



NAYARA ANDRADE DE OLIVEIRA

**ELICITAÇÃO MICROBIANA E ANÁLISE DE BETALAÍNAS
EM *Pereskia aculeata* MILLER**

**LAVRAS – MG
2025**

NAYARA ANDRADE DE OLIVEIRA

**ELICITAÇÃO MICROBIANA E ANÁLISE DE BETALAÍNAS EM *Pereskia aculeata*
MILLER**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, para obtenção do título de Doutor(a).

Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues
Orientadora

Profa. Dra. Bárbara Sayuri Bellele
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2025**

Ficha catalográfica elaborada pela Catalogação da Biblioteca Universitária da UFLA

Oliveira, Nayara Andrade de.

Elicitação microbiana e análise de betalaínas em *Pereskia aculeata* Miller / Nayara Andrade de Oliveira. - 2025.

69 p.: il.

Orientador(a): Joyce Dória Rodrigues Carvalho.

Coorientador(a): Bárbara Sayuri Ballete.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. *Pereskia aculeata* Miller. 2. Betalaínas. 3. Bactérias promotoras de crescimento vegetal. I. Carvalho, Joyce Dória Rodrigues. II. Ballete, Bárbara Sayuri. III. Título.

Ficha elaborada por André Felipe Calsavara (CRB6/3137)

NAYARA ANDRADE DE OLIVEIRA

**ELICITAÇÃO MICROBIANA E ANÁLISE DE BETALAÍNAS EM *Pereskia aculeata*
MILLER**

**MICROBIAL ELICITATION AND ANALYSIS OF BETALAINS IN *Pereskia aculeata*
MILLER**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, para obtenção do título de Doutor(a).

APROVADA em 24 de março de 2025.

Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues

Profa. Dra. Bárbara Sayuri Bellete

Profa. Dra. Tatiana Cardoso e Bufalo

Profa. Dra. Caroline Marcela da Silva Dambroz

Profa. Dra. Débora de Aguiar Lage

Profa. Dra. JOYCE DÓRIA RODRIGUES
Orientadora

Profa. Dra. BÁRBARA SAYURI BELLETE
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2025**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-graduação em Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares pela oportunidade de realização do doutorado. Fiquei pouco tempo em terras mineiras, mas levo comigo aprendizados e experiências que ficarão para sempre.

À orientação da professora Joyce Dória e da professora Bárbara Sayuri, vocês são exemplos de sabedoria, amor e dedicação pela pesquisa, minha sincera gratidão e admiração.

À professora e aos professores do Programa, Luciane Vilela, Wilson Magela e Manuel Gavilanes pelos ensinamentos, apoio e insights ao longo deste processo.

À professora Débora Lage cujo trabalho inspirou o estudo sobre as betalaínas e à professora Tatiane Cardoso cujas ideias foram fundamentais para a estruturação deste trabalho.

Às pesquisadoras Caroline Dambroz e Vytória Piscitelli por dedicarem seu tempo para avaliar este trabalho, pelas contribuições e pelo feedback construtivo, que foram fundamentais para o aprimoramento deste estudo.

À minha família, especialmente minha mãe Maria Aparecida, minha irmã Juliana e meu marido Tarcilo pelo grande apoio e incentivo.

Às minhas amigas Glycia, Syara, Lurdes, Janet e todos os colegas da turma 2022.1 que foram boas companhias e ajudaram a superar os desafios encontrados durante este percurso.

Ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais/Laboratório de Bioinsumos e Interação Microrganismos-Planta e sua equipe principalmente as técnicas Camila e Anita, sempre dispostas a ajudar. Ao setor de Oleicultura, principalmente os técnicos Stefany e Valdeci pelo suporte dedicação.

Agradeço também ao Laboratório de Bioquímica, Laboratório Central de Biologia Molecular, Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural e Central de Análises e Prospecção Química.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Este trabalho não teria sido possível sem o apoio e contribuições dessas pessoas e instituições e de tantas outras que estiveram comigo durante esta jornada.

RESUMO

Pereskia aculeata Miller, da família botânica Cactaceae, é uma planta cultivada em regiões tropicais, reconhecida por seu valor medicinal e nutricional devido à sua riqueza em nutrientes e fitoquímicos bioativos com diversas aplicações biomédicas e tecnológicas. Este trabalho é composto por dois estudos: O primeiro estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras de crescimento (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium tropici*) na concentração de compostos fenólicos totais, composição mineral, atividade antioxidante e perfil químico em folhas de *P. aculeata*. O experimento foi realizado em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado com 04 tratamentos e 06 repetições. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, a atividade antioxidante foi avaliada pelo método de eliminação de radicais livres DPPH, a composição mineral foi determinada por espectrometria de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado e o perfil químico por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. Os resultados indicaram que a inoculação com rizobactérias promoveu um aumento significativo na concentração de compostos fenólicos totais, com *R. tropici* e *A. brasilense* apresentando os maiores valores, a inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* aumentou os teores Nitrogênio e Ferro. O percentual de atividade antioxidante foi significativamente maior nas plantas inoculadas com *A. brasilense*, *R. tropici* e *B. subtilis*, e os cromatogramas apresentaram maior densidade de bandas nas plantas biotizadas. Dentre os tratamentos, *R. tropici* e *A. brasiliense* foram elicitores mais promissores de fitoquímicos em *P. aculeata*. O segundo estudo teve como objetivo identificar a presença de betalaínas em folhas apicais de *P. aculeata*, otimizar as condições de extração, avaliar a estabilidade da cor e as características espectrais em diferentes condições de pH, e determinar o potencial antioxidante do extrato. A extração foi otimizada utilizando o design Box-Behnken, sendo os fatores: a razão massa/solvente, temperatura do solvente e tempo de extração. A comparação do extrato otimizado com o padrão para betalaínas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência e espectroscopia de absorvância Uv-vis, e a atividade antioxidante avaliada pelo método de eliminação do radical DPPH. As análises de cromatografia e espectrofotometria mostraram equivalência entre o extrato otimizado e o padrão de referência. O extrato otimizado apresentou potencial antioxidante e mudança de coloração em condições alcalinas. Os resultados dos estudos reforçam o valor desta espécie como planta medicinal, devido à sua composição rica em bioativos, minerais e alta capacidade antioxidante, com potencial para aplicações tecnológicas e medicinais, com ênfase em técnicas sustentáveis de produção e maior aproveitamento desta espécie.

Palavras-chave: Ora-pro-nóbis; betacianinas; bactérias promotoras de crescimento vegetal.

ABSTRACT

Pereskia aculeata Miller, from the botanical family Cactaceae, is a plant cultivated in tropical regions, recognized for its medicinal and nutritional value due to its richness in nutrients and bioactive phytochemicals, with various biomedical and technological applications.. This study comprises two investigations: The first study aimed to evaluate the effect of plant growth-promoting bacteria inoculation (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium tropici*) on the concentration of total phenolic compounds, mineral composition, antioxidant activity, and chemical profile in *P. aculeata* leaves. The experiment was conducted in a greenhouse using a completely randomized design with four treatments and six replicates. The total phenolic compound content was determined using the Folin-Ciocalteu method, antioxidant activity was assessed through the DPPH radical scavenging method, mineral composition was analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, and the chemical profile was determined by high-performance liquid chromatography. The results indicated that rhizobacteria inoculation significantly increased the total phenolic compound concentration, with *R. tropici* and *A. brasilense* showing the highest values. Inoculation with *A. brasilense* and *B. subtilis* increased nitrogen and iron levels. Antioxidant activity was significantly higher in plants inoculated with *A. brasilense*, *R. tropici*, and *B. subtilis*, and the chromatograms showed greater band density in inoculated plants. Among the treatments, *R. tropici* and *A. brasilense* were the most promising elicitors of phytochemicals in *P. aculeata*. The second study aimed to identify the presence of betalains in apical leaves of *P. aculeata*, optimize the extraction conditions, evaluate color stability and spectral characteristics under different pH conditions, and determine the antioxidant potential of the extract. The extraction was optimized using the Box-Behnken design, considering the following factors: mass/solvent ratio, solvent temperature, and extraction time. The optimized extract was compared with a betalain standard using high-performance liquid chromatography and UV-Vis absorbance spectroscopy, while antioxidant activity was assessed using the DPPH radical scavenging method. Chromatographic and spectrophotometric analyses demonstrated equivalence between the optimized extract and the reference standard. The optimized extract exhibited antioxidant potential and color change under alkaline conditions. The findings reinforce the medicinal value of this species due to its rich composition of bioactive compounds, minerals, and high antioxidant capacity, highlighting its potential for technological and medicinal applications, With emphasis on sustainable production techniques that enhance the utilization of this species.

Keywords: Ora-pro-nóbis; betacyanins; plant growth-promoting bacteria.

INDICADORES DE IMPACTO

O estudo sobre betalaínas e o uso de bactérias promotoras de crescimento em *Pereskia aculeata* Miller amplia suas aplicações farmacêuticas e nutricionais e conseqüentemente seu potencial de mercado. A aplicação de biofertilizantes para aumentar a concentração de bioativos aumenta a produtividade da planta beneficiando pequenos produtores regionais e agricultores familiares, alinhando-se ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável da Organização das Nações Unidas (ODS) 2-Fome Zero e Agricultura Sustentável. A investigação das betalaínas, por sua vez, abre novas perspectivas de uso da espécie, e contribui para elucidar os mecanismos de ação de seus efeitos terapêuticos, estando de acordo com o ODS 3-Saúde e Bem-Estar, além de ser uma fonte de insumos para setores industriais, como o de corantes naturais e indicadores de Ph como alternativa a produtos sintéticos, alinhando-se ao ODS 9-Indústria, Inovação e Infraestrutura. Por fim, a determinação da metodologia otimizada de extração deste composto contribui para o melhor aproveitamento do recurso vegetal, reduz o uso de solventes e energia minimizando impactos ambientais, alinhado ao ODS 12-Consumo e Produção Sustentáveis.

IMPACT INDICATOR

The study on betalains and the use of plant growth-promoting bacteria in **Pereskia aculeata** Miller expands its pharmaceutical and nutritional applications, consequently enhancing its market potential. The application of biofertilizers to increase the concentration of bioactive compounds boosts plant productivity, benefiting small regional producers and family farmers, aligning with the United Nations Sustainable Development Goal (SDG) 2—Zero Hunger and Sustainable Agriculture. The investigation of betalains, in turn, opens new perspectives for the species' use and contributes to elucidating the mechanisms underlying its therapeutic effects, in accordance with SDG 3—Good Health and Well-Being. Additionally, it serves as a source of raw materials for industrial sectors, such as natural dyes and pH indicators, offering an alternative to synthetic products, in line with SDG 9—Industry, Innovation, and Infrastructure. Finally, the determination of an optimized extraction methodology for this compound contributes to the better utilization of plant resources, reduces solvent and energy consumption, and minimizes environmental impacts, aligning with SDG 12—Responsible Consumption and Production.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1 <i>Pereskia aculeata</i> MILLER.....	11
2.1.1 Aspectos Agronômicos e Etnobotânicos	11
2.1.2 Propriedades Medicinais e Aplicações Farmacológicas.....	12
2.1.3 Valor Nutricional e Utilização na Formulação de Novos Produtos Alimentícios.....	17
2.2 BETAÍNAS	19
2.3 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL.....	22
2.3.1 Importância e Mecanismos de Ação.....	22
2.3.2 Principais Espécies Utilizadas Como Inoculantes e Mecanismos de Ação e Interação com Plantas Medicinais	23
2.3.3 Interação entre Micro-organismos Benéficos para Plantas e Cactáceas.....	26
REFERÊNCIAS	27
SEGUNDA PARTE: ARTIGOS	36
ELICITAÇÃO MICROBIANA EM <i>Pereskia aculeata</i> MILLER PARA INCREMENTO DOS FITOQUÍMICOS BIOATIVOS E NUTRIENTES MINERAIS	37
1. INTRODUÇÃO.....	38
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1 Área experimental e material vegetal	39
2.2 Preparo dos inoculantes e procedimento de inoculação	40
2.3 Procedimento de coleta e secagem das folhas	40
2.4 Procedimento de extração.....	40
2.5 Análise de compostos fenólicos totais.....	41
2.6 Análise da atividade antioxidante do extrato de folhas de <i>Pereskia aculeata in vitro</i>	41
2.7 Análise da composição mineral	42
2.8 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência -HPLC	42
2.9 Análise estatística	42
3. RESULTADOS	43
3.1 Efeito da inoculação de rizobactérias na concentração de compostos fenólicos totais	43
3.2 Efeito da inoculação de rizobactérias na atividade antioxidante <i>in vitro</i>	43
3.3 Efeito na composição mineral de folhas de <i>Pereskia aculeata</i>	44
3.4 Efeito no perfil químico obtido por cromatografia líquida de alta eficiência	45
4. DISCUSSÃO	46
5. CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS	50
Material suplementar	54
<i>Pereskia aculeata</i> Miller Como Fonte de Betaínas: Otimização das Condições de Extração, Estabilidade da Cor e Potencial Antioxidante	55
1. INTRODUÇÃO.....	56
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
2.1 Químicos e material vegetal	57

2.2 Otimização da extração de betalainas em <i>Pereskia aculeata</i> utilizando o design Box- Behnken.....	57
2.3 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC	58
2.4 Análise por Espectroscopia UV-Vis.....	59
2.5 Análise da resposta de cor do extrato otimizado de folhas apicais de <i>P. aculeata</i> em diferentes valores de pH	59
2.6 Análise <i>in vitro</i> do potencial antioxidante do extrato otimizado de folhas apicais de <i>P. aculeata</i>	59
3. RESULTADOS	60
3.1 Otimização da extração de betalainas de folhas de <i>P. aculeata</i> utilizando o design Box- Behnken.....	60
3.2 Identificação por HPLC e por espectrofotometria de absorvância.....	62
3.3 Resposta de cor em diferentes valores de pH.....	63
3.4 Potencial antioxidante do extrato otimizado	63
4. DISCUSSÃO.....	63
5. CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS	66
Material suplementar	69

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Pereskia aculeata Miller, conhecida popularmente como ora-pro-nóbis, pertence ao gênero *Pereskia* e à família botânica Cactaceae. É uma planta de fácil propagação, resistente a pragas e doenças e adaptada a climas quentes e áridos e as atuais condições de mudanças climáticas (CENCIARELI et al., 2025). É uma importante fonte de bioativos e nutrientes pois suas folhas são ricas em fitoquímicos bioativos como compostos fenólicos, carotenoides, terpenoides e nutrientes minerais, vitaminas, proteínas de alto valor biológico e mucilagem, sendo utilizadas na medicina tradicional e na culinária (SILVA et al., 2023).

Devido a isto, *Pereskia aculeata* emerge como um recurso vegetal promissor com potencial e versatilidade para diversas aplicações industriais, biomédicas e desenvolvimento de novas tecnologias, como desenvolvimento de produtos farmacêuticos com propriedades cicatrizantes (MENDES et al., 2024), creme dermatológico anti-inflamatório (PINTO et al., 2020), biofilmes com potencial para embalagens biodegradáveis (OLIVEIRA et al., 2022), material para impressão 3D (SVIECH et al., 2024), dentre outras.

Contudo, apesar desta composição privilegiada, esta planta ainda é pouco cultivada e comercializada, sendo necessários novos estudos sobre suas técnicas de cultivo, neste contexto, bactérias promotoras de crescimento vegetal são uma estratégia sustentável para o melhoramento de plantas medicinais através da elicitação da biossíntese de compostos de interesse (THAKUR et al., 2019). Além disso, estudos sobre a composição bioquímica das folhas desta espécie são importantes para elucidar os efeitos terapêuticos já conhecidos e criar perspectivas para novas aplicações.

Neste sentido, esta pesquisa é composta por dois artigos:

O primeiro estudo teve como objetivo investigar os efeitos da inoculação de bactérias promotoras de crescimento na concentração de compostos fenólicos totais, na composição mineral, atividade antioxidante e perfil químico por meio de cromatografia líquida de alta eficiência em folhas adultas de *P. aculeata*.

O segundo estudo, por sua vez, explorou a pigmentação presente nas folhas apicais desta espécie, tendo como objetivo identificar a presença de betalaínas nas folhas jovens de *Pereskia aculeata*, otimizar as condições de extração deste pigmento, apresentar sua estabilidade de cor e características espectrais em diferentes condições de pH além de seu potencial antioxidante.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Pereskia aculeata* MILLER

2.1.1 Aspectos Agronômicos e Etnobotânicos

Pereskia aculeata Miller pertence ao gênero *Pereskia* (família Cactaceae, ordem Caryophyllales) é conhecida popularmente como ora-pro-nóbis em português e *barbados gooseberry* em inglês. É uma espécie de caráter perene, com hábito arbustivo-trepador, apresenta floração nos meses de novembro a janeiro e suas flores apresentam coloração branco/amarelada (WORLD FLORA ONLINE, 2025).

Sobre suas características morfológicas, a planta apresenta espinhos nos ramos mais velhos e acúleos nos ramos mais novos, suas folhas são verdes e alongadas e os frutos são ovalados e de cor alaranjada com sabor cítrico-adocicado, contendo de 04 a 06 sementes achatadas de coloração preta (WORLD FLORA ONLINE, 2025).

O método de propagação mais utilizado é por estaquia, as estacas podem ser lenhosas ou semilenhosas e possuem capacidade de enraizamento durante todo o ano, com uma alta taxa de enraizamento (SANTOS et al., 2023). Esta planta também se propaga bem por meio de sementes, sendo a temperatura ideal para a germinação das sementes de 30°C (SOUZA et al., 2016a).

Além de ser de fácil propagação, são resistentes a pragas e doenças e com capacidade de adaptação a climas quentes e árido (CENCIARELI et al., 2025). Sobre as demandas nutricionais desta planta, são utilizadas as recomendações para roseiras; para aumentar a produtividade por área, pode-se realizar o plantio superdensado com colheita sucessiva das folhas (SOUZA et al., 2020).

A parte mais comercializada da *Pereskia aculeata* são suas folhas, enquanto seus frutos são menos conhecidos e explorados. No Brasil, as espécies do gênero *Pereskia* têm uma importância cultural significativa, sendo utilizadas na culinária, na medicina tradicional e em práticas etnobotânicas. Além de suas propriedades medicinais, as plantas do gênero *Pereskia* também desempenham um papel importante na agricultura sustentável sendo utilizada como cerca viva, e na segurança alimentar sendo uma fonte potencial de proteínas e minerais nas regiões onde são cultivadas (CUNHA et al., 2021).

2.1.2 Propriedades Medicinais e Aplicações Farmacológicas

Pereskia aculeata Miller é uma planta medicinal que apresenta diversas propriedades biológicas de interesse farmacológico, as principais relatadas até o momento são: anti-inflamatória, antioxidante, anticancerígena, antimicrobiana, antihemolítica e neuroprotetora (CRUZ et al., 2021; TORRES et al., 2022b ;TEIXEIRA et al., 2023). Isto se deve a uma ampla gama de fitoquímicos bioativos presentes principalmente em suas folhas (Tabela 1).

A atividade anti-inflamatória desta espécie é a mais estudada até o momento. *In vitro*, a atividade anti-inflamatória foi demonstrada com extratos etanólico e hexânico, os quais inibiram fatores inflamatórios em macrófagos e reduziram níveis de hemócitos em larvas de *Zophobas morio*, respectivamente (FEI XU et al., 2023; SILVA et al., 2024).

Nos estudos *in vivo*, as propriedades anti-inflamatórias desta espécie conferiram melhoras nas condições de dermatite aguda e crônica e artrite reumatoide em modelos animais. A atividade anti-inflamatória foi demonstrada na redução da inflamação em modelos de dermatite aguda e crônica em orelhas e na cicatrização de feridas excisionais na pele de camundongos (PINTO et al., 2015a; PINTO et al., 2016). A ação antinociceptiva também foi demonstrada em ratos, sendo associada à presença de alcaloides em sua composição (PINTO et al., 2015b)

O extrato etanólico foi testado em modelos de artrite reumatoide induzida por adjuvante em ratos e exsudação peritoneal em camundongos, demonstrando redução significativa no inchaço das articulações, índice esplênico e concentrações de TNF- α e IL-6 (CHEN et al., 2022). E o extrato de éter de petróleo reduziu o inchaço das patas, o índice esplênico e a expressão de citocinas inflamatórias (XUAN et al., 2020).

