria prima avaliada e

suas interações tem variações que dependem da condição de extração aplicada, requerendo assim exigências distintas (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2015).

No método DPPH constatou-se maior capacidade antioxidante em FOE12 (682,92 mmol TE kg⁻¹; p <0,05) que utilizou a concentração de etanol mediana (50%), razão soluto: solvente e temperatura máxima (1:30; 40 °C) na extração. Já a aplicação de etanol 50% em conjunto da razão soluto: solvente mínima (1:10) e temperatura de 40 °C indicou menor potencial antioxidante (ensaio FOE10), sugerindo que as diferenças nos teores entre mínimo e máximo foram afetadas pela proporção soluto: solvente. Um comportamento similar foi documentado em folhas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) por Gullón *et al.* (2017) os quais destacaram que a maior atividade antioxidante DPPH registrada (206 mg TE g⁻¹) foi favorecida por concentrações de etanol 50%, sob temperatura de 50 °C na extração.

Tabela 12 - Compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante dos extratos das folhas de guabijú com etanol (FOE)

Ensaio	CFT (mg AGE kg ⁻¹)	FT (mg CTE kg ⁻¹)	ABTS (mmol TE kg ⁻¹)	DPPH (mmol TE kg ⁻¹)	FRAP (mmol TE kg ⁻¹)
FOE1	21180,23 ^k ± 0,00	10860,93 ⁱ ± 199,49	595,98 ⁱ ± 3,13	299,31 ^g ± 4,78	394,89 ^h ± 8,53
FOE2	12623,76 ^l ± 0,00	10308,51 ^j ± 358,44	495,83 ^j ± 11,24	222,10 ⁱ ± 8,59	227,29 ^j ± 6,22
FOE3	29542,86 ^h ± 0,00	14121,74 ^e ± 347,83	838,44 ^h ± 8,66	355,04 ^f ± 6,05	565,78 ^d ± 4,79
FOE4	22763,16 ^j ± 651,15	12734,55 ^{fg} ± 171,62	600,35 ⁱ ± 8,56	271,23 ^h ± 2,37	253,51 ⁱ ± 2,82
FOE5	28345,49 ^{hi} ± 326,11	10188,38 ^j ± 473,40	596,73 ⁱ ± 9,16	116,22 ^k ± 2,78	456,40 ^f ± 13,52
FOE6	64243,28 ^a ± 1697,31	29582,44 ^a ± 298,24	2698,64 ^a ± 28,85	359,91 ^f ± 8,01	1259,88 ^a ± 8,49
FOE7	55417,26 ^b ± 648,17	19939,73 ^c ± 258,29	1070,26 ^c ± 2,70	451,06 ^d ± 7,15	919,00 ^b ± 1,41
FOE8	28053,57 ⁱ ± 618,59	16573,91 ^d ± 398,48	1270,65 ^c ± 6,25	596,31 ^b ± 18,04	471,05 ^f ± 10,03
FOE9	27867,84 ⁱ ± 0,00	11476,52 ^h ± 150,36	864,32 ^g ± 18,32	156,88 ⁱ ± 4,73	429,16 ^g ± 19,09
FOE10	37057,14 ^f ± 0,00	13118,84 ^f ± 478,92	827,83 ^h ± 8,79	69,26 ^l ± 5,01	518,29 ^e ± 9,38
FOE11	35565,03 ^g ± 0,00	16664,50 ^d ± 0,00	202,61 ^l ± 9,41	491,01 ^c ± 12,57	615,59 ^c ± 9,98
FOE12	41457,14 ^e ± 989,74	23182,61 ^b ± 656,51	239,01 ^k ± 2,41	682,92 ^a ± 13,01	902,00 ^b ± 21,44
FOE13	51334,59 ^c ± 1302,29	10503,43 ^{ij} ± 171,62	1164,63 ^d ± 5,99	401,02 ^e ± 15,08	626,94 ^c ± 6,04
FOE14	52290,40 ^c ± 649,01	12521,74 ^g ± 0,00	1030,73 ^f ± 17,22	416,27 ^e ± 9,85	622,70 ^c ± 7,49
FOE15	49240,92 ^d ± 653,30	11800,83 ^h ± 99,41	1370,66 ^b ± 20,89	409,09 ^e ± 10,72	629,95 ^c ± 30,49

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; TE: equivalentes de Trolox. Medias ± desvios padrão das amostras; ^{a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l} letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Fisher (p<0,05).

No ensaio FOE6 evidenciaram-se os maiores conteúdos de CFT, FT, ABTS e FRAP avaliados nos extratos etanólicos com folhas do guabijuzeiro, com exceção ao DPPH. No menor conteúdo dos parâmetros analisados, diferentes combinações influenciaram o processo de extração, a destacar a temperatura mínima (10 °C) e a razão soluto: solvente 1:20, como visualizado principalmente em FOE2. Não foram encontrados estudos que retratem diferentes condições de extração para as folhas do guabijuzeiro, em termos de quantificação de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante.

3.3.3.2 Extração de compostos das folhas do guabijuzeiro usando acetona como solvente

Os extratos elaborados com a folha do guabijuzeiro em soluções aquosas de acetona podem ser visualizados na Figura 16. Os dados obtidos para os parâmetros compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP da avaliação dos ensaios foram dispostos na Tabela 13.

Figura 16 - Extratos das folhas do guabijuzeiro com acetona obtidos por meio do planejamento Box-Behnken



Fonte: A autora (2025).

Os compostos fenólicos totais (CFT) extraídos com soluções aquosas de acetona indicaram teores significativos de 43386,94 (FOA5) a 102289,92 (FOA8) mg AGE kg⁻¹. A combinação dos fatores máxima concentração de solvente (70%), máxima razão soluto: solvente (1:30) e temperatura mediana (25 °C) demonstraram a melhor extração. Essa mesma condição foi favorável para a maior capacidade antioxidante DPPH e FRAP (942,38; 1374,01 mmol TE kg⁻¹). Os fatores empregados da mínima concentração do solvente (30%), mínima razão soluto: solvente (1:10) em conjunto da temperatura mediana (25 °C) resultaram em menor conteúdo de CFT, assim como no potencial antioxidante FRAP e ABTS (ensaio FOA5).

Em dados reportados para as folhas de *Eucalyptus camaldulensis* (eucalipto), Nasr, Khan e Zhu (2019) documentaram que o maior teor de compostos fenólicos (46,56 mg g⁻¹ peso

seco) foi detectado na extração com solução de acetona 70%, assim como maior atividade antioxidante no ensaio de fosfomolibdênio. A acetona é um solvente com estrutura molecular capaz de atuar como aceptor de ligações de hidrogênio e com menor capacidade de formar ligações de hidrogênio. Dessa forma, a acetona tem maior potencial na extração de compostos fenólicos não glicosídicos se comparada ao etanol, o que pode ter favorecido ao maior teor de CFT observado nas amostras com maior concentração do solvente (70%), como FOA8. Além do mais, como possui menor polaridade que a água outros compostos de baixa polaridade também podem ser extraídos (Sim; Ong; Nyam, 2019; Nasr; Khan; Zhu, 2019).

Tabela 13 - Compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante dos extratos das folhas de guabijú com acetona (FOA)

Ensaio	CFT (mg AGE kg ⁻¹)	FT (mg CTE kg ⁻¹)	ABTS (μmol TE kg ⁻¹)	DPPH (μmol TE kg ⁻¹)	FRAP (μmol TE kg ⁻¹)
FOA1	60142,38 ⁱ ± 328,82	16212,62 ^g ± 173,34	985,57 ^c ± 8,25	462,53 ^g ± 1,09	774,86 ^h ± 8,31
FOA2	70509,52 ^g ± 329,91	12962,32 ⁱ ± 0,00	877,76 ^{de} ± 4,14	535,88 ^f ± 7,04	983,70 ^e ± 4,57
FOA3	66636,71 ^h ± 327,73	19268,64 ^c ± 299,23	1195,86 ^a ± 6,77	603,62 ^e ± 4,66	763,15 ^{hi} ± 5,10
FOA4	74128,57 ^f ± 0,00	11339,13 ^k ± 502,04	731,88 ^g ± 6,77	209,45 ^l ± 5,49	758,16 ^{hi} ± 8,80
FOA5	43386,94 ^m ± 655,46	11937,81 ^j ± 131,95	290,17 ^j ± 9,42	261,24 ^k ± 5,52	553,76 ^m ± 20,97
FOA6	52438,10 ^k ± 0,00	13843,48 ^h ± 50,20	553,59 ^h ± 2,35	249,38 ^k ± 1,10	738,40 ^{ij} ± 12,88
FOA7	75192,86 ^e ± 0,00	20878,59 ^b ± 130,44	1217,73 ^a ± 57,63	796,87 ^c ± 2,97	721,05 ^j ± 5,71
FOA8	102289,92 ^a ± 0,00	18380,22 ^d ± 147,66	1143,38 ^b ± 16,10	942,38 ^a ± 1,72	1374,01 ^a ± 39,39
FOA9	51504,51 ^l ± 657,64	12613,03 ⁱ ± 86,67	417,39 ⁱ ± 12,83	299,50 ^j ± 5,08	622,42 ^l ± 9,48
FOA10	56250,59 ^j ± 0,00	13537,48 ^h ± 50,04	526,99 ^h ± 3,40	432,18 ^h ± 1,10	680,13 ^k ± 9,32
FOA11	78095,24 ^d ± 0,00	16760,44 ^f ± 0,00	855,14 ^{ef} ± 3,40	655,59 ^d ± 6,49	1125,21 ^c ± 21,21
FOA12	91201,14 ^b ± 852,88	21336,79 ^a ± 149,86	1129,44 ^b ± 16,35	857,42 ± 27,78 ^b	914,57 ± 18,06 ^f
FOA13	79260,84 ^c ± 0,00	17270,17 ^e ± 449,59	819,31 ^f ± 64,65	467,47 ^g ± 22,23	1165,37 ^b ± 1,71
FOA14	75779,65 ^e ± 855,76	18391,59 ^d ± 260,45	823,80 ^f ± 3,98	418,39 ^h ± 3,23	1092,50 ^d ± 60
FOA15	59933,99 ⁱ ± 565,77	16220,40 ^g ± 604,72	911,99 ^d ± 4,10	400,80 ⁱ ± 1,09	885,09 ^g ± 4,53

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; TE: equivalentes de Trolox. Medias ± desvios padrão das amostras; ^{a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m} letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Fisher (p<0,05).

Nos flavonoides totais (FT), o ensaio que exibiu maior quantidade do composto, foi FOA12 (21336,79 mg CTE kg⁻¹; p<0,05), extraído com a combinação da concentração de

acetona 50%, razão soluto: solvente 1:30 e temperatura de 40 °C. Já a combinação de acetona 70% com razão soluto: solvente mediana (1:20) e temperatura máxima (40 °C) provocou índices significativamente menores desse composto, assim como no potencial antioxidante por DPPH (ensaio FOA4). Pode-se presumir que os flavonoides da folha de guabijuzeiro extraídos com acetona são mais solúveis em menores concentrações do solvente, indicando compostos de baixa polaridade. A capacidade antioxidante no método ABTS, não demonstrou diferenças significativas entre os ensaios FOA3 e FOA7 (1195,86; 1217,73 mmol TE kg⁻¹), sugerindo dentre as combinações que a baixa concentração do solvente (30%) resultou na maior atividade observada.

A extração de compostos com soluções de acetona foi afetada principalmente pela menor concentração de solvente (30%), menor razão soluto: solvente (1:10) e temperatura mediana (25 °C), como constatado na amostra FOA5, um dos ensaios com os menores índices de extração para todos os parâmetros avaliados.

Em uma análise comparativa dos extratos das folhas de guabijuzeiro elaboradas com acetona e etanol, observou-se dados significativamente mais expressivos para os compostos fenólicos e atividade antioxidante por DPPH e FRAP em soluções elaboradas com acetona. Já as extrações com soluções de etanol indicaram maior concentrações para os flavonoides e atividade antioxidante ABTS. A mesma matriz vegetal avaliada exibiu comportamento distinto nas combinações de extração empregadas, principalmente em relação ao uso de solventes com características químicas diferentes. Dessa forma, a extração de compostos bioativos sofrem influência pela polaridade dos solventes e pela solubilidade das estruturas dos constituintes da amostra no solvente utilizado. Diversos solventes são utilizados na extração de compostos em folhas e partes de plantas, como metanol, acetona e etanol, porém as misturas com águas são geralmente as escolhidas por atuarem com maior eficiência nos processos extrativos, como relatado por Santos *et al.* (2020) em folhas de *Eugenia punicifolia* (cerejeira-da-praia); Sim, Ong e Nyam (2019) em folhas de *Hibiscus cannabinus* L. (kenaf) e Irakli, Chatzopoulos e Ekateriniadou (2018) em folhas de *Olea europaea* L. (oliveira).

Há um aumento cada vez maior na gama de materiais vegetais explorados, devido a importância que os compostos fenólicos demonstram em relação a atividade antioxidante, atividade biológica que podem ser empregados na obtenção de produtos com valor agregado, além do apelo natural (Santos *et al.*, 2020). Assim, considerando a abundância das folhas de guabijuzeiro, pode-se salientar que é uma matéria prima em ascensão para o fornecimento de compostos antioxidantes.

3.3.4 Otimização da extração das folhas do guabijuzeiro

Nas extrações realizadas utilizando soluções de etanol, os modelos para compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante ABTS propostos na análise de regressão múltipla foram significativos ($p < 0,05$) e não apresentaram falta de ajuste significativo ($p \text{ lack-of-fit} > 0,05$) conforme disposto na Tabela 14. Por outro lado, os resultados obtidos para atividade antioxidante DPPH e FRAP demonstraram falta de ajuste e não puderam ser descritos utilizando o modelo.

Tabela 14 - Efeitos das variáveis independentes (X_1 : concentração de solvente etanol, X_2 : razão soluto: solvente e X_3 : temperatura) sobre a concentração dos compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante ABTS

Variáveis resposta	Fatores	Coef. de Regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor	-95% de confiança	+95% de confiança
CFT (mg AGE kg ⁻¹)	Constante	53114,96	2092,22	25,39	0,00	48453,20	57776,72
	X_1	-10719,80	2259,86	-4,74	0,00	-15755,08	-5684,52
	X_3	4197,93	1539,83	2,73	0,02	766,96	7628,90
	X_3^2	-19247,91	2259,86	-8,52	0,00	-24283,19	-14212,63
	$X_1.X_2$	-15815,37	2177,65	-7,26	0,00	-20667,49	-10963,3
	R^2 ajustado	0,91					
	$P \text{ lack of fit}$	0,10					
FT (mg CTE kg ⁻¹)	Constante	11835,96	1450,44	8,16	0,00	8675,73	14996,19
	X_2	5754,91	1986,09	2,90	0,01	1427,59	10082,22
	$X_1.X_2^2$	-5689,97	1918,75	-2,97	0,01	-9870,56	-1509,38
	R^2 ajustado	0,52					
	$P \text{ lack of fit}$	0,06					
ABTS ($\mu\text{mol TE kg}^{-1}$)	Constante	1314613,73	160736,62	8,18	0,00	964398,72	1664828,75
	X_3^2	-731567,33	220097,68	-3,32	0,01	-1211118,98	-252015,67
	$X_1.X_2$	-475381,21	212634,56	-2,24	0,05	-938672,12	-12090,29
	R^2 ajustado	0,50					
	$P \text{ lack of fit}$	0,13					

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; TE: equivalentes de Trolox.

A variável X_1 (concentração de etanol) apresentou efeito linear negativo apenas para os compostos fenólicos, indicando que o máximo de solvente afetou a extração desse parâmetro. Também foi observada uma interação linear negativa de X_1 (concentração de etanol) com X_2 (razão soluto: solvente) destacando que o máximo aplicado de cada variável afetou o conteúdo de CFT e atividade antioxidante ABTS. Do mesmo modo houve uma correlação de X_1 com X_2^2 com efeito negativo quadrático apenas para os flavonoides, enfatizando que a extração desse

composto apresentou maior teor até proporção específica da razão soluto: solvente (1:20) e seu aumento proporcionou redução do FT.

A temperatura (X_3) foi linear e positiva apenas em CFT, enquanto seu efeito quadrático negativo (X_3^2) foi evidenciado em CFT e no ABTS, sugerindo que essa variável foi eficiente na extração até determinada temperatura e seu aumento provocou redução no conteúdo dos parâmetros analisados. No modelo obtido para os flavonoides totais também constatou-se um efeito positivo para o fator razão soluto: solvente (X_2), indicando que o máximo dessa variável obteve maior conteúdo na extração.

De forma paralela ao observado nas extrações com folhas de guabijuzeiro, Gullón *et al.* (2017) retrataram na avaliação de extratos etanolicos com folhas de eucalipto, que o teor de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante ABTS foram afetadas sob efeito linear e quadrático pela concentração de etanol, destacando que valores acima de 50% afetaram seu conteúdo. Por outro lado, os autores indicaram que o aumento da temperatura favoreceu maior atividade antioxidante, mas com valor fixo na concentração de etanol.

Em síntese, a polaridade do solvente e dos compostos presentes na matriz vegetal afetam os conteúdos extraídos, sugerindo que misturas de etanol e água são mais eficientes na extração de compostos. Como a água é um solvente fortemente polar e diversas moléculas de compostos fenólicos possuem a mesma característica, maior teor de fenóis pode ser obtido com base no princípio de “semelhante dissolve semelhante”. A aplicação de altas temperaturas potencializa o enfraquecimento dos tecidos vegetais, difundindo melhor o solvente e favorecendo a extração de compostos. Porém a depender das estruturas vegetais, faixas elevadas de temperatura podem causar degradação dos constituintes e reduzir a presença de compostos na amostra (Dahmoune *et al.*, 2015; Gullón *et al.*, 2017).

Em dados obtidos para as folhas de acácia branca, Lin *et al.* (2021) documentaram efeitos interativos entre as variáveis investigadas, mencionando que em uma baixa temperatura de extração, o conteúdo dos compostos fenólicos aumentou à medida que a razão líquido-sólido aumentou. Embora tenham sido observadas correlações entre as variáveis, a relação líquido-sólido proporcionou efeito positivo no rendimento dos compostos fenólicos e atividade antioxidante, a destacar o ABTS e FRAP. A proporção líquido-sólido influenciou na recuperação de compostos fenólicos de folhas de *Myrtus communis* L. (murta), sendo que com aumento da razão líquido-sólido, ocorreu um declínio no conteúdo dos compostos por ocasionar diminuição na transferência de massa para o solvente (Dahmoune *et al.*, 2015).

Para os ensaios realizados com soluções de acetona, os modelos para compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP

propostos na análise de regressão múltipla foram significativos ($p < 0,05$) e não apresentaram falta de ajuste significativo ($p \text{ lack-of-fit} > 0,05$), de acordo com a Tabela 15.

Tabela 15 - Efeitos das variáveis independentes (X_1 : concentração de solvente acetona, X_2 : razão soluto: solvente e X_3 : temperatura) sobre a concentração de compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP

Variáveis resposta	Fatores	Coef. de Regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor	-95% de confiança	+95% de confiança
CFT (mg AG kg ⁻¹)	Constante	69116,73	1730,71	39,94	0,00	65345,83	72887,63
	X_1	6750,90	2369,88	2,85	0,01	1587,38	11914,42
	X_2	17899,88	2369,88	7,55	0,00	12736,36	23063,40
	R^2 ajustado	0,82					
	$P \text{ lack of fit}$	0,92					
FT (mg CAT kg ⁻¹)	Constante	16063,52	579,19	27,73	0,00	14812,24	17314,79
	X_2	3178,03	793,09	4,01	0,00	1464,66	4891,41
	R^2 ajustado	0,52					
	$P \text{ lack of fit}$	0,18					
ABTS ($\mu\text{mol TE kg}^{-1}$)	Constante	831999,01	41004,51	20,29	0,00	743414,15	920583,87
	X_2	319692,22	56147,74	5,69	0,0001	198392,41	440992,03
	R^2 ajustado	0,69					
	$P \text{ lack of fit}$	0,08					
DPPH ($\mu\text{mol TE kg}^{-1}$)	Constante	442592,96	36491,42	12,13	0,00	362275,89	522910,03
	X_2	251245,02	34134,60	7,36	0,00	176115,28	326374,75
	X_2^2	119228,30	49967,93	2,39	0,04	9249,63	229206,98
	$X_1.X_3$	-116881,27	48273,61	-2,42	0,03	-223130,77	-10631,78
	R^2 ajustado	0,82					
	$P \text{ lack of fit}$	0,10					
FRAP ($\mu\text{mol TE kg}^{-1}$)	Constante	876825,00	41373,05	21,19	0,00	786680,86	966969,14
	X_1	130180,24	56652,39	2,30	0,04	6745,29	253615,19
	X_2	192515,50	56652,39	3,40	0,01	69080,55	315950,45
	R^2 ajustado	0,51					
	$P \text{ lack of fit}$	0,52					

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; TE: equivalentes de Trolox.

A variável concentração de solvente (X_1) exibiu coeficiente linear positivo para os compostos fenólicos e atividade antioxidante FRAP, da mesma forma que a razão soluto: solvente (X_2) indicou efeito linear positivo em todos os parâmetros avaliados no modelo (compostos fenólicos, flavonoides, ABTS, DPPH e FRAP), destacando que os máximos aplicados dessas variáveis resultaram em maior conteúdo dos parâmetros analisados. Esses dados podem ser contrastados com os resultados obtidos na Tabela 13 a qual indica que os maiores teores de CFT, FRAP e DPPH foram extraídos com combinações que continham o máximo de acetona (70%) ou máximo da proporção soluto: solvente (1:30), (ensaios FOA8;

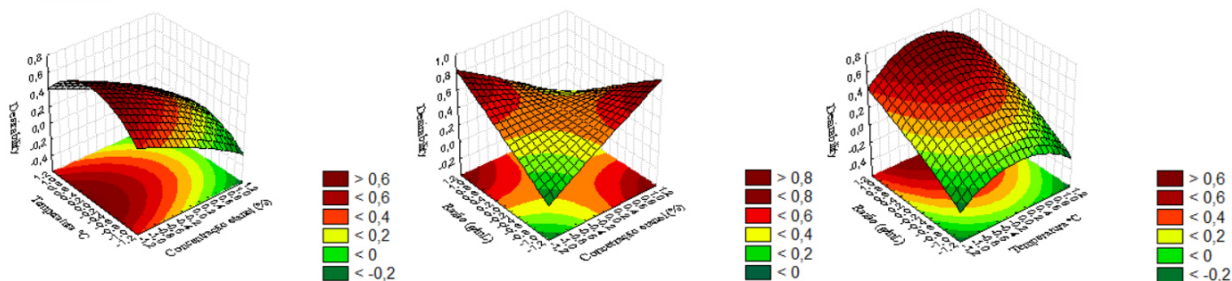
FOA7 e FOA 12). Evidenciou-se também a interação linear negativa da concentração de solvente (X_1) com a temperatura (X_3) para o DPPH, demonstrando que condições mínimas desses dois fatores conjuntos afetaram o potencial antioxidante nos extratos.

Para maximizar os teores dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante ABTS com solvente etanol, uma otimização da extração foi sugerida indicando a combinação dos fatores concentração de solvente 30%, razão soluto solvente 1:30 e temperatura de 25 °C. A otimização com solução de acetona para maximizar os parâmetros dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP resultou na aplicação das condições concentração de solvente 70%, razão soluto solvente 1:30 e temperatura de 40 °C.

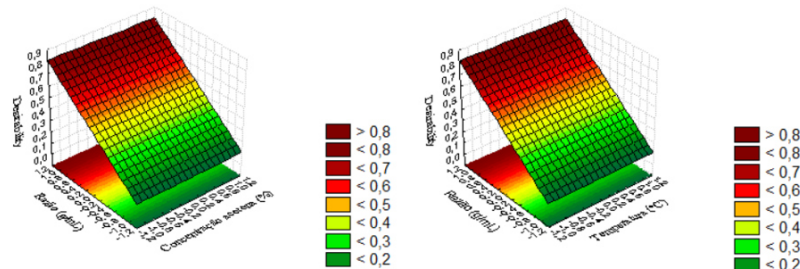
Na superfície de resposta (Figura 17) foram demonstrados o efeito das variáveis independentes: concentração de solvente (etanol e acetona), razão soluto: solvente e temperatura sobre a concentração de compostos bioativos nos extratos das folhas do guabijuzeiro no ponto ótimo.

Figura 17 - Superfície de resposta exibindo o efeito das variáveis independentes no ponto ótimo do extrato das folhas de guabijuzeiro com etanol (1) e acetona (2)

1 - Etanol



2 - Acetona



Fonte: a autora (2025).

Nota: o gráfico de superfície de resposta da variável temperatura x concentração de solvente acetona não foi exibido, por não demonstrar influência na extração.

Os valores preditos e obtidos experimentalmente nas extrações com solução de etanol e acetona para as folhas do guabijuzeiro foram apresentados na Tabela 16. Na otimização extraída com etanol, apenas o valor experimental obtido para os compostos fenólicos ficou próximo ao predito ($62802,20 \times 62804,73 \text{ mg AGE kg}^{-1}$). Os parâmetros de flavonoides totais

e ABTS não exibiram dados experimentais satisfatórios e para fins preditivos não podem ser considerados no modelo.

Tabela 16 - Valores preditos e experimentais do ponto ótimo das soluções de etanol e acetona com as folhas do guabijuzeiro

Solvente	Parâmetros	Valor Predito	-95% de confiança	+95% de confiança	Experimental
Etanol	ABTS (mmol TE kg ⁻¹)	1789,99	1328,20	2251,77	755,88
	CFT (mg AGE kg ⁻¹)	62804,73	58598,44	67011,02	62802,20
	FT (mg CTE kg ⁻¹)	21562,89	18804,62	24321,17	15083,19
Acetona	ABTS (mmol TE kg ⁻¹)	1151,69	1053,24	1250,14	1070,88
	FRAP (mmol TE kg ⁻¹)	1069,34	795,40	1343,27	773,24
	DPPH (mmol TE kg ⁻¹)	757,42	692,33	822,51	698,54
	CFT (mg AGE kg ⁻¹)	87016,61	67611,69	106421,52	65154,06
	FT (mg CTE kg ⁻¹)	19241,55	17196,26	21286,84	16760,44

Fonte: a autora (2025).

Nota: AGE: equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; CFT: compostos fenólicos totais; FT: flavonoides totais; TE: equivalentes de Trolox.

Para o ponto ótimo da solução com folhas extraída com acetona, verificou-se que os valores experimentais da atividade antioxidante ABTS, DPPH e os flavonoides exibiram valores próximos do predito ou de seu intervalo de confiança (-95% a +95%). No entanto os dados para FRAP e compostos fenólicos não foram satisfatórios e não podem ser descritos utilizando o modelo.

3.3.5 Perfil fenólico dos pontos ótimos

Dos extratos obtidos na otimização com solvente etanol e acetona para frutos e folhas de guabijuzeiro foi realizada a quantificação de compostos fenólicos individuais. Na tabela 17 foi demonstrado o perfil identificado e quantificado.