Quanto à atividade antioxidante, *in vitro*, os extratos aquosos, glicólicos e hidroetanólicos inibiram a ação dos radicais livres pelo método de redução do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e outros métodos (MORAES et al., 2020; CRUZ et al., 2021; FREITAS et al., 2021; CIRÍACO; MENDES; CARVALHO, 2023). *In vivo*, o potencial antioxidante desta espécie foi associado ao aumento da longevidade de moscas (*Drosophila melanogaster*) que receberam dieta suplementada com farinha de folhas de *P. aculeata*. (SANTOS et al., 2024)

Pereskia aculeata também apresentou atividade anticancerígena. Seus extratos hidroalcoólicos e metanólicos e suas frações, demonstraram toxicidade significativa contra células cancerígenas como A549, HepG2, Caco-2, MCF-7, HL60 e K562 (CRUZ et al., 2021b) (PINTO et al., 2013; MASSOCATTO et al., 2021).

No que tange à atividade antimicrobiana, os extratos metanólico, de clorofórmio e de éter de petróleo exibiram eficácia contra várias bactérias, incluindo *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (SOUZA et al., 2016b; COLACITE et al., 2022).

Além disso, os extratos obtidos por fluido supercrítico mostraram efeito neuroprotetor, com atividade anti-inflamatória e anti-colinérgica (TORRES et al., 2022b). O extrato hidroalcoólico mostrou-se eficaz na proteção das hemácias contra hemólise (CRUZ et al., 2021)

Esses achados indicam o potencial terapêutico de *Pereskia aculeata* em diversas aplicações biomédicas, sendo promissora para o desenvolvimento de novos medicamentos. Nesse sentido, Pinto et al. (2020) desenvolveram um creme fitoterápico tópico anti-inflamatório com princípio ativo obtido a partir do extrato metanólico bruto das folhas de *P. aculeata*, que apresentou potencial anti-inflamatório e antipsoriático.

Ainda sobre o desenvolvimento de fitoterápicos à base de *Pereskia aculeata*, Mendes et al. (2024) apresentaram membranas para curativos compostas por nanofibras de poli ácido láctico e poli etilenoglicol incorporadas com mucilagem obtida a partir das folhas de *P. aculeata* (12,5%, 25% e 50% m/m), a mucilagem de *P. aculeata* conferiu às membranas melhores propriedades mecânicas, aumentando sua resistência à tração de 3,4 MPa para 5,3 MPa e aumentou suas propriedades antioxidantes.

As Tabelas 2 e 3 apresentam um resumo das atividades biológicas atribuídas à *Pereskia aculeata* em testes *in vitro* e *in vivo* respectivamente, reforçando seu potencial como planta medicinal.

Tabela 1: Fitoquímicos presentes em *Pereskia aculeata* Miller por categoria, local e técnica de análise

Categoria	Metabolito	Local	Técnica de análise	Referência
Carotenoides	B-caroteno, α -caroteno, luteína	Frutos	UV-Vis e HPLC	(AGOSTINI-COSTA et al., 2023)
Carotenoides	B-caroteno, α -caroteno, luteína, zeaxantina	Folhas	UV-Vis e HPLC	(AGOSTINI-COSTA et al., 2023)
Compostos fenólicos	Ácido caféico, rutina, hesperidina	Frutos	UHPLC-ESI-MS/MS	(HOFF et al., 2022)
Compostos fenólicos	Ácido cafeico, ácido cumárico, ácido vanílico, ácido ferúlico, quercetina, kaempferol, trealose, feruloiltiramina, ácido malíngico, ácido pinélico	Folhas	HPLC-DAD UPLC-ESI-QTOF-MS/MS	(JACOBSEN et al., 2024)
Compostos fenólicos	Ácido caftárico, quercetina-3-O-rutinosídeo, isorramnetina-O-pentosídeo-O-rutinosídeo	Folhas	LC-DAD-ESI/MSn	(GARCIA et al., 2019)
Compostos fenólicos	Quercetina, ácido caféico, kaempferol, 3-O-rutinosídeo, e derivados de isorhamnetina	Folhas	UPLC-QTOF-MS	(TORRES et al., 2022b)
Compostos fenólicos	Ácido caféico, ácido quinico, quercetina, ácido clorogênico, ácido gálico, ácido elágico, catequina, rutina, Kaempferol-3-O-rutinoside	Folhas	Paper Spray mass Spectrometry	(MACEDO et al., 2023; SOUZA et al., 2022)
Compostos fenólicos	Galangina, ácido ferúlico	Sementes	UHPLC-ESI-MS/MS	(HOFF et al., 2022)
Ácido graxo e terpeno	Ácido linoleico, fitol	Óleo Essencial	GC-MS	(MORAES; FERREIRA; MOREIRA, 2020)
Terpeno e ácidos graxos	Fitol, ácido hexadecanoico, ácido linoleico	Óleo Essencial	GC-MS/FID	(SOUZA et al., 2014)
Ácido graxo, terpeno, vitamina	Ácido oleico, fitol Vitamina E	Folhas	LC MS MS	(CARNEVALLI et al., 2023)
Compostos voláteis e ácidos graxos	Ácidos málico, ferúlico, palmítico, linoléico e glucônico	Folhas	CG-MS	(CARNEVALLI et al., 2023)
Compostos voláteis e não voláteis	Isocamfano, fitol, vitamina E, squaleno, lupeol, campesterol, fucosterol	Folhas	GC-QTOF-MS)	(TORRES et al., 2022b)

Tabela 2: Atividade biológica *in vitro* de diferentes extratos de *Pereskia aculeata* Miller

Atividade biológica	Extrato	Resultado	Referência
Anti-inflamatória	Extrato etanólico	Inibiu a secreção de fatores inflamatórios IL-6 e PGE2 em macrófagos RAW264.7 estimulados por lipopolissacarídeo	(FEI XU et al., 2023)
Anti-inflamatória	Partição hexânica	Reduziu significativamente os níveis de hemócitos em larvas de <i>Zophobas morio</i>	(SILVA et al., 2024)
Antioxidante	Chás (extratos aquosos) da farinha do caule	Apresentaram atividade antioxidante pelo método DPPH	(MORAES et al., 2020)
Antioxidante	Farinha do caule e da folha e extrato hidroetanólico da polpa dos frutos	Apresentou atividade antioxidante pelo método DPPH	(CIRÍACO; MENDES; CARVALHO, 2023)
Antioxidante	Extratos glicólicos das folhas	Apresentaram atividade antioxidante pelo método DPPH	(FREITAS et al., 2021)
Antioxidante	Extrato hidroalcoólico	Apresentou atividade antioxidante pelo método DPPH	(CRUZ et al., 2021)
Anticancerígena	Extrato hidroalcoólico	Toxicidade em células A549, hepg2, Caco-2	(CRUZ et al., 2021)
Anticancerígena	Extrato metanólico: frações de hexano(HEF), diclorometano (DCF), acetato de etila (EAF), butanol (BUF), fração hidrometanólica (HMF) e precipitado (PPT)	Atividade citotóxica das diferentes frações e do extrato metanólico bruto (ME) contra as células MCF-7 e HL60, as frações HEF, DCF, EAF, HMF e PPT apresentaram atividade citotóxica significativa contra as células MCF-7 e HL60	(PINTO et al., 2013)
Anticancerígena	Extrato hidroalcoólico de folhas	Apresentou citotoxicidade sobre linhagens celulares de leucemia mieloide crônica humana (K562)	(MASSOCATTO et al., 2021)
Antimicrobiana	Extrato metanólico	Atividade antimicrobiana contra as bactérias <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	(COLACITE et al., 2022)
Antimicrobiano	Extrato de clorofórmio e extrato de éter de petróleo	Atividade antimicrobiana contra <i>Bacillus cereus</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	(SOUZA et al., 2016b)
Anti-hemolítica	Extrato hidroalcoólico	Apresentou proteção das hemácias da hemólise em condições hipotônicas	(CRUZ et al., 2021)
Neuroprotetora	Extratos das folhas obtidos por fluido supercrítico	Apresentaram atividade anti-inflamatória e anticolinérgica	(TORRES et al., 2022b)

Tabela 3 Atividade biológica em modelos *in vivo* de diferentes extratos de *Pereskia aculeata* Miller

Atividade biológica	Extrato	Resultado	Referência
Anti-inflamatória	Extrato etanólico	Em modelo de artrite induzida por adjuvante em ratos, reduziu o inchaço dos pés e articulações, o índice esplênico e as concentrações séricas de TNF- α e IL-6. Em modelo de exsudação peritoneal em camundongos, inibiu a exsudação de ácido acético do corante azul de Evans e prolongou o tempo de resposta à dor induzida por calor.	(XU et al., 2023)
Anti-inflamatório	Fração hexânica (HF) obtida a partir do extrato metanólico das folhas	Os testes incluíram a aplicação tópica de diferentes agentes indutores de inflamação na orelha em camundongos e ratos, seguida do tratamento tópico com HF, dexametasona (fármaco de referência) ou veículo. Após a coleta das biópsias auriculares, foram realizadas análises para medir os níveis de citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α . a fração hexânica das folhas apresentou atividade anti-inflamatória tópica em modelos de dermatite aguda e crônica.	(PINTO et al., 2015a)
Cicatrização	Extrato metanólico bruto (ME) e da fração de hexano (HF) de folhas	Camundongos foram anestesiados e feridas na pele foram criadas usando um perfurador metálico circular de 5 mm de diâmetro. Os animais foram tratados com formulações de gel contendo a base de gel (veículo), HF (fração hexano das folhas de <i>p. aculeata</i>) a 5% ou ME a 5%. Os tratamentos foram aplicados imediatamente após a lesão e a cada 48 horas durante 14 dias. a fração de hexano (HF) quanto o extrato metanólico (ME) aceleraram significativamente o fechamento das feridas na pele dos camundongos.	(PINTO et al., 2016)
Antinoceptiva	Fração hidrometanólica obtida a partir do extrato metanólico das folhas	Em teste de contorções induzidas por ácido acético a dose de 100 mg/kg foi a mais eficaz, reduzindo em 78% o número de contorções, enquanto as doses de 200 e 300 mg/kg reduziram em 64% e 41%, respectivamente. No teste de formalina, a dose de 300 mg/kg foi a mais ativa, inibindo em 50% e 86% o tempo de lambertura da pata nas duas fases, respectivamente.	(PINTO et al., 2015b)
Efeito no tratamento de artrite reumatoide	Extrato de éter de petróleo	O extrato de éter de petróleo demonstrou efeitos terapêuticos na artrite reumatoide, reduzindo o inchaço das patas, o índice esplênico e a expressão de citocinas inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e prostaglandina E2 (PGE2) em ratos com artrite induzida por CFA.	(CHEN et al., 2022)

2.1.3 Valor Nutricional e Utilização na Formulação de Novos Produtos Alimentícios

As folhas de *Pereskia aculeata* Miller destacam-se por sua riqueza em diversos nutrientes: vitamina B9 (ácido fólico) (TAKEITI et al., 2009), ferro, taninos (MACIEL et al., 2021); vitamina B6 (Piridoxina) (SILVA et al., 2020) ; vitamina C (ácido ascórbico) (SILVA et al., 2020); cálcio, vitamina A; magnésio, cobre, potássio, manganês, selênio (BARREIRA et al., 2020), e proteínas (TORRES et al., 2022c).

Entre esses nutrientes, a presença de um alto percentual de proteínas nas folhas de *Pereskia aculeata* merece destaque, pois são ricas em aminoácidos essenciais. As proteínas de origem vegetal contêm peptídeos bioativos e outras moléculas benéficas à saúde, apresentando potencial anti-inflamatório e imunomodulador (MEDEIROS et al., 2022; SINGH et al., 2022). Além disso, a crescente preocupação ambiental com a produção de carne bovina, o aumento do número de pessoas que adotam o veganismo ou o vegetarianismo e o elevado preço das proteínas de origem animal estão gerando uma demanda crescente por proteínas à base de plantas e seus produtos derivados.

Nesse contexto, novas tecnologias estão sendo desenvolvidas para otimizar a extração da proteína de *Pereskia aculeata*, como a biorrefinação de alta pressão (TORRES et al., 2022a), a biorrefinação de fluidos comprimidos (TORRES et al., 2022c) e adsorção por troca iônica (MENDES et al., 2025). Essas técnicas permitem extrair as proteínas com mais eficiência para serem utilizadas na formulação de novos produtos alimentícios proteicos veganos.

Além dos compostos bioativos e das proteínas, outro componente das folhas é a mucilagem, composta por polissacarídeos e arabinogalactan que pode ser usada em nano emulsões (LAGO et al., 2019) e para desenvolver filmes biodegradáveis, oferecendo uma alternativa sustentável para embalagens (OLIVEIRA et al., 2022) e para microencapsulação (MASUGOSSA et al., 2024), dentre outras aplicações tecnológicas.

Devido a estas características, *Pereskia aculeata* tem se destacado nos últimos anos como um insumo promissor para a indústria alimentícia, tanto na formulação de novos produtos quanto na fortificação de produtos já existentes, (Tabela 4).

Tabela 4: Utilização de *Pereskia aculeata* Miller em novas formulações/enriquecimento de produtos alimentícios

Produto	Parte da planta	Referência
Barra de cereal	Farinha obtida pela desidratação e trituração de folhas	(CRUZ et al., 2024) (SILVA FILHO et al., 2022)
Farinha	Produto obtido a partir da secagem das folhas	(SOMMER; ARAÚJO RIBEIRO; KAMINSKI, 2022; CIRÍACO; MENDES; CARVALHO, 2023)
Pão de forma	Farinha elaborada a partir das folhas	(SIMÃO; RIBEIRO; KAMINSKI, 2023)
Bebidas mistas não fermentadas de frutas	Folhas <i>in natura</i>	(RAMOS; SILVA; QUEIROZ, 2023)
Mix de farinha sem glúten	Folhas	(CÂNDIDO et al., 2022)
Sorvete com alto teor de proteínas	Folhas desidratadas e trituradas	(SANTOS et al., 2022)
Nuggets vegano	Folhas desidratadas e moídas	(SILVA et al., 2022)
Pão de cebola	Farinha de folhas desidratadas	(RAMOS; LUZ; QUEIROZ, 2021)
Pão convencional	Folhas cruas	(ALVES; NASCIMENTO; MARTINS, 2021)
Queijos Petit Suisse	Mucilagem extraída das folhas	(SILVA et al., 2021)
Hamburger vegano	Folhas	(MORO et al., 2021)
Mix de farinha	Folhas desidratadas	(TRENTIN; BAMPI; DINON, 2020)
Suco	Folhas e caule	(ZEM et al., 2018)
Bebidas lácteas fermentadas	Mucilagem obtida das folhas	(AMARAL, T. N. et al., 2018)

2.2 BETALAÍNAS

As betalaínas são uma classe de pigmentos naturais nitrogenados, hidrofílicos, armazenados nos vacúolos das células. Elas possuem cores vibrantes e são subdivididas em duas categorias: betacianinas (tons de violeta) e betaxantinas (tons de amarelo), derivam do ácido betalâmico, que atua como cromóforo central (CARREÓN-HIDALGO et al., 2022) (Figura 1).

As betalaínas são produzidas por plantas da ordem Caryophyllales, sua biossíntese depende de enzimas derivadas de duplicações gênicas que ocorreram na evolução desta ordem, principalmente da família CYP76AD (subfamília do citocromo P450) responsável por converter tirosina em L-DOPA, um precursor das betalaínas e da DODA (L-DOPA dioxigenase) que catalisa a conversão de L-DOPA em ácido betalâmico, que é o cromóforo central das betalaínas (TIMONEDA et al., 2019).

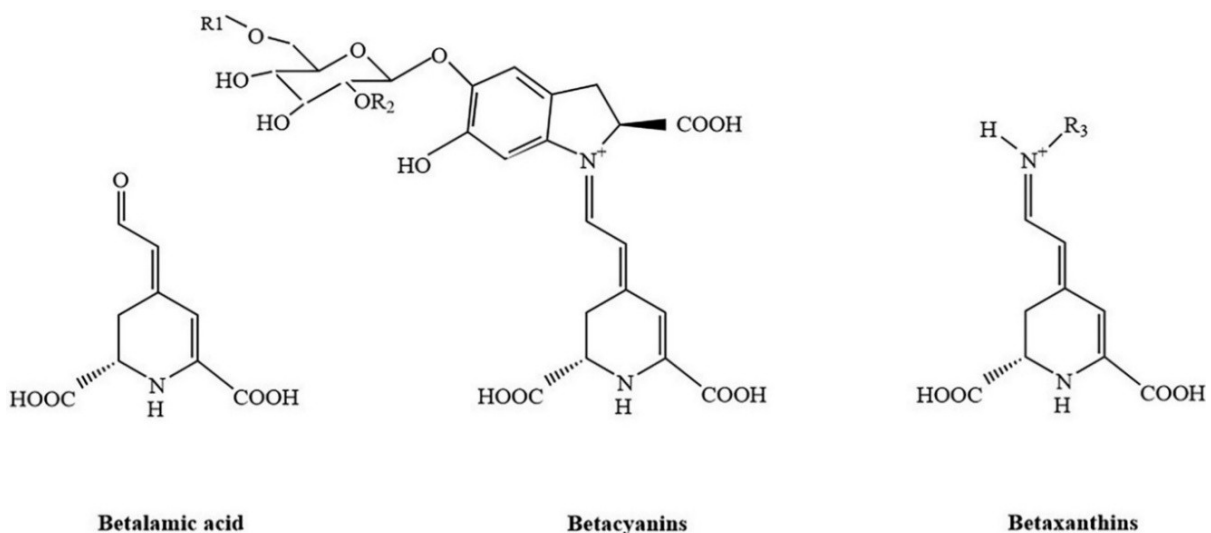


Figura 1: Estruturas químicas esquemáticas do ácido betalâmico, betacianinas e betaxantinas Fonte: (EYSHI et al., 2024)

Dentro desta ordem destacam as famílias Cactaceae e a Amaranthaceae. Na família Cactaceae, dentre as espécies produtoras destaca-se a *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill (conhecida como palma forrageira ou figueira-da-índia em português, *prickly pear* em inglês) (SMERIGLIO et al., 2019), a *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose (pitaya ou fruta do dragão em português, *dragon fruit* em inglês), *Hylocereus costaricensis* (F.A.C.Weber) Britton & Rose (pitaya vermelha em português, *red-fleshed pitahaya* em inglês) (CHEN; SABIR; QIN, 2023). Na família Amaranthaceae as principais plantas produtoras de betalainas são a *Amaranthus tricolor* L. (bertalha ou caruru-roxo em português, *chinese spinach* em inglês)

(CHANG et al., 2021) e *Beta vulgaris* L. (beterraba em português, *beetroot* em inglês) (SUTOR-ŚWIEŻY et al., 2022).

Nestas plantas as betalaínas auxiliam na proteção contra a radiação UV, estresse salino e danos oxidativos, além de desempenharem um papel nos mecanismos de defesa contra patógenos. Sua coloração vibrante também contribui para a atração de polinizadores e dispersores de sementes, promovendo a reprodução e dispersão das espécies. Assim, esses pigmentos exercem funções essenciais na adaptação, defesa e tolerância a estresses ambientais e bióticos (CAUSIN et al., 2025; SABIR et al., 2025).

A via biossintética das betalaínas tem origem na via do chiquimato e inicia-se com a hidroxilação da tirosina, formando L-DOPA, que pode seguir duas rotas principais. Na primeira a L-DOPA é convertida em ácido betalâmico pela ação da enzima DOPA-4,5-dioxigenase, formando a estrutura central das betalaínas. Esse ácido pode se condensar espontaneamente com aminoácidos para originar as betaxantinas, pigmentos amarelos. Na segunda via, a L-DOPA é oxidada e ciclizada para formar ciclo-DOPA, que, ao se combinar com ácido betalâmico, gera betacianinas, responsáveis pelas colorações vermelho-violetas. (POLTURAK; AHARONI, 2018)

É importante destacar que betalaínas e antocianinas são pigmentos mutuamente excludentes em plantas, ou seja, espécies que sintetizam betalaínas não produzem antocianinas, e vice-versa. As betalaínas derivam da tirosina e são compostos nitrogenados, enquanto antocianinas são sintetizadas a partir da fenilalanina e pertence ao grupo dos flavonoides. A exclusividade entre esses pigmentos está associada a mecanismos genéticos e evolutivos (JAIN; GOULD, 2015).

Com relação às suas principais características físico-químicas, as betalaínas emitem fluorescência, devido à sua estrutura química conjugada e à presença de grupos cromóforos eletronicamente ativos, sendo que as betaxantinas são mais fluorescentes do que as betacianinas (GUERRERO-RUBIO et al., 2020). Além disso, apresentam sensibilidade à variação de pH, sendo mais estáveis em condições neutras ou levemente ácidas e sofrendo mudanças de coloração em meio alcalino (LUKITASARI et al., 2024). Quanto à sua estabilidade, são pigmentos fotossensíveis e termolábeis, à exposição a luz e a temperaturas elevadas causam a degradação de sua molécula (SADOWSKA-BARTOSZ; BARTOSZ, 2021).

Devido a estas propriedades as betalaínas estão servindo de insumo para diversas aplicações industriais e novas tecnologias como aplicação em células solares sensibilizadas por corantes (RAJKUMAR et al., 2025), embalagens inteligentes sensíveis ao pH do meio (TSHAMISANE; ADEYEMI; FAWOLE, 2025), repórter fluorescente (DENG et al., 2022) e

corante (OKTARI; SYAFRULLAH; KHAIRUMI, 2023).

Com relação às suas propriedades biológicas e aplicações farmacológicas, as betalaínas apresentam efeito antioxidante, anti-inflamatório, antitumorais, hepatoprotetor, cardioprotetor, neuroprotetor dentre outros. Por isso, se constitui como um importante bioativo em plantas medicinais e alimentos funcionais (MARTINEZ et al., 2024).

Diante disto, a crescente demanda por betalaínas tem impulsionado avanços técnicos em métodos de extração, métodos convencionais de extração utilizam solventes polares como água e etanol, recentemente novas tecnologias, como extração por campo elétrico pulsado e solventes eutéticos profundos tem apresentado bons resultados na extração deste pigmento. A otimização de condições como tempo e temperatura de extração, além da escolha de solventes apropriados, são cruciais para maximizar a obtenção das betalaínas (EYSHI et al., 2024).

2.3 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

2.3.1 Importância e Mecanismos de Ação

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) são um grupo de microrganismos benéficos que vivem na rizosfera, a região ao redor das raízes das plantas, e desempenham papéis fundamentais na promoção do crescimento vegetal e na biossíntese de metabólitos secundários (HASAN et al., 2024).

Atualmente estão sendo realizados muitos estudos sobre o efeito da inoculação destas espécies em plantas, em condições controladas *in vitro*, em condições de casas de vegetação ou em condições de campo. Os principais métodos de aplicação consistem na imersão de sementes, aplicação em sulcos próximos à raiz das plantas e spray foliar (DÍAZ-RODRÍGUEZ et al., 2025).

As BPCV influenciam o desenvolvimento das plantas por meio de interações complexas com o ambiente radicular, utilizando como mecanismos de ação: secreção de fitohormônios e modulação de vias metabólicas, aumento da absorção de nutrientes, solubilização de fosfatos, e aumento da resistência sistêmica (SUN; SHAHRAJABIAN; SOLEYMANI, 2024).

Como resultado destes mecanismos, os principais benefícios para a planta hospedeira são: aumento da taxa de germinação de sementes, maior crescimento, biofortificação/elicitación de fitoquímicos, resistência a fitopatógenos, maior resistência a estresse hídrico, térmico e salino (HASAN et al., 2024). Além disso, BPCV contribuem para o aumento da absorção de nutrientes do solo por meio de diversos processos. Elas solubilizam minerais presentes no solo, tornando-os mais acessíveis às plantas, promovem o desenvolvimento radicular, ampliando a capacidade de absorção de água e nutrientes, e induzem a formação de nódulos nas raízes de leguminosas, o que facilita a fixação biológica de nitrogênio (SARMA; DEKA, 2024).

Dessa forma, as BPCV representam um caminho viável para promover a sustentabilidade na agricultura, melhorando o crescimento das plantas, combatendo patógenos e reduzindo a dependência de insumos químicos. Ademais, no contexto atual a combinação com biotecnologia e nanotecnologia podem potencializar ainda mais esse processo de elicitação microbiana (ELNAHAL et al., 2022).

2.3.2 Principais Espécies Utilizadas Como Inoculantes e Mecanismos de Ação e Interação com Plantas Medicinais

Dentre as espécies de inoculantes mais estudadas estão *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Rhizobium tropici* como importantes bactérias promotoras de crescimento vegetal. Muitos estudos têm investigado como essas interações podem ser exploradas para otimizar a agricultura moderna com vistas à sustentabilidade e otimização de recursos (FERREIRA, 2023).

Azospirillum brasilense é uma bactéria gram-negativa pertencente à classe *Alphaproteobacteria*, com formato de bastonete e flagelos polares que facilitam sua mobilidade no solo (CASSÁN et al., 2020). Cresce em ambientes com pouco oxigênio e solos ricos em matéria orgânica, adaptando-se a diferentes condições. É amplamente utilizada como biofertilizante por promover o crescimento vegetal e fixar nitrogênio. Apresenta capacidade de colonizar raízes e interagir com a rizosfera.

Os principais mecanismos de ação de *Azospirillum brasilense* até o momento conhecidos são: Fixação de nitrogênio atmosférico, *A. brasilense* é capaz de fixar nitrogênio atmosférico, contribuindo com uma fonte direta de nitrogênio para as plantas; Produção de fitohormônios, essa bactéria produz ácido indol-3-acético, além de citocininas e giberelinas, que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento vegetal; Aumento da tolerância ao estresse; *A. brasilense* pode aumentar a resistência das plantas a estresses abióticos, como seca e salinidade, por meio da modulação hormonal, incluindo o ácido abscísico, e pela promoção do crescimento radicular (SUN; SHAHRAJABIAN; WANG, 2025).

Bacillus subtilis, por sua vez, é uma bactéria gram-positiva em forma de bastonete, capaz de formar esporos, apresenta mobilidade por meio de flagelos e pode formar biofilmes. O gênero *Bacillus* inclui espécies conhecidas por suas diversas aplicações em biotecnologia, agricultura e saúde (SINGH; SHUKLA; SINGH, 2024).

Bacillus subtilis, forma uma associação não simbiótica com as plantas, coloniza eficientemente a rizosfera, onde interage com exsudatos radiculares e outras bactérias. Essa interação contribui para melhorar a eficiência nutricional das plantas, ativar seus mecanismos de defesa, dentre outros benefícios. Sendo altamente adaptável ao ambiente da rizosfera devido à sua capacidade de navegar por espaços confinados no solo, impulsionada por sua mobilidade ativa e quimiotaxia, que facilitam a aproximação às raízes e aos exsudatos ricos em nutrientes. Essa espécie é capaz de formar biofilmes estáveis em superfícies de partículas do solo e na raiz,

o que oferece proteção contra condições adversas e contribui para sua colonização eficiente (ENGELHARDT et al., 2024).

Os principais mecanismos de ação de *B. subtilis* como BPCV são: produção de fito-hormônios; solubilização de fosfato e indução de resistência sistêmica adquirida (ORTIZ et al., 2024) Esta espécie também é conhecida por sua capacidade de produzir metabólitos importantes, como surfactinas e fengicinas, estes lipopeptídeos são potentes indutores de respostas sistêmicas estimulando as defesas das plantas, atuando contra patógenos (KASPAR et al., 2019).

Sobre a bactéria *Rhizobium tropici*, esta possui forma de bastonete, é gram-negativa, e possui flagelos que permitem sua motilidade no solo, facilitando a colonização da rizosfera das plantas (TULLIO et al., 2019). Os principais mecanismos de ação de *R. tropici* são: fixação de nitrogênio atmosférico produção de fito-hormônios, solubilização de fósforo, aumento da tolerância ao estresse, dentre outros (MA et al., 2024)

Rhizobium tropici é amplamente estudada por sua capacidade de colonizar a rizosfera e estabelecer uma relação simbiótica com leguminosas. Durante essa simbiose, a bactéria é capaz de formar nódulos radiculares onde ocorre a fixação biológica de nitrogênio, convertendo o nitrogênio atmosférico em amônia, um composto essencial para o crescimento vegetal (CERRO et al., 2016). Essa característica o torna um dos rizóbios mais utilizados comercialmente em inoculantes para feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*).

As bactérias promotoras de crescimento vegetal são potenciais elicitores para a biossíntese de fitoquímicos em plantas medicinais. Elas influenciam tanto o metabolismo primário quanto o secundário, promovendo a produção de compostos bioativos com propriedades terapêuticas (JABBOROVA et al., 2024). A exploração dessas interações simbióticas pode otimizar o cultivo de plantas medicinais e o desenvolvimento de fitoterápicos (CHAMKHI et al., 2021).

Esses organismos podem aumentar a produção de compostos, como saponinas, flavonoides e alcaloides porque possuem a capacidade de modular vias metabólicas específicas por meio da secreção de fitormônios, como auxinas e citocininas, que regulam a expressão de genes envolvidos em processos biossintéticos, influenciando diretamente vias como o caminho do ácido mevalônico e o caminho do metileritritol fosfato, promovendo o aumento da produção de compostos de interesse para a planta (STEFEN et al., 2022).

Os metabólitos produzidos pelas plantas devido a presença de micro-organismos benéficos não apenas ajudam as plantas, mas também possuem propriedades terapêuticas que podem beneficiar a saúde humana, muitos desses fitoquímicos possuem ação antimicrobiana,

anti-inflamatória, antioxidante e anticâncer (HILAL; KHAN; FARIDUDDIN, 2024). Isto é importante porque a produção de fitoquímicos bioativos em larga escala é um desafio, visto que as plantas medicinais muitas vezes produzem esses compostos em baixas quantidades, além dos desafios de extração e purificação (SILVA R. F. et al., 2022). Sendo assim, o uso de elicitores como uma estratégia para o aumento da produção desses compostos nas plantas em condições de campo, de casa de vegetação ou *in vitro* é uma alternativa muito promissora (SANGWAN; JHA; MITRA, 2024).

2.3.3 Interação entre Micro-organismos Benéficos para Plantas e Cactáceas

A interação entre *Pereskia aculeata* e a microbiota do solo foi analisada por Vega et al. (2020), que investigaram a relação entre os atributos físico-químicos do solo, a presença de micro-organismos promotores de crescimento vegetal e os teores de proteínas e minerais nas folhas de *P. aculeata*. Esses autores observaram uma interação estreita entre a planta e as bactérias da rizosfera, constatando uma abundância significativa de bactérias fixadoras de nitrogênio, predominantemente do gênero *Azospirillum* spp., e de fungos micorrízicos arbusculares da família Glomeraceae.

Em outro estudo sobre a relação entre *P. aculeata* e microrganismos, Galindo et al. (2022) observaram que a inoculação com *A. brasilense* promoveu aumento significativo na produtividade e nos teores de minerais nas folhas dessa espécie.

Em *Opuntia ficus-indica* (L.), também da família Cactaceae, Platamone et al. (2023) avaliaram os efeitos de uma cepa de *Arthrobacter* sp. na fenologia e na composição qualitativa de *O. ficus-indica*. Os resultados demonstraram que o tratamento com essa bactéria estimulou a brotação e a frutificação precoces, além de melhorar a qualidade dos frutos, incluindo aumento no peso fresco e seco, maior conteúdo de sólidos totais e maior concentração de polifenóis.

As Cactáceas abrigam uma rica diversidade de microrganismos associados à sua rizosfera, diversos estudos têm destacado o papel essencial desta microbiota para a adaptação dessas plantas a ambientes áridos e semiáridos, contribuindo para sua resistência a diferentes estresses abióticos, como seca e salinidade (BEN ZINEB et al., 2024). Neste contexto, estudos recentes têm isolado bactérias desta família e avaliado seu potencial como novas espécies promotoras de crescimento vegetal (GOVINDASAMY et al., 2022).

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA, T. S. et al. Carotenoid composition of berries and leaves from a Cactaceae – *Pereskia* sp. **Journal of Functional Foods**, v. 11, p. 178–184, 1 nov. 2014.
- ALVES, D. T.; NASCIMENTO; MARTINS, E. M. F. Pães enriquecidos com Ora-Pro-Nóbis: elaboração e avaliação físico-química, microbiológica e sensorial. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 12633–12646, 2021.
- AMARAL, T. N. et al. Blends of *Pereskia aculeata* Miller mucilage, guar gum, and gum Arabic added to fermented milk beverages. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 331–342, 2018.
- BARREIRA, T. F. et al. Nutrient content in ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.): unconventional vegetable of the Brazilian Atlantic Forest. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 47–51, 2020.
- BEN ZINEB, A. et al. Differential recruitment of root bacterial community by inoculated inland spiny and spinless cactus in response to salinity stress. **Rhizosphere**, v. 32, p. 100984, 1 dez. 2024.
- CÂNDIDO, H. T. et al. Green banana and ora-pro-nóbis mixed flours: nutritional and technological characteristics. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, 23 set. 2022.
- CARNEVALLI, D. B. et al. Bioactive compounds profile of extracts from *Pereskia aculeata* Miller leaves prepared with different solvents by ultrasound-assisted extraction. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, v. 16, n. 6, p. 4696–4714, 26 jun. 2023.
- CARREÓN-HIDALGO, J. P. et al. Betalain plant sources, biosynthesis, extraction, stability enhancement methods, bioactivity, and applications. **Food Research International**, v. 151, p. 110821, 1 jan. 2022.
- CASSÁN, F. et al. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, n. 4, p. 461–479, 1 maio 2020.
- CAUSIN, H. F. et al. Comparative role of betalains and other key antioxidant metabolites in the photoprotection against acute exposure to UV-B radiation in *Chenopodium quinoa* and *C. berlandieri* seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 221, p. 109580, 1 abr. 2025.
- CENCIARELI, L. C. et al. Physiological and biochemical changes associated with the induction of facultative CAM in *Pereskia aculeata* under drought stress and recovery. **Plant Physiology and Biochemistry**, p. 109681, 21 fev. 2025.
- CERRO, P. D. et al. a New Transcriptional Regulator of *Rhizobium tropici* CIAT 899 Involved in the Legume Root-Nodule Symbiosis. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0154029, 20 abr. 2016.
- CHAMKHI, I. et al. Plant-microbial interaction: The mechanism and the application of microbial elicitor induced secondary metabolites biosynthesis in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 167, p. 269–295, 1 out. 2021.

CHANG, Y.-C. et al. Elucidation of the core betalain biosynthesis pathway in *Amaranthus tricolor*. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 6086, 17 mar. 2021.

CHEN, J.; SABIR, I. A.; QIN, Y. From challenges to opportunities: Unveiling the secrets of pitaya through omics studies. **Scientia Horticulturae**, v. 321, p. 112357, 1 nov. 2023.

CHEN, Y. et al. Effects of *Pereskia aculeata* Miller Petroleum Ether Extract on Complete Freund's Adjuvant-Induced Rheumatoid Arthritis in Rats and its Potential Molecular Mechanisms. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 869810, 9 maio 2022.

CIRÍACO, A. C. A.; MENDES, R. M.; CARVALHO, V. S. Antioxidant activity and bioactive compounds in ora-pro-nóbis flour (*Pereskia aculeata* Miller). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 26, p. e2022054, 1 maio 2023.

COLACITE, J. et al. Evaluation of the antimicrobial activity of different extracts of Ora-Pro-Nobis Leaves. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 33207–33216, 2022.

CRUZ, G. S. et al. Cereal bar enriched with ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller): physicochemical and sensory characterization. **Journal of Food Science and Technology**, 27 jan. 2024.

CRUZ, T. M. et al. Extraction optimization of bioactive compounds from ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities. **Food Chemistry**, v. 361, p. 130078, nov. 2021.

CUNHA, M. A. et al. Plantas Alimentícias Não Convencionais na perspectiva da promoção da Segurança Alimentar e Nutricional no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e20610313306–e20610313306, 2021.

DENG, Y. et al. A betaxanthin-based visible and fluorescent reporter for monitoring plant transformation. **The Crop Journal**, 5 dez. 2022.

DÍAZ-RODRÍGUEZ, A. M. et al. Microbial Inoculants in Sustainable Agriculture: Advancements, Challenges, and Future Directions. **Plants**, v. 14, n. 2, p. 191, jan. 2025.

ELNAHAL, A. S. M. et al. The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: A review. **European Journal of Plant Pathology**, v. 162, n. 4, p. 759–792, 1 abr. 2022.

ENGELHARDT, I. C. et al. Mobility and growth in confined spaces are important mechanisms for the establishment of *Bacillus subtilis* in the rhizosphere. **Microbiology**, v. 170, n. 8, p. 001477, 2024.

EYSHI, S. et al. Red beet betalains extraction process: A comprehensive review of methods, applications, and physicochemical properties. **Food Science & Nutrition**, v. 12, n. 11, p. 8540–8558, 2024.

FEI XU et al. Ethanolic extract of *Pereskia aculeata* induces anti-inflammatory responses through P38/MK2/TTP-mediated signaling pathway. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 2, p. 447–456, mar. 2023.

FERREIRA, E. **Manual de análises de bioinsumos para uso agrícola: Inoculantes**. Brasília, DF: Embrapa, 2023.

FREITAS, P. H. S. et al. Extratos glicólicos de “ora-pro-nobis”(Pereskia aculeata Miller): Avaliação do teor de compostos fenólicos e do potencial antioxidante. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 1, p. 1748–1760, 2021.

GALINDO, F. S. et al. Co-Inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* sp. Enhances Nitrogen Uptake and Yield in Field-Grown Cowpea and Did Not Change N-Fertilizer Recovery. **Plants**, v. 11, n. 14, p. 1847, jan. 2022.

GARCIA, J. A. A. et al. Phytochemical profile and biological activities of “Ora-pro-nobis” leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**, v. 294, p. 302–308, 1 out. 2019.

GOVINDASAMY, V. et al. Characterization of root-endophytic actinobacteria from cactus (*Opuntia ficus-indica*) for plant growth promoting traits. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 150, 24 jan. 2022.

GUERRERO-RUBIO, M. A. et al. Light Emission in Betalains: From Fluorescent Flowers to Biotechnological Applications. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 2, p. 159–175, 1 fev. 2020.

HASAN, A. et al. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as a Plant Growth Enhancer for Sustainable Agriculture: A Review. **Bacteria**, v. 3, n. 2, p. 59–75, jun. 2024.

HILAL, B.; KHAN, M. M.; FARIDUDDIN, Q. Recent advancements in deciphering the therapeutic properties of plant secondary metabolites: phenolics, terpenes, and alkaloids. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 211, p. 108674, 1 jun. 2024.

HOFF, R. et al. Phenolic compounds profile and main nutrients parameters of two underestimated non-conventional edible plants: *Pereskia aculeata* Mill. (ora-pro-nóbis) and *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (tarumã) fruits. **Food Research International**, p. 112042, 17 out. 2022.

JABBOROVA, D. et al. Diversity and Plant Growth Properties of Rhizospheric Bacteria Associated with Medicinal Plants. **Indian Journal of Microbiology**, 29 maio 2024.

JACOBSEN, S. S. et al. Selective Extraction Process and Characterization of Antioxidant Phenolic Compounds from *Pereskia aculeata* Leaves Using UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS. **ACS Omega**, 21 ago. 2024.

JAIN, G.; GOULD, K. S. Are betalain pigments the functional homologues of anthocyanins in plants? **Environmental and Experimental Botany**, v. 119, p. 48–53, 1 nov. 2015.

KASPAR, F.; NEUBAUER, P.; GIMPEL, M. Bioactive Secondary Metabolites from *Bacillus subtilis*: A Comprehensive Review. **Journal of Natural Products**, v. 82, n. 7, p. 2038–2053, 26 jul. 2019.

LAGO, A. M. T. et al. Ultrasound-assisted oil-in-water nanoemulsion produced from *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 50, p. 339–353, 1 jan. 2019.

LUKITASARI, D. M. et al. pH-dependent stability of major betalains in the encapsulated beetroot extracts (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, v. 89, n. 5, p. 2761–2773, 2024.

MA, Y. et al. Effects of Rhizobium Inoculation on Rhizosphere Soil Microbial Communities, Physicochemical Properties, and Enzyme Activities in Caucasian Clover Under Field Conditions. **Agronomy**, v. 14, n. 12, p. 2880, dez. 2024.

MACEDO, M. C. C. et al. Elaboration and Characterization of *Pereskia aculeata* Miller Extracts Obtained from Multiple Ultrasound-Assisted Extraction Conditions. **Metabolites**, v. 13, n. 6, p. 691, jun. 2023.