Tabela 17 - Perfil fenólico dos extratos otimizados das folhas e frutos de guabijuzeiro com etanol (FOE; GBE) e acetona (FOA; GBA)

Composto (mg kg ⁻¹)	Amostras			
	FOE	FOA	GBE	GBA
Ácido gálico	280,91 ^A ± 1,03	225,10 ^B ± 0,86	291,76 ^b ± 2,61	328,10 ^a ± 3,09
Catequina	844,94 ^A ± 14,57	784,81 ^B ± 11,14	1704,54 ^a ± 25,10	761,97 ^b ± 20,86
Ácido cafeíco	ND	ND	64,05 ^b ± 0,73	78,31 ^a ± 0,18
Epigallocatequina	3520,51 ^A ± 6,87	3234,68 ^B ± 75,47	148,85 ^a ± 3,72	ND
Ácido Transferrulico	124,79 ^B ± 0,77	136,55 ^A ± 0,47	ND	ND
Rutina	208,10 ^B ± 0,61	246,66 ^A ± 3,38	58,69 ^a ± 5,16	67,31 ^a ± 2,54
Quercetina	34,67 ^A ± 1,48	30,70 ^B ± 0,05	ND	ND
Furfural	45,52 ^A ± 0,10	27,10 ^B ± 0,31	ND	ND
Ácido siríngico	368,67 ^B ± 1,36	615,82 ^A ± 1,33	80,39 ^b ± 0,92	84,88 ^a ± 0,20
Ácido elágico	348,08 ^A ± 1,85	345,50 ^A ± 0,90	278,29 ^b ± 12,81	498,78 ^a ± 11,41
Avicularina	228,61 ^B ± 1,00	247,84 ^A ± 3,00	ND	ND
Quercitrina	222,44 ^B ± 0,97	660,55 ^A ± 3,40	39,72 ^b ± 0,10	49,47 ^a ± 0,71
Soma total de compostos	6227,25	6555,32	2666,27	1868,82

Fonte: a autora (2025).

Nota: FOE: folha etanol; FOA: folha acetona; GBE: guabijú etanol; GBA: guabijú acetona. ND: não detectado.

Medias ± desvios padrão das amostras; ^{A,B, a,b} letras sobrescritas diferentes (maiúscula para as folhas e minúscula para os frutos) na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de t (p<0,05).

No perfil fenólico dos extratos otimizados das folhas do guabijuzeiro, foram identificados onze compostos, sendo o ácido gálico, catequina, epigallocatequina, quercetina e furfural em maior conteúdo no extrato com etanol, enquanto o ácido transferrulico, rutina, ácido siríngico, avicularina e quercitrina com maior teor no extrato otimizado com acetona. O ácido elágico não demonstrou diferença significativa em ambos extratos analisados. A soma total dos compostos identificados indicou que utilização do solvente acetona promoveu maior eficiência na extração (6555,32 mg kg⁻¹).

Extratos elaborados com metanol e folhas do guabijuzeiro foram avaliados por Almeida *et al.* (2017), os quais identificaram na composição a quercetina, quercitrina, catequina e epicatequina, semelhante aos dados evidenciados nesse estudo. Em extratos aquosos e etanólicos obtidos das folhas do araçazeiro, Zandoná *et al.* (2020) quantificaram diferentes ácidos fenólicos e flavonoides, sendo em maior concentração o ácido clorogênico e a catequina (1526,94; 1732,05 µg g⁻¹). Os autores enfatizaram que um maior número de compostos foi extraído com a mistura de água: etanol (1:1). Nesse mesmo contexto, Bagatini *et al.* (2023) reportaram que extrações realizadas com a mistura água: etanol foram mais eficientes na obtenção de compostos fenólicos da folha da pitangueira. Dentre os compostos, foram encontrados ácido gálico, siríngico, clorogênico e miricetina. Na investigação de compostos de

diferentes ervas Sepahpour *et al.* (2018) documentaram que os extratos elaborados com acetona 80% resultaram em maior conteúdo de ácido cafeíco, ácido *p*-cumárico e luteolina-7-*o*-glicosídeo (0,3; 0,5 e 0,6 mg g⁻¹, respectivamente) para folhas de *Cymbopogon citratus* (capim limão) e rutina (0,8 mg g⁻¹) em folhas de *Murraya koenigii* (curry).

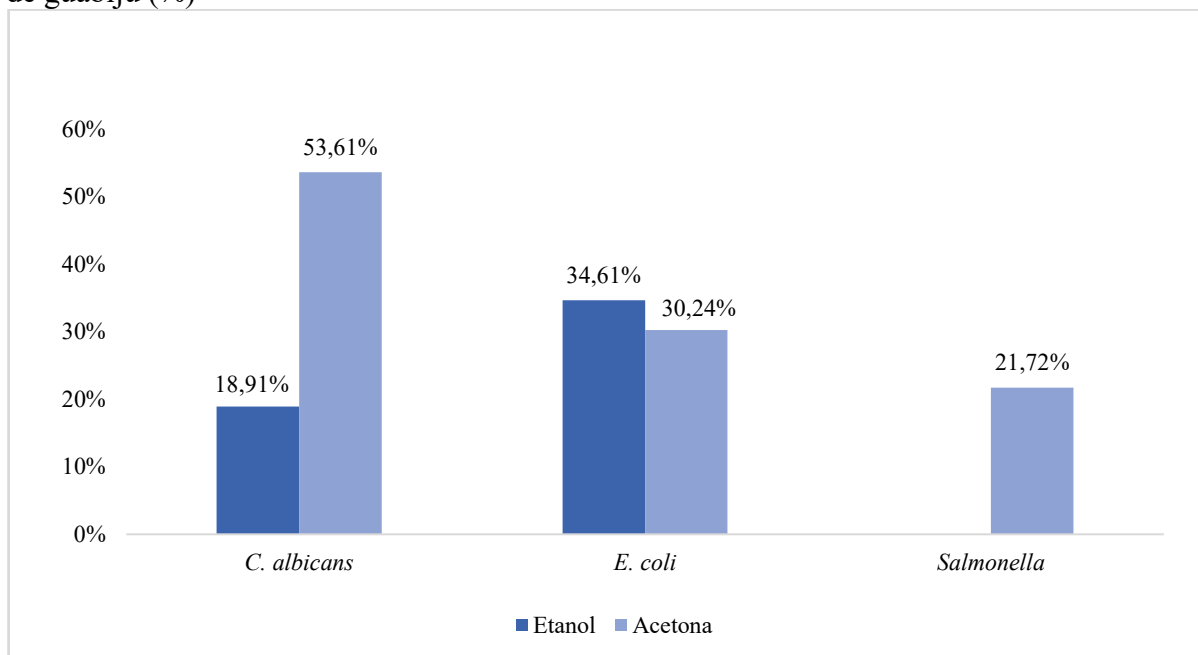
Para os extratos otimizados com os frutos de guabijú, foram quantificados oito compostos, sendo que no extrato com etanol foi evidenciado maior predominância de catequina e epigallocatequina, enquanto o extrato com acetona revelou os maiores conteúdos significativos para o ácido gálico, ácido cafeíco, ácido siringico, ácido elágico e quercitrina. A rutina não indicou diferenças nos teores encontrados. No entanto, no somatório total de compostos, o teor mais relevante foi constatado no extrato com etanol (2666,27 mg kg⁻¹).

Seraglio *et al.* (2018) identificaram diversos compostos fenólicos em extratos de guabijú semi-maduro e maduro reconstituídos em metanol, indicando como constituintes majoritários a quercetina, ácido gálico, isorquercitrina e kaempferol. Os autores destacaram que uma maior concentração de compostos foi verificada no guabijú (8024,47 a 21303,91 µg 100 g⁻¹, fruto seco), quando comparado a *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba) e o *Syzygium cumini* (jambolão). Della Betta *et al.* (2018) reportaram maior conteúdo de ácido gálico (148,2 a 170,1 mg kg⁻¹, fruto seco) em extratos metanólicos de guabijú, com dados inferiores ao evidenciado no presente estudo (291,76 e 328,10 mg kg⁻¹, peso seco). Outros compostos de relevância constatados foram a isoquercitrina, epigallocatequina galato e catequina (Della Betta *et al.*, 2018).

3.3.6 Atividade antimicrobiana

Os resultados da atividade antimicrobiana para os extratos otimizados com os frutos de guabijú foram expressos em percentual de inibição, os quais foram demonstrados na Figura 18. Constatou-se que houve capacidade inibitória frente aos microrganismos *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* spp. *enterica* com emprego da concentração de 50 mg mL⁻¹, enquanto para *Candida albicans* foram aplicados 100 mg mL⁻¹ dos extratos, tanto de acetona como etanol. O extrato dos frutos desenvolvido com acetona exibiu maior atividade contra *C. albicans* (53,61%) e menor porcentagem em relação a *E. coli* (30,24%). Salienta-se que o extrato etanólico não inibiu a bactéria *Salmonella*, sendo verificada atividade apenas no extrato elaborado com acetona (21,72%). Para o microrganismo *Staphylococcus aureus* não foi evidenciado capacidade inibitória em ambos extratos de frutos de guabijú.

Figura 18 – Atividade antimicrobiana dos extratos otimizados de etanol e acetona com frutos de guabijú (%)



Fonte: A autora (2025).

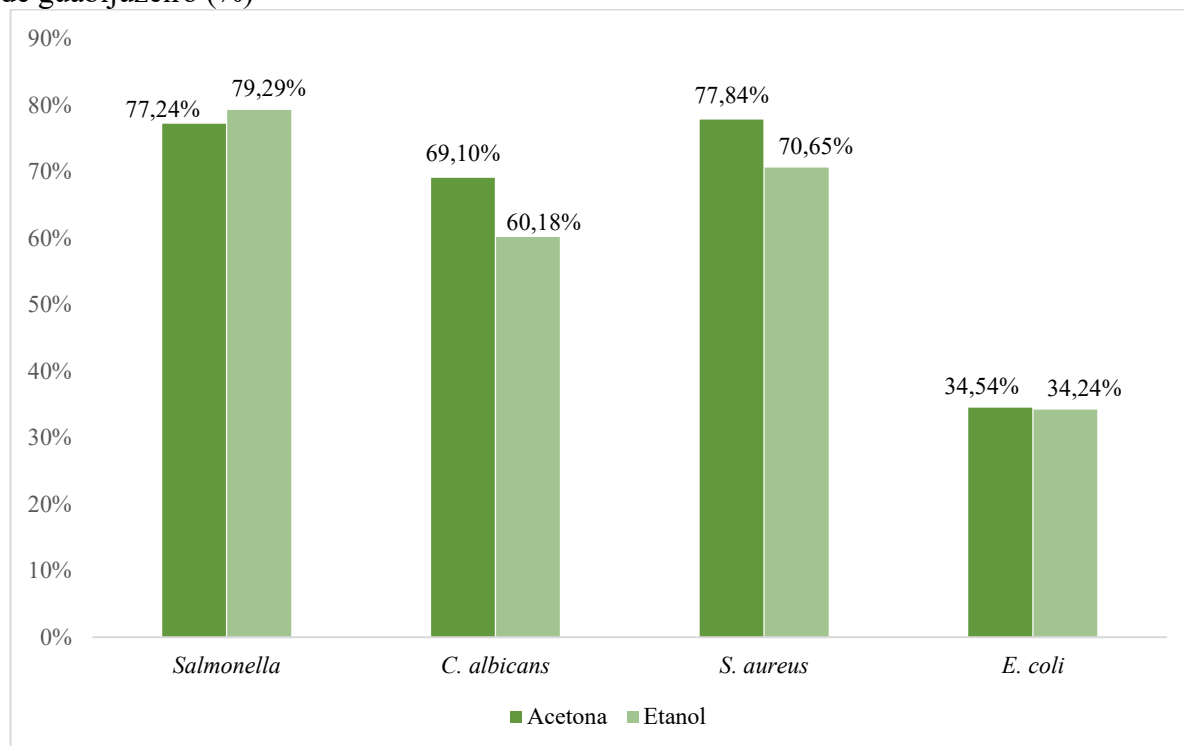
De forma oposta ao observado para os extratos dos frutos de guabijú, Zola *et al.* (2019) reportaram em extratos da polpa de grumixama elaborados com metanol, acetona e etanol que houve a inibição de *S. aureus*, enquanto *E. coli* não demonstrou sensibilidade ao extrato aplicado. A possível ação antimicrobiana foi atribuída aos diferentes compostos fenólicos identificados no extrato, como derivados da delfidina e cianidina. Por outro lado, a ausência de inibição pode ser devido a presença de compostos que possuam características de carga e peso molecular que dificultem sua difusão no meio empregado. Em extratos otimizados do bagaço da maçã, Zardo *et al.* (2020) mencionaram que acetona promoveu maior percentual de inibição contra duas cepas diferentes de *S. aureus*, além de *Salmonella* e *E. coli* (21,84%; 65,51%; 36,34% e 23,17%, respectivamente), associando esses dados ao maior número de compostos fenólicos extraído com a solução de acetona e seus possíveis efeitos sinérgicos contra os microrganismos.

Os efeitos observados no presente estudo para ambos extratos dos frutos, podem ser relacionados a presença dos polifenóis ácido gálico, elágico, cafeico, catequina e rutina, pois já foram relatados por exibir efeitos antimicrobianos contra diferentes bactérias patogênicas, como a *E. coli* (Singh *et al.*, 2016). Embora as bactérias Gram negativas, sejam descritas por maior resistência a ação antimicrobianos devido à presença de uma membrana composta por uma dupla camada de fosfolipídios, a qual é ligada à membrana interna por lipopolissacarídeos, presume-se que ocorreu uma atividade de interação dos compostos fenólicos com os

constituintes da membrana, provocando sua ruptura e vazamento do conteúdo celular (Gullón *et al.*, 2017; Bagatini *et al.*, 2023).

Os extratos otimizados das folhas do guabijuzeiro elaborados com os solventes acetona e etanol, demonstraram atividade inibitória para todos os microrganismos avaliados: *Salmonella enterica* spp. *enterica*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Observou-se menor porcentagem de inibição para *E. coli* (34,24% e 34,54%) enquanto que para os demais microrganismos os dados foram superiores a 50%, como demonstrado na Figura 19.

Figura 19 - Atividade antimicrobiana dos extratos otimizados de etanol e acetona com folhas de guabijuzeiro (%)



Fonte: A autora (2025).

A atividade inibitória máxima observada (Figura 19) de todos os microrganismos avaliados foi obtida com a utilização de diferentes concentrações dos extratos otimizados, sendo 50 mg mL⁻¹ para *C. albicans* e *S. aureus*, 100 mg mL⁻¹ para *E. coli* e *Salmonella* (frente o extrato com etanol) e 150 mg mL⁻¹ para *Salmonella* frente ao extrato com acetona. Gullón *et al.* (2017) evidenciaram nos extratos otimizados de etanol com folhas de eucalipto, atividade antimicrobiana contra todas as cepas avaliadas, entre elas *E. coli*, *Salmonella* spp. e *S. aureus*, indicando maior susceptibilidade das bactérias Gram positivas (*S. aureus*) ao extrato de eucalipto, em relação as Gram negativas (*E. coli* e *Salmonella*). De forma similar, em extratos

com folhas de pitangueira elaborados com infusão de água ou etanol-água, Bagatini *et al.* (2023) reportaram atividade inibitória contra *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* ssp. e *Pseudomonas aeruginosa*, destacando que *S. aureus* foi a bactéria mais sensível frente aos extratos foliares da pitangueira. Ambos estudos destacaram que a ação dos compostos fenólicos atuou com maior facilidade na membrana celular do microrganismo, principalmente dos Gram positivos, que são considerados mais susceptíveis a ação de compostos naturais por apresentarem uma única camada formada principalmente por peptidoglicano. Diferentes compostos fenólicos são conhecidos por exibir efeitos antimicrobianos, como ácido 4-hidroxibenzoico, gálico, siríngico, vanílico, mirecitina, quercetina e catequina, os quais inferem em diferentes mecanismos de ação sob a membrana celular (Zandoná *et al.*, 2020; Bagatini *et al.*, 2023). Os extratos foliares do guabijuzeiro indicaram diversos compostos com esse potencial sendo que uma tendência maior de inibição foi observada nos extratos com acetona, nos quais constatou-se maior conteúdo de compostos em relação aos extratos otimizados com etanol.

Observou-se que tanto os extratos otimizados com os frutos e com as folhas do guabijuzeiro, com os solventes etanol ou acetona, exibiram potencial inibitório contra bactérias Gram positivas e Gram negativas em distintos percentuais. Essa atividade está relacionada ao tipo do solvente empregado, bem como a concentração de compostos fenólicos quantificado. Os extratos naturais são misturas complexas de compostos orgânicos, os quais podem exibir ação de adição, antagonismo ou sinergismo em contato com o microrganismo, levando ao aumento ou redução de seu efeito antimicrobiano (Zardo *et al.*, 2020; Bagatini *et al.* 2023).

3.4 CONCLUSÃO

Com base no planejamento experimental aplicado foi possível avaliar diferentes condições para extração dos compostos bioativos em folhas e frutos de guabijú. Observou-se que cada matriz vegetal exibiu comportamento diferente, sendo que nos frutos as soluções com etanol resultaram em maior conteúdo de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante FRAP e nas folhas o etanol foi mais eficaz na extração de flavonoides e atividade antioxidante ABTS. A utilização da acetona demonstrou maior capacidade antioxidante no método ABTS, assim como maior teor de flavonoides para os frutos de guabijú. Nos extratos foliares, os compostos fenólicos e atividade antioxidante por DPPH e FRAP resultaram em maior quantidade em soluções elaboradas com acetona.

Com a utilização da MSR na otimização da extração foi possível sugerir a melhor condição para extração dos compostos bioativos das folhas e frutos do guabijú. Nos extratos

otimizados das folhas de guabijuzeiro a acetona promoveu maior extração dos compostos fenólicos individuais, sendo observado predominância de compostos como o ácido transferrulico, rutina e ácido siríngico. Para os frutos, o extrato otimizado com etanol resultou no maior conteúdo de fenóis, destacando-se teor mais relevante para catequina e epigallocatequina. Na atividade antimicrobiana evidenciou-se que os extratos dos frutos com acetona exibiram inibição contra os todos os microrganismos avaliados (*Salmonella*, *C. albicans*, *S. aureus* e *E. coli*) assim como ambos extratos otimizados das folhas. Os dados aqui documentados revelaram que as partes do guabijuzeiro (folhas e frutos) demonstraram presença de constituintes bioativos com capacidade de exercer efeitos biológicos como atividade antimicrobiana e antioxidante, além de servirem de base para busca de novas propriedades.

CAPÍTULO 4: ELABORAÇÃO DE IOGURTE COM ENRIQUECIMENTO DE EXTRATOS DAS FOLHAS E FRUTOS DE *Myrcianthes pungens*

RESUMO: O iogurte é um derivado lácteo apreciado por diferentes perfis de consumidores. Esse produto possui nutrientes básicos para nutrição do organismo e pode ser enriquecido com ingredientes bioativos, como extratos vegetais. Nesse contexto, *Myrcianthes pungens* (guabijú) é uma espécie com potencial no fornecimento de constituintes polifenólicos. No presente estudo foram elaboradas formulações de iogurte enriquecidas com os extratos vegetais otimizados provenientes das folhas e frutos do guabijú, denominadas fruto 5%, fruto 10%, folha 5% e folha 10% (FR5, FR10, FO5 e FO10, respectivamente) e uma amostra controle. Foram avaliadas as características físico-químicas, compreendendo informações sobre a composição proximal, cor e textura dos produtos obtidos. Durante 21 dias do armazenamento refrigerado foram analisados os parâmetros da acidez, pH, sinérese e capacidade de retenção de água (CRA), assim como a presença de compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT), antocianinas totais (AT) e atividade antioxidante. A viabilidade das bactérias lácticas e a atividade antimicrobiana dos iogurtes, frente a cepas patogênicas, também foi investigada. Os resultados indicaram que a adição dos extratos das folhas e frutos do guabijú promoveu diferentes tonalidades, sendo constatado tons avermelhados nas formulações FR5 e FR10. Essas amostras exibiram também maior conteúdo de sólidos totais (11,86 e 12,45 g 100 g⁻¹) e carboidratos (4,82 e 6,22 g 100 g⁻¹) em relação as demais formulações. No parâmetro de acidez observou-se um aumento significativo dos valores em todas as formulações de iogurte, enquanto o pH reduziu, exibindo dados de 4,27 a 4,69, durante o período de armazenamento dos 21 dias. Os percentuais de sinérese diminuíram nos iogurtes avaliados e de forma inversa a CRA aumentou sendo verificado o maior percentual na amostra controle (41,22%). Na aplicação dos extratos dos frutos de guabijú constatou-se a presença de antocianinas em FR5 e FR10, as quais tiveram seu conteúdo reduzido ao longo do período avaliado. Tanto para os CFT quanto FT, o enriquecimento com extratos das folhas e frutos, revelou maior concentração desses bioativos, sendo dependente da proporção do extrato empregada (5 e 10%) no iogurte. Durante o armazenamento, as amostras controle, FR5 e FR10 demonstraram redução dos FT e CFT, enquanto em FO5 e FO10, observou-se aumento no conteúdo, principalmente dos CFT (203,38 a 356 mg AGE 100 g⁻¹). Em todas as formulações foi evidenciado potencial antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP. Embora FR5 e FR10 tenham sido afetadas na avaliação por DPPH, a aplicação dos extratos potencializou o efeito antioxidante das formulações nos demais métodos utilizados. O enriquecimento com os extratos aumentou a viabilidade das bactérias lácticas em FR5, FR10, FO5 e FO10 em comparação a formulação controle, demonstrando dados da escala 10⁹ a 10⁶ durante o período avaliado. Os efeitos antimicrobianos dos iogurtes, apesar de exibirem potencial reduzido, foram constatados contra *S. aureus* e *C. albicans*. Os extratos das folhas e frutos do guabijú demonstraram potencial tecnológico e funcional passível de aplicação para o desenvolvimento de iogurtes enriquecidos com compostos bioativos.

Palavras-chave: Derivado lácteo. Guabijú. Compostos bioativos. Atividade antioxidante. Bactérias lácticas.

4.1 INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos com apelo mais saudável e características funcionais teve sua demanda aumentada nos últimos anos devido a uma mudança no perfil dos consumidores. A

presença de ingredientes bioativos com potencial benéfico a saúde do consumidor, tem despertado também o interesse das comunidades científica e industrial, promovendo assim a exploração de novas fontes alimentares, abundantes e econômicas para a fabricação e enriquecimento de formulações alimentícias.

Nesse contexto, o desenvolvimento de produtos lácteos funcionais pode ser considerado um mercado em expansão. Dentre os alimentos com amplo consumo, destaca-se o iogurte, um derivado lácteo reconhecido como fonte de proteínas, além de vitaminas do complexo B e minerais como cálcio. Na fabricação de iogurtes, ocorre a produção de ácido láctico durante o processo de fermentação do leite por meio da ação de bactérias lácticas, como *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium spp.*, levando assim a queda do pH e a desnaturação das proteínas do leite, contribuindo para o desenvolvimento das características sensoriais do produto, tais como sabor levemente ácido e textura cremosa (Tang *et al.*, 2022; Mueed *et al.*, 2024).

Como alternativa para melhorar o valor nutricional de iogurtes e evitar o uso de corantes e aromatizantes sintéticos, uma crescente utilização de espécies vegetais vem sendo incorporada em formulações do produto, como o resíduo desidratado do bagaço de *Vitis labrusca* (uva), xarope do bagaço de *Malus pumila* (maçã), extratos foliares de *Olea europaea* L. (oliveira) e casca de *Citrus reticulata* Blanco (laranja). Ambos ingredientes naturais foram reportados como fontes de compostos polifenólicos, os quais são associados principalmente a atividade antioxidante (Demirkol; Tarakci, 2018; Kim; Kim; Choi, 2023; Barukčić *et al.*, 2022; Zaki *et al.*, 2024).

Assim, uma gama de plantas pode contribuir com o desenvolvimento de produtos inovadores, oferecendo diferentes cores, sabores e propriedades promotoras de saúde. Dessa forma, tendo em vista que o emprego dos frutos de *Myrcianthes pungens*, popular guabijú, na elaboração de sucos e sorvetes já tenha sido documentado na literatura (Rodrigues *et al.*, 2021; Detoni *et al.*, 2024), os extratos vegetais da espécie podem ser promissores também no enriquecimento de iogurtes naturais. Além do mais, a presença de compostos fenólicos, antocianinas e flavonoides também foi reportada, o que sugere sua capacidade em exibir efeitos biológicos. Nesse capítulo o objetivo foi elaborar iogurtes enriquecidos com os extratos otimizados das folhas e frutos do guabijú. Em paralelo foram avaliadas as características físico-químicas das formulações desenvolvidas, além da análise de compostos bioativos, potencial antioxidante e antimicrobiano, bem como a viabilidade da cultura láctica adicionada durante o armazenamento refrigerado

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Materiais

Os materiais utilizados na produção do iogurte foram o leite bovino integral UHT (Batavo®, Londrina, PR, Brasil) com 3% de gordura, 3% de proteína e 4,5% de carboidratos, além da cultura de microrganismos contendo *Lactobacillus acidophilus* LA-5®, *Bifidobacterium* BB-12® e *Streptococcus thermophilus* (Chr. Hansen, Horsholm, Dinamarca). Os materiais vegetais utilizados na elaboração dos extratos: folhas e frutos do guabijuzeiro foram coletados na cidade de Francisco Beltrão (latitude: 26° 04' 52" S; longitude: 53° 03' 18" W; altitude: 570 m), Paraná (Brasil) e submetidos a higienização, embalagem e congelamento em freezer (Gelopar®, Curitiba, PR, Brasil) a -18 °C até a utilização.

Para determinação de parâmetros físico químicos utilizaram-se os reagentes de grau analítico sendo o hexano ((CH₃(CH₂)₄CH₃)) adquirido da Êxodo® (Sumaré, SP, Brasil), ácido sulfúrico (H₂SO₄, Biotec®, Pinhais, PR, Brasil), a mistura catalítica de sulfato de cobre e sulfato de potássio (CuSO₄ + K₂SO₄), hidróxido de sódio (NaOH), ácido bórico (H₃BO₃) e ácido clorídrico (HCl) obtidos da Reatec®, Colombo, PR, Brasil.

Na elaboração dos extratos aquosos com os frutos e folhas do guabijuzeiro utilizou-se os reagentes álcool etílico absoluto (C₂H₆O; Dinâmica®, Indaiatuba, SP, Brasil) e acetona (C₃H₆O; Reatec®, Colombo, PR, Brasil). Para as análises de antocianinas totais, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP utilizaram-se os reagentes: cloreto de potássio (KCl) e acetato de sódio (C₂H₃NaO₂) obtidos da Biotec® (Cotia, SP, Brasil) nitrito de sódio (NaNO₂; Química Moderna, Barueri, SP, Brasil), cloreto de alumínio (AlCl₃) e persulfato de potássio (K₂S₂O₈) adquiridos da Synth® (Diadema, SP, Brasil), hidróxido de sódio (NaOH), ácido clorídrico (HCl), metanol (CH₃OH), carbonato de sódio (Na₂CO₃) e Folin-Ciocalteu adquiridos da Êxodo® (Sumaré, SP, Brasil). Também foram usados (+)-catequina (C₁₅H₁₄O₆), ácido gálico (C₇H₆O₅), ABTS+ (2,2'-azino-di (ácido 3-etil-benzotiazolina-sulfônico-(6)), Trolox (C₁₄H₁₈O₄; 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil), TPTZ (2,4,6-tris (2- piridil)-s-triazina) e cloreto férrico (FeCl₃) adquiridos da Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA).

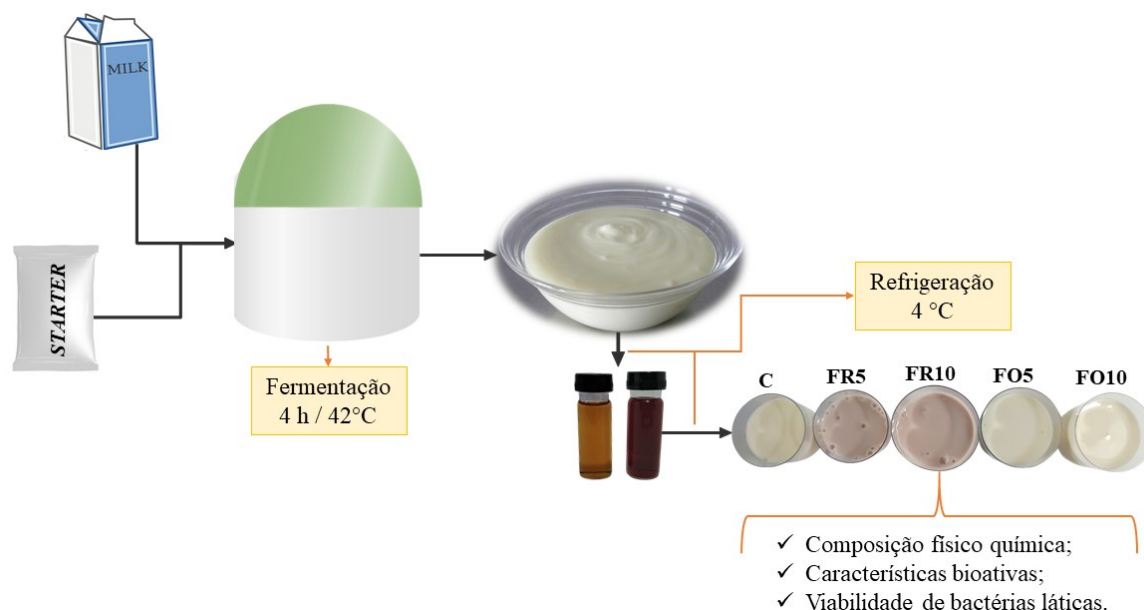
Nas análises microbiológicas foram utilizados: caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), caldo *Mueller Hinton*, ágar MRS (*Man Rogosa e Sharpe*) e água peptonada ambos adquiridos da Kasvi (São José dos Pinhais, PR, Brasil), ágar bacteriológico (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil) e cloreto de sódio (Neon, Suzano, SP, Brasil).

4.2.2 Métodos

4.2.3 Produção de iogurte

O iogurte natural foi preparado com leite integral UHT em iogurteira elétrica (Izumi®, IZ03, Taboão da Serra, SP, Brasil). Aproximadamente 50 mL de leite foi aquecido em micro-ondas durante 10 segundos para adição e dissolução da cultura de microrganismos. Na sequência o conteúdo foi transferido para a iogurteira e completado para 1L com leite, o qual permaneceu incubado sob temperatura de 42 °C, por aproximadamente 4 horas até atingir pH de 4,6. O iogurte natural foi refrigerado até atingir temperatura de 4 °C para posterior adição dos extratos do fruto e folha do guabijuzeiro. A Figura 20 ilustra de forma sintetizada o processamento do iogurte.

Figura 20 – Processamento sintetizado do iogurte



Fonte: a autora (2025).

Nota: C: controle; FR5: fruto 5%; FR10: fruto 10%; FO5: folha 5% e FO10: folha 10%.

4.2.4 Preparo dos iogurtes enriquecidos com extrato dos frutos e folhas do guabijuzeiro

Foram desenvolvidas no total 4 formulações de iogurte com adição dos extratos do fruto e folha do guabijuzeiro e uma amostra controle sem suplementação de extrato. Os extratos foram elaborados em condições otimizadas, sendo empregado o solvente acetona para extração com folhas (concentração 70%, razão soluto solvente 1:30 e temperatura de 40 °C) e etanol para os frutos (concentração de solvente 50,6%, razão soluto: solvente 1:30 e temperatura de

50 °C). Esses extratos foram empregados por demonstrarem maior somatório no perfil fenólico de compostos avaliado no capítulo 3 (folha acetona - FOA: 6555,32 mg kg⁻¹; guabijú etanol - GBE: 2666,27 mg kg⁻¹). Ambos os extratos foram rotaevaporados (TE-211, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), liofilizados (Terroni®, LS3000, São Carlos, SP, Brasil) e reconstituídos com água destilada para aplicação no iogurte, resultando em uma concentração final de 650 mg mL⁻¹ de extrato. A proporção empregada dos extratos nas amostras de iogurte foi de 5 e 10% (m/v), resultando em duas formulações de iogurte com extrato de folha (FO5 e FO10) e duas com extrato de fruto (FR5 e FR10). A determinação das proporções empregadas foi obtida mediante testes preliminares e consulta a dados da literatura que empregaram outras plantas (Dimitrellou *et al.*, 2020; Herrera *et al.*, 2023; Barukčić *et al.*, 2022).

4.2.5 Avaliação das características dos iogurtes

Foram avaliados durante o período de 21 dias de armazenamento refrigerado (temperatura de 4 ± 1 °C), os compostos fenólicos totais, antocianinas totais, flavonoides totais e atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP das formulações de iogurte elaboradas. Para isso, utilizou-se um extrato desenvolvido de acordo com Abdel-Hamid *et al.* (2020) com algumas adaptações. Foram pesadas 20 g de cada iogurte em tubos tipo Falcon e centrifugados (Himac CR21 GII, Hitachi, Japão) a 10000 g por 30 min a 4 °C. O sobrenadante foi recolhido e filtrado em filtro de seringa 0,45 µm. Os filtrados foram armazenados sob congelamento a -18 °C (Gelopar®, GPC-57, Curitiba, PR Brasil) até serem analisados.

As formulações de iogurte também foram avaliadas nos parâmetros de acidez, pH, capacidade de retenção de água e sinérese, além de bactérias lácticas totais durante o armazenamento refrigerado de 21 dias. Outras análises para caracterização dos iogurtes elaborados, compreenderam a avaliação da cor instrumental, perfil de textura, umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos e valor calórico.

4.2.6 Determinação da Acidez Titulável Total e pH

A acidez das formulações de iogurte foi determinada por titulação (IAL, 2008). Foram pesados 5,0 g de amostra e acrescentado 50 mL de água deionizada. Após, adicionou-se 2 gotas do indicador fenolftaleína 1% e titulou-se (*Witeg, Titrex, Germany*) com hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ até o ponto de viragem. O resultado foi expresso em g de ácido láctico 100 g⁻¹ de amostra.

O pH foi mensurado com auxílio de um pHmetro (*One Sense*, Marte científica, São Paulo, SP, Brasil) devidamente calibrado.

4.2.7 Determinação da capacidade de retenção de água e sinérese

A capacidade de retenção de água (CRA) e a sinérese foram determinadas conforme descrito por Barukčić *et al.* (2022), sendo que 20 g de iogurte foram pesados e centrifugados (Himac CR21 GII, Hitachi, Japão) a 5000 rpm por 30 min a 4 °C. O sobrenadante obtido foi separado e a amostra drenada foi pesada.

A CRA foi calculada conforme Equação 5:

$$\text{CRA (\%)} = (\text{peso amostra drenada}) / (\text{peso amostra}) \times 100 \quad (5)$$

A sinérese foi determinada conforme Equação 6:

$$\text{S (\%)} = (\text{peso sobrenadante}) / (\text{peso amostra}) \times 100 \quad (6)$$

4.2.8 Determinação da Umidade

A umidade das formulações de iogurte foi determinada por secagem em estufa (Quimis®, Q317M, São Paulo, Brasil) a 105°C até peso constante segundo método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz – IAL (2008). Foram pesados 5,0 g de cada amostra e dispostas em cadinhos previamente secos e pesados, os quais foram para a estufa por aproximadamente 6 h. Após, as amostras foram retiradas da estufa em intervalos de 1 h e pesadas até obter peso constante. Os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de amostra.

4.2.9 Determinação de Cinzas

As cinzas foram determinadas conforme o IAL (2008). Cinco (5,0) g de cada amostra de iogurte foram pesados em cadinho previamente seco e pesado. Na sequência, as amostras foram incineradas em mufla (Jung®, Modelo 0910, Blumenau, SC, Brasil) a 550 °C até as cinzas ficarem brancas, por aproximadamente 6 h. Após, os cadinhos foram resfriados em dessecador e as cinzas obtidas, pesadas. Os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de amostra.

4.2.10 Determinação de Lipídios Totais

Os lipídios totais foram determinados por extração em aparelho Soxhlet (Tecnal®, Sebelin TE-188, Piracicaba, SP, Brasil) (IAL, 2008). Foram pesadas 5,0 g das amostras de iogurte e submetidas a desnaturação das proteínas e carboidratos com ácido clorídrico sob aquecimento por 30 min. Na sequência, os resíduos obtidos foram filtrados a vácuo em papel filtro qualitativo (0,16mm, Unifil®, Calibre Scientific, Alvorada, RS, Brasil) e secos em estufa a 105 °C. As amostras foram envolvidas por outro papel filtro e transferidas para o aparelho extrator Soxhlet, o qual foi acoplado a um balão de fundo chato, previamente seco, resfriado em dessecador e pesado. O balão continha o solvente hexano em quantidade suficiente para cobrir o papel filtro com a amostra durante o período de extração (aprox. 4h). Após, os balões com a gordura extraída foram colocados em estufa a 105 °C até peso constante. Na sequência, os balões foram resfriados em dessecador e os balões pesados. A diferença entre pesos (balão ao final do procedimento e inicial) foi utilizada para cálculo da quantidade de lipídios totais, expresso em g 100 g⁻¹ de amostra.

4.2.11 Determinação de Proteína Bruta

A determinação da proteína bruta ocorreu pelo método de Kjeldahl, conforme metodologia IAL (2008). Pesou-se 1,0 g de cada amostra de iogurte em tubos de Kjeldahl, ao qual foi adicionado 6 g da mistura catalítica e 6 mL de ácido sulfúrico. Após, os tubos foram colocados no bloco digestor em capela e aquecidos até atingir 350 °C pelo tempo necessário para que o material fosse digerido (tornando-se uma solução verde escura).

Após o resfriamento dos tubos, os mesmos foram acoplados ao conjunto de destilação do nitrogênio (Marconi MA-036, São Paulo, Brasil), nos quais adicionou-se hidróxido de sódio 50% até a viragem da cor para marrom, indicando sua neutralização. Na sequência as amostras foram destiladas sob aquecimento para frasco *Erlenmeyer* contendo 10 mL de ácido bórico 2% e indicador misto até a solução tornar-se verde claro. A solução obtida foi titulada com ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ até obter-se a coloração rosa. A conversão do teor de nitrogênio em proteína foi feita utilizando o fator de conversão 6,38 e os resultados expressos em g 100 g⁻¹ de amostra.

4.2.12 Determinação de Carboidratos Totais

O conteúdo de carboidratos totais + fibra das amostras de iogurte foi determinado por diferença ($100 - (\text{lipídeos totais} + \text{proteína bruta} + \text{cinzas} + \text{umidade})$). O resultado foi expresso em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de amostra.

4.2.13 Determinação do Valor energético

O valor energético foi determinado conforme descrito por Jany *et al.* (2024) e expresso em $\text{kcal } 100 \text{ g}^{-1}$, conforme Equação 7:

$$\text{Valor energético} = (\%PTNA * 4) + (\%LPD * 9) + (\%CHO * 4) \quad (7)$$

Onde: %PTNA: porcentagem de proteína bruta; %LPD: porcentagem de lipídios totais; %CHO: porcentagem de carboidratos totais.

4.2.14 Análise de Cor

A análise da cor foi realizada em colorímetro (Konica Minolta, CM-5 -ID, Osaka, Japão) onde as amostras de iogurte foram acondicionadas em cubetas e submetidas a leitura. Os parâmetros medidos foram: L^* , a^* e b^* , onde L^* indica a luminosidade (0 = preto e 100 = branco) e a^* e b^* representam as coordenadas de cromaticidade ($+ a^*$ = vermelho, $- a^*$ = verde; $+ b^*$ = amarelo, $- b^*$ = azul). Foram calculados os valores de C^* ($\text{croma} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$) e h° ($\text{ângulo hue} = \tan^{-1} b^*/a^*$).

4.2.15 Perfil de Textura

Os atributos de textura das formulações de iogurte foram determinados conforme Jany *et al.* (2024), usando o analisador de textura TA-XT Plus (*Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido*). As amostras de iogurte foram dispostas em recipientes cilíndricos, nos quais uma sonda de acrílico (35 mm de diâmetro) penetrou nas amostras a uma profundidade de 10 mm com velocidade pré-teste: 1 mm/s; velocidade pós-teste: 1 mm/s; velocidade do teste: 1 mm/s e tempo: 5,0 s. O resultado foi expresso em força (g) nos termos de firmeza, consistência, coesividade e índice de viscosidade.

4.2.16 Antocianinas Totais

As antocianinas totais foram determinadas por pH diferencial, conforme Giusti e Wrolstad (2001). Em uma microplaca de poços foram adicionados 10 µL do filtrado de iogurte (sobrenadante) desenvolvido apenas com extrato dos frutos (FR5 e FR10) com 290 µL de solução de cloreto de potássio 0,025 M (pH 1), em seguida efetuou-se a leitura da absorbância no comprimento de onda de 510 nm e 700 nm em leitor de microplaca (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, Synergy-Biotek®, Winooski, VT, USA). Esse mesmo procedimento foi realizado para a solução tampão de acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5). O teor total de antocianina das amostras foi calculado e expresso em malvidina-3-glicosídeo, conforme a Equação 3.

$$mg\ kg^{-1} = \frac{[(ABS_{510} - ABS_{700})]_{pH1} - [ABS_{510} - ABS_{700}]_{pH4,5} \times MM \times D \times 1000}{\epsilon \times L} \quad (3)$$

Onde:

ABS510 = Absorbância lida no comprimento de onda de 510 nm;

ABS700 = Absorbância lida no comprimento de onda de 700 nm;

MM = massa molecular da malvidina-3-glicosídeo (493,43 g/mol);

D = fator de diluição da amostra x fator de diluição da análise;

ϵ = Absortividade molar (28000)

Para melhor visualização de dados, os resultados foram convertidos em µg L⁻¹.

4.2.17 Atividade Antioxidante: ABTS

A capacidade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS⁺ ((2,2'-azino-di (ácido 3-etil-benzotiazolina-sulfônico-(6))), foi avaliada conforme Re *et al.* (1999). Inicialmente preparou-se o reagente ABTS⁺, sendo misturados uma solução de ABTS (7 mmol L⁻¹) com uma solução de persulfato de potássio 2,45 mmol L⁻¹ na proporção de 1:1. Essa solução ficou em repouso ao abrigo da luz por 16 horas. Transcorrido esse tempo, foram transferidos 4 mL da solução para um balão volumétrico de 200 mL sendo o volume ajustado com água deionizada.

Em uma microplaca de poços, foram adicionados 20 µL de amostra previamente diluída e 280 µL da solução de ABTS⁺ sendo sequencialmente repousada e mantida ao abrigo da luz por 30 min. Após o tempo de reação, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, Synergy-

BioTek®, Winooski, VT, EUA) a 734 nm. Esse mesmo procedimento foi realizado para um teste em branco, utilizando água no lugar da amostra e também para uma curva padrão construída com Trolox (50 a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Após obtenção da equação da reta ($y = 0,1827x + 3,9372$; $R^2 = 0,9865$), as leituras das absorbâncias da amostra foram substituídas para realização de cálculos e obtenção dos resultados, que foram expressos $\mu\text{mol TE L}^{-1}$.

4.2.18 Atividade Antioxidante: DPPH

A atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil) foi adaptada de Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995).

Os filtrados das amostras de iogurte foram diluídos adequadamente e alíquotas de 50 μL foram transferidas para tubos de ensaio. Em seguida, adicionou-se 1,9 mL do radical DPPH (diluído em metanol) e os tubos foram fechados e agitados com auxílio do vórtex (*Vision Scientific*®, KMC-1300 V Daejeon-Si, Coreia do Sul). As amostras ficaram em repouso por 30 min em ambiente protegido da luz. Esse processo também foi realizado para uma amostra em branco, sendo substituído o volume por água. Após este período, 300 μL foram pipetados para um microplaca de poços e a leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, Synergy-BioTek®, Winooski, VT, EUA) a 517 nm. A curva padrão (50 a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foi construída utilizando Trolox em diferentes concentrações, seguindo-se o mesmo procedimento executado para as amostras. Após obtenção da equação da reta, foram efetuados cálculos para obtenção dos resultados, que foram expressos em μmol equivalente de Trolox ($\mu\text{mol TE L}^{-1}$).

4.2.19 Atividade Antioxidante: FRAP

A determinação da atividade antioxidante pela redução do ferro (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi efetuada conforme Benzie; Strain (1996).

O reagente FRAP foi preparado pela mistura do tampão de acetato de sódio (300 mmol, pH 3,6), com uma solução de TPTZ 10 mmol e solução de cloreto férrico 20 mmol na proporção de 10:1:1 (v/v/v). Os filtrados das formulações de iogurte foram diluídos adequadamente e 10 μL foram transferidas para uma microplaca de poços, sendo sequencialmente adicionado 290 μL do reagente FRAP. As amostras foram protegidas da luz e repousadas por 30 min. Após, foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, Synergy-BioTek, Winooski, VT,

EUA) a 595 nm. Também foi realizado esse processo para uma amostra em branco, sendo substituído o volume por água, assim como para a curva de calibração com Trolox (100 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$). As absorbâncias das amostras obtidas foram substituídas na equação da reta ($y = 0,0007x - 0,0047$; $R^2 = 0,991$) e os resultados expressos $\mu\text{mol TE L}^{-1}$.

4.2.20 Compostos Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, 1999). O procedimento consistiu em transferir 50 μL dos filtrados de iogurte, previamente diluídos, para tubos de ensaio e na sequência adicionou-se 4,2 mL de água deionizada, seguidos de 250 μL do reagente de Folin Ciocalteu. Os tubos foram agitados com auxílio do vórtex (*Vision Scientific®*, KMC-1300 V, *Daejeon-Si*, Coreia do Sul) e após 3 min acrescentou-se 500 μL de carbonato de sódio 20%. As amostras foram novamente agitadas no vórtex e ficaram em repouso por 1 h sob abrigo da luz em temperatura ambiente. Após, foram pipetados 300 μL para uma microplaca de poços e efetuou-se a leitura em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, *Synergy-BioTek®*, *Winooski*, VT, EUA) a 725 nm. Esse procedimento foi aplicado para uma amostra em branco, sendo o volume substituído por água e também para a curva padrão de ácido gálico (20 a 200 mg L^{-1}). As absorbâncias das amostras obtidas foram substituídas na equação da reta ($y = 0,0007x + 0,0006$; $R^2 = 0,995$) para calcular o resultado que foi expresso em mg equivalente de ácido gálico (mg AGE L^{-1}).

4.2.21 Flavonoides Totais

Os flavonoides totais foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Zhishen; Mengcheng e Jianming (1999). Em tubos de ensaio, foram adicionadas alíquotas de 250 μL dos filtrados das formulações de iogurte e 2 mL de água deionizada. Logo após, colocou-se 120 μL de nitrito de sódio 0,5 mol L^{-1} , agitou-se em vórtex (*Vision Scientific®*, KMC-1300 V *Daejeon-Si*, Coreia do Sul) e deixou-se em repouso por 5 min. Após foram adicionados 120 μL de cloreto de alumínio 10% e 5 min depois foram acrescentados 800 μL de hidróxido de sódio 1 mol L^{-1} . Na sequência as amostras foram agitadas em vórtex e 300 μL foram pipetados para uma microplaca de poços para leitura da absorbância em 510 nm, em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, *Synergy-*

BioTek®, Winooski, VT, EUA). Um teste em branco foi realizado aplicando-se o mesmo procedimento, sendo a amostra substituída por 250 µL de água.

Construiu-se também uma curva padrão com catequina (20 a 200 mg L⁻¹) usando o mesmo procedimento realizado para a amostra, para obtenção da equação da reta ($y = 0,0023x - 0,0052$; $R^2 = 0,9982$). As absorbâncias obtidas foram substituídas na equação da reta para cálculo do resultado, que foi expresso mg equivalente de catequina (mg CTE L⁻¹).

4.2.22 Contagem de Bactérias Lácticas Totais

A contagem de bactérias lácticas totais foi realizada conforme método adaptado de Jany *et al.*, (2024). A inoculação das placas para contagem dos microrganismos ocorreu no primeiro dia após o preparo do iogurte e nos dias 7,14 e 21 dias de armazenamento. Foram preparadas as amostras pesando-se assepticamente 1 g de cada formulação de iogurte em recipiente estéril e dissolvendo-as em 9,0 mL de água peptonada 1% (diluição 10⁻¹). Posteriormente foram preparadas diluições sucessivas: 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ e 10⁻⁷ em tubos com água estéril. As diluições 10⁻³, 10⁻⁵ e 10⁻⁷ foram inoculadas em placas de Petri, onde foi adicionado ágar MRS, preparado conforme a recomendação do fabricante, utilizando a técnica de plaqueamento em profundidade com sobrecamada. As amostras foram incubadas em estufa a 37 ± 1 °C por 48 h. A contagem das placas foi realizada manualmente e o resultado expresso em log UFC g⁻¹.

4.2.23 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos iogurtes foi realizada para as amostras enriquecidas com os extratos das folhas do guabijuzeiro e na formulação natural. As formulações com extrato dos frutos do guabijú não foram investigadas devido ao fato do extrato otimizado com etanol (GBE) exibir baixo percentual de inibição contra as cepas patogênicas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica* spp. *enterica* (ATCC 13076) e *Candida albicans* (ATCC 10231), anteriormente investigadas (capítulo 3). Essas mesmas cepas de microrganismos foram utilizadas na avaliação frente aos sobrenadantes do iogurte. Cada cultura foi inoculada em placa de Petri estéril contendo caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) com ágar bacteriológico 1,5%, preparados conforme instrução do fabricante e incubadas em estufa a 35 ± 1 °C durante 24 h (Quimis®, Q316-24, Diadema, SP, Brasil). Após esse período, os inóculos foram suspendidos em solução salina 0,9 % a uma concentração de 10⁸ UFC mL⁻¹ (turbidez da escala 0,5 de McFarland's) para obtenção da cultura de trabalho.

Para determinação da atividade antimicrobiana, foi usada a técnica de microdiluição em caldo, de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012), calculada como a porcentagem de inibição bacteriana (Equação 4). Os sobrenadantes das amostras de iogurte foram filtrados em filtro de seringa (0,22 µm de *nylon*) e aplicados em microplacas estéreis (Kasvi®, KC12-096, São Jose dos Pinhais, PR, Brasil). Foram adicionados 180 µL de caldo *Mueller Hinton* (*Mueller Hinton Broth*), 20 µL de amostra e 10 µL do inóculo do microrganismo, sendo incubadas em estufa a 35 ± 1 °C por 24 h. Após, foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch Microplate Spectrophotometer*, Synergy-BioTek®, Winooski, VT, EUA) a 630 nm. O controle positivo foi determinado mediante o crescimento microbiano sem a presença da amostra.

$$\text{Inibição (\%)} = 100 - [(\text{Abs amostra} \times 100) / \text{Abs controle positivo}] \quad (4)$$

Onde:

Abs amostra: absorbância do crescimento bacteriano na presença do sobrenadante;

Abs controle positivo: absorbância do crescimento bacteriano sem o sobrenadante.

4.2.24 Análise Estatística

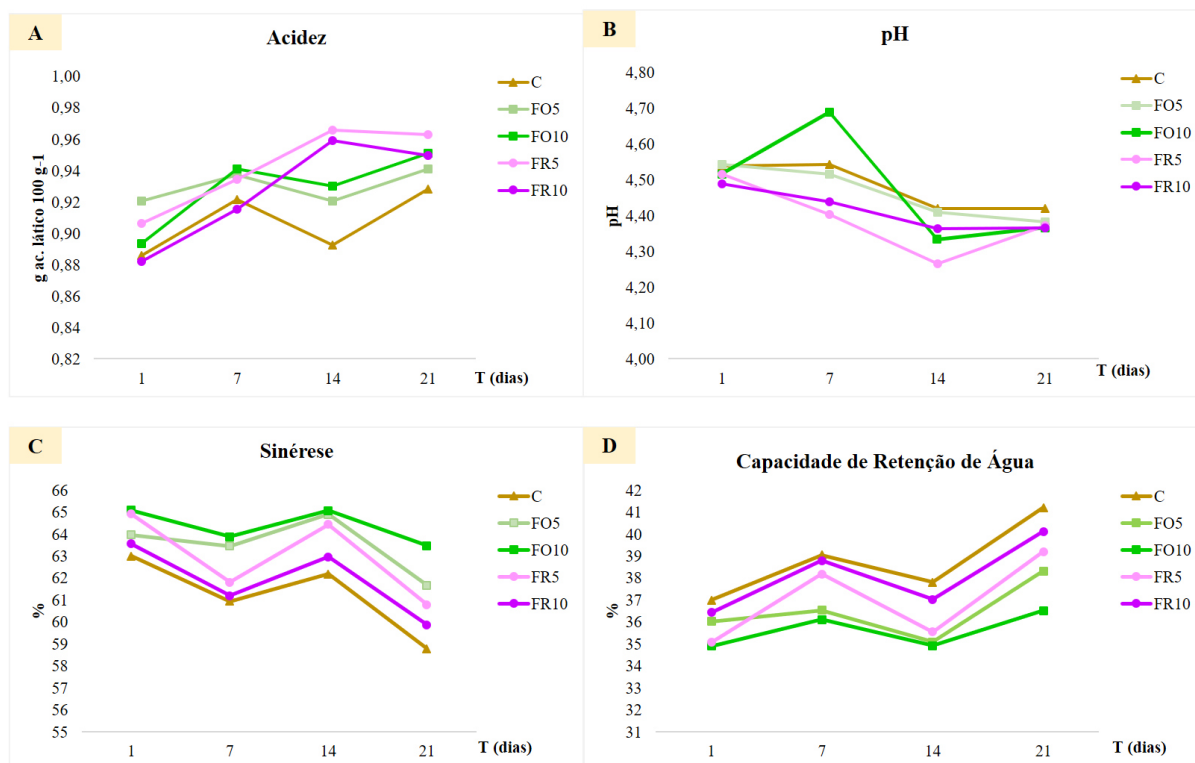
Os dados obtidos das análises referentes a composição físico química das formulações de iogurte foram avaliados estatisticamente por meio de ANOVA unilateral e Teste de Fisher LSD (*Fisher Least Significance Difference*), utilizando o critério estatístico ao nível de significância de 5% e expressos pela média $\pm$ desvio padrão. Os resultados das análises bioativas e microbiológicas foram analisados por ANOVA fatorial e comparação por teste de Fisher, também considerando a significância de 5%. Todos os dados foram tratados com auxílio do *software Statistica* versão 8.0 (*Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA*).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Características físicas e químicas de iogurtes enriquecidos com extratos de guabijú

Os dados obtidos sobre as alterações da acidez, pH, sinérese e capacidade de retenção de água (CRA), durante o período de 21 dias de armazenamento refrigerado (4 ± 1 °C) foram indicados na Figura 21.

Figura 21 - Alterações de acidez, pH, sinérese e capacidade de retenção de água em amostras de iogurte controle e enriquecidos com extratos das folhas e frutos de guabijú durante 21 dias de armazenamento refrigerado



Fonte: a autora (2025).

Nota: C: controle; FR5: fruto 5%; FR10: fruto 10%; FO5: folha 5% e FO10: folha 10%.