MACIEL, V. B. V. et al. Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller): a potential alternative for iron supplementation and phytochemical compounds. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, 2021.

MARTINEZ, R. M. et al. Betalains: A Narrative Review on Pharmacological Mechanisms Supporting the Nutraceutical Potential Towards Health Benefits. **Foods**, v. 13, n. 23, p. 3909, jan. 2024.

MASSOCATTO, A. M. et al. Biological activity survey of *Pereskia aculeata* Mill. and *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). **Pharmaceutical Sciences**, p. 1, 15 maio 2021.

MASUGOSSA, M. J. et al. Use of Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) mucilage as a wall material in microencapsulation by complex coacervation. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 46, n. 1, p. e64375–e64375, 2024.

MEDEIROS, A. F. et al. Hydrolyzed Proteins and Vegetable Peptides: Anti-Inflammatory Mechanisms in Obesity and Potential Therapeutic Targets. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 690, jan. 2022.

MENDES, J. F. et al. Membranes composed of poly(lactic acid)/poly(ethylene glycol) and Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) extract for dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 268, p. 131365, 1 maio 2024.

MENDES, M. O. et al. Optimization of ion exchange cryogel functionalization via the epoxy method for protein adsorption from ora-pro-nobis . **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, 2025.

MORAES, T. V. et al. Atividade antioxidante e conteúdo de compostos fenólicos do chá do caule da *Pereskia aculeata* Miller fresco e armazenado sob congelamento. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e34953140–e34953140, 27 mar. 2020.

MORAES, T. V. ; FERREIRA, J. P. G.; MOREIRA, R. F. A. Óleos essenciais do gênero *Pereskia*: uma revisão da literatura. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e49953357–e49953357, 31 mar. 2020.

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, p. e361101220067–e361101220067, 2021.

OKTARI, A.; SYAFRULLAH, H.; KHAIRUMI, N. The use of betalain dyes beetroot extract (*Beta vulgaris* L) as alternative dyes safranin substitute in bacteria simple stain. **AIP Conference Proceedings**, v. 2734, n. 1, p. 020002, 17 out. 2023.

OLIVEIRA, N. L. et al. Development and characterization of starch-based films added ora-pro-nobis mucilage and study of biodegradation and photodegradation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 139, n. 19, p. 52108, 2022.

ORTIZ, A. et al. Bioengineering *Bacillus* spp. for Sustainable Crop Production: Recent Advances and Resources for Biotechnological Applications. **Journal of Plant Growth Regulation**, 14 nov. 2024.

PINTO, N. C. C. et al. Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 63–69, 30 jan. 2013.

PINTO, N. C. C. et al. *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 330–337, 15 set. 2015a.

PINTO, N. C. C. et al. *Pereskia aculeata*: A plant food with antinociceptive activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 12, p. 1780–1785, 2 dez. 2015b.

PINTO, N. C. C. et al. *Pereskia aculeata* Miller leaves accelerate excisional wound healing in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 131–136, 24 dez. 2016.

PINTO, N. C. C. et al. Preclinical studies indicate that INFLATIV, an herbal medicine cream containing *Pereskia aculeata*, presents potential to be marketed as a topical anti-inflammatory agent and as adjuvant in psoriasis therapy. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 12, p. 1933–1945, 2020.

PLATAMONE, G. et al. Arthrobacter sp. Inoculation Improves Cactus Pear Growth, Quality of Fruits, and Nutraceutical Properties of Cladodes. **Current Microbiology**, v. 80, n. 8, p. 266, 3 jul. 2023.

POLTURAK, G.; AHARONI, A. “La Vie en Rose”: Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. **Molecular Plant**, v. 11, n. 1, p. 7–22, 8 jan. 2018.

RAJKUMAR, S. et al. Anthocyanin and Betalain Pigments Assisted Green Synthesis of TiO₂: A Sustainable and Cost-Effective Approach for Dye-Sensitized Solar Cells Photoanodes. **Optical Materials**, p. 116710, 20 jan. 2025.

RAMOS, R. O.; LUZ, A. S.; QUEIROZ, C. R. A. A. Onion bread with barbados gooseberry leaf flour. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 8, p. 75769–75782, 2 ago. 2021.

RAMOS, R.; SILVA, Y.; QUEIROZ, C. Aceitabilidade de ora-pro-nóbis em bebidas mistas não fermentadas de frutas. **Concilium**, v. 23, 31 jan. 2023.

SABIR, I. A. et al. Emerging Trends in Secondary Metabolite Research in Caryophyllales: Betalains and Their Roles in Plant Adaptation and Defense Mechanisms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 73, n. 4, p. 2249–2265, 29 jan. 2025.

SADOWSKA-BARTOSZ, I.; BARTOSZ, G. Biological Properties and Applications of Betalains. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 2520, jan. 2021.

SANGWAN, N. S.; JHA, S.; MITRA, A. Unlocking nature's treasure trove: biosynthesis and elicitation of secondary metabolites from plants. **Plant Growth Regulation**, 11 jul. 2024.

SANTOS, A. M. D. et al. Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) supplementation promotes increased longevity associated with improved antioxidant status in *Drosophila melanogaster*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, p. e20240125, 7 out. 2024.

SANTOS, C. C. et al. How cutting types and shading levels influence the vegetative propagation of *Pereskia aculeata*? **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e270735, 17 abr. 2023.

SANTOS, P. P. A. et al. Development and characterization of high protein functional ice cream with ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) and inulin. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, 2022.

SARMA, A. K.; DEKA, K. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: An Option for Reducing Abiotic Stress in Plant. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 0, n. 0, p. 1–18, 2024.

SILVA, D. M. et al. Anti-inflammatory Activity and Acute Toxicity Of *Pereskia aculeata*, In *Zophobas morio* Larvae. **Chemistry & Biodiversity**, v. n/a, n. n/a, p. e202400686, 2024.

SILVA FILHO, J. Z. et al. Análise bromatológica de barras de cereais produzidas a partir de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* mill.) Como forma alternativa de suplementação alimentar. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 26708–26718, 2022.

SILVA, J. et al. Analysis of Vitamins, Lipid, Ashes and Ph of Leaves and Antibacterial Capacity of Ora-Pro-Nóbis Extract (*Pereskia aculeata* Miller). **Austin J Nutri Food Sci**, v. 8, n. 1, p. 1134, 2020.

SILVA, N. F. et al. *Pereskia aculeata* Miller as a Novel Food Source: A Review. **Foods**, v. 12, n. 11, p. 2092, jan. 2023.

SILVA, R. A. et al. Use of ora-pro-nóbis in the vegan nuggets preparation. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 29882–29889, 2022.

SILVA, R. F. et al. Sustainable extraction bioactive compounds procedures in medicinal plants based on the principles of green analytical chemistry: a review. **Microchemical Journal**, p. 107184, 2022.

SILVA, S. H. et al. Freeze-dried petit suisse cheese produced with ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) biopolymer and carrageenan mix. **LWT**, v. 149, p. 111764, 2021.

SIMÃO, Y. O. A. D.; RIBEIRO, P. F. A.; KAMINSKI, T. A. Elaboração de pães de fôrma com adição de farinha de ora-pro-nóbis. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 11, p. e09121143643–e09121143643, 20 out. 2023.

SINGH, B. P. et al. Plant-derived proteins as a sustainable source of bioactive peptides: recent research updates on emerging production methods, bioactivities, and potential application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–22, 6 maio 2022.

SINGH, V. K.; SHUKLA, A. K.; SINGH, A. K. Endophytic *Bacillus* species as multifaceted toolbox for agriculture, environment, and medicine. **Environment, Development and Sustainability**, 23 nov. 2024.

SMERIGLIO, A. et al. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. fruit as source of betalains with antioxidant, cytoprotective, and anti-angiogenic properties. **Phytotherapy research: PTR**, v. 33, n. 5, p. 1526–1537, maio 2019.

SOMMER, M. C.; ARAÚJO RIBEIRO, P. F.; KAMINSKI, T. A. Obtenção e caracterização físico-química da farinha de ora-pro-nóbis. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 2, p. 6878–6892, 2022.

SOUZA, A. H. et al. Influence of Harvest Time on the Chemical Profile of *Pereskia aculeata* Mill. Using Paper Spray Mass Spectrometry. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4276, jan. 2022.

SOUZA, L. F. et al. Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oils from Two *Pereskia* Species Grown in Brazil. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 12, 1 dez. 2014.

SOUZA, L. F. et al. Temperature requirements for seed germination of *Pereskia aculeata* and *Pereskia grandifolia*. **Journal of Thermal Biology**, v. 57, p. 6–10, 1 abr. 2016a.

SOUZA, L. F. et al. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 9, p. 1478, set. 2016b.

SOUZA, M. R. DE M. et al. Protein yield and mineral contents in *Pereskia aculeata* under high-density planting system. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 50, 24 ago. 2020.

STEFEN, D. L. V. et al. How Phytohormones Synthesized by PGPR Affect Plant Growth? Em: SAYYED, R. Z.; UARROTA, V. G. (Eds.). **Secondary Metabolites and Volatiles of PGPR in Plant-Growth Promotion**. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 119–131.

SUN, W.; SHAHRAJABIAN, M. H.; SOLEYMANI, A. The Roles of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR)-Based Biostimulants for Agricultural Production Systems. **Plants**, v. 13, n. 5, p. 613, jan. 2024.

- SUN, W.; SHAHRAJABIAN, M. H.; WANG, N. A Study of the Different Strains of the Genus *Azospirillum* spp. on Increasing Productivity and Stress Resilience in Plants. **Plants**, v. 14, n. 2, p. 267, 18 jan. 2025.
- SUTOR-ŚWIEŻY, K. et al. Dehydrogenation of betacyanins in heated betalain-rich extracts of red beet (*Beta vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1245, 2022.
- SVIECH, F. et al. Ora-pro-Nobis Mucilage as a Structuring Ingredient in 3D Printing Formulations. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, p. 101068, 20 nov. 2024.
- TAKEITI, C. Y. et al. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. sup1, p. 148–160, 1 jan. 2009.
- TEIXEIRA, V. M. C. et al. A Critical Appraisal of the Most Recent Investigations on Ora-Pro-Nobis (*Pereskia* sp.): Economical, Botanical, Phytochemical, Nutritional, and Ethnopharmacological Aspects. **Plants**, v. 12, n. 22, p. 3874, jan. 2023.
- TIMONEDA, A. et al. The evolution of betalain biosynthesis in Caryophyllales. **New Phytologist**, v. 224, n. 1, p. 71–85, 2019.
- TORRES, T. M. S. et al. High-pressure biorefining of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 181, p. 105514, 1 2022a.
- TORRES, T. M. S. et al. Neuroprotective potential of extracts from leaves of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) recovered by clean compressed fluids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 179, p. 105390, 1 2022b.
- TORRES, T. M. S. et al. Protein valorization from ora-pro-nobis leaves by compressed fluids biorefinery extractions. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 76, p. 102926, 2022c.
- TRENTIN, M. M.; BAMPI, M.; DINON, A. Z. Nutritional and rheological evaluation of blends based on ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) and wheat flour. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e3469119728–e3469119728, 2020.
- TSHAMISANE, M.; ADEYEMI, J.; FAWOLE, O. Fabrication of active and intelligent bio-based edible films using encapsulated beetroot powders for smart packaging. **Materials Advances**, 2025.
- TULLIO, L. D. et al. Revealing the roles of y4wF and tidC genes in *Rhizobium tropici* CIAT 899: biosynthesis of indolic compounds and impact on symbiotic properties. **Archives of Microbiology**, v. 201, n. 2, p. 171–183, 1 mar. 2019.
- VEGA, C. et al. Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) Nutrition as Related to Soil Chemical and Physical Attributes and Plant Growth-Promoting Microorganisms (vol 46, pg 813, 2020). **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 4, p. 1935–1936, dez. 2020.

WORLD FLORA ONLINE. *Pereskia aculeata* Mill. 2025. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000398441>. Acesso em: 09 mar. 2025.

XU, F. et al. Ethanolic extract of *Pereskia aculeata* induces Anti-Inflammatory Responses through P38/MK2/TTP-mediated signaling pathway. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 2, p. 447–456, mar. 2023.

XUAN, W. et al. Effect of Ethanolic Extract of *Pereskia aculeata* Miller on Joint Swelling in Rats with Adjuvant-induced Arthritis. **Medicinal Plant**, v. 11, n. 5, 2020.

ZEM, L. M. et al. A nutritional analysis of juices of ora-pro-nobis's leaves and stalks. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 4, n. 3, p. 512–524, 2018.

SEGUNDA PARTE: ARTIGOS

ELICITAÇÃO MICROBIANA EM *Pereskia aculeata* MILLER PARA INCREMENTO DOS FITOQUÍMICOS BIOATIVOS E NUTRIENTES MINERAIS

RESUMO

Pereskia aculeata Miller pertence à família botânica Cactaceae, é uma planta cultivada em regiões tropicais, reconhecida por seu valor medicinal e nutricional devido à sua riqueza em nutrientes e fitoquímicos bioativos. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras de crescimento (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium tropici*) na concentração de compostos fenólicos totais, composição mineral, atividade antioxidante e perfil químico em folhas de *P. aculeata*. O experimento foi realizado em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado com 04 tratamentos e 06 repetições. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, a atividade antioxidante foi avaliada pelo método de eliminação do radical livre DPPH, a composição mineral foi determinada por espectrometria de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado e o perfil químico por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. Os resultados indicaram que a inoculação com rizobactérias promoveu um aumento significativo na concentração de compostos fenólicos totais, com *Rhizobium tropici* (2.96 mg GAE/g DW) e *A. brasilense* (2.93 mg GAE/g DW) apresentando os maiores valores. A inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* aumentou os teores de nitrogênio e ferro. O percentual de atividade antioxidante foi significativamente maior nas plantas inoculadas com *A. brasilense* (81.02%), *R. tropici* (79.13%) e *B. subtilis* (76.91%), e os cromatogramas apresentaram maior densidade de bandas entre os tempos de retenção 5-15 minutos nas plantas biotizadas. Conclui-se que, dentre os tratamentos, *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* foram elicitores mais promissores de fitoquímicos em *P. aculeata*. Os resultados também reforçam o valor desta espécie como planta medicinal, devido à sua composição rica em bioativos e alta capacidade antioxidante.

Palavras-chave: Ora-pro-nóbis, bactérias promotoras de crescimento vegetal, planta medicinal.

ABSTRACT

Pereskia aculeata Miller of the botanical family Cactaceae, is a plant cultivated in tropical regions, recognized for its medicinal and nutritional value due to its richness in nutrients and bioactive phytochemicals. This study aimed to evaluate the effect of growth-promoting bacteria inoculation (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium tropici*) on the concentration of total phenolic compounds, mineral composition, antioxidant activity, and chemical profile in the leaves of *P. aculeata*. The experiment was conducted in a greenhouse in a completely randomized design with 04 treatments and 06 repetitions. The total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method, antioxidant activity was evaluated by the DPPH free radical scavenging method, mineral composition was determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, and the chemical profile by high-performance liquid chromatography. The results indicated that inoculation with rhizobacteria significantly increased the concentration of total phenolic compounds, with *Rhizobium tropici* (2.96 mg GAE/g DW) and *A. brasilense* (2.93 mg GAE/g DW) showing the highest values, and inoculation with *A. brasilense* and *B. subtilis* increased nitrogen and iron content. The

percentage of antioxidant activity was significantly higher in plants inoculated with *A. brasilense* (81.02%), *R. tropici* (79.13%), and *B. subtilis* (76.91%), and the chromatograms showed greater band density between retention times of 5-15 minutes in biotized plants. It is concluded that, among the treatments, *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* were the most promising elicitors of phytochemicals in *P. aculeata*. The results also reinforce the value of this species as a medicinal plant due to its rich bioactive composition and high antioxidant capacity.

Keywords: Ora-pr-nóbis, plant growth-promoting bacteria, medicinal plant.

1. INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são fontes de fitoquímicos bioativos utilizados na medicina tradicional e como insumos para a indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos. Além disso, estas substâncias são promissoras para o desenvolvimento de novos medicamentos e novas tecnologias (Liu & Chen, 2024).

Pereskia aculeata Miller, conhecida popularmente como ora-pro-nóbis, é uma planta medicinal e alimentícia da família botânica Cactaceae. Trata-se de uma espécie bem adaptada ao clima quente das regiões tropicais e rica em fitoquímicos bioativos, como compostos fenólicos, terpenoides e carotenoides (Macedo et al., 2023). Tais fitoquímicos são biomoléculas que devido às suas propriedades físico-químicas conferem às plantas efeitos farmacológicos reconhecidos.

Os principais efeitos farmacológicos relatados para a *P. aculeata* em estudos *in vivo* são atividade anti-inflamatória (Xu et al., 2023; Pinto et al., 2015a), cicatrizante (Pinto et al., 2016) e antinociceptiva (Pinto et al., 2015b). As folhas de *P. aculeata* também são reconhecidas como um alimento nutritivo, muito utilizadas na medicina tradicional e na culinária. Esta planta representa uma fonte alternativa de proteínas vegetais, vitaminas e minerais, apresentando-se como importante fonte de bioativos e nutrientes (Cunha et al., 2021).

Práticas de fertilização orgânica têm sido utilizadas como forma de maximizar a biossíntese de fitoquímicos bioativos de interesse e aumentar a biomassa de plantas medicinais (Rostaei et al., 2024). Neste contexto, bactérias promotoras de crescimento vêm ganhando espaço como biofertilizantes ecologicamente sustentáveis, as quais estabelecem relação simbiótica e podem contribuir para o desenvolvimento da planta (Hasan et al., 2024). Contudo, o efeito da inoculação dessas bactérias na composição bioquímica das plantas ainda é pouco explorado (Fahde et al., 2023).

Dessa forma, este estudo destaca o potencial da inoculação de microrganismos na elicitação de compostos bioativos como uma ferramenta biotecnológica para a biofortificação de plantas medicinais. Com isso, o aumento de compostos de interesse em *P. aculeata* pode aumentar seu poder fitoterápico e o valor de mercado dessa planta.

Isto é importante porque *P. aculeata* vem demonstrando grande versatilidade para uso em novos produtos e tecnologias industriais: desenvolvimento de produtos farmacêuticos curativos com propriedades cicatrizantes (Mendes et al., 2024), creme dermatológico anti-inflamatória (Pinto et al., 2020), biofilmes com potencial para embalagens biodegradáveis (Oliveira et al., 2022), material para impressão 3D (Sviech et al., 2024), dentre outras.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da inoculação de bactérias promotoras de crescimento na concentração de compostos fenólicos totais, na composição mineral, atividade antioxidante e perfil químico por meio de cromatografia líquida de alta eficiência em folhas de *P. aculeata*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área experimental e material vegetal

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais/Laboratório de Bioinsumos e Interação Microrganismos-Planta do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, Minas Gerais (coordenadas 44°58'18"O e 21°13'30"S, a 919m de altitude), coberta com filme de polietileno transparente (150 microns), 70% de sombreamento. As condições internas da casa de vegetação foram mantidas com umidade relativa do ar de 80%, temperatura de $27 \pm 3^\circ\text{C}$.

Sementes de *P. aculeata* foram obtidas de frutos maduros de planta matriz localizada nas coordenadas geográficas 22°17'16.3"S, 46°22'44.1"O, e altitude de 997m. A planta matriz foi identificada pela exsicata ESAL 33.319 e depositada no Herbário ESAL, DBI/ICN/UFLA. As sementes foram plantadas em vasos de plástico pretos contendo substrato Tropstrato® (composto por casca de pinus, turfa, vermiculita, superfosfato, nitrato de potássio, com umidade de 60% p/p, CRA de 130% p/p, densidade de base seca de 200 kg/cm³ e pH de 5.8).

As plantas foram irrigadas por microaspersão, conforme as condições de temperatura e umidade internas da casa de vegetação, e receberam fertilização mineral mista do produto comercial Vitaplan® (composição: Nitrogênio total 8%, Fósforo (P₂O₅) sol. em C.N.A + água 9%, Óxido de Potássio (K₂O) sol. em água 9%, Cálcio (Ca) 1,1%, Magnésio (Mg) 1%, Enxofre

(S) 3,2% (SO₄ 0,08%), Cobre (Cu) 0,08%, Boro (B) 0,08%, Manganês (Mn) 0,04% e Zinco (Zn) 0,6%) a cada 30 dias, conforme as recomendações do fabricante.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com seis repetições e quatro tratamentos, onde cada parcela corresponde a uma planta, totalizando 24 plantas. Os vasos foram dispostos de forma aleatória na casa de vegetação.