Durante o período de armazenamento de 21 dias sob refrigeração, as amostras de iogurte indicaram teor de acidez entre 0,88 a 0,97 g de ácido láctico 100 g⁻¹. Após 14 dias de armazenamento observou-se um aumento significativo na acidez das amostras FR5 e FR10, corroborando com o declínio observado nos valores de pH (Figura 21: B; pH de 4,27 e 4,36 respectivamente). Por outro lado, a formulação controle e as amostras enriquecidas com extrato das folhas (FO5 e FO10) indicaram redução no valor da acidez aos 14 dias, sendo de 0,89; 0,92 e 0,93 g de ácido láctico 100 g⁻¹. Ao final do período avaliado todas as amostras exibiram acidez entre 0,93 e 0,96 g de ácido láctico 100 g⁻¹, sendo significativamente diferente ($p < 0,05$) para amostra controle, a qual exibiu menor valor. De maneira similar, Zaki *et al.* (2024) constataram que a adição dos extratos da casca da laranja contribuiu para o aumento da acidez dos iogurtes durante o armazenamento de 14 dias, sugerindo que houve um impacto no desenvolvimento da cultura inicial utilizada nos iogurtes. Nesse mesmo contexto, Salehi *et al.* (2021) atribuíram o aumento nos valores de acidez dos iogurtes à adição dos extratos das folhas de *Portulaca oleracea* L. (bedroega), os quais podem promover a atividade metabólica de microrganismos da cultura do iogurte, como os lactobacilos. Também foi sugerido, que a atividade remanescente

das bactérias iniciadoras do iogurte, que continuam convertendo lactose em ácido láctico durante o armazenamento, porém de forma menos intensa, influenciam em maiores valores de acidez (Barukčić *et al.*, 2022). Pode-se salientar, que o aumento da acidez evidenciado ao longo dos 21 dias de armazenamento para todas as formulações de iogurte elaboradas, não ultrapassou as recomendações da legislação brasileira de máximo 1,5 g de ácido láctico 100 g⁻¹ para iogurtes (BRASIL, 2007).

O pH de todas as formulações de iogurte diminuiu ao longo do armazenamento de 21 dias, sendo inversamente correlacionado ao aumento na produção de ácido láctico dos iogurtes. Foram observados dados de 4,27 (FR5) a 4,69 (FO10), sendo que ao termino do armazenamento dos 21 dias, não foram identificadas diferenças ($p > 0,05$) entre as amostras enriquecidas com os extratos de frutos e folhas do guabijuzeiro (pH 4,37), apenas o controle expressou pH de 4,42, sendo relativamente maior. A redução nos valores de pH foi documentada por Zaki *et al.* (2024), os quais destacaram menores valores de pH no iogurte com maior teor de extrato da casca de laranja (4,48 a 4,36), sendo inferido que a houve maior produção de ácido láctico pela cultura inicial adicionada aos iogurtes. Jany *et al.* (2024) enfatizaram que além do aumento na produção de ácido láctico evidenciado nos iogurtes suplementados com extrato a casca da romã, fatores como a temperatura, a acidez do leite e as condições de armazenamento podem ter afetado esse processo. No entanto, os autores enfatizaram que as amostras elaboradas se encontravam dentro da faixa de pH recomendada pela *Food and Drug Administration* (FDA) de no máximo 4,5. Os valores de pH dos iogurtes, constatados no presente estudo não ultrapassaram valores de 4,69, o que segundo pesquisas também é sugerido (Horne, 2017; Zaki *et al.*, 2024).

A sinérese (Figura 21: C) avaliada nas formulações de iogurte expressou percentuais de 58,78 a 65,09%. Esse parâmetro é um dos principais defeitos em produtos lácteos fermentados, sendo relacionado à instabilidade da rede do gel e ocorre quando há separação do soro na superfície do iogurte, enquanto a capacidade de retenção de água (CRA), que é inversamente relacionada a sinérese, é descrita como a capacidade do iogurte de reter o soro (Arab *et al.*, 2022; Barukčić *et al.*, 2022). A adição dos extratos das folhas e frutos do guabijú inferiu em percentuais maiores para todas as formulações quando comparadas a amostra controle, com dados mais expressivos na formulação FO10 (65,09 a 63,47%). Esse mesmo comportamento foi mencionado por Barukčić *et al.* (2022) em iogurtes suplementados com extratos da folha de oliveira, os quais sugeriram que o aumento da sinérese pode ser causado pela adição de água proveniente do enriquecimento com os extratos e pela baixa capacidade de incorporação que a rede proteica formada no iogurte demonstrou. Outras condições que podem

induzir a formação de sinérese são o baixo teor de sólidos totais na formulação, tempo e temperatura de incubação inadequados e tipo da cepa inoculada ao iogurte (Arab *et al.*, 2022).

Ao final do período de avaliação de 21 dias houve um decréscimo nos valores da sinérese em todas as amostras de iogurte, e de forma contrária, a CRA aumentou exibindo dados de 41,22% para amostra controle e 36,53% em FO10 (Figura 21: D), indicando maior estabilidade da rede de gel das amostras. A redução da sinérese pode ser associada à redução do pH durante o período de armazenamento, conforme visualizado na Figura 21: B, resultando na contração e aumento da força do gel, de acordo com o sugerido por Demirkol e Tarakci (2018) após análise de iogurtes suplementados com o bagaço de uva durante 21 dias. Esses autores também sugeriram que extratos com a presença de polifenóis tem interações com as proteínas do leite, podendo afetar as propriedades de produtos lácteos em que são adicionados. Essas interações podem formar complexos estáveis, resultando no decréscimo da sinérese e aumento da CRA.

Na Tabela 18 foram indicados os atributos físico-químicos avaliados nas formulações de iogurte, sendo umidade, cinzas, lipídios, proteína, carboidratos (CHO), sólidos totais (ST), valor energético (Kcal), atributos de cor (L^* , a^* , b^* , croma e ângulo hue) e textura (firmeza, consistência, coesividade e índice de viscosidade).

Tabela 18 - Composição físico-química em diferentes amostras de iogurte

Parâmetros*	Formulações de iogurte				
	Controle	FO5	FO10	FR5	FR10
Umidade (g 100 g ⁻¹)	89,06 ^a ± 0,24	89,11 ^a ± 0,14	89,29 ^a ± 0,13	88,14 ^b ± 0,17	87,55 ^c ± 0,06
Cinzas (g 100 g ⁻¹)	0,75 ^{ab} ± 0,03	0,73 ^{ab} ± 0,04	0,69 ^{ab} ± 0,03	0,76 ^a ± 0,01	0,67 ^b ± 0,08
Lipídios (g 100 g ⁻¹)	2,14 ^b ± 0,74	2,79 ^a ± 0,05	2,71 ^{ab} ± 0,04	2,83 ^a ± 0,17	2,36 ^{ab} ± 0,18
Proteínas (g 100 g ⁻¹)	3,65 ^a ± 0,32	3,33 ^b ± 0,09	3,30 ^b ± 0,10	3,45 ^{ab} ± 0,05	3,21 ^b ± 0,04
CHO (g 100 g ⁻¹)	4,40 ^{bc} ± 0,49	4,04 ^c ± 0,16	4,01 ^c ± 0,16	4,82 ^b ± 0,12	6,22 ^a ± 0,25
ST (g 100 g ⁻¹)	10,94 ^c ± 0,24	10,89 ^c ± 0,14	10,71 ^c ± 0,13	11,86 ^b ± 0,17	12,45 ^a ± 0,06
Kcal (g 100 g ⁻¹)	51,47 ^b ± 3,74	54,59 ^b ± 0,65	53,63 ^b ± 0,19	58,54 ^a ± 1,39	58,94 ^a ± 0,83
L^*	15,25 ^d ± 0,08	34,50 ^b ± 1,75	43,32 ^a ± 1,85	0,54 ^c ± 0,02	21,80 ^c ± 0,48
a^*	7,00 ^a ± 0,14	2,17 ^b ± 0,19	1,29 ^c ± 0,16	0,73 ^d ± 0,06	2,02 ^b ± 0,12
b^*	24,87 ^a ± 0,47	3,21 ^b ± 0,14	1,88 ^c ± 0,13	0,41 ^d ± 0,02	3,32 ^b ± 0,11
Croma (C*)	25,84 ^a ± 0,49	3,88 ^b ± 0,05	2,28 ^c ± 0,18	0,84 ^d ± 0,06	3,88 ^b ± 0,15
Ângulo hue (h°)	74,28 ^a ± 0,11	55,94 ^b ± 3,46	55,61 ^b ± 2,51	29,19 ^c ± 1,43	58,72 ^b ± 0,65
Firmeza (g)	30,28 ^a ± 1,14	21,76 ^b ± 0,54	16,03 ^d ± 0,72	18,61 ^c ± 0,11	20,71 ^b ± 0,82
Consistência (g)	482,87 ^a ± 16,71	291,95 ^b ± 8,82	206,92 ^d ± 18,94	253,06 ^c ± 9,40	302,73 ^b ± 13,44
Coesividade (g)	21,22 ^a ± 0,93	15,45 ^b ± 1,07	11,32 ^d ± 1,13	13,86 ^c ± 0,60	14,83 ^{bc} ± 0,35
Índice de viscosidade (g)	24,11 ^a ± 0,77	11,90 ^b ± 1,39	2,51 ^d ± 0,60	6,54 ^c ± 1,16	10,18 ^b ± 1,03

Fonte: a autora (2025).

Nota: FO5: folha 5%; FO10: folha 10%; FR5: fruto 5%; FR10: fruto 10%; CHO: carboidratos; ST: sólidos totais; Kcal (quilocaloria); *Dados expressos em base úmida; Médias ± desvios padrão das amostras em triplicata; a, b, c, d letras sobrescritas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Fisher ($p < 0,05$).

Em termos de umidade, foram constatadas diferenças significativas apenas para as amostras enriquecidas com os extratos dos frutos de guabijú (FR5 e FR10), indicando teores menores (88,14 e 87,55 g 100 g⁻¹) em relação as demais formulações de iogurte, fator que pode ser associado ao maior teor de ST nessas amostras (11,86 e 12,45 g 100 g⁻¹). Essa mesma tendência foi observada por Jany *et al.* (2024) em iogurtes desenvolvidos com extrato da casca de romã, sendo constatado que no maior teor de umidade (84,23%) refletiu-se a menor ST (15,77%), a qual foi melhorada conforme aumento na proporção de extrato adicionado aos iogurtes. Aamir *et al.* (2023) sugeriram que menores valores de umidade no iogurte podem ser devido à presença de pectina dos materiais vegetais adicionados, os quais que se ligam à água e assim também favorecem ao aumento de ST.

No conteúdo de cinzas observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) apenas entre as formulações FR5 e FR10, sendo relativamente menor para FR10 (0,67 g 100 g⁻¹). A adição das diferentes proporções dos extratos de folhas e frutos de guabijú revelou conteúdos ligeiramente maiores no parâmetro de lipídios e menor de proteínas, em relação a amostra controle (Tabela 18). De maneira similar, Jany *et al.* (2024) relataram um incremento no conteúdo de lipídios conforme maior adição do extrato da casca de romã nas formulações de iogurte, com teor variando de 5,56 a 6,27%, sendo mais elevado em relação as amostras do presente estudo. Em iogurtes elaborados por Silva *et al.* (2017) com diferentes concentrações do extrato dos frutos de *Vitis vinífera* (uva; 0; 1,5 e 3,0 g L⁻¹ respectivamente) constataram-se teor de cinzas de 0,83 a 0,93%; de 4,27 a 4,30 % para as proteínas e 3,10 a 3,40% para lipídios, sendo superior aos dados evidenciados nas amostras enriquecidas com extratos das folhas e frutos do guabijú (Tabela 18). Para iogurtes desenvolvidos com extrato das folhas de *Ocimum basilicum* L. (manjerição roxo), dados similares foram constatados para as proteínas e lipídios, sendo de 3,02 a 3,26% e 2,80 a 3,0%, respectivamente (Gurkan; Boran; Hayaloglu, 2018).

O enriquecimento do iogurte com extrato de guabijú (FR10) resultou em conteúdo de CHO significativamente maior que as demais formulações (6,22 g 100 g⁻¹), proveniente da maior proporção de extrato do fruto aplicado, cuja composição demonstra a presença de CHO, principalmente açúcares (Seraglio *et al.*, 2018; Detoni *et al.*, 2021). Comportamento similar foi observado por Jany *et al.* (2024) em amostras de iogurte adicionadas do extrato de casca de romã, as quais exibiram maior conteúdo de CHO principalmente em relação a amostra natural (teor entre 6,83 e 8,81%). Para os resultados obtidos no valor energético não houve diferença significativa entre as formulações C, FO5 e FO10, enquanto que a adição dos extratos dos frutos revelou valores maiores para as formulações FR5 e FR10 (58,54 e 58,94 kcal, respectivamente), embora sem diferir entre si ($p > 0,05$). De maneira análoga ao observado, Jany *et al.* (2024)

indicaram aumento no valor de kcal das formulações de iogurte com extrato da casca de romã, sendo proporcional ao extrato empregado, embora com valores superiores aos do presente estudo (80,73 a 107,07 kcal). De modo geral, os parâmetros de proteína, lipídios, cinzas, CHO, ST e valor energético podem ser ajustados por meio de técnicas de processamento, adição de estabilizantes, frutas e extratos para que possam atingir as características e a qualidade desejadas no produto final (Horne, 2017; Jany *et al.*, 2024).

A cor é um atributo importante dos alimentos, pois é uma das primeiras características observadas por consumidores, que pode afetar sua preferência. A Figura 22 demonstra a aparência dos iogurtes elaborados com os extratos otimizados dos frutos e folhas do guabijuzeiro (FR5, FR10, FO5 e FO10) e a formulação controle (C).

Figura 22 - Características visuais das formulações de iogurte



Fonte: a autora (2025).

Nota: C: controle; FR5: fruto 5%; FR10: fruto 10%; FO5: folha 5% e FO10: folha 10%.

No parâmetro de L^* (luminosidade) toda as formulações indicaram diferenças entre si, sendo que a amostra FR5 indicou menor luminosidade (L^* 0,54), o que pode ser atribuído a presença de compostos coloridos como as antocianinas, provenientes do extrato de guabijú. De forma contrária FO10 e FO5 foram representadas com maiores valores de L^* , sendo sugerido que o teor de água presente no extrato adicionado das folhas influenciou nesse comportamento.

Nas coordenadas a^* , b^* e C^* apenas as amostras enriquecidas com extratos FO5 e FR10 não demonstraram diferenças significativas em relação as demais. Como os dados das coordenadas a^* e b^* foram positivos, presume-se que as formulações de iogurte indicaram tendência a cor vermelha (+a) e amarela (+b). Esse fator pode ser confirmado pelo ângulo de tonalidade h° das formulações, que expressou dados entre 0 e 90° , que é a esfera que indica a tonalidade entre o vermelho e o amarelo. Salienta-se que FR5 revelou menor valor significativo ($29,19^\circ$) sugerindo tom mais próximo vermelho, o que reforça a predominância dos pigmentos

de antocianinas. O parâmetro C^* (croma) revelou menores valores para as amostras enriquecidas com os extratos das folhas e frutos de guabijú quando comparado a formulação controle, indicando menor saturação e intensidade de cor. Para iogurtes elaborados com extrato das folhas de *Moringa oleífera* (moringa), Zhang *et al.* (2019) mencionaram valores da coordenada a^* negativos (-8,20 a -8,77), inferindo que as formulações continham tons verdes, diferente ao evidenciado nas amostras com extratos das folhas do guabijuzeiro, FO5 e FO10 ($+a^*$). Já em iogurtes suplementados com extratos das folhas de manjerição roxo, dados similares com os obtidos no presente estudo foram reportados, com valores de $+a^*$ e $+b^*$ (Gurkan; Boran; Hayaloglu, 2018). As alterações no atributo da cor podem ser influenciadas por vários fatores, como a concentração, disponibilidade e a natureza dos pigmentos presentes, assim como o teor de água e prevalência de água superficial (Jany *et al.*, 2024).

Os atributos de textura representados pela firmeza, consistência, coesividade e índice de viscosidade (Tabela 18), indicaram maiores valores na formulação controle, sendo significativamente diferente das demais amostras. Por outro lado, a formulação FO10 demonstrou valores menores para todos os atributos de textura avaliados ($p < 0,05$). A adição dos extratos das folhas e frutos do guabijuzeiro afetou os parâmetros de textura das amostras de iogurte. Esse fator pode estar relacionado à capacidade dos compostos fenólicos presentes nos extratos, de interagir com a proteína do leite, afetando diretamente sua funcionalidade. Além do mais, a estrutura de gel dos iogurtes também pode ter sofrido influência dos parâmetros da sinérese e CRA, devido maior expulsão do soro de leite e rearranjo da estrutura nessas amostras. Uma pequena redução do pH também pode prejudicar o sistema coloidal, tornando-o menos estável em função da diminuição da carga (Lastra-Ripoll; Quintana; García-Zapateiro, 2023).

4.3.2 Avaliação de compostos bioativos em formulações de iogurte durante o armazenamento

A Tabela 19 indica a concentração de antocianinas totais; AT (apenas em FR5 e FR10), flavonoides totais (FT), compostos fenólicos totais (CFT), atividade antioxidante ABTS, DPPH e FRAP nas formulações controle (C) e enriquecidas com os extratos otimizados das folhas e frutos do guabijuzeiro (FO5, FO10, FR5 e FR10), durante o armazenamento refrigerado por 21 dias.

Tabela 19 – Efeito do enriquecimento dos extratos com folhas e frutos de guabijú na concentração de bioativos nas formulações de iogurte

Parâmetro	F	Tempo (dias)			
		1	7	14	21
ATT ($\mu\text{g L}^{-1}$)	C	ND	ND	ND	ND
	FR5	207,89 ^{Bb} $\pm$ 10,59	256,80 ^{Aa} $\pm$ 18,34	256,80 ^{Aa} $\pm$ 36,69	152,86 ^{Bc} $\pm$ 10,59
	FR10	605,32 ^{Aa} $\pm$ 36,69	250,69 ^{Ac} $\pm$ 28,02	287,38 ^{Ac} $\pm$ 10,59	531,95 ^{Ab} $\pm$ 36,69
	FO5	-	-	-	-
	FO10	-	-	-	-
FT (mg CTE L ⁻¹)	C	ND	ND	ND	ND
	FR5	27,62 ^{Dc} $\pm$ 1,40	25,45 ^{Dc} $\pm$ 0,25	31,83 ^{Ca} $\pm$ 1,00	29,07 ^{Db} $\pm$ 0,43
	FR10	32,55 ^{Ca} $\pm$ 0,43	33,13 ^{Ca} $\pm$ 0,25	28,06 ^{Db} $\pm$ 0,50	31,83 ^{Ca} $\pm$ 0,25
	FO5	35,74 ^{Bd} $\pm$ 1,65	43,86 ^{Bc} $\pm$ 1,90	46,75 ^{Bb} $\pm$ 0,50	58,20 ^{Ba} $\pm$ 1,57
	FO10	64,58 ^{Ac} $\pm$ 1,26	50,38 $\pm$ 3,79 ^{Ad}	66,17 $\pm$ 1,76 ^{Ab}	69,65 $\pm$ 2,83 ^{Aa}
CFT (mg AGE L ⁻¹)	C	135,50 ^{Eb} $\pm$ 0,00	123,00 ^{Ed} $\pm$ 1,43	140,86 ^{Ea} $\pm$ 1,43	127,05 ^{Ec} $\pm$ 1,65
	FR5	179,31 ^{Da} $\pm$ 0,82	164,43 ^{Db} $\pm$ 0,00	178,95 ^{Da} $\pm$ 1,65	167,52 ^{Db} $\pm$ 1,65
	FR10	198,62 ^{Cb} $\pm$ 1,65	207,90 ^{Ca} $\pm$ 0,00	207,43 ^{Ca} $\pm$ 1,65	192,19 ^{Cc} $\pm$ 1,65
	FO5	203,38 ^{Bc} $\pm$ 3,30	226,00 ^{Bb} $\pm$ 2,86	252,19 ^{Ba} $\pm$ 1,65	251,24 ^{Ba} $\pm$ 1,65
	FO10	279,57 ^{Ad} $\pm$ 0,00	317,67 ^{Ac} $\pm$ 1,65	345,52 ^{Ab} $\pm$ 4,63	356,00 ^{Aa} $\pm$ 4,95
ABTS ($\mu\text{mol TE L}^{-1}$)	C	381,79 ^{Ea} $\pm$ 12,20	313,06 ^{Eb} $\pm$ 1,86	226,34 ^{Ed} $\pm$ 3,57	266,77 ^{Ec} $\pm$ 2,06
	FR5	703,17 ^{Dbc} $\pm$ 14,97	801,44 ^{Da} $\pm$ 20,46	671,43 ^{Dc} $\pm$ 6,43	711,85 ^{Db} $\pm$ 2,72
	FR10	1297,88 ^{Ca} $\pm$ 11,62	1225,92 ^{Cb} $\pm$ 6,71	1160,93 ^{Cc} $\pm$ 16,35	1074,13 ^{Cd} $\pm$ 7,43
	FO5	1568,51 ^{Bc} $\pm$ 27,53	1519,11 ^{Bd} $\pm$ 14,53	1709,08 ^{Ba} $\pm$ 14,42	1650,81 ^{Bb} $\pm$ 14,85
	FO10	2632,27 ^{Ac} $\pm$ 16,22	2915,79 ^{Aa} $\pm$ 32,43	2742,78 ^{Ab} $\pm$ 28,54	2947,30 ^{Aa} $\pm$ 71,46
DPPH ($\mu\text{mol TE L}^{-1}$)	C	384,82 ^{Dc} $\pm$ 2,95	412,87 ^{Ca} $\pm$ 29,72	440,77 ^{Dab} $\pm$ 11,76	398,85 ^{Cbc} $\pm$ 18,51
	FR5	349,04 ^{Ea} $\pm$ 34,02	254,77 ^{Ec} $\pm$ 13,92	328,55 ^{Ea} $\pm$ 30,45	313,68 ^{Db} $\pm$ 21,91
	FR10	778,61 ^{Ca} $\pm$ 24,53	374,02 ^{Dc} $\pm$ 9,00	562,05 ^{Cb} $\pm$ 2,82	322,11 ^{Dd} $\pm$ 16,94
	FO5	1010,37 ^{Ba} $\pm$ 9,00	755,04 ^{Bb} $\pm$ 9,00	931,86 ^{Bc} $\pm$ 31,43	598,75 ^{Bd} $\pm$ 20,36
	FO10	1650,65 ^{Ac} $\pm$ 12,27	1475,85 ^{Ad} $\pm$ 26,57	2082,74 ^{Aa} $\pm$ 32,45	1682,75 ^{Ab} $\pm$ 11,29
FRAP ($\mu\text{mol TE L}^{-1}$)	C	550,67 ^{Ea} $\pm$ 6,60	607,81 ^{Ea} $\pm$ 18,87	421,14 ^{Eb} $\pm$ 26,39	417,33 ^{Eb} $\pm$ 47,58
	FR5	1080,10 ^{Db} $\pm$ 78,68	1262,95 ^{Da} $\pm$ 42,41	922,95 ^{Dc} $\pm$ 21,06	848,67 ^{Dc} $\pm$ 17,22
	FR10	1775,43 ^{Ca} $\pm$ 9,90	1771,62 ^{Ca} $\pm$ 46,10	1476,38 ^{Cb} $\pm$ 22,86	1476,38 ^{Cb} $\pm$ 24,91
	FO5	2329,71 ^{Ba} $\pm$ 84,18	2070,67 ^{Bb} $\pm$ 103,70	2339,24 ^{Ba} $\pm$ 37,47	1965,90 ^{Bb} $\pm$ 14,38
	FO10	3957,33 ^{Aa} $\pm$ 152,16	3756,38 ^{Ab} $\pm$ 25,77	3048,00 ^{Ac} $\pm$ 161,76	3753,52 ^{Ab} $\pm$ 84,24

Fonte: a autora (2025).

Nota: F: formulação; C: controle; FR5: fruto 5%; FR10: fruto 10%; FO5: folha 5%; FO10: folha 10%; AGE: Equivalente ácido gálico; CTE: equivalente catequina; TE: equivalentes de Trolox; ND: não detectado; Médias $\pm$ desvios padrão das amostras em triplicata; ^{A,B,C,D,E} Letras maiúsculas sobescritas diferentes nas colunas e sobescritas minúsculas (^{a,b,c,d}) nas linhas em um parâmetro específico, indicam diferenças significativas pelo teste de Fisher ($p < 0,05$).

Para as antocianinas totais, constatou-se efeitos significativos tanto da proporção do extrato de guabijú aplicado nos iogurtes, como do tempo de armazenamento. Esses compostos foram significativamente diferentes no primeiro e último dia de armazenamento, indicando maior conteúdo na formulação com maior proporção do extrato de guabijú (FR10). Entre 1 e 7 dias constatou-se um ligeiro aumento desse composto na amostra FR5 e um declínio em FR10, o qual manteve-se estável até o período de 14 dias, porém sem diferenças significativas. Ao término do armazenamento, o menor conteúdo foi observado em FR5 ($152,86 \mu\text{g L}^{-1}$). Como na formulação controle não houve conteúdo detectável de antocianinas, pode-se enfatizar que a aplicação dos extratos dos frutos promoveu a presença desses pigmentos em FR5 e FR10. Um comportamento similar foi observado por Machado *et al.* (2023) em iogurtes elaborados com o extrato das cascas de *Myrciaria cauliflora* Mart. (jabuticaba). Os autores relataram que o aumento no conteúdo de antocianinas totais foi proporcional a concentração do extrato aplicado ($0,5$ a $2,0 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$). Porém, ao longo do armazenamento de 28 dias, o conteúdo dos pigmentos reduziu significativamente nas formulações com menor concentração do extrato, sugerindo que as antocianinas sofreram degradação, levando a perda de sua atividade. De modo geral, as antocianinas podem ser afetadas durante o processamento e armazenamento dos alimentos. No iogurte, além de oscilações no pH, a composição da matriz é um dos fatores que influenciam na taxa de degradação desses pigmentos, visto que a presença de açúcares, proteínas e gordura podem favorecer a um aumento dessa taxa (Schwartz *et al.*, 2017). Por outro lado, conforme reportado por Szołtysik *et al.* (2020) para os iogurtes com extrato dos frutos de *Rosa spinosissima* (rosa-de-burnet), a estabilização no conteúdo das antocianinas pode ser causada pela sua associação com outros compostos presentes na matriz do iogurte, como flavonoides, aminoácidos, ácidos orgânicos, nucleotídeos ou metais.

Os flavonoides totais (FT) não expressaram conteúdo possível de quantificar na formulação controle. Em relação as amostras enriquecidas com extratos, o maior conteúdo significativo foi constatado para amostra FO10 ($p < 0,05$). Durante o armazenamento refrigerado observou-se que os FT aumentaram de forma significativa nas formulações enriquecidas com os extratos foliares (FO5 e FO10), enquanto nas amostras com extratos dos frutos, FR5 e FR10, as mudanças foram mínimas, com manutenção do conteúdo obtido, durante o período avaliado. O conteúdo de FT nas formulações de iogurte é proveniente das folhas e frutos do guabijú, conforme verificado em alguns estudos (Bombana *et al.*, 2021; Almeida *et al.*, 2017). O fato do conteúdo de flavonoides ser mais expressivo nas formulações FO5 e FO10 ocorreu em função do extrato otimizado das folhas indicar maior conteúdo de FT com relação ao extrato dos frutos ($19241,55$ e $5462,13 \text{ mg CTE kg}^{-1}$, respectivamente; dados demonstrados no capítulo 3 desse

documento). De maneira similar, o aumento de flavonoides em iogurtes fortificados com extrato da casca de romã e resíduo da folha de *Cinnamomum cassia* (canela), foram atribuídos a presença desses compostos nos extratos empregados nas formulações (Jany *et al.*, 2024; Tang *et al.*, 2022).

Nos efeitos observados para os compostos fenólicos totais (CFT), evidenciou-se que o aumento do percentual adicionado do extrato tanto dos frutos como folhas, proporcionou maiores concentrações de CFT nos iogurtes, em comparação a amostra controle. Os dados mais expressivos foram constatados na formulação enriquecida com extrato das folhas, FO10 (279,57 a 356,00 mg AGE L⁻¹). Assim como evidenciado nos FT, as amostras FO5 e FO10 demonstraram aumento do parâmetro CFT ao longo do armazenamento de 21 dias. Esse mesmo comportamento foi reportado Zaki *et al.* (2024) durante o armazenamento de iogurtes adicionados com extrato da casca da laranja, os quais documentaram que o aumento no teor de compostos fenólicos foi dependente da concentração de extrato empregada, sendo um fator diretamente ligado o número de constituintes fenólicos presentes no extrato. Nesse mesmo contexto, Shori (2022) também atribuíram o maior conteúdo de fenóis dos iogurtes analisados, ao alto teor desses compostos encontrados nos extratos vegetais de *Myristica fragrans* Hout (noz-moscada) e *Piper nigrum* L. (pimenta-do-reino e pimenta-branca) incorporados nas formulações.

Constatou-se também um ligeiro decréscimo nas formulações FR10, FR5 e C, sendo a menor concentração na amostra controle ($p < 0,05$). Interações no complexo proteína-polifenol formado nos iogurtes devido a adição de extratos vegetais, podem ser afetadas e reduzir o conteúdo de CFT, conforme destacado por Demirkol e Tarakci (2018) em iogurtes fortificados com pó do bagaço de uva. Os autores sugeriram que a estrutura celular do bagaço de uva influenciou as interações água-proteína, reduzindo o conteúdo de fenóis no iogurte. Embora diferenças tenham sido observadas nas formulações do iogurte com extratos das folhas e frutos do guabijú, salienta-se que a espécie é reportada pela presença de diversos compostos fenólicos, como ácido gálico, ácido sirínico, catequina e quercetrina, e o aumento dos CFT nas formulações de iogurte se deve ao enriquecimento com os extratos das folhas e frutos do guabijú.

O conteúdo fenólico constatado no iogurte natural (C) pode ser associado a presença de diferentes compostos oriundos do leite, como aminoácidos com grupamento fenólico na estrutura (como a tirosina), açúcares e peptídeos bioativos, os quais podem ser liberados no processo de fermentação pelas culturas iniciadoras do iogurte (Shori, 2022; Tang *et al.*, 2022). Pesquisas também sugerem que a presença de compostos fenólicos no leite está relacionada

com a alimentação dos animais leiteiros, supostamente rica em compostos polifenólicos (Barukčić *et al.*, 2022). Os iogurtes naturais são associados ao fortalecimento do sistema imunológico do ser humano, por contribuir para uma melhor na absorção de vitaminas e minerais. Dessa forma, a utilização de extratos vegetais em formulações de iogurte favorece para o aumento do valor nutricional e funcional dos produtos, por serem fontes de compostos polifenólicos, os quais podem fornecer atividades biológicas (Rashwan; Osman; Chen, 2023).

A atividade antioxidante foi determinada por três métodos (ABTS, DPPH e FRAP), e em ambos foi constatado o potencial antioxidante para todas as formulações de iogurte (Tabela 19). Nos dados obtidos para atividade antioxidante ABTS e FRAP, o enriquecimento com os extratos promoveu o aumento na capacidade antioxidante observada, conforme proporção adicionada nas formulações FR5, FR10, FO5 e FO10. Porém, na avaliação pelo método DPPH, o enriquecimento com os extratos resultou em maior atividade antioxidante apenas nas amostras FO5 e FO10, sendo verificado que a adição dos extratos dos frutos de guabijú reduziu a atividade de FR5 e FR10, sendo menores que a formulação C no final do período de avaliação. O aumento na capacidade antioxidante observada nas formulações enriquecidas está veiculado principalmente a presença dos compostos flavonoides, antocianinas e fenólicos, adicionados através dos extratos das folhas e frutos do guabijú. Já o potencial exibido pela formulação controle pode ser assimilado com a presença de peptídeos bioativos que possuem essa atividade (Abdel-Hamid *et al.*, 2020).

Dentro desse mesmo contexto, relatos semelhantes foram mencionados por Zhang *et al.* (2019) em iogurtes suplementados com extratos das folhas de moringa, os quais relataram que a maior atividade antioxidante, tanto na avaliação por ABTS quanto DPPH, foi dependente da dose de extrato aplicada bem como da presença de compostos fenólicos provenientes das folhas de moringa, tais como quercetina e kaempferol. Um comportamento similar foi documentado em iogurtes adicionados de extratos dos frutos de rosa-de-burnet e folhas de oliveira (Szołtysik *et al.*, 2020; Barukčić *et al.*, 2022). Os autores correlacionaram o aumento da capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP ao aumento da proporção do extrato aplicado, e dos polifenóis provenientes dos materiais vegetais empregados nos iogurtes.

Pode-se ressaltar que a atividade antioxidante ABTS determinada no presente estudo exibiu um declínio durante o tempo de armazenamento para as amostras C e FR10, enquanto em FR5 não houve diferença entre o primeiro e último dia de armazenamento. De maneira similar, nas mesmas formulações (C, FR5 e FR10), foi observada a redução da capacidade antioxidante investigada por FRAP apenas após 7 dias do armazenamento das amostras. Por outro lado, para as formulações adicionadas com extratos foliares, FO5 e FO10, verificou-se

um aumento significativo do potencial antioxidante analisado por ABTS em relação as demais amostras, a partir do dia 7, mantendo-se estável até os 21 dias armazenado. Apesar de uma ligeira diminuição nos dados antioxidantes por FRAP nas amostras FO5 e FO10, os valores foram significativamente maiores em relação as amostras C, FR5 e FR10 (dados entre 1965,90 e 3957,33 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ ao longo do armazenamento). A manutenção no potencial antioxidante de iogurtes suplementados com extratos vegetais foi destacada por Zhang *et al.* (2019) e Szołtysik *et al.* (2020) durante o armazenamento refrigerado de 21 e 14 dias, respectivamente, sendo que esse efeito pode ser relacionado à presença de outros compostos, como peptídeos e aminoácidos, os quais também exercem efeitos antioxidantes.

A diminuição do potencial antioxidante ao longo do armazenamento das formulações de iogurte avaliadas pode ter ocorrido devido a degradação dos compostos fenólicos pelo efeito de bactérias iniciadoras do iogurte, além da formação de complexos entre polifenóis e proteínas que não entram nas reações promovidas pelos ensaios, conforme sugerido por Barukčić *et al.* (2022) e Herrera *et al.* (2023) em avaliações relacionadas aos métodos DPPH e FRAP. Salienta-se ainda que os menores resultados constatados na avaliação dos iogurtes por DPPH podem ter ocorrido devido a interferências associadas com solubilidade do reagente e a matriz da amostra (Abdel-Hamid *et al.*, 2020).

Conforme relatado, diversas pesquisas demonstraram potencial antioxidante em formulações de iogurte, e que esta é influenciada principalmente pelo tipo e quantidade de polifenóis adicionados. Assim, o enriquecimento dos iogurtes com os extratos das folhas e frutos do guabijú indica possíveis efeitos bioativos, com capacidade de fornecer benefícios a saúde do consumidor, considerando a ação protetora contra radicais livres no organismo, proporcionada por compostos antioxidantes. Em outro contexto, os antioxidantes podem ser usados durante o processamento de alimentos para reduzir o processo de oxidação, o qual forma compostos indesejáveis e também afeta as características sensoriais dos produtos (Shori, 2022; Herrera *et al.*, 2023).

4.3.3 Viabilidade de bactérias lácticas e atividade antimicrobiana durante o armazenamento

A viabilidade das bactérias lácticas nas formulações de iogurte (C, FR5, FR10, FO5 e FO10) durante o armazenamento refrigerado de 21 dias, são demonstradas na Tabela 20.

Tabela 20 – Efeito do enriquecimento dos extratos das folhas e frutos de guabijú sob a viabilidade de bactérias lácticas totais (UFC g⁻¹)

Formulação	Tempo (dias)			
	1	7	14	21
C	6,74 ^{Eb} x 10 ⁶ ± 0,04	8,55 ^{Ba} x 10 ⁸ ± 0,09	6,43 ^{Dc} x 10 ⁶ ± 0,17	6,80 ^{Bb} x 10 ⁶ ± 0,01
FR5	9,22 ^{Aa} x 10 ⁹ ± 0,00	8,84 ^{Ab} x 10 ⁸ ± 0,06	7,02 ^{Cc} x 10 ⁷ ± 0,03	7,09 ^{ABc} x 10 ⁷ ± 0,11
FR10	9,07 ^{Ba} x 10 ⁹ ± 0,01	8,30 ^{Cb} x 10 ⁸ ± 0,07	7,15 ^{BCc} x 10 ⁷ ± 0,21	6,43 ^{Cd} x 10 ⁶ ± 0,36
FO5	7,58 ^{Cb} x 10 ⁷ ± 0,00	8,58 ^{Aa} x 10 ⁸ ± 0,08	7,40 ^{Ac} x 10 ⁷ ± 0,03	7,24 ^{Ad} x 10 ⁷ ± 0,10
FO10	7,49 ^{Db} x 10 ⁷ ± 0,01	8,89 ^{Aa} x 10 ⁸ ± 0,04	7,24 ^{ABc} x 10 ⁷ ± 0,05	7,18 ^{Ac} x 10 ⁷ ± 0,05

Fonte: a autora (2025).

Nota: F: formulação; C: controle; FR5: fruto 5%; FR10: fruto 10%; FO5: folha 5%; FO10: folha 10%; Médias ± desvios padrão das amostras em triplicata; ^{A,B,C,D,E} Letras maiúsculas sobrescritas diferentes nas colunas e sobrescritas minúsculas (^{a, b, c, d}) nas linhas indicam diferenças significativas pelo teste de Fisher (p < 0,05).

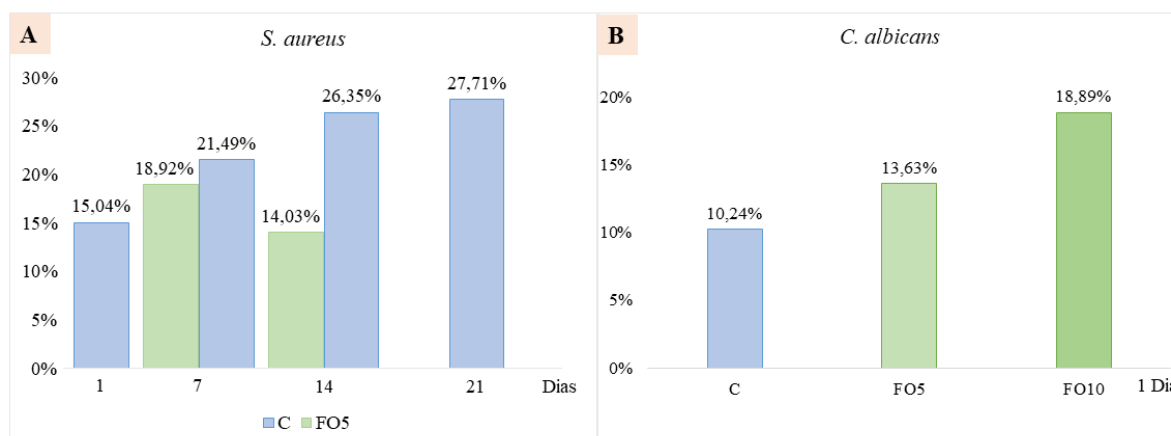
O enriquecimento das formulações de iogurte com os extratos otimizados das folhas e frutos de guabijú, promoveu aumento significativo na viabilidade das bactérias lácticas totais em comparação a formulação controle. Do primeiro ao sétimo dia, constatou-se aumento de um ciclo log nas amostras C, FO5 e FO10, enquanto FR5 e FR10 reduziram da escala 10⁹ para 10⁸, equiparando-se as demais formulações. Do período de 14 a 21 dias FO5, FO10 e FR5 permaneceram na escala 10⁷. As formulações FR10 e C declinaram, indicando menor ciclo log ao final do armazenamento (6,43 e 6,80 log UFC g⁻¹, respectivamente). Salienta-se que a legislação brasileira determina uma contagem de bactérias lácticas totais de 10⁶ UFC g⁻¹ em leites fermentados e iogurtes que contenham bifidobactérias na composição (BRASIL, 2007). Dessa forma, todos os iogurtes desenvolvidos nessa pesquisa atenderam ao critério quanto a viabilidade dos microrganismos durante o período de avaliação de 21 dias.

De maneira similar ao encontrado para as formulações do presente estudo (FR5, FR10, FO5 e FO10), Szołtysik *et al.* (2020) documentaram maior número de células viáveis em iogurtes fortificados com extratos dos frutos de rosa-de-burnet, sendo proporcional ao aumento da concentração do extrato (0; 0,1 e 0,2%). Como o crescimento bacteriano em iogurtes pode ser influenciado por diferentes condições, foi presumido que no caso da adição de compostos fenólicos provindos dos extratos vegetais, é possível que estes sejam transformados em derivados mais ativos (como agliconas), o que pode favorecer a maior atividade da cultura inicial (Silva *et al.*, 2017). De forma paralela, Mueed *et al.* (2024) destacaram que a utilização dos extratos dos frutos de bérberies indiana em formulações de iogurte preservou 80% da população bacteriana (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *S. thermophilus*) durante o período de avaliação de 30 dias das amostras, destacando que os compostos presentes nos extratos não exibiram efeitos de inibição sobre as bactérias lácticas analisadas, sendo proporcionado um estímulo ao crescimento das células.

Szołtysik *et al.* (2020) também constataram redução na contagem viável das bactérias lácticas durante o período de 14 dias de armazenamento refrigerado, exibindo dados de 7,65 a 8,23 (*L. bulgaricus*) e 8,03 a 8,74 (*S. thermophilus*) log UFC g⁻¹, atribuindo os dados ao decréscimo do pH e aumento da acidez dos iogurtes, semelhante ao evidenciado no presente estudo. Outro fator associado a redução da viabilidade das bactérias lácticas, foi observado por Shori *et al.* (2021), os quais sugeriram que a presença de xantonas, que são características do extrato dos frutos de mangostin, podem ter afetado negativamente a contagem das células viáveis de *Lactobacillus* spp. (*L. acidophilus*; *L. casei* LC-01; *L. bulgaricus*) nas formulações de iogurte.

Em relação a atividade antimicrobiana, na Figura 23 foram reportados dados sobre o potencial de inibição observado para as amostras controle, FO5 e FO10 frente aos microrganismos *S. aureus* e *C. albicans*. Para as bactérias Gram negativas *E. coli* e *Salmonella* não foi evidenciado capacidade de inibição das amostras avaliadas, presumindo-se maior resistência desses microrganismos sob as amostras analisadas. A formulação controle (C) revelou percentual de inibição de 15,04 a 27,71% durante o período de avaliação de 21 dias, contra a bactéria *S. aureus*. A amostra FO5 indicou inibição apenas no período de 7 a 14 dias com dados de 18,92 e 14,03% (Figura 23: A). A atividade fungicida contra *C. albicans* foi constatada nas formulações C, FO5 e FO10, somente no primeiro dia de avaliação das amostras (Figura 23: B).

Figura 23 - Atividade antimicrobiana de iogurtes enriquecidos com extratos das folhas e frutos do guabijú (%)



Fonte: a autora (2025).

Nota: C: controle; FO5: folha 5%; FO10: folha 10%.

A atividade antimicrobiana de iogurtes suplementados com extratos vegetais, frente a bactérias patogênicas, foi relatada em alguns estudos. Tami *et al.* (2022) evidenciaram atividade

antimicrobiana frente a *E. coli* e *S. aureus*, destacando que o aumento da concentração do extrato das sementes de uva nas formulações de iogurte, exibiram o maior potencial inibitório, principalmente para *S. aureus*. Abdel-Hamid *et al.* (2020) relataram que a capacidade antimicrobiana de iogurtes enriquecidos com extratos dos frutos de *Siraitia grosvenorii* (fruta dos monges) em relação as cepas de *E. coli*, *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes* foi proporcional ao aumento da concentração do extrato. Ambos autores enfatizaram que os efeitos observados se devem principalmente pela presença de peptídeos bioativos do leite, liberados durante o processo de fermentação pela cultura adicionada. Além do mais, compostos característicos predominantes nos extratos empregados podem ter contribuído para o potencial antibacteriano observado (Tami *et al.*, 2022; Abdel-Hamid *et al.*, 2020). Os extratos das folhas do guabijuzeiro já foram descritos como fonte de compostos flavonoides, como catequina, quercetrina e quercetina, os quais são relacionados a atividade antimicrobiana, por causarem danos na membrana celular das bactérias, fator que pode ser associado aos efeitos observados nesse estudo (Almeida *et al.*, 2017; Zandoná *et al.*, 2020).

O menor potencial antimicrobiano observado em FO5 para *S. aureus* (Figura 25: A) em relação a formulação controle, assim como a ausência de atividade contra *C. albicans* após o primeiro dia de avaliação (Figura 23: B) pode ser atribuído a uma reação de antagonismo proporcionado pela adição dos extratos das folhas do guabijuzeiro com demais compostos presentes na matriz do iogurte, como ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, diacetil e bacteriocinas. Considerando que os extratos naturais também são fontes complexas de compostos orgânicos, diferentes mecanismos de ação podem inativar a capacidade antimicrobiana (Azizkhani; Saris; Baniasadi, 2021; Bagatini *et al.*, 2023).

4.4. CONCLUSÃO

A incorporação dos extratos das folhas e frutos do guabijú em formulações de iogurte promoveram efeitos significativos nas propriedades físico-químicas, funcionais e microbiológicas dos produtos. A adição dos extratos promoveu diferença nos parâmetros de cor das amostras enriquecidas em relação ao controle, sobretudo nas formulações FR5 e FR10, nas quais foram observados tons avermelhados, atribuídos à presença das antocianinas. Embora tenha sido constatado um ligeiro aumento na acidez de todas as amostras de iogurte, os percentuais de sinérese foram reduzidos e CRA aumentou ao término da avaliação das formulações, sugerindo possível estabilização dos produtos, frente a esses parâmetros.

Na determinação dos flavonoides totais e compostos fenólicos totais, o enriquecimento com os extratos vegetais demonstrou aumento expressivo desses bioativos, sendo proporcional à concentração dos extratos adicionados. Notadamente, as formulações FO5 e FO10 apresentaram conteúdo mais expressivo dos CFT durante o armazenamento, indicando certa estabilidade desses compostos nas amostras de iogurte contendo extrato foliar do guabijuzeiro. A avaliação da atividade antioxidante das formulações de iogurte revelou potencial promissor, com ênfase para os métodos ABTS e FRAP, que indicaram efeito antioxidante potencializado nas amostras com enriquecidas com os extratos das folhas e frutos do guabijú. Apesar de FR5 e FR10 demonstrarem atividade inferior no método DPPH, os demais resultados sustentam a eficácia funcional dos extratos utilizados. Adicionalmente, a utilização dos extratos favoreceu a viabilidade das culturas de bactérias lácticas ao longo dos 21 dias de armazenamento, com contagens compatíveis à faixa recomendada na legislação. Os ensaios antimicrobianos revelaram atividade inibitória frente a *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, que embora possa ser considerada de baixo percentual, sugeriu uma ação complementar dos extratos das folhas na segurança microbiológica dos iogurtes.

Dessa forma, os dados evidenciados nesse capítulo indicaram que os extratos das folhas e frutos do guabijú exibiram potencial tecnológico e funcional na utilização como ingredientes naturais para o desenvolvimento de iogurtes enriquecidos com compostos bioativos. Salienta-se que, como não há estudos referentes a aplicação de extratos das folhas em produtos alimentícios, se faz necessário uma investigação sobre a toxicidade do material, afim de garantir sua segurança ao consumo e assim promover futuras avaliações sensoriais dos produtos em que poderão ser adicionados.

CAPÍTULO 5: EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS E FOLHAS DE *Myrcianthes pungens*

RESUMO: Os óleos essenciais (OE) são compostos aromáticos voláteis obtidos de várias partes das plantas, caracterizados por odor intenso e aspecto oleoso. Esses compostos atuam como defesa natural das plantas, sendo valiosos industrialmente devido às suas propriedades aromáticas e biológicas, apesar de sua pequena presença nas plantas. Embora uma ampla gama de plantas é explorada comercialmente para obtenção de OE, novas espécies vêm sendo investigadas, como *Myrcianthes pungens* (guabijú), a qual demonstrou efeitos antimicrobianos e antioxidantes relevantes em OE extraído de suas folhas. Buscando expandir as informações sobre as propriedades do OE do guabijuzeiro, nesse capítulo o objetivo foi realizar a extração do OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro por meio da hidrodestilação e analisar a composição química e potencial antioxidante e antimicrobiano dos óleos obtidos. O OE extraído das folhas resultou em maior rendimento (0,10%) em comparação ao obtido para os frutos de guabijú (0,04%). Os compostos químicos identificados por CG/EM contabilizaram ao todo 38 constituintes que pertenciam em sua maioria a classe dos sesquiterpenos hidrocarbonetos (57,89%). Dentre os compostos com maior percentual de área relativa, o espatulenol foi o mais expressivo em ambos OE analisados, indicando 25,12% em OE de frutos e 12,87% no OE das folhas. Constatou-se a presença de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em ambos OE avaliados, cujo potencial foi determinado por diferentes métodos, ABTS e DPPH. A atividade antimicrobiana indicou maior efeito do OE das folhas contra bactérias Gram negativas (*Salmonella* e *E. coli*) enquanto OE dos frutos foi mais efetivo contra *S. aureus* (Gram positivo), com valor da concentração inibitória mínima de 258,23 µg mL⁻¹. O efeito antifúngico contra *C. albicans* foi observado para ambos OE, com inibição >90%. Os OE analisados das folhas e frutos do guabijú são compostos naturais com potenciais efeitos biológicos associados, estando potencialmente relacionados a variabilidade da composição química.

Palavras-chave: Guabijuzeiro; Hidrodestilação; Cromatografia gasosa; Antimicrobiano; Atividade Antioxidante.

5.1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas aromáticas e com apelo medicinal é realizada a muitos anos pela humanidade. Diversas espécies são conhecidas por produzirem óleos essenciais (OE), que são compostos voláteis classificados como metabólitos secundários, os quais podem ser obtidos de diferentes partes das plantas, como raízes, folhas, cascas e flores. Apesar de representarem uma pequena fração da planta, esses compostos desempenham um papel importante na sobrevivência das espécies vegetais, atuando como mecanismos de defesa natural. Além do mais, possuem características aromáticas e biológicas que despertam interesse em diversos

ramos industriais, incluindo farmacêuticas, alimentícias e de fragrâncias (Tongnuanchan; Benjakul, 2014; Ríos, 2016; Ni *et al.*, 2021).

Diversas espécies são exploradas para obtenção de OE, sendo que muitas substâncias apresentam emprego comercial, como os OE de *Cinnamomum* ssp., *Eucalyptus* ssp, *Citrus* ssp., *Syzygium aromaticum* (canela, eucalipto, laranja e cravo, respectivamente). Entretanto, a demanda crescente por agentes naturais com efeitos biológicos associados, tem impulsionado a investigação de uma gama diferenciada de espécies. Neste cenário, a família *Myrtaceae* destaca-se como promissora com diferentes gêneros demonstrando potencial para extração de OE. Entre as espécies, a *Myrcianthes pungens* emerge como uma fonte ainda pouco explorada para essa finalidade. O guabijuzeiro, como é popularmente conhecido, é uma árvore com características ornamentais atrativas, que tem sido relatada como fonte de compostos bioativos com capacidade antioxidante, além de propriedades medicinais como as antidiarreicas, estomacais e tônicas. Outros efeitos evidenciados destacaram-se no OE extraído das folhas do guabijuzeiro, indicando potencial bactericida frente a espécies microbianas de importância para segurança de alimentos, como a *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (Almeida *et al.*, 2017; Seraglio *et al.*, 2018; Jesus *et al.*, 2021; Raphaelli *et al.*, 2023).

Embora a espécie seja reconhecida como promissora no fornecimento de compostos com bioatividade, os efeitos atribuídos aos OE são limitados, visto que suas características químicas podem ser distintas de dados relatados anteriormente. Essa variabilidade está associada a interferência de fatores externos e internos relacionados a planta, os quais podem influenciar no comportamento dos efeitos biológicos documentados. Nesse contexto, as propriedades antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes podem revelar agentes promissores para utilização em vários segmentos industriais, como novas fontes de conservantes naturais. Dessa forma, os objetivos do capítulo foram realizar a extração do OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro, investigar a composição química dos produtos obtidos e avaliar a capacidade antioxidante e antimicrobiana frente a diferentes cepas microbianas.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Materiais

As folhas do guabijuzeiro foram coletadas no período da primavera (mês de novembro) de duas árvores, em diferentes galhos da planta e em regiões distintas da cidade de Francisco Beltrão (latitude: 26° 04' 52" S; longitude: 53° 03' 18" W; altitude: 570 m), Paraná (Brasil). Os

frutos foram colhidos no verão, durante o período de maturação (janeiro) também de diferentes galhos da planta, mas em duas árvores de diferentes cidades: além da já mencionada, parte dos frutos utilizados na extração do OE foram obtidos em São Lourenço do Oeste, (latitude: 26° 21' 32" S; longitude: 52° 51' 3" W; altitude: 893 m), Santa Catarina (Brasil). Os materiais vegetais foram coletados, selecionados quanto a ausência de danos físicos visíveis, higienizados com água corrente, embalados e submetidos ao congelamento em freezer a -18 °C até o período de extração do OE.