Os tratamentos aplicados foram:

Tratamento 1: plantas biotizadas com *Azospirillum brasilense*

Tratamento 2: plantas biotizadas com *Bacillus subtilis*

Tratamento 3: plantas biotizadas com *Rhizobium tropici*

Tratamento 4: controle: plantas sem aplicação de inóculos.

2.2 Preparo dos inoculantes e procedimento de inoculação

As bactérias inoculadas foram *A. brasilense* Avb-5, *B. subtilis* e *R. tropici* CIAT 899, obtidas da Coleção de Culturas da Microbiologia Agrícola (CCMA-UFLA) do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

As bactérias foram preservadas em meio caldo nutriente, 40% de glicerol e refrigeração a 4°C. As cepas de bactérias foram reativadas em placas de Petri contendo 20 mL de meio ágar nutriente e mantidas em incubadora BOD (Biochemical Oxygen Demand) a 30°C.

Para a preparação do inóculo, as bactérias foram cultivadas em meio Nutrient Broth (5 g L⁻¹ de peptona, 3 g L⁻¹ de extrato de levedura, e 1 g L⁻¹ de extrato de carne, pH 5,0) sob agitação rotativa a 110 rpm, durante 48 h a 28 ± 2°C em mesa agitadora. A densidade celular foi padronizada por meio do ajuste da turbidez utilizando a escala de McFarland com o tubo 0,5 e que corresponde a concentração de 10⁸ UFC/mL. O inoculante foi aplicado mensalmente em sulcos no substrato próximo à raiz da planta.

2.3 Procedimento de coleta e secagem das folhas

Folhas adultas da porção intermediária do ramo de *P. aculeata* foram coletadas de plantas com 14 meses de idade no período da manhã foram secas em estufa com circulação e renovação de ar (TE 394/1 Tecnal ®) a 35°C até peso constante, moídas e peneiradas em moinho tipo Willey com rotação fixa de 1730 rpm (TE-650 Tecnal ®).

2.4 Procedimento de extração

Os extratos hidroetanólicos foram obtidos por maceração dinâmica em mesa agitadora por 01 hora utilizando a relação massa/solvente de 30 mg de massa vegetal seca por mL de

solvente. O solvente utilizado foi uma solução de água deionizada 60% e etanol absoluto 40%. As amostras foram pesadas em balança analítica e o solvente adicionado em microtubos, após a adição do solvente, os microtubos foram centrifugados e os sobrenadantes coletados.

2.5 Análise de compostos fenólicos totais

Para a análise, 25 μL dos extratos foram misturados com 25 μL de reagente Folin-Ciocalteu a 50% e com 200 μL de água deionizada. Após 5 minutos, uma alíquota de 25 μL de solução saturada de carbonato de sódio a 5% foi adicionada à mistura. A placa foi então agitada por 20 segundos e incubada protegida da luz, por 60 minutos.

A concentração de compostos fenólicos totais (TPC) foi determinada por espectrofotometria utilizando microplacas de 96 poços. O TPC foi quantificado pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Margraf et al. (2015). A absorbância foi medida a 725 nm utilizando espectrofotômetro UV/VIS Thermo Scientific Multiskan GO® e o software SkanIt 5.0.

Como branco, foi utilizada uma mistura contendo os mesmos volumes de reagentes, substituindo o extrato por etanol 40%. Foi construída uma curva de calibração utilizando ácido gálico em concentrações variando de 20 a 200 mg L^{-1} , resultando em um coeficiente de determinação (R^2) de 0.995. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de folhas secas (mg GAE g^{-1}).

2.6 Análise da atividade antioxidante do extrato de folhas de *Pereskia aculeata in vitro*

A atividade antioxidante foi determinada pelo método de atividade eliminadora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). A análise foi feita em microplacas de 96 poços. Em cada poço foram adicionados 20 μL da amostra e 280 μL de solução metanólica de DPPH 0.1 mM agitada e incubada em local escuro à temperatura ambiente por 50 min. Como controle negativo foram utilizados 20 μL de etanol 40% e 260 μL da solução de DPPH. A absorbância foi medida no comprimento de onda 517 nm utilizando espectrofotômetro UV/VIS Thermo Scientific Multiskan GO® e o software SkanIt 5.0.

A porcentagem de atividade de eliminação dos radicais DPPH foi calculada usando a fórmula: % efeito de eliminação = $[(Ac-As)/Ac] \times 100$. Em que: Ac é a absorbância do controle negativo e As é a absorbância da amostra testada.

2.7 Análise da composição mineral

As análises de minerais (Ca, Fe, K, Mg, Mn, N, P e Zn) foram realizadas pelo método de análise de elementos em material vegetal descrito por Malavolta et al. (1997).

As amostras de folhas secas foram submetidas à digestão via solução nitro-perclórica HNO₃ e HClO₄ (2:1). O teor de nitrogênio foi determinado por digestão com enxofre seguida de destilação de Kjeldahl, os demais foram determinados usando espectrômetro de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (Spectro Cirrus; Alemanha).

O potencial de *P. aculeata* como fonte de nutrientes foi avaliado com base no percentual de atendimento às Ingestões Dietéticas de Referência (RDA, do inglês *Recommended Dietary Allowance*) para homens e mulheres adultos entre 19 e 30 anos, conforme as diretrizes do Instituto de Medicina dos Estados Unidos (Institute of Medicine, 1997, 2001, 2005a, 2005b, 2011). O acúmulo de nutrientes foi calculado multiplicando-se o teor de nutrientes pela massa seca amostra e depois convertido para mg/100 gramas de folhas frescas.

2.8 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência -HPLC

Os extratos foram obtidos por maceração dinâmica em mesa agitadora por uma hora utilizando a relação massa/solvente de 30 mg de massa vegetal seca por mL de solvente. O solvente utilizado foi uma solução hidrometanólica a 40%, preparada com metanol grau HPLC. O equipamento utilizado foi um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu®, composto por um degasseificador, auto-injetor, bomba binária e detector DAD.

As análises foram realizadas no modo reverso e gradiente de eluição utilizando H₂O (sistema A) (acidificada com 1% de ácido acético) e metanol (sistema B) como fase orgânica. As condições cromatográficas utilizadas foram: 0,01min-0%B, 5min-20%B; 25min-40%B; 43min-45%B; 50min-80%B; 55min-0%B. A temperatura do forno foi mantida em 35°C. O detector utilizado foi UV de comprimento de onda variável, sendo as corridas monitoradas em 280 nm. A quantidade da amostra injetada foi de 15 µl e a vazão foi de 1 mL min⁻¹. A coluna utilizada para todas as separações cromatográficas foi C18 (250 mm x 4.6 mm, com partículas de 5 µm), antecedida por uma coluna de segurança C-18 (4 x 3).

Também foi realizada uma corrida contendo 12 padrões fenólicos, utilizando a mesma metodologia acima descrita (Material complementar, Tabela 1).

2.9 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para os teores de compostos fenólicos e a atividade

antioxidante, e agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) para a composição mineral. As análises estatísticas foram realizadas no software R Studio (v. 4.3.1) e os gráficos foram plotados no software OriginPro 2024.

3. RESULTADOS

3.1 Efeito da inoculação de rizobactérias na concentração de compostos fenólicos totais

Entre as bactérias inoculadas, *R. tropici* (2.96 mg GAE/g DW) e *A. brasilense* (2.93 mg GAE/g DW) aumentaram significativamente o teor de compostos fenólicos totais nas folhas de *P. aculeata* comparado ao controle. Já *B. subtilis* (2.44 mg GAE/g DW) não apresentou diferença significativa em relação ao controle (1.98 mg GAE/g DW) (Figura 1).

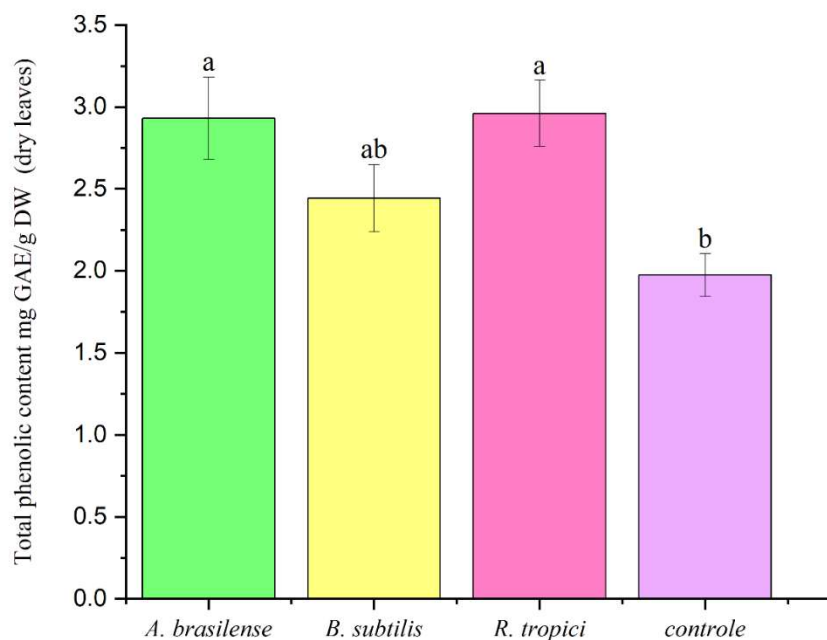


Figura 1: Efeito na inoculação das bactérias promotoras de crescimento *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Rhizobium tropici* na concentração de compostos fenólicos totais em *Pereskia aculeata*. As barras representam a média das repetições, as barras de erro indicam o erro padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si e médias seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0.05$). GAE: equivalentes de ácido gálico.

3.2 Efeito da inoculação de rizobactérias na atividade antioxidante *in vitro*

A inoculação das bactérias aumentou significativamente o potencial antioxidante do extrato de *P. aculeata*, observado através do método de redução do radical DPPH. Dentre as bactérias testadas, *A. brasilense* (81.02%; 1.21 mg/mL) e *R. tropici* (79.13%; 1.22 mg/mL)

apresentaram os maiores percentuais de inibição e menores IC50%. Os resultados do percentual de atividade antioxidante e concentração inibitória de 50% (IC 50%) são apresentados na Figura 2 e Tabela 1 respectivamente.

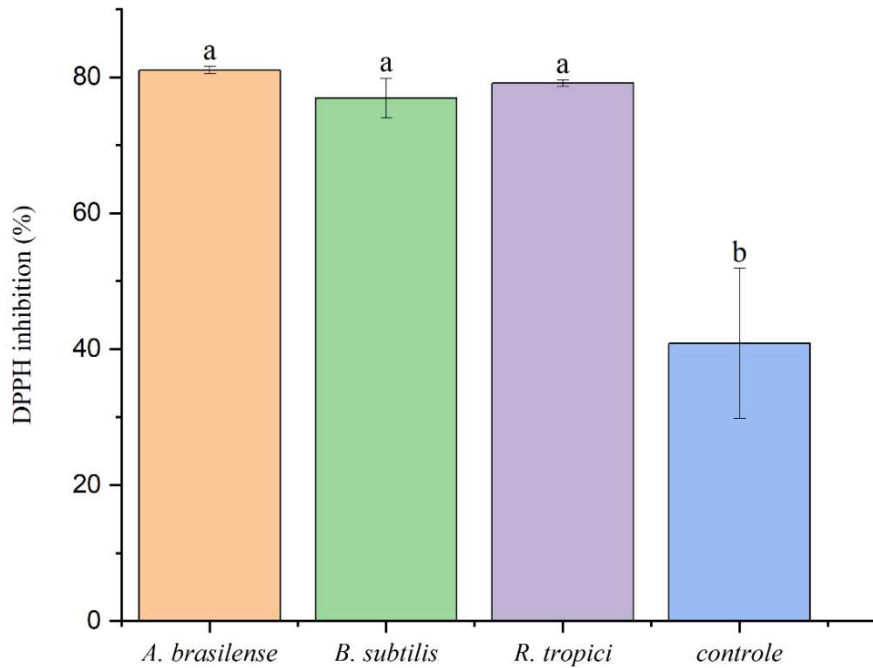


Figura 2: Efeito da inoculação das bactérias promotoras de crescimento *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Rhizobium tropici* no percentual de inibição do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). As barras representam a média das repetições, as barras de erro indicam o erro padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si e médias seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 1: Concentração inibitória de 50% do radical DPPH

Tratamento	Equação	R ²	IC 50%
<i>A. brasilense</i>	$y = 14.866x + 31.968$	0.9552	1.21 mg/mL
<i>B. subtilis</i>	$y = 15.193x + 30.09$	0.9982	1.31 mg/mL
<i>R. tropici</i>	$y = 24.407x + 20.1$	0.9999	1.22 mg/mL
controle	$y = 28.964x + 11.033$	0.9974	1.34 mg/mL

3.3 Efeito na composição mineral de folhas de *Pereskia aculeata*

Os valores médios encontrados no presente estudo foram Ca (25.2 g kg⁻¹), Fe (141.8 mg kg⁻¹), K (76.3 g kg⁻¹), Mg (10.4 g kg⁻¹), N (33.2 g kg⁻¹), P (3.8 g kg⁻¹) e Zn (128.6 mg kg⁻¹). Estes resultados mostram que *P. aculeata* é uma planta alimentícia não convencional rica em minerais, (Tabela 2).

Tabela 2: Composição mineral das folhas *Pereskia aculeata* sob o efeito da inoculação de bactérias promotoras de crescimento

Minerais/RDA	T1		T2		T3		T4					
Cálcio	470.51	± 98.19	a	511.01	± 98.79	a	468.19	± 73.28	a	513.56	± 96.68	a
% rda mulher/homem	47.05	/ 47.05		51.10	/ 51.10		46.82	/ 46.82		51.36	/ 51.36	
Ferro	3.35	± 0.57	b	3.06	± 0.77	b	2.59	± 0.30	a	2.44	± 0.20	a
% rda mulher/homem	18.63	/ 41.91		17.01	/ 38.28		14.38	/ 32.36		13.54	/ 30.46	
	1591.2	101.6		1487.7	134.7		1476.3			1535.3	154.6	
Potássio	6	± 8	a	5	± 3	a	0	± 91.65	a	0	± 4	a
% rda mulher/homem	33.86	/ 33.86		31.65	/ 31.65		31.41	/ 31.41		32.67	/ 32.67	
Magnésio	171.30	± 19.97	a	186.82	± 16.00	a	169.30	± 15.35	a	183.34	± 10.99	a
% rda mulher/homem	40.79	/ 55.26		44.48	/ 60.27		40.31	/ 54.61		43.65	/ 59.14	
		112.4										
Nitrogênio	736.96	± 6	b	717.70	± 79.74	b	614.51	± 74.34	a	624.21	± 79.71	a
% rda mulher/homem	-	/ -		-	/ -		-	/ -		-	/ -	
	4606.0	702.9		4485.6	498.3		3840.6	464.6		3901.3	498.1	
Proteínas *	0	± 1	b	0	± 9	b	7	± 4	a	3	± 8	a
% rda mulher/homem	4.08	/ 4.08		3.99	/ 3.99		3.41	/ 3.41		3.46	/ 3.46	
Fósforo	77.39	± 37.85	a	68.78	± 20.40	a	67.01	± 16.36	a	80.68	± 41.36	a
% rda mulher/homem	11.06	/ 11.06		9.83	/ 9.83		9.57	/ 9.57		11.53	/ 11.53	
Zinco	1.94	± 0.56	a	2.29	± 0.88	a	3.33	± 1.13	a	2.84	± 1.08	a
% rda mulher/homem	24.19	/ 17.60		28.59	/ 20.79		41.66	/ 30.29		35.50	/ 25.82	

Valores em mg/100 gramas de folhas frescas. **T1** - plantas inoculadas com *A. brasilense*, **T2** - plantas inoculadas com *B. subtilis*, **T3** - plantas inoculadas com *R. tropici*, **T4** - controle. Letras diferentes apresentam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). * Calculado com base em uma dieta de 2000Kcal.

3.4 Efeito no perfil químico obtido por cromatografia líquida de alta eficiência

A comparação, feita através da sobreposição das bandas cromatográficas e dos tempos de retenção, entre os cromatogramas dos extratos das plantas biotizadas e o cromatograma das plantas controle revelou que as amostras provenientes das plantas inoculadas com *A. brasilense* e *R. tropici*, apresentaram um perfil cromatográfico com maior densidade e área das bandas, no intervalo entre 5 e 15 minutos esses tratamentos exibiram bandas que estão ausentes nos demais tratamentos, indicadas pelas letras a, b, c, d, e, f e g na Figura 3A. Esta diferença foi mais acentuada na região de maior polaridade (Figura 3C)

Por sua vez, a comparação entre os cromatogramas dos extratos e o cromatograma do padrão de compostos fenólicos permite identificar 02 compostos que estão presentes em todos os tratamentos: catequina (tempo de retenção 10.80 min) e o ácido ferúlico (tempo de retenção 24.70 min), (Figura 3B).

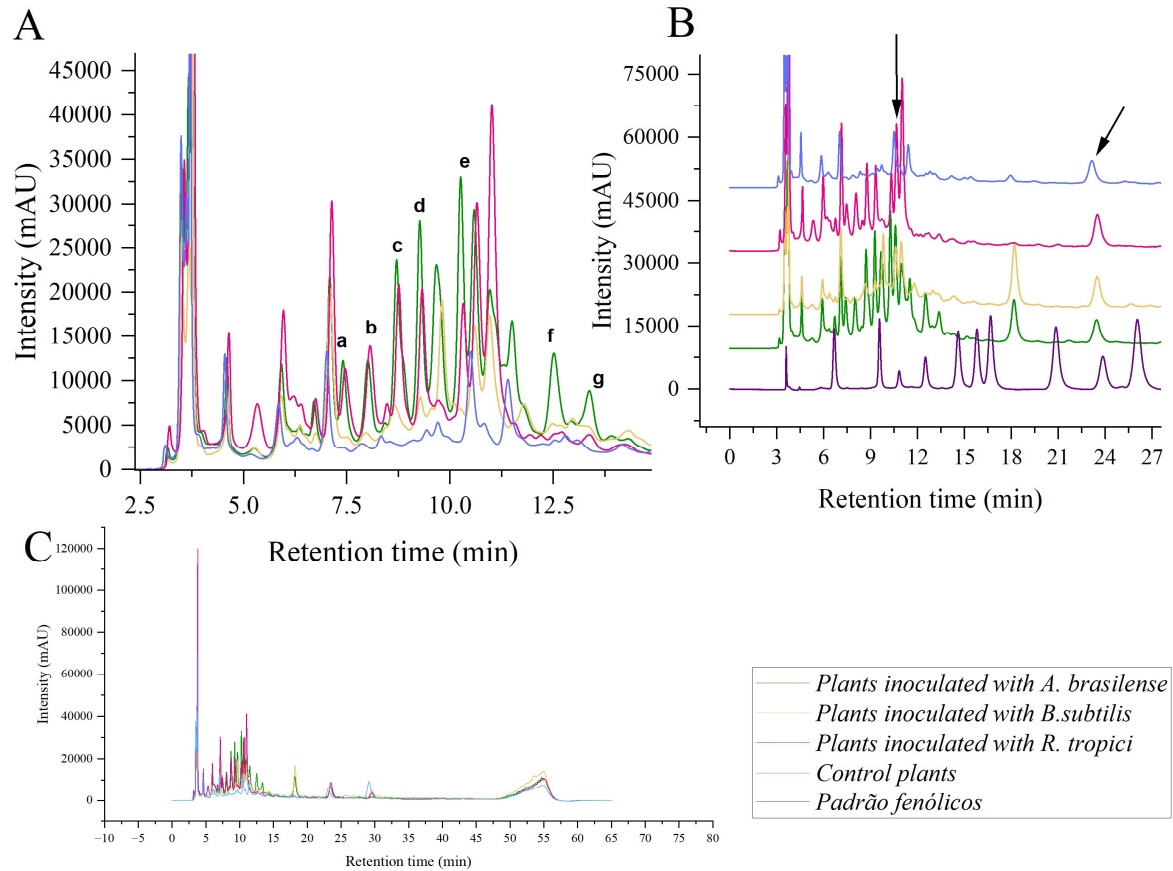


Figura 3: HPLC Chromatogram at 280 nm **A-** Sobreposição dos cromatogramas dos diferentes tratamentos com zoom entre tempos de retenção 5-15, **B-** Identificação de bandas por comparação do tempo de retenção dos tratamentos com padrões externos catequina (tempo de retenção 10.80 min) e o ácido ferúlico (tempo de retenção 24.70 min) **C-** Cromatograma completo.