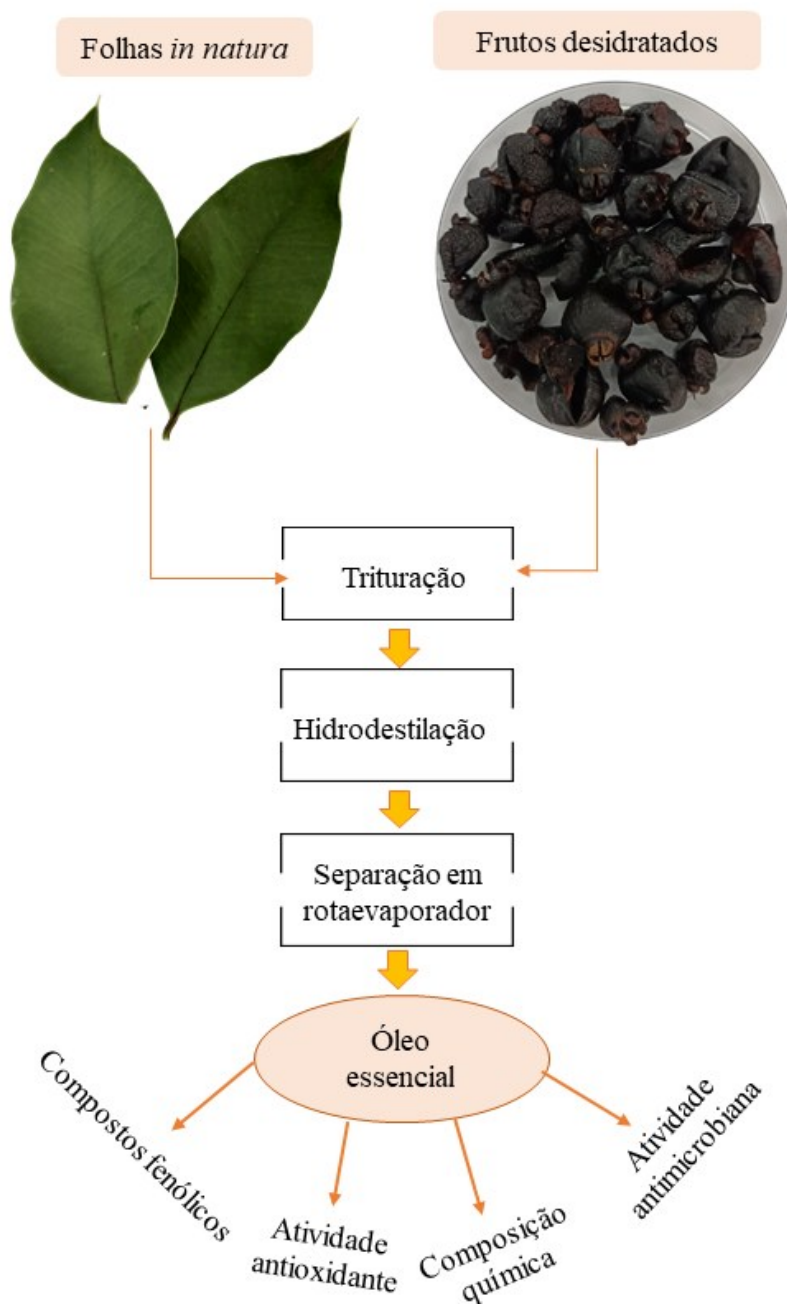
Para as análises de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, ABTS e DPPH utilizaram-se reagentes de grau analítico, sendo: hexano (C₆H₁₄) adquirido da Química Moderna (Barueri, SP, Brasil) e persulfato de potássio (K₂S₂O₈) adquiridos da Synth® (Diadema, SP, Brasil), clorofórmio (CHCl₃), carbonato de sódio (Na₂CO₃), metanol (CH₃OH) e reagente Folin-Ciocalteu adquiridos da Êxodo® (Sumaré, SP, Brasil). Além de ácido gálico (C₇H₆O₅), Trolox (C₁₄H₁₈O₄; 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), ABTS+ (2,2'-azino-di (ácido 3-etil-benzotiazolina-sulfônico-(6)) e DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil) ambos adquiridos da *Sigma-Aldrich*® (St. Louis, MO, EUA).

Na análise antimicrobiana foram utilizados: caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e *Mueller Hinton Broth*, ambos adquiridos da Kasvi (São José dos Pinhais, PR, Brasil), ágar bacteriológico (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil) e cloreto de sódio (NaCl) obtidos da Neon (Suzano, SP, Brasil).

5.2.2. Métodos

As informações gerais sobre a extração e avaliação das características do óleo essencial dos frutos e folhas do guabijuzeiro foram demonstradas na Figura 24.

Figura 24 - Principais etapas de obtenção e avaliação do óleo essencial



Fonte: a autora (2025).

5.2.3 Extração do óleo essencial

O óleo essencial (OE) das folhas e frutos de guabijú foram obtidos pelo método de hidrodestilação. O sistema consistiu na utilização de uma manta aquecedora (Quimis®, Q321A28, Diadema, SP, Brasil) e um balão de fundo redondo com capacidade para 5 L, que continha a amostra e água. O balão foi acoplado ao conjunto de destilação, formado pela

vidraria Clevenger e um condensador, no qual circulava água refrigerada (Tecnal®, TE-2000, Piracicaba, SP, Brasil).

As folhas empregadas na obtenção do óleo foram pesadas (250 g) e trituradas em liquidificador convencional com água, sendo sequencialmente adicionadas no balão. O volume final de água foi de 2,5 L. Os frutos primeiramente foram cortados manualmente para remoção das sementes e submetidos a secagem em estufa com circulação de ar (American Lab AL102/480, Brasil) sob temperatura de 60 °C por 16 h. Após, os frutos foram pesados (300 g) e triturados em liquidificador com água (volume final de 3,0 L). O material vegetal permaneceu sob fervura por aproximadamente 2 horas. O óleo essencial obtido foi separado do hidrolato com adição do solvente hexano em um funil de separação. O solvente contendo o óleo essencial foi removido em evaporador rotativo (Tecnal®, TE-211, Piracicaba, SP, Brasil) e óleo coletado em frasco devidamente pesado. Os produtos obtidos foram armazenados sob congelamento. A porcentagem de rendimento do óleo essencial (%) foi calculada conforme Equação 8:

$$\% = OE / MV \times 100 \quad (8)$$

Onde OE é o óleo essencial total extraído e MV é a massa vegetal utilizada.

O óleo essencial das folhas foi avaliado quanto ao índice de refração, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante ABTS e DPPH. A atividade antimicrobiana foi determinada no óleo das folhas e frutos.

5.2.4 Índice de Refração

O índice de refração do óleo essencial obtido das folhas do guabijuzeiro foi determinado com uso do refratômetro de bancada Abbé (Megabrix, AR 1000S, Brasil). Para realizar a análise, duas gotas do óleo foram colocadas na lâmina do refratômetro e o valor obtido na escala para o índice de refração, registrado.

5.2.5 Composição Química do Óleo Essencial por Cromatografia gasosa (CG)

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) foi realizada para identificar os compostos individuais no OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro. Cada amostra foi diluída (10 mg mL⁻¹) em clorofórmio e submetida a análise. Utilizou-se o

instrumento *Agilent*® GC 7890A acoplado ao detector MS *Agilent*® 5975C. A coluna capilar de sílica fundida, HP-5MS (*Agilent*®; 30 m x 250 µm x 0,25 µm; composta de 5% de fenil-95% de metilpolisiloxano) foi conectada a uma fonte EI (Ionização por Impacto de Elétrons) operando a 70 eV com um analisador de massa quadripolar. A varredura de massa variou de 41 a 415 m/z. O hélio foi usado como gás de arraste a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor (razão de divisão 1:20) e da interface foram de 220 °C e 240 °C, respectivamente. O atraso do solvente foi de 3,0 min. O volume de injeção foi de 0,2 µL (10% v/v) com amostrador automático *Agilent* GC Sampler 80 equipado com uma seringa de 10 µL. O programa de temperatura do forno consistiu em aumentar de 60 °C (3 °C/min) para 246 °C, tempo total de execução de 62 min. Os compostos foram identificados pela comparação de seus espectros de massa com aqueles do *National Institute of Standards and Technology* (NIST, 2011). O índice de retenção linear foi calculado pelos tempos de retenção de *n*-alcanos que foram injetados nas mesmas condições cromatográficas (Adams, 2017; Bizzo *et al.*, 2020). Essa análise foi realizada pela Central de Análises do EQA, na UFSC campus Florianópolis/SC.

5.2.6 Compostos Fenólicos Totais

O procedimento para determinação dos compostos fenólicos totais nos óleos essenciais obtidos foi executado conforme metodologia de Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, (1999) com algumas alterações. Previamente, o OE dos frutos e das folhas foi diluído adequadamente em clorofórmio. Para determinação dos compostos fenólicos, foram transferidos 50 µL do óleo diluído para tubos de ensaio e na sequência adicionou-se 4,2 mL de água deionizada seguidos de 250 µL do reagente de Folin Ciocalteu. Os tubos foram agitados com auxílio do vórtex (*Vision Scientific*®, KMC-1300 V, *Daejeon-Si*, Coreia do Sul) e após 3 min acrescentou-se 500 µL de carbonato de sódio 20%. Após nova agitação, os tubos ficaram em repouso por 1 h sob abrigo da luz. Transcorrido o tempo, pipetou-se 300 µL da amostra para uma microplaca de poços e efetuou-se a leitura em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch, Microplate Spectrophotometer Synergy-BioTek, Winooski*, VT, EUA) a 725 nm. Um teste em branco foi preparado, aplicando-se o mesmo procedimento, sendo a amostra substituída por 50 µL de clorofórmio.

As absorbâncias das amostras foram substituídas na equação da reta ($y = 0,0007x + 0,0006$; $R^2 = 0,995$), obtida por meio de uma curva padrão de ácido gálico (20 a 200 mg kg⁻¹) para calcular o resultado que foi expresso em mg equivalente de ácido gálico (mg AGE kg⁻¹).

5.2.7 Atividade Antioxidante: ABTS

A avaliação da capacidade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS⁺ ((2,2'-azino-di (ácido 3-etil-benzotiazolína-sulfônico-(6))), foi avaliada conforme Re *et al.* (1999). Inicialmente preparou-se o reagente ABTS⁺, sendo misturados uma solução de ABTS (7 mmol L⁻¹) com uma solução de persulfato de potássio 2,45 mmol L⁻¹ na proporção de 1:1. Essa solução ficou em repouso ao abrigo da luz por 16 horas. Transcorrido esse tempo, foram transferidos 4 mL da solução para um balão volumétrico de 200 mL sendo o volume ajustado com água deionizada.

Em uma microplaca de poços, foram adicionados 20 µL do OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro, devidamente diluídos em clorofórmio e 280 µL da solução de ABTS⁺ sendo na sequência mantida em repouso sob proteção da luz durante 30 min. Após o tempo de reação, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch, Synergy-BioTek, Winooski, VT, EUA*) a 734 nm. Em paralelo, uma curva padrão (50 a 500 µmol L⁻¹) foi construída utilizando Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico) em diferentes concentrações, seguindo-se o mesmo procedimento executado para as amostras. Após obtenção da equação da reta ($y = 0,1827x + 3,9372$; $R^2 = 0,9865$), as leituras das absorbâncias da amostra foram substituídas para realização de cálculos e obtenção dos resultados, que foram expressos µmol equivalente de Trolox (µmol TE kg⁻¹).

5.2.8 Atividade Antioxidante: DPPH

A atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil) foi determinada conforme metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) com algumas modificações. O reagente foi diluído em metanol sob abrigo da luz.

O OE dos frutos e folhas foi diluído adequadamente em clorofórmio e alíquotas de 50 µL foram transferidas para tubos de ensaio. Na sequência, adicionou-se 1,9 mL do radical DPPH e com auxílio do vórtex (*Vision Scientific®, KMC-1300 V, Daejeon-Si, Coreia do Sul*) os tubos foram agitados. As amostras ficaram em repouso durante 30 min sob proteção da luz. Esse processo também foi realizado para uma amostra em branco, sendo substituído o volume de óleo por clorofórmio. Após este período, transferiu-se 300 µL do conteúdo dos tubos para um microplaca de poços e a leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS (*Epoch, Synergy-BioTek, Winooski, VT, EUA*) a 517 nm. Uma curva padrão (50 a 500 µmol L⁻¹) foi construída com solução de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido

carboxílico) em diferentes concentrações, empregando o mesmo procedimento utilizado na amostra, para obtenção da equação da reta ($y = 0,0628x + 1,9602$). Os dados foram calculados e os resultados expressos em μmol equivalente de Trolox ($\mu\text{mol TE kg}^{-1}$).

5.2.9 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas e frutos do guabijú foi analisada em relação as cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica* spp. *enterica* (ATCC 13076) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Cada cultura foi inoculada em placa de Petri contendo caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) com ágar bacteriológico 1,5%, devidamente preparados conforme instrução do fabricante e incubada em estufa a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h (Quimis®, Q316-24, Diadema, SP, Brasil). Após esse período, os inóculos foram suspensos em solução salina 0,9 % a uma concentração de 10^8 UFC mL^{-1} (turbidez da escala 0,5 de McFarland's) para obtenção da cultura de trabalho.

Para determinação da atividade antimicrobiana, foi usada a técnica de microdiluição em caldo, adaptado de *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Para melhor dissolução do óleo essencial, em tubo de ensaio estéril preparou-se uma solução concentrada de 20 mg mL^{-1} (para OE das folhas) e 10 mg mL^{-1} (para OE dos frutos) com caldo *Mueller Hinton* (*Mueller Hinton Broth*) e Tween 80 a 2%. A partir dessa solução foram efetuadas diluições seriadas para obter as concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5 e $31,2 \mu\text{g mL}^{-1}$. Todas as amostras foram devidamente agitadas em vórtex.

Após, em microplacas estéreis (Kasvi®, KC12-096, São José dos Pinhais, PR, Brasil) foram adicionados 200 μL de cada diluição preparada e 10 μL do inóculo do microrganismo, sendo em seguida incubadas em estufa a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. Na sequência, foi realizada a leitura da amostra em espectrofotômetro UV-VIS de microplacas (*Epoch, Synergy-BioTek, Winooski, VT, EUA*) a 630 nm. Também preparou-se um teste em branco apenas com caldo *Mueller Hinton* e um controle positivo, o qual foi determinado mediante o crescimento microbiano sem a presença da amostra. A porcentagem de inibição foi calculada com base no crescimento dos microrganismos sem a presença do óleo essencial, que foi equivalente a 100% (Equação 4). O branco foi descontado da leitura das amostras.

$$\text{Inibição (\%)} = 100 - [(\text{Abs amostra} \times 100) / \text{Abs controle positivo}] \quad (4)$$

Onde:

Abs amostra: absorbância do crescimento bacteriano na presença óleo;

Abs controle positivo: absorbância do crescimento bacteriano sem o óleo.

A concentração mínima inibitória (EC50) foi determinada a partir de uma equação logarítmica e expressa em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

5.2.10 Análise Estatística

Os dados obtidos das análises de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante ABTS e DPPH e análise antimicrobiana foram avaliados estatisticamente por meio do teste T, utilizando o critério estatístico ao nível de significância de 5%, com auxílio do *software Statistica* versão 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Esses dados foram expressos pela média $\pm$ desvio padrão.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Características do óleo essencial

A técnica de hidrodestilação empregada foi eficiente na extração de OE das folhas e frutos de guabijú, sendo observado rendimento de 0,10% para o OE das folhas (massa fresca) enquanto o OE das frutas representou 0,04% (fruto seco). O percentual de rendimento obtido para o OE das folhas foi similar ao reportado por Apel, Sobral e Henriques (2006) em OE extraído das folhas *in natura* do guabijuzeiro, com 0,1%, assim como de Jesus *et al.* (2021) com 0,19% de rendimento no OE obtido a partir das folhas desidratadas.

Em espécies da mesma família, Costa *et al.* (2020) relataram para OE extraído das folhas secas de *Eugenia uniflora* (pitangueira) índice de rendimento de 0,8% a 3,1%, variando conforme a época de colheita das folhas. Em folhas frescas de *Myrcianthes gigantea* (araçá do mato), Antonelo *et al.* (2023) documentaram para o OE obtido da espécie, rendimento de 0,043%. Nas cascas do fruto fresco de *Acca sellowiana* (goiaba serrana/feijoa) foram reportados teores de 0,37% a 0,8% de óleo essencial, dependendo o tipo de cultivar analisado (Guerra-Ramirez *et al.*, 2021; Smeriglio *et al.*, 2019). Nesse mesmo contexto, Barbosa *et al.* (2020) destacaram para a espécie *Myrciaria floribunda* (camboim), rendimento de 0,6% para OE obtido das cascas dos frutos. De maneira geral, os óleos essenciais apresentam baixo rendimento e cada parte da planta (folha, caule, casca ou polpa) pode produzir diferentes

quantidades do composto. As alterações no teor de rendimento de OE são influenciadas por diferentes fatores, como as características fisiológicas e genéticas de cada planta, condições de colheita e solo, fatores climáticos e tratamento da amostra (Smeriglio *et al.*, 2019; Gyesei; Opoku; Borquaye, 2019).

Dentre as características do OE das folhas do guabijuzeiro, obteve-se índice de refração (IR) de 1,4850, sendo similar ao valor constatado por Jesus *et al.* (2021) de 1,4980 no OE das folhas do guabijuzeiro. Em OE obtido das folhas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), Harkat-Madouri *et al.* (2015) reportaram IR de 1,4657. Para diferentes variedades do OE de *Lavandula angustifolia* Mill (lavanda) e *Lavandula x intermedia* (lavandina), Kivrak (2018) encontraram valores de IR na faixa de 1,4652 para lavandina e de 1,4582 a 1,4629 nas cultivares de lavanda, destacando que os índices encontravam-se de acordo com padrões. O IR é uma medida que determina como a velocidade da luz é alterada ao passar pelo óleo. Para fins de produção e comercialização, esse parâmetro é um indicativo de qualidade, autenticidade e pureza do OE. Um OE puro tem valor de IR padronizado e conhecido e alterações nesse valor podem indicar mudanças na composição química e adulterações (Harkat-Madouri *et al.* 2015; Kivrak, 2018).

Os compostos químicos/voláteis individuais identificados por CG/EM para o OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro, foram indicados na Tabela 21. Salienta-se que os dados foram expressos pela área relativa (% de área ocupada pelo composto no cromatograma), sendo de uma leitura efetuada na amostra do OE dos frutos e duas no OE das folhas.

Tabela 21 – Composição química de OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro

Classe química	Composto	IR _{cal}	Área relativa (%)	
			OE fruto	OE folha
Monoterpenos hidrocarbonetos (MH)	Limoneno	1030	0,22	-
	(Z)- β -ocimeno	1044	-	0,12
Monoterpenos oxigenados (MO)	1,8-cineol (Eucaliptol)	1033	0,75	2,20*
	Linalool	1099	0,17	-
	Terpinen-4-ol	1182	-	0,18*
	α -terpineol	1196	0,90	1,36*
Sesquiterpenos hidrocarbonetos (SH)	α -copaeno	1377	0,25	0,15*
	(Z)-cariofileno	1413	-	0,40*
	(E)-cariofileno	1421	2,05	11,99*
	γ -maaliene	1429	-	0,33*
	Aromandendreno	1441	-	2,55*
	α -humuleno	1457	0,44	1,93*
	Allo-aromadendreno	1462	0,62	0,37*
	γ -selineno	1475	-	0,56
	γ -muuroleno	1476	0,33	-
	β -selineno	1481	-	0,18
	α -selineno	1491	1,04	4,21*
	Viridiflorene	1493	2,14	3,12*
	α -muurolene	1500	0,33	-
	(E,E)- α -farneseno	1504	-	1,15*
	β -bisaboleno	1508	0,54	-
	α -amorfeno	1515	0,42	0,26
	δ -cadineno	1520	1,37	2,30*
	Calameneno	1523	-	2,19*
	Cadina-1,4-dieno	1534	-	0,93*
	Epizonareno	1539	1,58	1,50
	Selina-3,7(11)-dieno	1544	1,22	1,03*
	α -ciperona	1747	0,32	-
Sesquiterpenos oxigenados (SO)	Elemol	1549	-	0,10
	(E)-nerolidol	1560	-	0,19*
	Espatuleno	1580	25,12	12,87*
	(-)-Globulol	1588	-	2,54*
	Guaiol	1598	-	2,34*
	Ledol	1607	-	0,57
	Rosifoliol	1608	3,39	0,55
	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5- β -ol	1640	0,87	0,58*
	α -cadinol	1658	8,92	-
	Bulnesol	1667	-	0,46

Fonte: a autora (2025).

Nota: *Valores médios (n=2). IR_{cal}: índice de retenção calculado.

Foram identificados ao todo 38 compostos químicos para os OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro, pertencentes as classes químicas dos terpenos e terpenóides e subdivididos dentre as classificações dos monoterpenos e sesquiterpenos. A classe com maior número de constituintes identificados foi a dos sesquiterpenos hidrocarbonetos (SH; 57,89%), seguidos por sequiterpenos oxigenados (SO; 26,32%), monoterpenos oxigenados (MO; 10,53%) e monoterpenos hidrocarbonetos (MH; 5,26%) em ambos óleos avaliados. No OE dos frutos, constatou-se que os compostos com maior área relativa pertenciam a classe dos SO, sendo estes o espatulenol (25,12%), α -cadinol (8,92%) e rosifoliol (3,39%). Dentro da classe SH, os compostos identificados no OE dos frutos exibiram baixa representação em termos de área relativa (%). O espatulenol também foi um dos principais compostos SO, do OE das folhas (12,87%), seguidos do (E)-cariofileno (11,99%), α -selineno (4,21%) e viridifloreno (3,12%), cuja fração de ambos foram os SH. A composição química revelou as características aromáticas desses óleos, as quais podem ser descritas como frutado-herbáceo-amadeirado, atribuídas a presença dos compostos espatulenol, α -cadinol e (E)-cariofileno em ambos óleos. No entanto, as diferentes proporções observadas principalmente no espatulenol, além de outros compostos em menor proporção, a destacar α -selineno, aromandendreno, α -humuleno e δ -cadineno, sugerem que OE das folhas possuem traços mais marcantes ao odor herbáceo-amadeirado (Souza *et al.*, 2021b; Pino; Marbot; Vázquez, 2001).

No OE dos frutos do guabijú, Marin *et al.* (2008) também indicaram os SH como a principal classe química encontrada, relatando o β -cariofileno (32,7%), germacreno D (14,2%) e biciclogermacreno (11,2%) como os compostos em maior proporção. De forma similar, para o OE das folhas, Apel, Sobral e Henriques (2006) reportaram os SH como a fração de compostos com maior percentual (45,4%), destacando como os principais constituintes o β -cariofileno e β -elemeno (10,1%; 9,1% respectivamente). Nos dados dos referidos autores, destacaram-se ainda compostos SO como o espatulenol (9,7%) e α -cadinol (8,0%). Esse mesmo comportamento foi observado por Jesus *et al.* (2021) no OE das folhas do guabijuzeiro, sendo os principais compostos da classe SH o β -cariofileno (11,7%) e o biciclogermacreno (7,9%). Os autores também evidenciaram em maior área o 1,8-cineol (10,1%) e espatulenol (7,8%), compostos das classes MO e SO respectivamente.

Em OE de espécies da mesma família (*Myrtaceae*) há uma predominância da classe química dos sesquiterpenos, com composição similar, porém em diferentes proporções. Em OE obtido das folhas de *Eugenia brasiliensis* (grumixama), Santos *et al.* (2023) indicaram como SO principais o espatulenol (6,42%) e o globulol (5,25%) e na classe SH o (E) -cariofileno (7,70%) e δ -cadineno (5,55%). Os autores também relataram que o (E) -cariofileno e α -

humuleno eram os SH mais abundantes no OE das folhas de *Psidium cattleianum* (araçá; 45,75% e 12,92 %, respectivamente). De forma similar, no OE foliar de *Eugenia pyriformis* (uvaia), Medeiros *et al.* (2024) identificaram maior predominância dos SO, com destaque ao espatulenol (45,6%), óxido de cariofileno (12,7%) e viridiflorol (5,2%). Em OE obtido a partir das cascas de goiaba serrana, Guerra-Ramirez *et al.* (2021) documentaram dentre os constituintes majoritários os SO espatulenol (8,6-9%) e α -cadinol (5,7-7,5%) e os SH elixeno (8,7-10,9%) e D-germacreno (8,04-8,7), além do ester benzóico benzoato de 3-hexen-1-ol. Já para o OE das cascas do fruto camboim, Barbosa *et al.* (2020) indicaram como compostos principais os sesquiterpenos δ -cadineno (26,8%), γ -cadineno (15,69%) e γ -muuroleno (6,21%) ambos da classe SH. As diferenças observadas na variabilidade e disposição dos compostos químicos dos OE em uma mesma espécie ou família, podem ser atribuídas a fatores geográficos, genéticos, condições ambientais e de solo, variações sazonais e presença de patógenos na planta (Costa *et al.*, 2020; Barbosa *et al.*, 2020). Além do mais, conforme sugerido por Carneiro *et al.* (2017) materiais vegetais *in natura* ou desidratados de uma mesma espécie, podem apresentar diferenças na composição ou o rendimento de componentes de OE, já que a remoção da umidade afeta as estruturas das células vegetais e pode facilitar a extração de determinados compostos.

5.3.2 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos óleos essenciais

Os dados para os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante ABTS e DPPH determinadas para o OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro foram reportados na Tabela 22.

Tabela 22 – Compostos fenólicos e atividade antioxidante dos OE de fruto e folha do guabijuzeiro

Parâmetros	OE fruto	OE folha
CFT (mg AGE kg ⁻¹)	1602,38 ^b ± 11,90	3462,86 ^a ± 20,60
ABTS (μmol TE kg ⁻¹)	1322,87 ^b ± 33,96	1671,79 ^a ± 25,88
DPPH (μmol TE kg ⁻¹)	2551,80 ^b ± 63,52	3639,70 ^a ± 206,13

Fonte: a autora (2025).

Nota: CFT: compostos fenólicos totais; Médias ± desvios padrão das amostras; ^{a,b} letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de t (p<0,05).

Constatou-se que ambos OE avaliados exibiram CFT na composição e capacidade antioxidante nos métodos avaliados. Foram observadas diferenças significativas em todos os

parâmetros analisados, sendo que o maior conteúdo fenólico e atividade antioxidante ABTS e DPPH foram evidenciados no OE das folhas (3462,86 mg AGE kg⁻¹; 1671,79 umol TE kg⁻¹; 3639,70 umol TE kg⁻¹, respectivamente). Um conteúdo mais elevado de compostos fenólicos foi relatado por Gyesi, Opoku e Borquaye (2019) no OE extraído das folhas de *Annona muricata* (graviola) com dados de 4,38 g AGE 100 g⁻¹. Em amostras de OE de *Syzygium aromaticum* (cravo) Suttiarporn *et al.* (2024) destacaram teores de 487 a 569 µg AGE µg⁻¹ de óleo, observando variação conforme o método de extração empregado para obtenção do OE.

Jesus *et al.* (2021) relataram a presença de atividade antioxidante do OE das folhas de guabijuzeiro analisadas, em diferentes métodos (DPPH, FRAP e método β-caroteno/ácido linoleico) atribuindo seu potencial aos compostos químicos identificados no OE. Os autores também destacaram que houve menor potencial antioxidante nos métodos DPPH e FRAP (24,47 mg mL⁻¹; 0,27 umol mg⁻¹), sugerindo que as interações dos constituintes químicos com os solventes empregados nas análises interferiram na capacidade antioxidante devido a polaridade do meio. De forma análoga, em OE obtido das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba) e *Plinia cauliflora* (jabuticaba), Sugauara *et al.* (2020) e Tedesco *et al.* (2020) salientaram que o melhor potencial antioxidante foi observado na aplicação do método β-caroteno/ácido linoleico atribuindo a atividade observada as substâncias lipofílicas presentes na composição dos respectivos óleos.

Em amostras de OE extraído das folhas de *Psidium cattleianum* (araçá) e *Psidium guajava* (goiaba), Souza *et al.* (2021b) observaram atividade antioxidante por três técnicas: FRAP, ABTS e DPPH, destacando que os valores adquiridos diferiram entre os métodos devido diferentes mecanismos de ação na reação. Os autores supracitados também sugeriram que o potencial antioxidante encontrado pode ser associado a presença majoritária de constituintes no OE avaliado, como o β-cariofileno. De maneira similar, no OE obtido do cravo, Suttiarporn *et al.* (2024) evidenciaram atividade antioxidante DPPH entre 43,26 a 49,77 mM TE mg⁻¹ de óleo, enfatizando que maior capacidade antioxidante obtida está associada ao conteúdo de eugenol, o principal constituinte químico identificado no OE. Na espécie de *Psidium guineense* Sw. (goiabinha), Nascimento *et al.* (2018) relataram atividade antioxidante pelos ensaios de DPPH, ABTS e MDA (malondialdeído), salientando que os efeitos observados podem ser devidos a presença do espatulenol, o constituinte primário do OE extraído das folhas.

Costa *et al.* (2020) documentaram potencial antioxidante DPPH de 186,9 a 436,3 mg TE g⁻¹ para OE extraído das folhas de pitangueira de diferentes colheitas, salientando que a ação sinérgica de diferentes constituintes do óleo favoreceu ao aumento da capacidade antioxidante. Já o maior percentual de inibição observado por Franco *et al.* (2021) no ensaio

DPPH, foi atribuído a composição química representada por sesquiterpenos no OE de *Eugenia patrisii* (ubaíá-rubí), além da maior proporção de germacreno D e (E)-cariofileno do OE de *Eugenia punicifolia* (pedra-ume-caá), assim como a predominância de compostos oxigenados aliados ao efeito sinérgico entre componentes do OE de *Myrcia tomentosa* (goiaba brava).

Conforme observado, os óleos essenciais são compostos promissores no fornecimento de atividade antioxidante. Essas moléculas possuem diversas estruturas químicas, que formam compostos com diferentes polaridades e comportamentos, requerendo formas distintas na avaliação de seus constituintes e efeitos biológicos, como a atividade antioxidante. Os métodos de avaliação antioxidante ABTS e DPPH são baseados na interação dos radicais livres com o agente antioxidante e o resultado expresso através da capacidade de eliminação do radical pela amostra. Cada reação é específica e influenciada principalmente pela solubilidade da estrutura química do OE (Harkat-Madouri *et al.*, 2015; Suttiarporn *et al.*, 2024). Tanto o OE extraído dos frutos como das folhas do guabijuzeiro demonstraram capacidade antioxidante frente aos métodos analisados (ABTS e DPPH) e podem ser considerados potenciais agentes contra danos oxidativos. Constatou-se uma maior área relativa do composto químico espatulenol em ambos OE extraídos, sobretudo no OE dos frutos. Além disso, o OE dos frutos exibiu maior área relativa em compostos da classe SO, os quais podem sugerir um efeito antioxidante. No entanto o OE das folhas resultou em uma variabilidade de constituintes em menor proporção, distribuídos principalmente nos SO e SH, sugerindo que interações sinérgicas também favoreçam a essa atividade.

5.3.3 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana (EC₅₀) do OE dos frutos e folhas contra os microrganismos *Salmonella enterica* spp. *enterica*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram expressos na Tabela 23. Foram constatadas diferenças significativas nas concentrações inibitórias mínimas (CIM) obtidas, entre as amostras de OE.

Tabela 23 - Atividade antimicrobiana de óleo essencial dos frutos e folhas do guabijuzeiro

Microrganismo	Amostras (µg mL ⁻¹)	
	Óleo essencial fruto	Óleo essencial folha
<i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i>	194,14 ^a ± 7,06	80,16 ^b ± 7,11
<i>Escherichia coli</i>	168,17 ^a ± 47,15	80,92 ^b ± 6,92
<i>Staphylococcus aureus</i>	258,23 ^b ± 18,83	402,19 ^a ± 4,79

Fonte: a autora (2025).

Nota: Médias ± desvios padrão das amostras; ^{a,b} letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste t (p<0,05).

Para os microrganismos *Salmonella* e *E. coli* observou-se maior susceptibilidade ao OE das folhas (80,16 e 80,92 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente) enquanto *S. aureus* foi mais sensível ao OE dos frutos de guabijú (258,23 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Para o fungo *Candida albicans* os dados foram determinados como percentual de inibição. As concentrações empregadas do OE da folha de 31,2 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ inibiram mais de 90% do microrganismo. O OE do fruto indicou percentual de inibição de 48,20% na aplicação da concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 91,41% em 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de amostra. Em fungos, a presença de OE pode causar danos na membrana citoplasmática, ocasionado pelo ataque na hifa do micélio. A parede celular da hifa perde sua integridade, promovendo vazamento de compostos celulares, resultando em seu colapso e morte (Chouhan; Sharma; Guleria, 2017). Conforme mencionado por Santos *et al.* (2023), terpenos oxigenados como o espatulenol e o globulol, exercem importante atividade antifúngica. Supõem-se dessa forma, que tanto no OE das folhas como dos frutos de guabijú, a classe de MO e SO pode ter representado efeitos inibitórios contra *C. albicans*.

Jesus *et al.* (2021) relataram atividade antimicrobiana para o OE das folhas do guabijuzeiro frente a bactéria Gram positiva *S. aureus*, indicando valor de CIM de 78,12 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os autores destacaram que ação bacteriana pode ter ocorrido em função da atuação dos compostos SH e SO do OE, na camada lipídica do microrganismo, além da presença de 1,8-cineol, considerado um agente com efeitos antimicrobianos. Em comparação ao presente estudo evidenciou-se que *S. aureus* demonstrou maior resistência ao OE aplicado, tanto das folhas como de frutos de guabijú (402,19; 258,23 $\mu\text{g mL}^{-1}$), inferindo que as diferenças na composição química dos OE podem atuar sob o menor efeito antimicrobiano observado.

Antonelo *et al.* (2023) documentaram que o potencial antimicrobiano observado frente a *E. coli*, *Salmonella* spp. e *C. albicans*, pode ser atribuído a presença de compostos oxigenados, principalmente com grupos hidroxila livres, sobretudo no OE das folhas de *Myrciaria tenella* (cambuí), cuja espécie indicou pinocarveol e α -terpineol na composição. Porém, os autores não descartaram a hipótese de ação sinérgica dos constituintes dos OE analisados, pois a atividade antimicrobiana de compostos purificados nem sempre é maior do que a exibida por OE, considerados misturas complexas de compostos orgânicos. Em outro estudo, Souza *et al.* (2021b) destacaram que os efeitos antimicrobianos dos OE das folhas de goiaba e araçá, observados contra *Salmonella enterica* (CIM de 1,37 e 1,41 $\mu\text{g mL}^{-1}$) podem ser associados a presença do constituinte β -cariofileno, o qual afeta a permeabilidade da membrana celular, causando vazamento e coagulação do conteúdo citoplasmático. Por outro lado, mesmo com diferenças na composição química dos OE de goiaba, araçá e grumixama, o microrganismo *E. coli* indicou maior resistência, sendo sugerido que a membrana externa da parede celular dessa

cepa regula a passagem de componentes ativos do OE para a célula (Souza *et al.*, 2021b; Silva *et al.*, 2019b). Dessa forma, infere-se que os compostos químicos do OE das folhas e frutos do guabijú atuaram de forma mais eficaz contra essa cepa considerada multirresistente a ação de diversos óleos essenciais, principalmente no OE das folhas por exibir menor valor de CIM ($80,92 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Em espécies de *Psidium laruotteanum* Cambess. (marangaba-peluda), *Psidium salutare* (Kunth) O. Berg (marangaba-vermelha) e *Psidium sobralianum* Landrum & Proença (araçá-de-veado), Macedo *et al.* (2022) investigaram a atividade antimicrobiana dos OE obtidos das folhas das espécies e constatarem valores de CIM entre 96 e $853,33 \mu\text{g mL}^{-1}$ para as bactérias *E. coli* e *S. aureus*. A presença dos derivados de cariofilenos, como α -cariofileno e óxido de cariofileno, assim como de viridiflorol foram sugeridas aos efeitos antibacterianos do OE de marangaba-peluda. Dentro desse mesmo contexto, um comportamento semelhante foi documentado por Smeriglio *et al.* (2019) para o OE da casca de feijoa, os quais demonstraram valores de CIM entre $2,67$ e $5,35 \text{ mg mL}^{-1}$ e maior que $5,35 \text{ mg mL}^{-1}$, para cepas de *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. Apesar da suposta ação dos cariofilenos descrito por Macedo *et al.* (2022), em ambos estudos os autores supracitados destacaram que os compostos químicos identificados em maiores proporções nos OE, não são essencialmente os responsáveis pelo maior efeito biológico constatado. Dessa forma, os constituintes minoritários devem ser considerados, uma vez que a atividade pode ser atribuída tanto a ação específica desses compostos ou aos efeitos sinérgicos entre os diversos constituintes presentes nos OE.

Diversos fatores podem interferir no comportamento microbiano frente a agentes naturais, tais como a variabilidade química do OE, se há sinergia entre os seus componentes, assim como as características da cepa avaliada. Esses aspectos reforçam a relevância do conhecimento acerca dos constituintes químicos da amostra analisada (Reyes-Jurado *et al.*, 2015; Chouhan; Sharma; Guleria, 2017).

Cabe destacar que várias das espécies mencionadas indicaram valores de CIM maiores ou próximos aos dados relatados ao OE do guabijuzeiro, o que evidencia a ação antimicrobiana principalmente frente as bactérias *Salmonella* e *E. coli*, ambas associadas ao desencadeamento de condições infecciosas em animais e humanos, além de apresentarem resistência a antibióticos convencionais (Macedo *et al.*, 2022; Antonelo *et al.*, 2023). No OE dos frutos e folhas do guabijuzeiro analisados, as bactérias Gram negativas (*E. coli* e *Salmonella*) foram mais sensíveis em relação a Gram positiva *S. aureus*. Da mesma forma, constatou-se atividade antifúngica contra *C. albicans* para ambos óleos. Conforme mencionado anteriormente, esse potencial pode ser relacionado aos compostos presentes nas classes oxigenadas (MO e SO) dos

OE, principalmente no OE dos frutos, o qual indicou maior área relativa dos compostos identificados, como do espatulenol, α -cadinol e rosifoliol, podendo assim explicar a maior atividade contra *S. aureus* em relação ao OE das folhas. No entanto nas demais classes (MH e SH) foi observado uma variabilidade de compostos, com ênfase aos SH representando 57,89% do total, onde destaca-se o OE das folhas com maior número de compostos. Dessa forma, esses constituintes podem exercer influência, visto que já foram descritos pela ação antimicrobiana. Infere-se uma possível ação sinérgica entre os compostos oxigenados e hidrocarbonetos do OE das folhas do guabijuzeiro, a qual possa ter contribuído na melhor atividade antimicrobiana contra as cepas *E. coli* e *Salmonella*.

Embora relatos da literatura indiquem maior atividade antimicrobiana de OE em bactérias Gram positivas, devido uma maior penetração de componentes hidrofóbicos do óleo, constatou-se nas amostras avaliadas o oposto. Dessa forma é possível sugerir que os OE do fruto e folha do guabijuzeiro afetaram a membrana externa das bactérias Gram negativas, causando liberação de lipopolissacarídeos dessa membrana para o ambiente extracelular (Tongnuanchan; Benjakul, 2014; Chouhan; Sharma; Guleria, 2017; Ambrosio *et al.*, 2017). Salienta-se que no OE de frutos do guabijú não há relatos na literatura sobre sua atividade antimicrobiana, sendo essa a primeira pesquisa a avaliar seu potencial frente a microrganismos patogênicos de interesse para vários setores, como a indústria de alimentos. Do mesmo modo, para OE das folhas do guabijuzeiro exibiu-se os primeiros relatos de seu potencial frente a *E. coli*, *Salmonella* e *C. albicans*. Como certos microrganismos apresentam resistência aos fármacos já existentes, a busca por antimicrobianos que possam reduzir esse efeito é de importância. O que pode considerar o OE das partes do guabijuzeiro como um agente promissor.

5.4 CONCLUSÃO

O guabijuzeiro demonstrou capacidade de extração para o óleo essencial, tanto para as folhas como nos frutos da espécie, com diferentes percentuais de rendimento. Na composição química de ambos OE identificaram-se terpenos de classificações distintas, ocorrendo um número maior de compostos na classe dos sesquiterpenos hidrocarbonetos, embora o composto com maior área relativa observada tenha sido o espatulenol, pertencente a classe dos sesquiterpenos oxigenados. A composição desses OE demonstrou características aromáticas com odor frutado-herbáceo-amadeirado em ambos OE, embora haja hipótese que OE das folhas possua componentes com perfil mais herbáceo-amadeirado. Ambos OE analisados exibiram a

presença de compostos fenólicos totais e potencial antioxidante avaliado pelos ensaios ABTS e DPPH, os quais indicaram conteúdo mais expressivo quando avaliado por DPPH, sugerindo que houve melhor solubilidade dos compostos químicos presentes no OE para essa reação. Os OE extraídos atuaram contra cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas indicando ação antimicrobiana, principalmente com o OE das folhas, que resultou em valores da CIM mais expressivos para *E. coli* e *Salmonella*. Na atividade antifúngica contra *C. albicans* ambos OE inibiram sua capacidade com índices >90%, em diferentes concentrações de OE testadas. Aos efeitos antimicrobianos observados sugere-se que houve sinergismo entre os compostos das diferentes classes, sobretudo no OE das folhas, embora sejam necessários mais estudos acerca dos variados compostos dos OE e seus mecanismos de ação. Dessa forma, os OE de frutos e folhas de guabijuzeiro obtidos podem ser considerados compostos naturais com potencial de aplicação. Como investigação futura, sugere-se a aplicação de processos que possam melhorar o rendimento de extração dos OE e ensaios que permitam seu uso como fármaco seguro.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Myrcianthes pungens* demonstrou que possui características físico-químicas com potencial promissor de uso, principalmente como fonte de compostos bioativos, fator que foi constatado da otimização dos extratos das folhas e frutos da planta. As condições otimizadas indicaram os melhores parâmetros de concentração do solvente empregado, temperatura e razão soluto: solvente para obtenção de extratos com elevado teor de compostos, os quais indicaram potencial antioxidante e antimicrobiano. Baseado no perfil fenólico obtido nos extratos das folhas e frutos do guabijú, foi realizada a aplicação em formulações de iogurte, sendo demonstrado um impacto positivo nas propriedades funcionais e tecnológicas dos produtos obtidos, com destaque para o aumento da capacidade antioxidante e manutenção da viabilidade das bactérias lácticas. Paralelamente, a extração do óleo essencial das folhas e frutos da espécie confirmou a presença de compostos químicos com atividade antimicrobiana e antioxidante, reforçando o potencial multifuncional da espécie. Portanto, os dados dessa pesquisa contribuem significativamente para a valorização do guabijuzeiro como recurso bioativo natural, com capacidade de aplicação em produtos alimentícios, especialmente na elaboração de iogurtes.

REFERÊNCIAS

- AAMIR, M. *et al.* Physicochemical and sensory profile of spiced yogurt as affected by ginger supplementation. **International Journal of Food Properties**, v. 26, n. 2, p. 2732-2741, 2023.
- ABDEL-HAMID, M. *et al.* Bioactive properties of probiotic set-yogurt supplemented with *Siraitia grosvenorii* fruit extract. **Food chemistry**, v. 303, p. 125400, 2020.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry, 4.1th Edition. **Allured Publ., Carol Stream, IL**, 2017.
- AHMED, J.; HIREMATH, N.; JACOB, H. Antimicrobial efficacies of essential oils/nanoparticles incorporated polylactide films against *L. monocytogenes* and *S. typhimurium* on contaminated cheese. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 1, p. 53–67, 2017.
- AKŠIĆ, M. F. *et al.* Comparison of sugar profile between leaves and fruits of blueberry and strawberry cultivars grown in organic and integrated production system. **Plants**, v. 8, n. 7: 205, p. 1-16, 2019.
- ALBERTI, A. *et al.* Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151–158, abr. 2014.
- ALMEIDA, A. L. DE *et al.* Phytochemical profile and gastroprotective potential of *Myrcianthes pungens* fruits and leaves. **Nutrire**, v. 42, n. 1, p. 24, 20 dez. 2017.
- ALMEIDA, R. L. *et al.* Determinação de compostos bioativos e composição físico-química da farinha da casca de jabuticaba obtida por secagem convectiva e liofilização. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 1, p. e157911876-e157911876, 2020.
- AMBROSIO, C. MS. *et al.* Antimicrobial activity of several essential oils on pathogenic and beneficial bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 128-136, 2017.
- AMES-SIBIN, A. P. *et al.* β -Caryophyllene, the major constituent of copaiba oil, reduces systemic inflammation and oxidative stress in arthritic rats. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 12, p. 10262–10277, 21 dez. 2018.
- ANDRADE, J. M. M. *et al.* Phenolic Composition in Different Genotypes of Guabiju Fruits (*Myrcianthes pungens*) and Their Potential as Antioxidant and Antichemotactic Agents. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 8, p. 1181–1187, 2011.
- ANTONELO, F. A. *et al.* Bioactive compounds derived from Brazilian *Myrtaceae* species: Chemical composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 48, p. 102629, 2023.
- APEL, M. A.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Composição química do óleo volátil de *Myrcianthes* nativas da região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 402–407, set. 2006.

ARAB, M. *et al.* A comprehensive review on yogurt syneresis: Effect of processing conditions and added additives. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 6, p. 1656-1665, 2023.

ARAÚJO FILHO, H. *et al.* **Análise Instrumental [recurso eletrônico]: Uma Abordagem Prática**. 1º ed. Rio de Janeiro: LTC, 2021.

AROUCHA, E. M. M. *et al.* Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, n. 2, p. 32, 2010.

ARRUDA, H. S.; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolics from *Annona crassiflora* Mart. (Araticum) Fruits Using Response Surface Methodology. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 1, p. 100–110, 2017.

ASCARI, J. *et al.* Selina-1, 3, 7 (11)-trien-8-one and Oxidoselina-1, 3, 7 (11)-trien-8-one from *Eugenia uniflora* leaf essential oil and their cytotoxic effects on human cell lines. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 740, 2021.

ASSUMPÇÃO, M. M.; DALMASO, M.; BRAGANÇA, G. C. M. Composição nutricional e atividade antioxidante de epicarpo, mesocarpo e sementes de guabiju (*Myrcianthes pungens* (o. Berg) d. Legrand) provenientes do bioma pampa. **Revista da Mostra de Trabalhos de Conclusão de Curso**, n. 1, p. 270-285, 2017.

AZIZKHANI, M.; PARSAEIMEHR, M. Probiotics survival, antioxidant activity and sensory properties of yogurt flavored with herbal essential oils. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 3, p. 921–927, 2018.

AZIZKHANI, M.; SARIS, P.; E.; J.; BANIASADI, M. An in-vitro assessment of antifungal and antibacterial activity of cow, camel, ewe, and goat milk kefir and probiotic yogurt. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, p. 406-415, 2021.

BAGATINI, L. *et al.* Evaluation of *Eugenia uniflora* L. leaf extracts obtained by pressurized liquid extraction: Identification of chemical composition, antioxidant, antibacterial, and allelopathic activity. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 35, p. 101214, 2023.

BAMBA, B. S. B. *et al.* Influence of extraction conditions on ultrasound-assisted recovery of bioactive phenolics from blueberry pomace and their antioxidant activity. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1685, 2018.

BARBOSA, D. C. S. *et al.* Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory potential, in silico, of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg fruit peel essential oil. **Industrial crops and products**, v. 151, p. 112372, 2020.

BARTLE, K. D.; MYERS, P. History of gas chromatography. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 9-10, p. 547-557, 2002.

BARUKČIĆ, I. *et al.* The potential of olive leaf extract as a functional ingredient in yoghurt production: The effects on fermentation, rheology, sensory, and antioxidant properties of cow milk yoghurt. **Foods**, v. 11, n. 5, p. 701, 2022.

BATISTA-SILVA, W. *et al.* Modifications in organic acid profiles during fruit development and ripening: correlation or causation? **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1689, 2018.

BEDOYA-SERNA, C. M. *et al.* Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 929–935, out. 2018.

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.

BIEL, W.; JAROSZEWSKA, A. The nutritional value of leaves of selected berry species. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 5, p. 405–410, 2017.

BIZZO, H. R. *et al.* Um conjunto de planilhas eletrônicas para identificação e quantificação de constituintes de óleos essenciais. **Química Nova**, v. 43, p. 98–105, 2020.

BLACKHALL, M. L. *et al.* Optimized extraction of anthocyanins from Reid Fruits' *Prunus avium* 'Lapins' cherries. **Food chemistry**, v. 256, p. 280–285, 2018.

BOMBANA, V. B. *et al.* Influence of drying on bioactive compounds and antioxidant activity of fruits of guabiju (*Myrcianthes pungens*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e5510817024, 4 jul. 2021.

BOMBARDELLI, M. C.M. *et al.* Antioxidant activity and volatile composition of red araçá pulp under different drying conditions. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2019, n. 1, p. 9836929, 2019.

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some new three level designs for the study of quantitative variables. **Technometrics**, v. 2, n. 4, p. 455–475, 1960.

BOŽOVIĆ, M. *et al.* Essential oils extraction: a 24-hour steam distillation systematic methodology. **Natural Product Research**, v. 31, n. 20, p. 2387–2396, 2017.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 725 de 1 de julho de 2022. Dispõe sobre os aditivos alimentares aromatizantes. **Diário Oficial da União**. Brasília, D. F., 1 de julho de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**. Brasília, D. F., 24 de outubro de 2007.

BRUNO, C.; ALMEIDA, M. Óleos essenciais e vegetais: Matérias-primas para fabricação de bioprodutos nas aulas de química orgânica experimental. **Química Nova**, v. 44, n. 7, p. 899–907, 2021.

BRUNS, R. E.; SCARMINO, I. S.; BARROS NETO, B. **Statistical design – Chemometrics**. Amsterdam: Elsevier, 2006, p. 273

CACIQUE, A. P. *et al.* Maceration extraction conditions for determining the phenolic compounds and the antioxidant activity of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, p. e017420, 2020.

CÂMARA, G. B. *et al.* Caracterização físico-química, toxicológica e nutricional das folhas da *Moringa oleifera* Lam secas e *in natura*. **Research, Society and Development**, v. 8, n. 11, p. 17, 2019.

CAMPOS, A. C. L. P. DE *et al.* Antimicrobial effect of *Origanum vulgare* (L.) essential oil as an alternative for conventional additives in the Minas cheese manufacture. **LWT - Food Science and Technology**, v. 157, n. September 2021, p. 113063, mar. 2022.

CASAGRANDE, M. *et al.* Optimization of the extraction of antioxidant phenolic compounds from grape pomace using response surface methodology. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 13, p. 1120-1129, 2019.

CARDOSO, P. C. *et al.* Development and application of a liquid chromatography-mass spectrometry method for the determination of sugars and organics acids in araza, ceriguela, guava, mango and pitanga. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, p. e2020169, 2021.

CARNEIRO, N. S. *et al.* Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from leaves and flowers of *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 03, p. 1907-1915, 2017.

CASTRO, N. M. T. *et al.* Parâmetros de qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 74, n. 4, p. 426–436, 2015.

CHEN, J. *et al.* Protective effect of blueberry anthocyanins in a CCL4-induced liver cell model. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 1105–1112, 2015.

CHEN, S. *et al.* Simultaneous optimization of the ultrasound-assisted extraction for phenolic compounds content and antioxidant activity of *Lycium ruthenicum* Murr. fruit using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 242, p. 1-8, 2018.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 58, 2017.

CHRISTAKI, S. *et al.* Recent advances in plant essential oils and extracts: Delivery systems and potential uses as preservatives and antioxidants in cheese. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, n. February, p. 264–278, out. 2021.

CHUNG, H-S.; YOUN, K-S. Effect of freezing treatment in tea preparation using *Camellia sinensis* leaves. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, p. 4193-4200, 2020.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**;

Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laborator Standards Institute; 2012.

COELHO, E. M. *et al.* Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, p. 160-167, 2018.

COOPERSTONE, J. L.; SCHWARTZ, S. J. Recent Insights Into Health Benefits of Carotenoids. *In*: Carle, R.; Schweiggert, R. M. (Eds.). **Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages**. Columbus: Elsevier, 2016. p. 473–497.

COSTA, J. S. *et al.* Seasonal and Antioxidant Evaluation of Essential Oil from *Eugenia uniflora* L., Curzerene-Rich, Thermally Produced in Situ. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, p. 328, 19 fev. 2020.

ĆUJIĆ, N. *et al.* Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. **Food chemistry**, v. 194, p. 135-142, 2016.

CUNHA, F. V. M. *et al.* Fenilpropanóides: Ferramentas para promoção da estabilidade genômica. **Boletim Informativo Geum**, p. 50–58, jun. 2018.

D'ALMEIDA, W. *et al.* Microscopy of *Eugenia involucrata*, Chemical Composition and Biological Activities of the Volatile Oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 31, n. 2, p. 239–243, 24 abr. 2021.

DAHMOUNE, F. *et al.* Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. **Food chemistry**, v. 166, p. 585-595, 2015.

DALLA NORA, C. *et al.* The characterisation and profile of the bioactive compounds in red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 8, p. 1842–1849, 2014a.

DALLA NORA, C. *et al.* Protective effect of guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand) and red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) against cisplatin-induced hypercholesterolemia in rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 3, p. 483–491, set. 2014b.

DELLA BETTA, F. *et al.* Phenolic Compounds Determined by LC-MS/MS and In Vitro Antioxidant Capacity of Brazilian Fruits in Two Edible Ripening Stages. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 73, n. 4, p. 302–307, 2018.

DEMIRKOL, M.; TARAKCI, Z. Effect of grape (*Vitis labrusca* L.) pomace dried by different methods on physicochemical, microbiological and bioactive properties of yoghurt. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 97, p. 770-777, 2018.

DENARDIN, C.C. *et al.* Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. **Journal of food and drug analysis**, v. 23, n. 3, p. 387-398, 2015.

DESOTI, V. C. *et al.* Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de ciências da saúde da UNIPAR**, v. 15, n. 45, p. 3–13, 2011.

DETONI, E. *et al.* Guabijú (*Myrcianthes pungens*): Characterization of in natura and lyophilized Brazilian berry. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. 1–13, 2021.

DETONI, E. *et al.* Development and Characterization of Ice Cream Functionalized with guabijú (*Myrcianthes pungens*) and *Lactobacillus Paracasei*. **Journal of Culinary Science & Technology**, p. 1-24, 2024.

DIMITRELLOU, D. *et al.* Yogurts supplemented with juices from grapes and berries. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1158, 2020.

DONG, N.-Q. LIN, H.-X. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant–environment interactions. **Journal of integrative plant biology**, v. 63, n. 1, p. 180–209, 2021.

DRAGANO, N. R. V.; MARQUES, A. Y C. Native Fruits, Anthocyanins in Nutraceuticals, and the Insulin Receptor/Insulin Receptor Substrate-1/Akt/Forkhead Box Protein Pathway. In: DIDAC Mauricio (Ed.). **Molecular Nutrition and Diabetes**. Campinas: Elsevier, 2016. p. 131–145.

DURAZZINI, A. M. S. *et al.* *Eugenia pyriformis* Cambess: a species of the *Myrtaceae* family with bioactive essential oil. **Natural Product Research**, v. 35, n. 16, p. 1–5, 24 set. 2019.

ELFARNINI, M. *et al.* Volatile Compounds in the Skin Essential Oil of Moroccan *Feijoa sellowiana*. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 23, n. 2, p. 1–7, 2 maio 2018.

FAMIANI, F. *et al.* The organic acids that are accumulated in the flesh of fruits: occurrence, metabolism and factors affecting their contents-a review. **Revista Chapingo. Serie horticultura**, v. 21, n. 2, p. 97-128, 2015.

FARIAS, D.P. *et al.* Distribution of nutrients and functional potential in fractions of *Eugenia pyriformis*: An underutilized native Brazilian fruit. **Food Research International**, v. 137, p. 109522, 2020.

FELIPE, L. DE O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120–130, 2017.

FERREIRA, F. S. V.; CAMPOS, A. R. N.; MEDEIROS, M. F. T. Elaboração e caracterização de produto farináceo a partir da folha do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e1309108295-e1309108295, 2020.

FERREIRA, M. D.; SPRICIGO, P. C. Colorimetria: Princípios e aplicações na agricultura. In: Ferreira, M. D.; Spricigo, P. C. **Instrumentação em Frutas e Hortaliças**. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2017. p. 209–220.