4. DISCUSSÃO

A elicitação microbiana em plantas medicinais é o processo de aplicação de bactérias benéficas que por meio de diferentes mecanismos estimulam a biossíntese de fitoquímicos de interesse, sendo uma estratégia promissora e sustentável para aumento da concentração de metabólitos secundários bioativos (Thakur et al., 2019).

Neste experimento, a inoculação das bactérias *R. tropici* e *A. brasilense* aumentou a concentração de compostos fenólicos em folhas de *Pereskia aculeata*. Isso pode ser explicado pois bactérias promotoras de crescimento podem modular vias metabólicas específicas, modificando o perfil de seus metabólitos secundários e, por exemplo, induzir modificações metabólicas que aumentam a defesa das plantas elevando os níveis de compostos defensivos (Pereira et al., 2021).

De forma semelhante, a inoculação de bactérias promotoras de crescimento apresentou efeitos positivos na composição fitoquímica em outras espécies da família Cactaceae. A partir da aplicação de *Arthrobacter* sp. em *Acanthocalycium* sp., foi observado aumento da concentração de fenóis, flavonoides e antioxidantes dos frutos, maior número e longevidade das flores, além de maior resistência a fitopatógenos (Prisa, 2024). Em *Opuntia ficus-indica*, a inoculação com *Arthrobacter* sp. promoveu melhorias na qualidade nutracêutica, os frutos apresentaram maior teor de polifenóis, atividade antioxidante, e sólidos solúveis e os cladódios apresentaram aumento nos níveis de açúcares essenciais (Platamone et al., 2023).

Neste trabalho, a inoculação das bactérias também promoveu um aumento significativo no potencial antioxidante do extrato de *P. aculeata*. O aumento do potencial antioxidante pode estar relacionado à maior concentração de compostos fenólicos nas plantas inoculadas, isto porque os fenólicos são substâncias que possuem propriedades antioxidantes. Resultado semelhante foi encontrado para *Pereskia bleo*, Dullah et al. (2019) demonstraram que a aplicação de biofertilizantes, em conjunto com condições de estresse abiótico provocadas pela salinidade resultou em um aumento significativo na atividade antioxidante desta espécie. Isto sugere que a inoculação bacteriana pode ser uma ferramenta eficaz para eliciar a síntese de fitoquímicos com potencial antioxidante em plantas. Contudo, não foram encontrados na literatura outros estudos sobre o efeito da inoculação de bactérias na composição de fenólicos e atividade antioxidante de *P. aculeata*.

O potencial antioxidante do extrato hidroalcolólico de folhas de *P. aculeata* de 39 mg de equivalentes de ácido ascórbico AAE/g, foi relatado anteriormente por Cruz et al. (2021) e os dados obtidos neste estudo indicam que esse potencial é ainda mais aprimorado pela inoculação com *A. brasilense* Avb-5, *B. subtilis* e *R. tropici* CIAT 899. Além dos estudos *in vitro*, a atividade antioxidante de *P. aculeata* também foi comprovada *in vivo*, Santos et al. (2024) observaram que a suplementação da dieta de moscas (*Drosophila melanogaster*) com farinha de *P. aculeata* aumentou a longevidade dos indivíduos, reforçando seu potencial biológico.

A atividade antioxidante está diretamente relacionada à proteção contra espécies reativas de oxigênio, desempenhando um papel crucial na prevenção de diversas doenças (Halliwell, 2024). Esse efeito pode explicar o crescente interesse no consumo de *P. aculeata* no mercado global de produtos naturais. Além disso, esta propriedade tem potencial para aplicação desses extratos em novos produtos, Oliveira et al. (2022) demonstraram que a incorporação de extrato de *P. aculeata* em biofilmes de amido aumentou sua atividade antioxidante, sugerindo seu uso em embalagens biodegradáveis ativas para alimentos.

Tanto para extração de compostos fenólicos como para obtenção de um extrato com alto poder antioxidante é importante ressaltar a questão da escolha do solvente adequado. Neste estudo, o solvente utilizado foi uma solução hidroetanólica a 40%, Cruz et al. (2021) em um estudo de otimização das condições de extração de bioativos em *P. aculeata* verificaram que o sistema solvente, mistura de 60% água e 40% etanol apresentou a melhor condição de extração de compostos fenólicos totais nesta espécie. Uma mistura de água-etanol também é muito eficiente na extração de substâncias antioxidantes em folhas secas de *P. aculeata*, Jacobsen et al. (2024) observaram maior atividade antioxidante (239 μmol de equivalente a Trolox TEAC/g) para o extrato hidroalcoólico quando comparados aos extratos obtidos com outros solventes como hexano e acetona nesta espécie.

Com relação à composição mineral, a concentração de ferro respondeu de forma positiva à inoculação de rizobactérias. Diferença significativa foi observada no teor de ferro nas plantas inoculadas com *A. brasilense* e *B. subtilis*. O teor de ferro em folhas desta espécie foi destacado anteriormente na literatura, sendo esta planta uma potencial fonte de suplementação deste nutriente (Maciel et al., 2021), e neste trabalho demonstramos que o teor de ferro nesta espécie pode ser potencializado pela inoculação bacteriana com *A. brasilense* e *B. subtilis*.

A inoculação de bactérias promotoras de crescimento também incrementou a concentração de Nitrogênio nas folhas, sendo os maiores valores encontrados para os tratamentos *A. brasilense* (36.85 g kg⁻¹) e *B. subtilis* (35.88 g kg⁻¹). Este resultado é corroborado por Galindo et al. (2022) que também observaram o aumento da concentração de nitrogênio nas folhas de *P. aculeata* inoculadas com *A. brasilense*.

Souza et al. (2016) em um estudo sobre o efeito da fertilização nitrogenada na composição mineral das folhas de *P. aculeata*, concluíram que a composição mineral das folhas desta espécie permanece estável mesmo quando exposta a diferentes doses de adubação nitrogenada em solos ricos em matéria orgânica. Complementando estes resultados, Vega et al. (2020) conduziram um estudo que avaliou a relação entre os atributos físico-químicos do solo, a presença de microrganismos promotores do crescimento vegetal e os teores de proteínas e minerais das folhas de *P. aculeata* e também não identificaram relação entre o teor de nitrogênio do solo e a quantidade de proteínas e minerais nas folhas da planta, contudo, relataram a presença abundante de bactérias fixadoras de nitrogênio, principalmente *Azospirillum* spp. e fungos micorrízicos arbusculares associadas a raiz da planta.

Dessa forma, é possível afirmar que a associação entre *P. aculeata* com microrganismos promotores de crescimento pode ser um fator chave na sua eficiência em obter nutrientes do solo, contribuindo para sua alta concentração de proteínas foliares.

Com relação ao atendimento a RDA observa-se que as folhas de *P. aculeata* apresentam um percentual importante de cálcio, magnésio e zinco, e proteínas. Sobre as proteínas é importante destacar que estas são ricas em aminoácidos essenciais (Cruz et al., 2024). Além disso, existe uma crescente demanda por proteínas de origem vegetal por causarem menor impacto ambiental.

Contudo, poucos estudos trataram sobre a biodisponibilidade dos compostos de valor nutricional nesta espécie, Cruz et al. (2024) investigaram a bioacessibilidade dos compostos bioativos das folhas e frutos de *P. aculeata* após a digestão *in vitro*, e demonstraram que o percentual de bioacessibilidade dos compostos fenólicos foi de 73% nas folhas e 71% nos frutos, em relação aos aminoácidos, a bioacessibilidade foi significativamente maior nos frutos (72,6%) do que nas folhas (31%). Essa redução pode estar relacionada à degradação ou modificação estrutural dos compostos bioativos durante o processo digestivo, sendo necessários estudos futuros sobre este tema.

A análise dos cromatogramas das plantas inoculadas com *A. brasilense* e *R. tropici* demonstrou maior densidade de bandas quando comparadas às plantas controle. De fato, diversos estudos mostram que bactérias promotoras de crescimento influenciam significativamente a biossíntese de metabólitos especializados em plantas medicinais, aumentando sua produção e qualidade (Wu et al., 2023).

Um outro ponto relevante na comparação dos cromatogramas é que a diferença entre os tratamentos foi mais acentuada entre os tempos de retenção 5 e 15 minutos, onde as plantas inoculadas com *A. brasilense* e *R. tropici* exibiram bandas que estão ausentes nos demais tratamentos, no entanto, essa diferença mais acentuada não foi observada em tempos de retenção maiores, região correspondente a moléculas de menor polaridade. Maior quantidade de bandas em tempos de retenção menores como entre 5 e 15 minutos sugere a presença de maior quantidade de moléculas de alta polaridade, sugerindo que estas bactérias tiveram maior efeito nesse grupo de moléculas.

A análise dos cromatogramas também revelou a presença de dois compostos fenólicos: catequina e ácido ferúlico, ambos relatados anteriormente para esta espécie. Especialmente, o ácido ferúlico foi relatado como um dos principais fenólicos presentes em *P. aculeata* por Jacobsen et al. (2024) e também por Cruz et al. (2024), esse composto também foi relatado anteriormente para *Pereskia grandifolia* (Torres et al., 2022).

5. CONCLUSÕES

A inoculação com as bactérias promotoras de crescimento *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* demonstrou um aumento significativo na concentração de compostos fenólicos totais nas folhas de *Pereskia aculeata* Miller. O potencial antioxidante do extrato etanólico da planta aumentou após a inoculação com *A. brasilense*, *R. tropici* e *Bacillus subtilis*. A inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* incrementou os teores de Nitrogênio e Ferro. As análises por cromatografia líquida de alta eficiência também revelaram perfis cromatográficos mais ricos em metabólitos secundários nas plantas biotizadas com *A. brasilense* e *R. tropici*. Esses resultados indicam que estas bactérias são promissoras como elicitores de compostos bioativos em *P. aculeata* sob condições de casa de vegetação. Entre as bactérias testadas, *R. tropici* apresentou o maior incremento destes compostos, seguido por *A. brasilense*. Além disso, os resultados obtidos reforçam o valor medicinal da *P. aculeata*, devido à sua composição rica em bioativos e alta capacidade antioxidante.

REFERÊNCIAS

- Cruz, T. M., Lima, A. S., Zhou, F., Zhang, L., Azevedo, L., Marques, M. B., & Granato, D. (2024). Bioaccessibility of bioactive compounds from *Pereskia aculeata* and their cellular antioxidant effect. *Food Chemistry*, 140484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140484>
- Cruz, T. M., Santos, J. S., do Carmo, M. A. V., Hellström, J., Pihlava, J.-M., Azevedo, L., Granato, D., & Marques, M. B. (2021). Extraction optimization of bioactive compounds from ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities. *Food Chemistry*, 361, 130078. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130078>
- Cunha, M. A., Pinto, L. C., dos Santos, I. R. P., Neves, B. M., & Cardoso, R. de C. V. (2021). Plantas Alimentícias Não Convencionais na perspectiva da promoção da Segurança Alimentar e Nutricional no Brasil. *Research, Society and Development*, 10(3), e20610313306–e20610313306.
- Dullah, I. C., Sulandjari, S., & Supriyono, S. (2019). Abiotic Stress and Biofertilizer on The *Pereskia bleo* (Kunth) DC. Against Growth, Proline, and Antioxidants. *SAINS TANAH- Journal of Soil Science and Agroclimatology*, 16(1), 36–45.
- Fahde, S., Boughribil, S., Sijilmassi, B., & Amri, A. (2023). Rhizobia: A Promising Source of Plant Growth-Promoting Molecules and Their Non-Legume Interactions: Examining Applications and Mechanisms. *Agriculture*, 13(7), Artigo 7. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071279>

Galindo, F. S., Pagliari, P. H., da Silva, E. C., Silva, V. M., Fernandes, G. C., Rodrigues, W. L., Céu, E. G. O., de Lima, B. H., Jalal, A., Muraoka, T., Buzetti, S., Lavres, J., & Teixeira Filho, M. C. M. (2022). Co-Inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* sp. Enhances Nitrogen Uptake and Yield in Field-Grown Cowpea and Did Not Change N-Fertilizer Recovery. *Plants*, *11*(14), 1847. <https://doi.org/10.3390/plants11141847>

Halliwell, B. (2024). Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *25*(1), 13–33. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00645-4>

Hasan, A., Tabassum, B., Hashim, M., & Khan, N. (2024). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as a Plant Growth Enhancer for Sustainable Agriculture: A Review. *Bacteria*, *3*(2), Artigo 2. <https://doi.org/10.3390/bacteria3020005>

Institute of Medicine. (1997). *Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/5776>

Institute of Medicine. (2001). *Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/10026>

Institute of Medicine. (2005a). *Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/10925>

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. (2005b). *Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/10490>

Institute of Medicine. (2011). *Dietary reference intakes for calcium and vitamin D*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/13050>

Jacobsen, S. S., Knob, F. C., Simon, A. P., & Oldoni, T. L. C. (2024). Selective Extraction Process and Characterization of Antioxidant Phenolic Compounds from *Pereskia aculeata* Leaves Using UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS. *ACS Omega*. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c05652>

Liu, T., & Chen, X. (2024). Bioactive Compounds from Natural Sources: Discovery, Evaluation, and Applications. *Molecules*, *29*(13), 3209. <https://doi.org/10.3390/molecules29133209>

Macedo, M. C. C., Silva, V. D. M., Serafim, M. S. M., da Veiga Correia, V. T., Pereira, D. T. V., Amante, P. R., da Silva, A. S. J., de Oliveira Prata Mendonça, H., Augusti, R., de Paula, A. C. C. F. F., Melo, J. O. F., Pires, C. V., & Fante, C. A. (2023). Elaboration and Characterization of *Pereskia aculeata* Miller Extracts Obtained from Multiple Ultrasound-Assisted Extraction Conditions. *Metabolites*, *13*(6). Scopus. <https://doi.org/10.3390/metabo13060691>

Maciel, V. B. V., Bezerra, R. Q., Chagas, E. G. L. das, Yoshida, C. M. P., & Carvalho, R. A. de. (2021). Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller): A potential alternative for iron

supplementation and phytochemical compounds. *Brazilian Journal of Food Technology*, 24. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.18020>

Malavolta, E., Vitti, G. C., & Oliveira, S. A. (1997). *Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações* (2^o ed). Potafos.

Margraf, T., Karnopp, A. R., Rosso, N. D., & Granato, D. (2015). Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates. *Journal of Food Science*, 80(11), C2397-2403. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13077>

Mendes, J. F., de Lima Fontes, M., Barbosa, T. V., Paschoalin, R. T., & Mattoso, L. H. C. (2024). Membranes composed of poly(lactic acid)/poly(ethylene glycol) and Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) extract for dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 268, 131365. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131365>

Oliveira, N. L., de Oliveira, A. C. S., Silva, S. H., Rodrigues, A. A., Borges, S. V., de Oliveira, J. E., & de Resende, J. V. (2022). Development and characterization of starch-based films added ora-pro-nobis mucilage and study of biodegradation and photodegradation. *Journal of Applied Polymer Science*, 139(19), 52108. <https://doi.org/10.1002/app.52108>

Pereira, R. V., Filgueiras, C. C., Dória, J., Peñafior, M. F. G. V., & Willett, D. S. (2021). The Effects of Biostimulants on Induced Plant Defense. *Frontiers in Agronomy*, 3. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fagro.2021.630596>

Pinto, N. D. C. C., Cassini-Vieira, P., Souza-Fagundes, E. M. D., Barcelos, L. S., Castañon, M. C. M. N., & Scio, E. (2016). *Pereskia aculeata* Miller leaves accelerate excisional wound healing in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 131–136. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.005>

Pinto, N. de C. C., Machado, D. C., da Silva, J. M., Conegundes, J. L. M., Gualberto, A. C. M., Gameiro, J., Moreira Chedier, L., Castañon, M. C. M. N., & Scio, E. (2015a). *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 173, 330–337. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.07.032>

Pinto, N. de C. C., Duque, A. P. do N., Pacheco, N. R., Mendes, R. de F., Motta, E. V. da S., Bellozi, P. M. Q., Ribeiro, A., Salvador, M. J., & Scio, E. (2015b). *Pereskia aculeata*: A plant food with antinociceptive activity. *Pharmaceutical Biology*, 53(12), 1780–1785. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1008144>

Pinto, N. de C. C., Maciel, M. de S. F., Rezende, N. dos S., Duque, A. P. do N., Mendes, R. de F., da Silva, J. B., Evangelista, M. de R., Monteiro, L. C., da Silva, J. M., da Costa, J. de C., & Scio, E. (2020). Preclinical studies indicate that INFLATIV, an herbal medicine cream containing *Pereskia aculeata*, presents potential to be marketed as a topical anti-inflammatory agent and as adjuvant in psoriasis therapy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72(12), 1933–1945. <https://doi.org/10.1111/jphp.13357>

Platamone, G., Procacci, S., Maccioni, O., Borromeo, I., Rossi, M., Bacchetta, L., & Forni, C. (2023). *Arthrobacter* sp. Inoculation Improves Cactus Pear Growth, Quality of Fruits, and

Nutraceutical Properties of Cladodes. *Current Microbiology*, 80(8), 266.
<https://doi.org/10.1007/s00284-023-03368-z>

Prisa, D. (2024). Inoculation of *Arthrobacter* sp. Improves the growth of *Acanthocalycium* sp. And the fruits nutraceutical quality and the flowers longevity. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 29(1), Artigo 1. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2024.29.1.0370>

Rostaiei, M., Fallah, S., Carrubba, A., & Lorigooini, Z. (2024). Organic manures enhance biomass and improve content, chemical compounds of essential oil and antioxidant capacity of medicinal plants: A review. *Heliyon*, 10(17). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36693>

Santos, A. M. D., Musachio, E., Andrade, S. S., Janner, D. E., Meichtry, L. B., Lima, K. F., Fernandes, E. J., Prigol, M., & Kaminski, T. A. (2024). Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) supplementation promotes increased longevity associated with improved antioxidant status in *Drosophila melanogaster*. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 96, e20240125.
<https://doi.org/10.1590/0001-3765202420240125>

Souza, M. R. de M., Pereira, P. R. G., Magalhães, I. de P. B., Sedyama, M. A. N., Vidigal, S. M., Milagres, C. S. F., & Baracat-Pereira, M. C. (2016). Mineral, protein and nitrate contents in leaves of *Pereskia aculeata* subjected to nitrogen fertilization. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 46, 43–50. <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4637959>

Sviech, F., Corzo, I. J. M., d'Ávila, M. A., Andreola, K., & Prata, A. S. (2024). Ora-pro-Nobis Mucilage as a Structuring Ingredient in 3D Printing Formulations. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 101068.
<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2024.101068>

Thakur, M., Bhattacharya, S., Khosla, P. K., & Puri, S. (2019). Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 12, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.11.004>

Torres, T. M. S., Mazzutti, S., Castiani, M. A., Siddique, I., Vitali, L., & Ferreira, S. R. S. (2022). Phenolic compounds recovered from ora-pro-nobis leaves by microwave assisted extraction. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102238.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102238>

Vega, C., Kemmelmeier, K., Rufini, M., de Carvalho, T., & Moreira, F. (2020). Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) Nutrition as Related to Soil Chemical and Physical Attributes and Plant Growth-Promoting Microorganisms (vol 46, pg 813, 2020). *Journal Of Soil Science And Plant Nutrition*, 20(4), 1935–1936. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00264-4>

Wu, X., Yang, Y., & Zhang, H. (2023). Microbial fortification of pharmacological metabolites in medicinal plants. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 21, 5066–5072. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.10.024>

Xu, F., Huang, Y., Qin, Y., Chen, S., Chen, L., Chen, Y., Zhang, K., & Chen, Y. (2023). Ethanolic extract of *Pereskia aculeata* induces Anti-Inflammatory Responses through P38/MK2/TTP-mediated signaling pathway. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36(2), 447–456. Scopus. <https://doi.org/10.36721/PJPS.2023.36.2.REG.447-456.1>

Material suplementar**Tabela 1:** Padrões fenólicos e seus respectivos tempos de retenção

Composto	TR (min)
Ácido gálico	6.82
Catequina	10.80
Ácido Clorogênico	12.56
Ácido Cafeico	15.05
Vanilina	17.65
Ácido p-cumárico	21.81
Ácido ferúlico	24.79
Ácido m-cumárico	27.62
Ácido o-cumárico	34.62
Quercetina	37.59
Ácido Trans-cinâmico	51.66
Rutina	53.49

***Pereskia aculeata* Miller Como Fonte de Betalainas: Otimização das Condições de Extração, Estabilidade da Cor e Potencial Antioxidante**

RESUMO

Betalainas são pigmentos nitrogenados hidrofílicos com propriedades tecnológicas e medicinais. *Pereskia aculeata* Miller é uma planta perene que pertence à família Cactaceae. Calos e suspensões celulares desta espécie produziram betalainas *in vitro*, contudo a presença destas moléculas em folhas apicais de *P. aculeata* ainda não havia sido relatada. Este estudo teve como objetivo identificar a presença de betalainas em folhas apicais de *P. aculeata*, otimizar as condições de extração, avaliar a estabilidade da cor e as características espectrais em diferentes condições de pH, além de determinar o potencial antioxidante do extrato. A extração foi otimizada utilizando o design Box-Behnken, sendo os fatores: a razão massa/solvente, temperatura do solvente e tempo de extração. A comparação do extrato otimizado com o padrão para betalainas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência e espectroscopia de absorvância UV-vis, e a atividade antioxidante avaliada pelo método de eliminação do radical DPPH. As condições ótimas de extração foram: razão massa/solvente de 0.01 g/mL, temperatura do solvente de 45 °C e tempo de extração de 3.42 minutos. As análises de cromatografia e espectrofotometria mostraram equivalência entre o extrato otimizado e o padrão de referência, com tempos de retenção de 7.4 minutos e banda em 536nm. O extrato otimizado apresentou potencial antioxidante e mudança de coloração em condições alcalinas. Estes resultados apresentam as folhas apicais de *P. aculeata* como uma nova fonte de betalainas.

Palavras-chave: Betacianinas; ora-pro-nóbis, planta medicinal.

ABSTRACT

Betalains are hydrophilic nitrogenous pigments with technological and medicinal properties. *Pereskia aculeata* Miller is a perennial plant belonging to the Cactaceae family. Callus and cell suspensions of this species have produced betalains *in vitro*; however, the presence of these molecules in the apical leaves of *P. aculeata* had not yet been reported. This study aimed to identify the presence of betalains in the apical leaves of *P. aculeata*, optimize the extraction conditions, evaluate color stability and spectral characteristics under different pH conditions, and determine the antioxidant potential of the extract. Extraction was optimized using the Box-Behnken design, considering mass/solvent ratio, solvent temperature, and extraction time as factors. The optimized extract was compared with a betalain standard using high-performance liquid chromatography and UV-Vis absorbance spectroscopy, while antioxidant activity was assessed by the DPPH radical scavenging method. The optimal extraction conditions were: mass/solvent ratio of 0.01 g/mL, solvent temperature of 45 °C, and extraction time of 3.42 minutes. Chromatographic and spectrophotometric analyses indicated equivalence between the optimized extract and the reference standard, with retention times of 7.4 minutes and an absorption band at 536 nm. The optimized extract exhibited antioxidant potential and color change under alkaline conditions. These results present the apical leaves of *P. aculeata* as a new source of betalains.

Keywords: Betacyanins, ora-pro-nóbis, medicinal plant.

1. INTRODUÇÃO

As betalaínas são uma classe de pigmentos naturais nitrogenados, hidrofílicos, armazenados nos vacúolos das células. Elas possuem cores vibrantes e são subdivididas em duas categorias: betacianinas (tons de violeta) e betaxantinas (tons de amarelo) (Silva et al., 2023).

Estas substâncias possuem diversas propriedades biológicas de interesse farmacológico: efeito antioxidante, anti-inflamatório, antitumorais, hepatoprotetor, cardioprotetor, neuroprotetor, dentre outros, além de diversas aplicações na indústria, como corantes naturais, na indústria de cosméticos e como pigmentos sensibilizadores em células solares (Carreón-Hidalgo et al., 2022).

Apesar da sua relevância atual, as betalaínas apresentam distribuição limitada na natureza, produzidas apenas por plantas da ordem Caryophyllales, principalmente Cactaceae e Amaranthaceae (Timoneda et al., 2019), onde servem como marcadores quimiossistemáticos.

Dentro da família Cactaceae, *Pereskia aculeata* Miller vem se destacando como uma planta medicinal e alimentícia não convencional devido à sua riqueza de fitoquímicos bioativos e nutrientes (Teixeira et al., 2023). Anteriormente, (Lage et al., 2015) estabeleceram um protocolo para a produção *in vitro* de betalaínas a partir de culturas de calos de *P. aculeata*. Contudo, não existem relatos na literatura da presença desta classe de pigmentos nas folhas apicais desta espécie, bem como suas características e metodologia de extração.

A pesquisa de novas fontes vegetais de betalaínas é importante devido à sua presença em um número restrito de famílias botânicas para atender sua crescente demanda comercial para aplicações tecnológicas e medicinais (Khan & Giridhar, 2015). Além disso, o estudo da estrutura e das propriedades químicas das betalaínas pode ajudar a entender suas vias biossintéticas, melhorar as técnicas de separação e isolamento, viabilizando sua extração e produção em escala comercial.

Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi identificar a presença de betalaínas em folhas apicais de *P. aculeata*, otimizar as condições de extração utilizando metodologia de superfície de resposta, apresentar sua estabilidade de cor e características espectrais em diferentes condições de pH e seu potencial antioxidante.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Químicos e material vegetal

O padrão Betanin (red beet extract diluted with dextrin) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil e acetonitrila foram obtidos da empresa Sigma Aldrich; solução tampão buffer pH 4 e pH 7 foram adquiridas da Biotec; água ultrapura foi purificada utilizando o equipamento Arium® Sartorius; cloreto de potássio e fosfato potássio monobásico foram adquiridos da Synth; acetato de sódio da Dinâmica.

Folhas apicais de *P. aculeata* foram obtidas de plantas cultivadas em casa de vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais/Laboratório de Bioinsumos e Interação Microrganismos-Planta do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras-UFLA, no município de Lavras, Minas Gerais (44°058'18"Oeste e 21°013'30"Sul, 919 metros de altitude). coberta com filme de polietileno transparente (150 microns), 70% de sombreamento. As condições internas da casa de vegetação foram mantidas com umidade relativa do ar de 80%, temperatura de $27 \pm 3^\circ\text{C}$. A espécie foi identificada por meio de uma exsicata depositada no herbário ESAL/UFLA sob nº ESAL 33.319.

As folhas foram secas em estufa com circulação e renovação de ar (TE 394/1 Tecnal ®) a 35°C até peso constante, e depois moídas e peneiradas em moinho tipo willey com rotação fixa de 1730 rpm (TE-650 Tecnal ®).

2.2 Otimização da extração de betalainas em *Pereskia aculeata* utilizando o design Box-Behnken

O modelo estatístico utilizado foi a metodologia de superfície de resposta (RSM), empregando um delineamento Box-Behnken com três pontos centrais e variáveis experimentais. Foram testados três parâmetros (fatores) independentes, com três níveis cada: razão massa/solvente (0.01g/ml, 0.025g/ml e 0.04g/ml); temperatura do solvente (25°C , 35°C e 45°C), o solvente utilizado foi 01 mL de água deionizada; e tempo de extração no vórtex (1 minuto, 3 minutos e 5 minutos), conforme Tabela 1.

A análise de variância (ANOVA) foi empregada para avaliar a significância dos coeficientes de regressão. Os termos do modelo polinomial foram considerados estatisticamente significativos quando o valor de p foi inferior a 0.05 ($p < 0.05$). Foi utilizado o modelo de regressão quadrático completo e a adequação dos modelos foi avaliada com base no coeficiente de determinação múltiplo (R^2) e no coeficiente de determinação ajustado (R^2 ajustado).

A concentração de betacianinas foi utilizada como indicador da concentração de betalainas, conforme metodologia proposta por Permana et al. (2024) Sua concentração foi

obtida por espectrofotometria, utilizando um espectrofotômetro UV/VIS Thermo Scientific GO[®] e software o SkanIt 5.0, e o resultado obtido utilizando a fórmula:

$$\text{Conteúdo em mg/100g de peso seco} = (A_{535} \times MW \times DF \times V \times 100) / (\epsilon \times m \times L)$$

Onde, A_{535} = absorvância a 535 nm, MW = peso molecular 550g/mol DF = fator de diluição, V = volume de extração (ml), ϵ = coeficiente molar 60000 L·mol⁻¹·cm⁻¹, M = massa (g) do material sendo extraído e L = comprimento do caminho (cm) (Howard et al., 2022).

As análises e a plotagem dos gráficos foram feitas utilizando os softwares Minitab[®] versão 21 e R Studio (v. 4.3.1).

Tabela 1: Níveis dos fatores decodificados e resposta de concentração de betacianinas em extrato de folhas apicais de *Pereskia aculeata*.

Corridas	Razão massa/solvente	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Betacianinas mg/100g DW
1	0.01	25	3	40.49
2	0.04	25	3	9.87
3	0.01	45	3	126.59
4	0.04	45	3	29.47
5	0.01	35	1	74.26
6	0.04	35	1	21.35
7	0.01	35	5	71.59
8	0.04	35	5	18.06
9	0.025	25	1	15.95
10	0.025	45	1	43.67
11	0.025	25	5	13.35
12	0.025	45	5	48.95
13	0.025	35	3	34.07
14	0.025	35	3	32.45
15	0.025	35	3	34.43

2.3 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada utilizando um equipamento Shimadzu LC-20, equipado com injetor automático e forno de coluna, acoplado a um detector de arranjos de diodo- DAD.

O padrão comercial de betalainas, Betanin (Sigma-Aldrich), foi utilizado como padrão de referência. Para isso, foi preparada uma solução de Betanin a 5000 ppm.

As fases móveis utilizadas foram: Fase A- água ultrapura acidificada a 0.1% de ácido fórmico e fase B-acetonitrila acidificada a 0.1% de ácido fórmico. As corridas foram realizadas em uma coluna Supelco Ascentis Express C18 (15cm x 2.1mm, 2.7µm) C-18, sendo o gradiente de concentração: 0-2min 5% de B, 2-5min 15% de B, 5% de B, 2-5min, 5-20min 70% de B, 20-23min 100% de B, 23-24min 5% de B.

2.4 Análise por Espectroscopia UV-Vis

A comparação entre o espectro de absorvância do extrato otimizado com o padrão de referência foi realizada utilizando um espectrofotômetro UV/Vis Thermo Scientific Multiskan GO® e o software SkanIt 5.0. Para a análise, 250 µL de extrato otimizado de *P. aculeata* e 250 µL do padrão comercial Betanin com concentração de 5mg/ML foram adicionados em microplacas de 96 poços, a medição foi feita na faixa de comprimento de onda entre 300 nm e 800 nm. As análises foram feitas em triplicata.

2.5 Análise da resposta de cor do extrato otimizado de folhas apicais de *P. aculeata* em diferentes valores de pH

Extratos de folhas apicais de *P. aculeata* obtidos sob condições otimizadas (seção 3.1), foram misturados a soluções tampão aquosas de diferentes pH na proporção de 0.5 mL para cada 1 mL de solução tampão. Após isso, foram realizadas as medidas dos espectros de absorvância conforme seção 2.4. Como branco foram utilizadas as soluções tampão sem o extrato. As análises foram feitas em triplicata.

As seguintes soluções tampão foram utilizadas: pH 1 (cloreto de potássio 0.025 M), pH 4.5 (acetato de sódio 0.4 M), pH 6 (fosfato monobásico de potássio), pH 7 (solução tampão buffer) e pH 12 (hidróxido de sódio 0.001 M), o ajuste do pH das soluções foi realizado com ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH) a 0.5M.

2.6 Análise *in vitro* do potencial antioxidante do extrato otimizado de folhas apicais de *P. aculeata*

A atividade antioxidante foi determinada pelo método de eliminação do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), conforme metodologia proposta por Baliyan et al., (2022). A análise foi feita em microplacas de 96 poços, onde foram adicionados 40 µL da amostra em diferentes concentrações e 260 µL de solução metanólica DPPH 0.1mM agitada e incubada em local escuro à temperatura ambiente por 50 min. A absorvância foi medida no comprimento de onda 517 nm utilizando um espectrofotômetro UV/VIS Thermo Scientific Multiskan GO® e o software SkanIt 5.0. Como controle negativo foram utilizados 40 µL de água ultrapura e 260 µL da solução de DPPH.

A porcentagem de atividade de eliminação do radical DPPH foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ efeito de eliminação} = [(Ac-As)/Ac]*100$$

Onde, Ac é a absorvância do controle negativo, As é a absorvância da amostra testada.

A concentração inibitória IC50 dos extratos foi calculada plotando a concentração do

extrato vegetal versus a porcentagem de atividade eliminadora de radicais (%), ajustando-se uma curva de regressão linear. O valor de IC50% corresponde à concentração na qual a atividade antioxidante atinge 50% da sua capacidade máxima de eliminação do radical livre DPPH.

3. RESULTADOS

3.1 Otimização da extração de betalainas de folhas de *P. aculeata* utilizando o design Box-Behnken

As condições ótimas para extração de betalainas de folhas apicais de *P. aculeata* determinadas por meio da utilização da metodologia de superfície de resposta Box Behnken foram: razão massa/solvente de 0.01 g/mL, temperatura do solvente de extração 45 °C e tempo de extração (agitação no vórtex) de 3.42 minutos, (Material suplementar, Figura 2).

A análise de variância (ANOVA) demonstrou que o modelo é estatisticamente significativo, $F = 24.23$ e valor de $p = 0.001$ com um coeficiente de determinação R^2 de 97.76%, indicando que o modelo explica 97.76% da variabilidade dos dados e R^2 ajustado (93.72%).

A relação massa/solvente apresentou significância na relação linear ($p < 0,001$) e na não linear-quadrática ($p = 0,008$), a temperatura do solvente (°C) também apresentou relação linear significativa ($p = 0.001$) enquanto a relação não linear quadrática não foi significativa. O tempo de extração não apresentou efeitos significativos seja na relação linear ou quadrática. O aumento da temperatura e uma menor razão massa/solvente resultaram em maior concentração de betacianinas, (Figura 2). A razão massa/ solvente foi o fator de maior influência no rendimento de extração de betalainas, seguido da temperatura do solvente, (Figura 1).

Sobre a interação entre os fatores, a interação entre a relação massa/solvente e a temperatura do solvente foi significativa ($p = 0.007$), evidenciando que o efeito de uma variável depende da outra. No entanto, as interações entre a relação massa/solvente e o tempo de extração ($p = 0.969$), e entre a temperatura do solvente e o tempo de extração ($p = 0.628$) não foram significativas, indicando que essas combinações não influenciam substancialmente o rendimento. A relação linear, quadrática e de interação entre os fatores também pode ser observada na Figura 2.

Obtendo-se a seguinte equação de regressão reduzida, termos significativos ($p < 0.05$):

$$\text{Resposta} = - 11.5 - 118.7 \times x_1 + 2.29 \times x_2 + 416.9 \times x_1^2 - 5.76 \times x_1 \times x_2$$

Onde, x_1 representa a razão massa/solvente, x_2 a temperatura do solvente e x_3 o tempo de extração.

As condições otimizadas resultaram em um extrato de coloração vibrante roxo/violeta, (Figura 3C) obtido a partir de folhas apicais de *P. aculeata* (Figuras 3A, 3B), que na análise por espectrofotometria apresentou banda na região de 536 nm, (Figura 4).

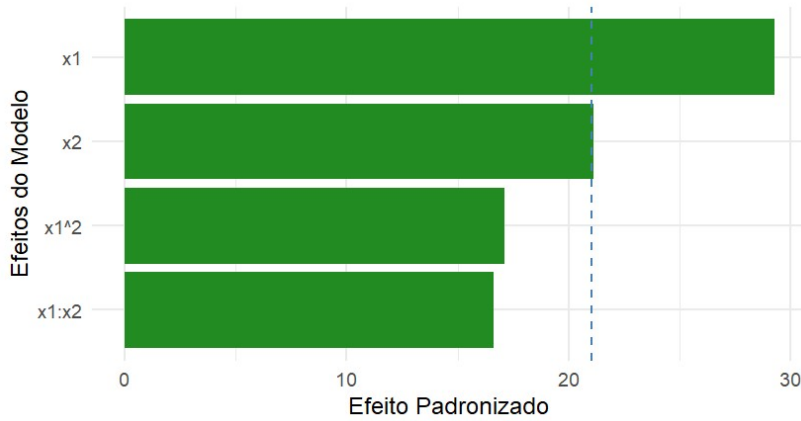


Figura 1: Gráfico de Pareto dos efeitos, onde x_1 razão massa/solvente, x_2 temperatura do solvente e x_3 tempo de extração.

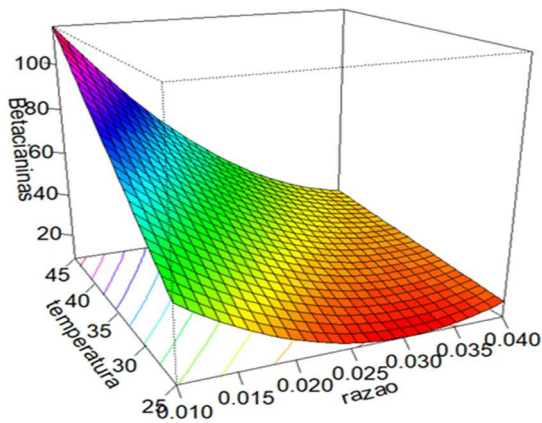


Figura 2: Gráfico de superfície de resposta 3D mostrando os efeitos lineares, quadráticos e de interação entre as variáveis Temperatura do solvente °C (eixo z) e Razão massa/solvente (eixo x) sobre a concentração de Betacianinas mg/100g DW (eixo y) no extrato de folhas apicais de *Pereskia aculeata*.



Figura 3: A-B- Folhas apicais de *Pereskia aculeata*, C- extrato das folhas apicais de *P. aculeata* obtido com condições otimizadas.

3.2 Identificação por HPLC e por espectrofotometria de absorvância

As análises por HPLC-DAD feitas através da sobreposição das bandas cromatográficas demonstraram que os compostos presentes no extrato otimizado e no padrão de referência para betalaínas-Betain (Sigma Alderic) co-eluíram no tempo de retenção de 7.4 minutos, conforme apresentado na Figura 4.

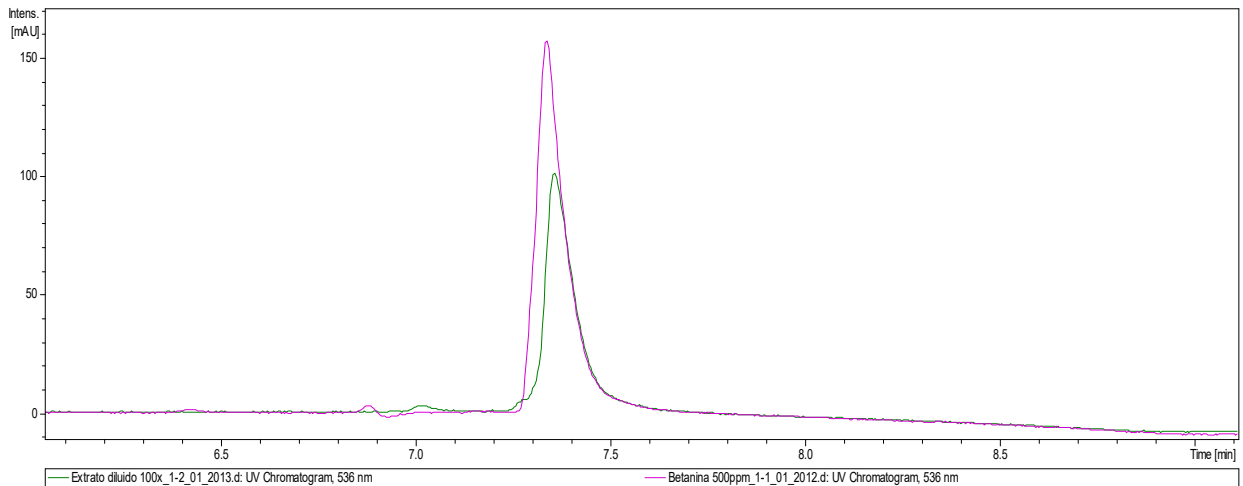


Figura 4: HPLC Chromatogram at 536 nm. **Linha rosa**-cromatograma do padrão betainin. **linha verde**-cromatograma do extrato de folhas apicais de *Pereskia aculeata* Miller.