- FRANCO, C. J. P. *et al.* Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Eugenia patrisii* Vahl, *E. punicifolia* (Kunth) DC., and *Myrcia tomentosa* (Aubl.) DC., leaf of family *Myrtaceae*. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3292, 2021.
- FRANCO, F. B. *et al.* Triagem Fitoquímica e Atividade Antioxidante de *Arctium lappa* Linne E *Myrcianthes pungens*. **Revista Científica da Unifenas**, v. 1, p. 12–21, 2019.
- FREITAS, C. A. B. *et al.* Análise Multivariada da composição mineral de frutos de Camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, 2019.
- FRIZON, C. N.T.; NISGOSKI, S. Color parameters to predict moisture and tannin content in yerba mate process. **Floresta e Ambiente**, v. 27, p. e20180098, 2020.
- GARCIA, M. O. *et al.* Chemical characterization, antioxidant, cytotoxic, and antibacterial activities of *Eugenia uniflora* L. and *Psidium cattleianum* Sabine essential oils against *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii*. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 27276–27294, 2021.
- GAROFULIĆ, I. E. *et al.* Evaluation of polyphenolic profile and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. leaves and fruit extract obtained by optimized microwave-assisted extraction. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1556, 2020.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley and Sons, 2001.
- GONZALÉZ, A. G.; HERRADOR, M. Á. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 227-238. 2006.
- GOUVEA, F. DOS S.; ROSENTHAL, A.; FERREIRA, E. H. DA R. Plant extract and essential oils added as antimicrobials to cheeses: a review. **Ciência Rural**, v. 47, n. 8, 2017.
- GREMSKI, L. A. *et al.* Antioxidants-rich ice cream containing herbal extracts and fructooligosaccharides: manufacture, functional and sensory properties. **Food chemistry**, v. 298, p. 125098, 2019.
- GRIEBELER, A. M. *et al.* Seed technology of *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr: an approach to biometry and germination. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 15, p. 144, 2019.
- GRIGIO, M. L. *et al.* Qualitative evaluation and biocompounds present in different parts of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit. **African Journal of Food Science**. v.11, p.124-129, 2017.
- GUEDES, M. N. S. *et al.* Minerals and phenolic compounds of cagaita fruits at different maturation stages (*Eugenia dysenterica*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. e-360, 2017.

- GUERRA-RAMÍREZ, D. *et al.* Antioxidants in processed fruit, essential oil, and seed oils of feijoa. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 49, n. 1, p. 11988, 2021.
- GULLÓN, B. *et al.* Optimization of solvent extraction of antioxidants from *Eucalyptus globulus* leaves by response surface methodology: Characterization and assessment of their bioactive properties. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 649-659, 2017.
- GUO, J. *et al.* Identification of hyperoside metabolites in rat using ultra performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 879, n. 21, p. 1987–1992, 2011.
- GURKAN, H.; BORAN, O. S.; HAYALOGLU, A. A. Influence of purple basil extract (*Ocimum basilicum* L.) on chemical composition, rheology and antioxidant activity of set-type yoghurt. **Dairy/Mljekarstvo**, v. 69, n. 1, 2019.
- GYESI, J.; N.; OPOKU, R.; BORQUAYE, L.; S. Chemical composition, total phenolic content, and antioxidant activities of the essential oils of the leaves and fruit pulp of *Annona muricata* L.(Soursop) from Ghana. **Biochemistry research international**, v. 2019 n. 1, p. 4164576, 2019.
- HARKAT-MADOURI, L. *et al.* Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. **Industrial Crops and Products**, v. 78, p. 148-153, 2015.
- HE, Q.; DU, B.; XU, B. Extraction optimization of phenolics and antioxidants from black goji berry by accelerated solvent extractor using response surface methodology. **Applied Sciences**, v. 8, n. 10, p. 1905, 2018.
- HERRERA, T. *et al.* Effect of wild strawberry tree and hawthorn extracts fortification on functional, physicochemical, microbiological, and sensory properties of yogurt. **Foods**, v. 12, n. 18, p. 3332, 2023.
- HORNE, D. S. Characteristics of Milk. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. (Eds.). **Fennema's Food Chemistry**. 5^o ed. New York: Taylor & Francis, 2017. p. 908–953.
- HOSSAIN, M. A.; HOSSAIN, M. S. Optimization of antioxidative phenolic compound extraction from freeze-dried pulp, peel, and seed of Burmese grape (*Baccaurea ramiflora* Lour.) by response surface methodology. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-15, 2021.
- IAL. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. In: Zenebon, O.; Pascuet, N.S.; Tiglea, P. 1^a Edição Digital. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil, p.1020, 2008.
- IRAKLI, M.; CHATZOPOULOU, P.; EKATERINIADOU, L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 382-388, 2018.
- ISMAIL, B. P. Basic Principles of Chromatography. **Food Analysis**, p. 185-211, 2017.

- KHURI, A. I.; MUKHOPADHYAY, S. Response surface methodology. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, v. 2, n. 2, p. 128–149, 19 mar. 2010.
- KIVRAK, Ş. Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of Lavender and Lavandin from western Anatolia. **Industrial Crops and Products**, v. 117, p. 88-96, 2018.
- KOLOMNIKOV, I. G. *et al.* Early stages in the history of gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1537, p. 109-117, 2018.
- JANY, J. F. *et al.* Fortification of functional yogurt by the phytochemicals extracted from pomegranate peel. **Applied Food Research**, v. 4, n. 2, p. 100479, 2024.
- JESUS, R. A. DE *et al.* Antioxidant and antibacterial activity of *Myrcianthes pungens* leaf essential oil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 20, n. 2, p. 147–161, 2021.
- KIM, J.; KIM, M.; CHOI, I. Physicochemical characteristics, antioxidant properties and consumer acceptance of Greek yogurt fortified with apple pomace syrup. **Foods**, v. 12, n. 9, p. 1856, 2023.
- KORAQI, H. *et al.* Optimization of the extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch.) using response surface methodology. **Food Analytical Methods**, v. 16, n. 6, p. 1030-1042, 2023.
- LACHOWICZ-WISNIEWSKA, S. *et al.* Distribution of polyphenolic and isoprenoid compounds and biological activity differences between in the fruit skin+ pulp, seeds, and leaves of new biotypes of *Elaeagnus multiflora* Thunb. **Antioxidants**, v. 10, n. 6, p. 849, 2021.
- LASTRA-RIPOLL, S. E.; QUINTANA, S. E.; GARCÍA-ZAPATEIRO, L. A. Yogurt enriched with mango peel extracts (*Mangifera indica*) in chitosan–xanthan gum dispersions: Physicochemical, rheological, stability, and antioxidant activity. **Fluids**, v. 8, n. 10, p. 259, 2023.
- LI, X. *et al.* Comparison of the Antioxidant Effects of Quercitrin and Isoquercitrin: Understanding the Role of the 6"-OH Group. **Molecules**, v. 21, n. 9, p. 1246, 2016.
- LIMA, A. *et al.* Princípios Básicos. In: Ronaldo Ferreira do Nascimento, Ari Clecius Alves de Lima, Pablo Gordiano Alexandre Barbosa, Vítor Paulo Andrade da Silva (Eds). **Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018. p. 13-30.
- LIN, X. *et al.* Ultrasonic-assisted extraction for flavonoid compounds content and antioxidant activities of India *Moringa oleifera* L. leaves: Simultaneous optimization, HPLC characterization and comparison with other methods. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 20, p. 100284, 2021.

LINDSAY, R. C. Flavors. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. (Eds.). **Fennema's Food Chemistry**. 5° ed. New York: Taylor & Francis, 2017. p. 753–801.

LIU, R. L. *et al.* Hyperoside protects cortical neurons from oxygen–glucose deprivation–reperfusion induced injury via nitric oxide signal pathway. **Brain Research**, v. 1469, p. 164–173, ago. 2012.

MACEDO, J. G. F. *et al.* Chemical composition, antioxidant, antibacterial and modulating activity of the essential oil of psidium L. species (*Myrtaceae* Juss.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 42, p. 102363, 2022.

MACHADO, K. R. D. *et al.* Production and Evaluation of Yogurt Colored with Anthocyanin-Rich Pigment Prepared from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart.) Skin. **Processes**, v. 11, n. 2, p. 526, 2023.

MACHADO, P. G. *et al.* Guabijú (*Myrcianthes pungens*): A comprehensive evaluation of anthocyanins and free, esterified, glycosylated, and insoluble phenolic compounds in its peel, pulp, and seeds. **Food Chemistry**, v. 432, p. 137296, 2024.

MAIA, M. *et al.* More than just wine: The nutritional benefits of grapevine leaves. **Foods**, v. 10, n. 10, p. 2251, 2021.

MAJI, R. S.; CHAITALI, R.; SINHA, S. K. Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS): a comprehensive review of synergistic combinations and their applications in the past two decades. **Journal of Analytical Sciences and Applied Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 5-2, 2023, pp. 72-85, 2023.

MARCUCCI, M. C. *et al.* Accessible Methodologies for Quantification of Flavonoids and Total Phenols in Propolis. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, p. 61–73, 2021.

MARIN, R. *et al.* Volatile Components and Antioxidant Activity from some Myrtaceous Fruits cultivated in Southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, p. 172–177, 2008.

MARTÍNEZ-RAMOS, T. *et al.* Effect of solvent composition and its interaction with ultrasonic energy on the ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from mango peels (*Mangifera indica* L.). **Food and Bioproducts Processing**, v. 122, p. 41-54, 2020.

MAYER, L. *et al.* A contribution to the physicochemical characterization of *Eugenia involucrata* DC. fruits to estimate genetic variability. **Comunicata Scientiae**, v. 13, p. e3560-e3560, 2022.

MEDEIROS, J. P. *et al.* Bioactives of the essential oil from the leaves of *Eugenia pyriformis* Cambess (Myrtaceae) on the effects of tobacco. **Frontiers in Pharmacology**, v. 15, p. 1415659, 2024.

MENDONÇA, V. Z.; VIEITES, R.L. Physical-chemical properties of exotic and native Brazilian fruits. **Acta Agronômica**, v. 68, n. 3, p. 175-181, 2019.

MILHOME, A.P. *et al.* Detectores. *In*: Ronaldo Ferreira do Nascimento, Ari Clecius Alves de Lima, Pablo Gordiano Alexandre Barbosa, Vítor Paulo Andrade da Silva (Eds). **Cromatografia gasosa: Aspectos Teóricos e Práticos**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018. p. 159-198.

MILLER, D.D. Minerals. *In*: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. (Eds.). **Fennema's Food Chemistry**. 5° ed. New York: Taylor & Francis, 2017. p. 628–673.

MISHRA, A. P. *et al.* Combination of essential oils in dairy products: A review of their functions and potential benefits. **Lwt - Food Science and Technology**. v. 133, p. 110116, 2020.

MOKRANI, A.; MADANI, K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. **Separation and Purification Technology**, v. 162, p. 68-76, 2016.

MORAES, D. P. *et al.* Influence of the cultivar on the composition of blackberry (*Rubus* spp.) minerals. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 100, p. 103913, 2021.

MORO, G.L. *et al.* Desenvolvimento e caracterização de hambúrguer vegano de grão de bico (*Cicer arietinum* L.) com adição de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, e361101220067, 2021.

MUEED, A. *et al.* Phenolic compounds and biological activities of berberis fruit: Enhancing role on physiochemical and antioxidant properties of yogurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 211, p. 116834, 2024.

NAHAR, L.; ONDER, A.; SARKER, S. D. A review on the recent advances in HPLC, UHPLC and UPLC analyses of naturally occurring cannabinoids (2010 - 2019). **Phytochemical Analysis**, v. 31, n. 4, p. 413-457, 2020.

NASCIMENTO, K. F. *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **Journal of ethnopharmacology**, v. 210, p. 351-358, 2018.

NASCIMENTO, L. S. *et al.* Characterization of Bioactive Compounds in *Eugenia brasiliensis*, Lam. (Grumixama). **Nutrition and Food Technology: Open Access**, v. 3, n. 3, p. 1-7, 2017.

NASR, A.; KHAN, S.; T.; ZHU, G-P. Phenolic compounds and antioxidants from *Eucalyptus camaldulensis* as affected by some extraction conditions, a preparative optimization for GC-MS analysis. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 49, n. 5, p. 464-476, 2019.

NEHRING, P. *et al.* Grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) functional phytochemicals: Effect of environmental conditions and ripening process. **Food Research International**, v. 157, p. 111460, 2022.

NI, Z.-J. *et al.* Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. **Trends in Food Science & Technology**, v. 110, n. February, p. 78–89, abr. 2021.

OLIVARI, I. *et al.* Macroelement, trace element, and toxic metal levels in leaves and infusions of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 21341-21352, 2020.

OLIVEIRA, G. A. R. Otimização de Processos de Extração de Princípios Ativos de Plantas. **Revista Processos Químicos**, v. 8, n. 16, p. 33–41, 1 jul. 2014.

PACHECO, S. *et al.* História da cromatografia líquida. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1225-1271, 2015.

PALMA, M. *et al.* Extraction of Natural Products: Principles and Fundamental Aspects. In: MAURICIO A. ROSTAGNO; JULIANA M. PRADO (Eds.). **RSC Green Chemistry**. Campinas: Royal Society of Chemistry, 2013. p. 58–88.

PAIVA, Y. F. *et al.* Physicochemical aspects, bioactive compounds, phenolic profile and in vitro antioxidant activity of tropical red fruits and their blend. **Molecules**, v. 28, n. 12, p. 4866, 2023.

PAWLOWSKI, Â. *et al.* Óleos essenciais obtidos de arbóreas nativas do Estado do Rio Grande do Sul: uma revisão bibliográfica. In: EVANGELISTA, W. V. (Ed.). **Produtos Florestais Não Madeireiros: Tecnologia, Mercado, Pesquisas e Atualidades**. 1. ed. Editora Científica Digital, 2021. p. 231–251.

PEDRO, A. C. *et al.* Bioactive compounds of organic goji berry (*Lycium barbarum* L.) prevents oxidative deterioration of soybean oil. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 90-97, 2018.

PEREIRA, D. M. *et al.* Caracterização da composição nutricional e do teor de pigmentos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) nas variedades vermelha e roxa. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 58026-58038, 2020.

PEREIRA, E. DOS S. *et al.* *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, v. 258, n. March, p. 95–103, ago. 2018.

PINO, J.; A.; MARBOT, R.; VÁZQUEZ, C. Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 5883-5887, 2001.

PORTO, C.; NATOLINO, A. Optimization of the extraction of phenolic compounds from red grape marc (*Vitis vinifera* L.) using response surface methodology. **Journal of Wine Research**, v. 29, n. 1, p. 26-36, 2018.

PRASAD, K. JACOB, S. SIDDIQUI, M.W. Fruit Maturity, Harvesting, and Quality Standards. In: SIDDIQUI, M.W. (Eds.). **Preharvest Modulation of Postharvest Fruit and Vegetable Quality**. Academic Press, Elsevier Inc. 2018. p. 41-69.

RAPHAELLI, C. *et al.* Fruits, seeds and leaves of guabijuzeiro (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand): characteristics, uses and health benefits. **Journal of Food Science and Technology**, v. 61, n. 6, p. 1035-1052, 2024.

- RASHWAN, A.; K.; OSMAN, A.; I.; CHEN, W. Natural nutraceuticals for enhancing yogurt properties: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 21, n. 3, p. 1907-1931, 2023.
- RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.
- RÍOS, J.-L. Essential Oils. In: Preedy, R.V. (Ed). **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 3–10.
- REYES-JURADO, F. *et al.* Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. **Food Engineering Reviews**, v. 7, p. 275-297, 2015.
- ROCHA, C. H. *et al.* Chemical composition of the leaf oils from two morphotypes of *Psidium cattleianum* at four phenological stages. **Natural Product Research**, v. 35, n. 21, p. 4094-4097, 2021.
- RODRIGUES, M. A. *et al.* Análise biométrica em frutos e sensorial do suco de Guabiju: *Myrcianthes pungens*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 16, n. 1, p. 111-116, 2021.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. **OMNI Research ILSI**, Washington, DC, USA. p. 1-64, 2001.
- RODRÍGUEZ-PÉREZ, C. *et al.* Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 66, p. 246-254, 2015.
- ROSA, G.; GAUTO, M.; GONÇALVES, F. **Química analítica [recurso eletrônico]: práticas de laboratório**. Porto Alegre. Bookman Companhia Editora, 2013.
- SALAMA, H. H. *et al.* Essential oils nanoemulsion for the flavoring of functional stirred yogurt: Manufacturing, physicochemical, microbiological, and sensorial investigation. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 21, p. 372-382, 2021.
- SALEHI, M. *et al.* Physicochemical, antioxidant and sensory properties of yogurt fortified with common purslane (*Portulaca oleracea*) extract. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 5, p. 4288-4296, 2021.
- SANABRIA, G. G. *et al.* HS-SPME-GC-MS detection of volatile compounds in *Myrciaria jabuticaba* Fruit. **Scientia Agropecuaria**, v. 9, n. 3, p. 319-327, 2018.
- SANTOS, C. *et al.* Optimization of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC leaf extraction using a simplex centroid design focused on extracting phenolics with antioxidant and antiproliferative activities. **BMC chemistry**, v. 14, p. 1-13, 2020.
- SANTOS, F. R. *et al.* Larvicidal and fungicidal activity of the leaf essential oil of five Myrtaceae species. **Chemistry & Biodiversity**, v. 20, n. 12, p. e202300823, 2023.

SANTOS, J. F. DOS S. *et al.* Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chemistry**, v. 261, n. November 2017, p. 233–239, set. 2018a.

SANTOS, T. P. M. *et al.* Effect of sulphur dioxide concentration added at different processing stages on volatile composition of ciders. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 124, n. 3, p. 261-268, 2018b.

SARKER, U.; OBA, S.; DARAMY, M. A. Nutrients, minerals, antioxidant pigments and phytochemicals, and antioxidant capacity of the leaves of stem amaranth. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 3892, 2020.

SCHIASSI, M.C. E. V. *et al.* Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305-311, 2018.

SCHMIDT, H. DE O. *et al.* New insights into the phenolic compounds and antioxidant capacity of feijoa and cherry fruits cultivated in Brazil. **Food Research International**, v. 136, n. March, p. 109564, out. 2020.

SCHWARTZ, S. J. *et al.* Colorants. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (Eds.). **Fennema's Food Chemistry**. 5° ed. New York: Taylor & Francis, 2017. p. 680–752.

SERAGLIO, S. K. T. *et al.* Nutritional and bioactive potential of *Myrtaceae* fruits during ripening. **Food Chemistry**, v. 239, p. 649–656, 2018.

SEPAHPOUR, S. *et al.* Comparative analysis of chemical composition, antioxidant activity and quantitative characterization of some phenolic compounds in selected herbs and spices in different solvent extraction systems. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 402, 2018.

SGANZERLA, W. G. *et al.* Nutritional, physicochemical and antimicrobial properties of uvaia pulp (*Eugenia pyriformis* Cambess). **Communications in Plant Sciences**, v. 8, p. 1–7, 2018.

SHORI, A. B. *et al.* Physicochemical analysis, proteolysis activity and exopolysaccharides production of herbal yogurt fortified with plant extracts. **International Journal of Food Engineering**, v. 17, n. 3, p. 227-236, 2022.

SHORI, A. B. *et al.* Physicochemical analysis, proteolysis activity and exopolysaccharides production of herbal yogurt fortified with plant extracts. **International Journal of Food Engineering**, v. 17, n. 3, p. 227-236, 2021.

SILVA, A. P. G. *et al.* *Plinia trunciflora* and *Plinia cauliflora*: Two species rich in bioactive compounds, terpenes, and minerals. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 13, p. 921-931, 2018.

SILVA, F. D. *et al.* Physical, microbiological and rheological properties of probiotic yogurt supplemented with grape extract. **Journal Food Science and Technology**, v. 54, n. 6, p. 1608–1615, 2017.

- SILVA, R. O. M. *et al.* Photoinduced antibacterial activity of the essential oils from *Eugenia brasiliensis* Lam and *Piper mosenii* C. DC. by blue led light. **Antibiotics**, v. 8, n. 4, p. 242, 2019b.
- SILVA, R. W.V. *et al.* Uso da metodologia de superfície de resposta na otimização da extração de compostos fenólicos da casca dos frutos de *Hymenaea courbaril* L. (Jatobá). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. e2018089, 2019a.
- SILVEIRA, J. C. *et al.* Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, p. 2038–2052, 2012.
- SILVEIRA, S. *et al.* Atividade anticolinesterásica dos frutos de *Myrcianthes pungens* (O.Berg) D.Legrand (*Myrtaceae*). **Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR**, p. 127–133, 2011.
- SIM, Y.; Y.; ONG, W.; T.; J.; NYAM, K.; L. Effect of various solvents on the pulsed ultrasonic assisted extraction of phenolic compounds from *Hibiscus cannabinus* L. leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 111708, 2019.
- SINGH, J. P. *et al.* In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 65, p. 1025-1030, 2016.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In*: PACKER, L. (Ed.). **Methods in Enzymology**. California: Academic Press, Inc., 1999. v. 299, p. 152–178.
- SMERIGLIO, A. *et al.* Feijoa Fruit Peel: Micro-morphological Features, Evaluation of Phytochemical Profile, and Biological Properties of Its Essential Oil. **Antioxidants**, v. 8, n. 8, p. 320, 19 ago. 2019.
- SOARES, K. L. *et al.* Chemical characterization and anti-inflammatory and antioxidant potential of fruits of *Eugenia candolleana* DC. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e425111335576-e425111335576, 2022.
- SONWA, M. M. Isolation and structure elucidation of essential oil constituents. Comparative Study of the Oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*. [s.l.] University of Hamburg, 2000.
- SOUSA, A. P. M. *et al.* Parâmetros de qualidade física e química do eixo central, mesocarpo e semente de jaca submetidos a diferentes processos de secagem. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e34311427328-e34311427328, 2022.
- SOUZA, A. M. DE *et al.* Chemical Composition and In Vitro Antimicrobial Activity of the Essential Oil Obtained from *Eugenia pyriformis* Cambess. (*Myrtaceae*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p. 1–10, 2021a.

SOUZA, F. C. A.; SILVA, E. P.; AGUIAR, J. P. L. Vitamin characterization and volatile composition of camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh, *Myrtaceae*) at different maturation stages. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 4, p. 961-966, 2020.

SOUZA, L. DOS S. DE *et al.* In vitro rooting and multiplication of *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 1, p. 1–8, 2020.

SOUZA, W. F. C. *et al.* Exploiting the chemical composition of essential oils from *Psidium cattleianum* and *Psidium guajava* and its antimicrobial and antioxidant properties. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 10, p. 4637–4649, 5 out. 2021b.

SPINELLI, L. V. *et al.* Uncovering the phenolic diversity of Guabiju fruit: LC-MS/MS-based targeted metabolomics approach. **Food Research International**, v. 173, p. 113236, 2023.

SRINIVASULU, C. *et al.* Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence, Biosynthesis, Pharmacological and Industrial Importance. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 108, n. September, p. 547–557, 2018.

STEFANELLO, M. É. A. *et al.* Composição química e variação sazonal dos óleos essenciais de *Eugenia pyriformis* (*Myrtaceae*). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 3, p. 449–453, 2009.

STRATAKOS, A. C.; KOIDIS, A. Methods for Extracting Essential Oils. *In*: Preedy, R.V. (Ed). **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. Elsevier, 2016. p. 31–38.

SUGAUARA, R. R. *et al.* Potencial Antioxidante do óleo essencial de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, 2020.

SUN, X. *et al.* The antimicrobial, mechanical, physical and structural properties of chitosan-gallic acid films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 83–89, 2014.

SUTTIARPORN, P. *et al.* Enhanced extraction of clove essential oil by ultrasound and microwave assisted hydrodistillation and their comparison in antioxidant activity. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**, v. 8, p. 100411, 2024.

SZOŁTYSIK, M. *et al.* The effect of *Rosa spinosissima* fruits extract on lactic acid bacteria growth and other yoghurt parameters. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1167, 2020.

TAMBUN, R.; ALEXANDER, V.; GINTING, Y. Performance comparison of maceration method, soxhletation method, and microwave-assisted extraction in extracting active compounds from soursop leaves (*Annona muricata*): A review. *In*: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2021. p. 012095.

TAMI, S. H. *et al.* Buffalo stirred yoghurt fortified with grape seed extract: new insights into its functional properties. **Food Bioscience**, v. 47, p. 101752, 2022.

TANG, P. L. *et al.* Potential use of waste cinnamon leaves in stirred yogurt fortification. **Food Bioscience**, v. 48, p. 101838, 2022.

TEDESCO, L. *et al.* Phenological stage of jaboticaba tree (*Plinia cauliflora*) in the chemical composition of the essential oil of the leaves and antioxidant activity. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e396997305-e396997305, 2020.

TOLEDO, A. G. *et al.* Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of leaves of *Eugenia involucrata* DC. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 2, p. 568–577, 11 fev. 2020.

TOMAR, O.; AKARCA, G. Effects of Ice Cream Produced with Lemon, Mandarin, and Orange Peel Essential Oils on Some Physicochemical, Microbiological and Sensorial Properties. **Kocatepe Veterinary Journal**, v. 12, p. 1–1, 16 fev. 2019.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 7, p. R1231-R1249, 2014.

THEWES, F. R. *et al.* Controlled atmosphere maintains native and cultivated yerba mate quality during shelf life after long-term storage. **Bragantia**, v. 75, n. 2, p. 230-239, 2016.

VEIT, P. A.; SCHWARZ, S. F.; GUERRA, D. Monitoring the phenology of *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand in the state of Rio Grande do Sul-Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 3, p. 1–4, 2019.

VELLOSA, J. C. R. *et al.* Antioxidant and cytotoxic studies for kaempferol, quercetin and isoquercitrin. **Eclética Química**, v. 36, n. 2, p. 07–20, 2011.

VICTORIA, F. N. *et al.* Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2668–2674, 2012.

WANDERLEY, B. R. S. M. *et al.* Phenolic profiling, organic acids and sugars composition of feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) and uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) from the southern Brazilian highlands. **Ciência Rural**, v. 52, n. 12, p. e20210458, 2022.

WATKINS, C. B. Postharvest Physiology of Edible Plant Tissues. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (Eds.). **Fennema's Food Chemistry**. 5° ed. New York: Taylor & Francis, 2017. p. 1017–1080.

YILMAZ, F. M.; KARAASLAN, M.; VARDIN, H. Optimization of extraction parameters on the isolation of phenolic compounds from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) pomace. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 2851-2859, 2015.

ZANDONÁ, G. P. *et al.* Extraction and characterization of phytochemical compounds from araçazeiro (*Psidium cattleianum*) leaf: Putative antioxidant and antimicrobial properties. **Food Research International**, v. 137, p. 109573, 2020.

ZAKI, A. H. *et al.* The synergistic potential of orange peel extract: A comprehensive investigation into its phenolic composition, antioxidant, antimicrobial, and functional fortification properties in yogurt. **Food Chemistry: X**, v. 22, p. 101458, 2024.

ZARDO, D. M. *et al.* Influence of solvents in the extraction of phenolic compounds with antibacterial activity from apple pomace. **Separation Science and Technology**, v. 56, n. 5, p. 903-911, 2020.

ZHANG, T. *et al.* Moringa extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 101, p. 276-284, 2019.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, 1999.

ŽLABUR, J.S. *et al.* Biological potential of fruit and leaves of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) from Croatia. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5102, 2020.

ZOLA, F. G. *et al.* Mineral and centesimal contents, antioxidant activity and antimicrobial action of phenolic compounds from *Eugenia Brasiliensis* Lam. Pulp. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 378-385, 2019.