Com isso, é possível dizer que a substância majoritária presente no extrato otimizado de folhas apicais de *P. aculeata* apresenta grande similaridade com o padrão Betainin, apresentando mesmas características de polaridade e interação com a fase estacionária.

Além disso, o perfil espectrofotométrico por UV-Vis também revelou sobreposição espectral entre o extrato e o padrão, apresentando banda de maior intensidade na região de 536nm, comprimento de onda característico das betalaínas (Xie & Chen, 2021) (Figura 5).

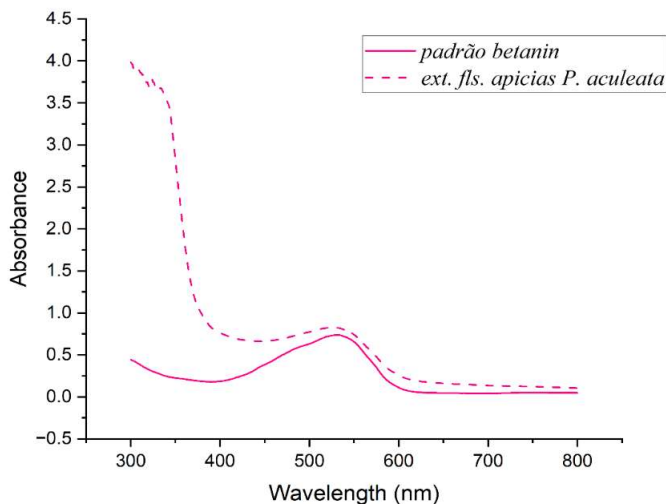


Figura 5: Espectro de absorvância do extrato otimizado das folhas apicais de *Pereskia aculeata* e espectro de absorvância do padrão comercial para Betainin.

3.3 Resposta de cor em diferentes valores de pH

O extrato de *P. aculeata* apresentou alterações de cor quando submetido a soluções com diferentes valores de pH. Para valores de pH entre 1-7, o extrato apresentou variações na tonalidade de rosa. Em soluções com pH 12, houve uma mudança de cor mais acentuada, passando para cor amarelo (Figura 6A).

A banda característica de betalainas ocorre na região de 536 nm (Silva et al., 2023) região onde a cor absorvida é amarelo/verde e a cor visivelmente observada é violeta, porém, em condições alcalinas- pH12, esta banda sofre um deslocamento para a região de 400nm, onde a cor absorvida é violeta/azul e a cor visivelmente observada é amarelo. (Figura 6B), portanto, a mudança de cor observada visualmente foi confirmada por espectroscopia UV-Visível.

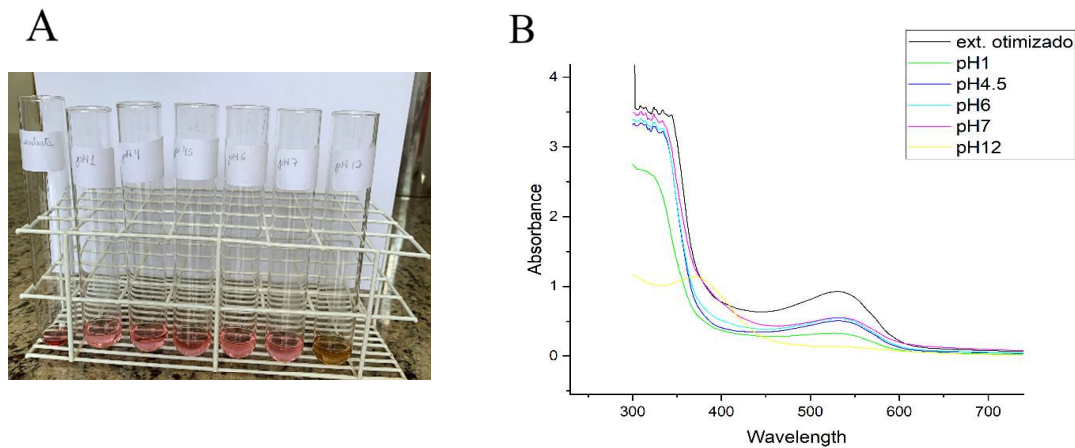


Figura 6: A: Resposta de cor do extrato otimizado de folhas apicais de *Pereskia aculeata* em diferentes valores de pH, B: Espectro de absorvância dos extratos de folhas apicais de *P. aculeata* em diferentes valores de pH.

3.4 Potencial antioxidante do extrato otimizado

O extrato de folhas apicais de *P. aculeata* obtido pelas condições otimizadas de extração apresentou IC₅₀% de 0.89 ± 0.1 mg/mL, concentração na qual a atividade antioxidante atingiu 50% da sua capacidade de eliminação do radical livre DPPH.

4. DISCUSSÃO

As betalainas possuem diversas aplicações tecnológicas/medicinais e a determinação das condições ótimas para sua extração é um fator crítico para a recuperação destas substâncias da complexa matriz vegetal, onde estão associadas a uma gama de fitoquímicos (Carreón-Hidalgo et al., 2022).

Neste experimento, o aumento da temperatura e uma menor razão massa/solvente foram

fatores significativos que resultaram em maior concentração de betacianinas em extrato obtido de folhas apicais de *P. aculeata*. A interação entre a relação massa/solvente e a temperatura do solvente também foi significativa, reforçando a necessidade de considerar suas combinações em processos de extração em maior escala deste composto nesta espécie.

O aumento da temperatura também favoreceu a concentração de betalaínas em outros estudos de otimização da extração desta classe de compostos (Eyshi et al., 2024), isso ocorre devido ao aumento da energia cinética entre as moléculas. No entanto, é importante observar que temperaturas superiores a 70 °C provocam uma degradação significativa dessas substâncias (Carreón-Hidalgo et al., 2022). No que se refere à razão massa/solvente, os resultados obtidos neste estudo são similares àqueles observados para *Hylocereus undatus*, onde uma menor razão sólido-líquido também resultou em maior rendimento de extração de betacianinas no extrato da fruta (Permana et al., 2024).

O design de metodologia de superfície de resposta Box-Behnken mostrou-se eficaz para otimizar as condições de extração de betacianinas em *P. aculeata*. Essa abordagem combina princípios estatísticos e matemáticos para determinar a combinação ideal de variáveis, maximizando a eficiência do processo e permitindo a obtenção de maiores rendimentos do pigmento. Dessa forma, no contexto das plantas medicinais, metodologias de superfície de resposta podem ser utilizadas como estratégia para o uso sustentável e eficiente de recursos vegetais com vistas a aproveitar o máximo potencial da droga vegetal (Weremfo et al., 2023).

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência demonstrou que o extrato otimizado de folhas apicais de *P. aculeata* e o padrão comercial de referência Betanin coeluíram no tempo de retenção de 7.4 min, a comparação entre o espectro de absorvância do extrato otimizado e do padrão comercial também apresentou sobreposição, o que significa que apresentam similaridade espectral, mesmas características de polaridade e interação com a fase estacionária. Portanto, estes resultados indicam que a substância majoritária presente no extrato de *P. aculeata* pertence ao grupo das betalaínas. As bandas cromatográficas e espectral na região típica das betalaínas também servem para demonstrar a integridade destas substâncias no extrato após o procedimento de extração.

Além disso, outros elementos contribuem para a identificação deste pigmento, a saber: a questão quimiosistemática, visto que outras plantas da família Cactaceae dentro da ordem Caryophyllales são produtoras de betalaínas. Outrossim, culturas de calos e suspensão de células de *P. aculeata* produziram betalaínas em condições *in vitro*, sendo que a maior biomassa de calos pigmentados foi obtida utilizando explantes de hipocótilo (Lage et al., 2015).

Com relação às características espectrais do extrato otimizado, quando submetido a

diferentes valores de pH, houve alteração da cor rosa pH neutro e levemente ácido para cor amarelo pH alcalino, isto ocorre porque em condições alcalinas as betalaínas mudam sua coloração de rosa para amarelo devido a mudanças estruturais em sua molécula (Belhadj Slimen et al., 2017). Estes resultados são condizentes com a literatura, outros autores encontraram resultado semelhante de resposta de cor e espectrofotometria para extratos ricos em betacianinas obtidos de beterraba (*Beta vulgaris*) (Chaari et al., 2024; Lukitasari et al., 2024), pitaia (*Hylocereus undatus*) (Permana et al., 2024) e primavera (*Bougainvillea*) (Wu et al., 2022).

A capacidade de mudança de cor em diferentes valores de pH pode ser explorada na formulação de embalagens inteligentes sensíveis ao pH do meio (Abedi-Firoozjah et al., 2023). Extrato rico em betalaínas obtidos de *B. vulgaris* tem sido utilizado como indicador de pH em embalagens (Akter et al., 2024). Especialmente em *P. aculeata* esta propriedade/funcionalidade é bastante promissora, visto que a mucilagem presente em suas folhas apresenta características adequadas para a formulação de filmes biodegradáveis (Oliveira et al., 2022), material para microencapsulação (Masugossa et al., 2024) e biopolímeros (Silva et al. 2021).

O extrato otimizado apresentou atividade antioxidante, com o IC 50% de 0.89 mg/mL. Esta atividade antioxidante pode ser atribuída à presença majoritária de betalaínas em sua composição. As betalaínas possuem propriedades antioxidantes principalmente devido à sua estrutura eletrônica que facilita a doação de elétrons, reduzindo a formação de espécies reativas de oxigênio (Ramirez-Velasquez et al., 2022). Atividade antioxidante é importante para combater o estresse oxidativo nos órgãos do corpo humano (Nirmal et al., 2024), agregando um valor farmacológico às folhas jovens de *P. aculeata*.

Quando comparados esses resultados com os do estudo realizado por Torres et al. (2022) com folhas de *P. aculeata*, observamos que o IC50% obtido neste estudo é maior do que o alcançado pela extração pressurizada com água (0.30 mg/mL), porém menor do que o obtido pela extração pressurizada com etanol (1.64 mg/mL). Por outro lado, o extrato metanólico de *P. aculeata* apresentou IC 50% de 7.09 mg/mL (Souza et al., 2016).

Neste estudo, o extrato rico em betalaínas foi obtido de folhas jovens de *P. aculeata*, diferente de outras Cactaceas onde este pigmento é predominantemente encontrado nos frutos (Barkociová et al., 2021), é importante notar que *P. aculeata* se diferencia da maioria das outras Cactaceas por apresentar folhas desenvolvidas (Mauseth, 2007).

É importante destacar que a identidade do pigmento de cor violeta presente em folhas apicais de *P. aculeata* era até então desconhecida. Este é o primeiro estudo que relata a presença de betalaínas em folhas apicais de plantas cultivadas em casa de vegetação desta espécie.

Desta forma, este estudo traz um avanço científico importante ao relatar a presença de

betalaínas em folhas apicais de *P. aculeata* o que abre novas perspectivas para aplicações tecnológicas e terapêuticas, amplia o potencial econômico e contribui para elucidar os efeitos já conhecidos desta espécie. Além disso, a exploração da biodiversidade para identificar novas fontes deste pigmento é relevante devido a suas muitas suas propriedades tecnológicas e medicinais.

5. CONCLUSÕES

A otimização das condições de extração demonstrou valores ótimos da razão massa/solvente de 0.01g/mL, temperatura do solvente 45 °C, e tempo de extração de 3.42 minutos, sendo a razão massa/solvente e a temperatura do solvente os fatores mais influentes. O extrato otimizado apresentou mesmo tempo de retenção e banda de maior intensidade a 536 nm equivalente ao padrão comercial Betanin. O extrato aquoso das folhas apicais de *Pereskia aculeata* Miller apresentou maior estabilidade de cor em pH neutro e levemente ácido e alteração para cor amarelo em pH alcalino, resultado semelhante a extratos ricos em betalaínas obtido de outras espécies vegetais. O potencial antioxidante do extrato otimizado foi de IC 50% 0.89mg/mL. Estes resultados demonstram que folhas apicais de *P. aculeata* são uma fonte promissora de betalaínas.

REFERÊNCIAS

- Abedi-Firoozjah, R., Parandi, E., Heydari, M., Kolahtouz-Nasiri, A., Bahraminejad, M., Mohammadi, R., Rouhi, M., & Garavand, F. (2023). Betalains as promising natural colorants in smart/active food packaging. *Food Chemistry*, 424, 136408. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136408>
- Akter, M., Islam, Md. N., Yasmin, S., & Mahomud, Md. S. (2024). Development of an intelligent packaging material incorporating betacyanin from red beetroot extract into polyvinyl alcohol films. *Future Foods*, 100497. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100497>
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C.-M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), Artigo 4. <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>
- Barkociová, M., Tóth, J., Sutor, K., Drobnicka, N., Wybraniec, S., Dudík, B., Bilková, A., & Czigle, S. (2021). Betalains in Edible Fruits of Three Cactaceae Taxa—*Epiphyllum*, *Hylocereus*, and *Opuntia*—Their LC-MS/MS and FTIR Identification and Biological Activities Evaluation. *Plants*, 10(12), 2669.
- Belhadj Slimen, I., Najjar, T., & Abderrabba, M. (2017). Chemical and Antioxidant Properties

of Betalains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 675–689.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04208>

Carreón-Hidalgo, J. P., Franco-Vásquez, D. C., Gómez-Linton, D. R., & Pérez-Flores, L. J. (2022). Betalain plant sources, biosynthesis, extraction, stability enhancement methods, bioactivity, and applications. *Food Research International*, 151, 110821.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110821>

Chaari, M., Elhadef, K., Akermi, S., Tounsi, L., Ben Hlima, H., Ennouri, M., Abdelkafi, S., Agriopoulou, S., Ali, D. S., Mellouli, L., & Smaoui, S. (2024). Development of a novel colorimetric pH-indicator film based on CMC/flaxseed gum/betacyanin from beetroot peels: A powerful tool to monitor the beef meat freshness. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 39, 101543. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101543>

Eyshi, S., Ghareaghajlou, N., Afshar Mogaddam, M. R., & Ghasempour, Z. (2024). Red beet betalains extraction process: A comprehensive review of methods, applications, and physicochemical properties. *Food Science & Nutrition*, 12(11), 8540–8558.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.4458>

Howard, J. E., Villamil, M. B., & Riggins, C. W. (2022). Amaranth as a natural food colorant source: Survey of germplasm and optimization of extraction methods for betalain pigments. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.932440>

Khan, M. I., & Giridhar, P. (2015). Plant betalains: Chemistry and biochemistry. *Phytochemistry*, 117, 267–295. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.06.008>

Lage, D., Tirado, M., Vanicore, S., Sabino, K., & Albarello, N. (2015). Production of betalains from callus and cell suspension cultures of *Pereskia aculeata* Miller, an unconventional leafy vegetable. *PLANT CELL TISSUE AND ORGAN CULTURE*, 122(2), 341–350. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0771-x>

Lukitasari, D. M., Indrawati, R., Chandra, R. D., Heriyanto, Shioi, Y., & Botosudarmo, T. H. P. (2024). pH-dependent stability of major betalains in the encapsulated beetroot extracts (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Food Science*, 89(5), 2761–2773. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17046>

Masugossa, M. J., Mendoza, V. da S., Ortega, N. de F., Yahagi, S. S., Souza, C. J. F. de, & Argandoña, E. J. S. (2024). Use of Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) mucilage as a wall material in microencapsulation by complex coacervation. *Acta Scientiarum. Technology*, 46(1), Artigo 1. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v46i1.64375>

Mauseth, J. D. (2007). Tiny but Complex Foliage Leaves Occur in Many “Leafless” Cacti (Cactaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 168(6), 845–853.
<https://doi.org/10.1086/518273>

Nirmal, N. P., Medhe, S., Dahal, M., Koirala, P., Nirmal, S., Al-Asmari, F., & Xu, B. (2024). Betalains protect various body organs through antioxidant and anti-inflammatory pathways. *Food Science and Human Wellness*, 13(3), 1109–1117.
<https://doi.org/10.26599/FSHW.2022.9250093>

- Oliveira, N. L., de Oliveira, A. C. S., Silva, S. H., Rodrigues, A. A., Borges, S. V., de Oliveira, J. E., & de Resende, J. V. (2022). Development and characterization of starch-based films added ora-pro-nobis mucilage and study of biodegradation and photodegradation. *Journal of Applied Polymer Science*, 139(19), 52108. <https://doi.org/10.1002/app.52108>
- Permana, L., Sriptom, P., Manamoongmongkol, K., Phumjan, L., & Assawasaengrat, P. (2024). Optimization of betalain extraction from dragon fruit (*Hylocereus undatus*) peel and effect of pH on its properties. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-05260-z>
- Ramirez-Velasquez, I. M., Velez, E., Bedoya-Calle, A., & Caro-Lopera, F. J. (2022). Mechanism of Antioxidant Activity of Betanin, Betanidin and Respective C15-Epimers via Shape Theory, Molecular Dynamics, Density Functional Theory and Infrared Spectroscopy. *Molecules*, 27(6), 2003. <https://doi.org/10.3390/molecules27062003>
- Silva, D. V. T., Baião, D. dos S., Magalhães, A., Almeida, N. F., Conte, C. A., & Paschoalin, V. M. F. (2023). Combining Conventional Organic Solvent Extraction, Ultrasound-Assisted Extraction, and Chromatographic Techniques to Obtain Pure Betanin from Beetroot for Clinical Purposes. *Antioxidants*, 12(10), Artigo 10. <https://doi.org/10.3390/antiox12101823>
- Teixeira, V. M. C., Oliveira, A. de, Backes, E., Souza, C. G. M. de, Castoldi, R., Sá-Nakanishi, A. B. de, Bracht, L., Comar, J. F., Corrêa, R. C. G., Leimann, F. V., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2023). A Critical Appraisal of the Most Recent Investigations on Ora-Pro-Nobis (*Pereskia* sp.): Economical, Botanical, Phytochemical, Nutritional, and Ethnopharmacological Aspects. *Plants*, 12(22), Artigo 22. <https://doi.org/10.3390/plants12223874>
- Timoneda, A., Feng, T., Sheehan, H., Walker-Hale, N., Pucker, B., Lopez-Nieves, S., Guo, R., & Brockington, S. (2019). The evolution of betalain biosynthesis in Caryophyllales. *New Phytologist*, 224(1), 71–85. <https://doi.org/10.1111/nph.15980>
- Torres, T. M. S., Guedes, J. A. C., de Brito, E. S., Mazzutti, S., & Ferreira, S. R. S. (2022). High-pressure biorefining of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 181, 105514. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105514>
- Weremfo, A., Abassah-Oppong, S., Adulley, F., Dabie, K., & Seidu-Larry, S. (2023). Response surface methodology as a tool to optimize the extraction of bioactive compounds from plant sources. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(1), 26–36. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12121>
- Wu, Q., Fu, X., Chen, Z., Wang, H., Wang, J., Zhu, Z., & Zhu, G. (2022). Composition, Color Stability and Antioxidant Properties of Betalain-Based Extracts from Bracts of *Bougainvillea*. *Molecules*, 27(16), Artigo 16. <https://doi.org/10.3390/molecules27165120>
- Xie, G.-R., & Chen, H.-J. (2021). Comprehensive Betalain Profiling of Djulis (*Chenopodium formosanum*) Cultivars Using HPLC-Q-Orbitrap High-Resolution Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(51), 15699–15715.

Material suplementar



Figura 1: Extrato de folhas apicais de *Pereskia aculeata* após otimização das condições de extração.

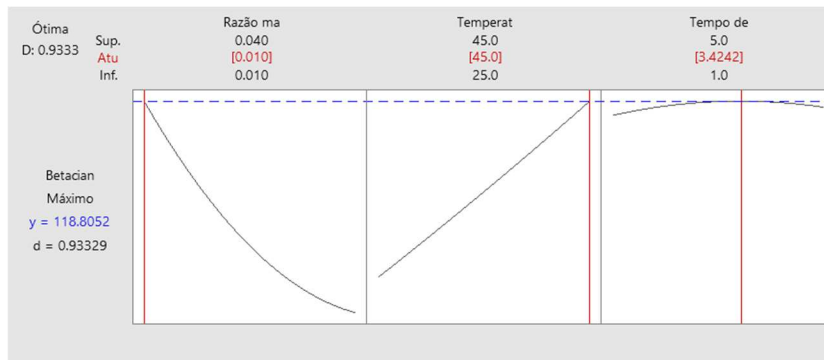


Figura 2: Otimização das condições de extração de betacianinas de *Pereskia aculeata*