

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO

TALITA SILVEIRA QUEIROGA

**APLICAÇÃO DE REVESTIMENTOS FORMULADOS COM ALGINATO DE SÓDIO
E EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS
FERMENTADOS COM BACTÉRIAS LÁTICAS PARA O CONTROLE DE
ANTRACNOSE EM MANGAS E GOIABAS**

João Pessoa

2025

TALITA SILVEIRA QUEIROGA

**APLICAÇÃO DE REVESTIMENTOS FORMULADOS COM ALGINATO DE SÓDIO
E EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS
FERMENTADOS COM BACTÉRIAS LÁTICAS PARA O CONTROLE DE
ANTRACNOSE EM MANGAS E GOIABAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Evandro Leite de Souza

Coorientadora: Profa. Dra. Kataryne Árabe Rimá de Oliveira

João Pessoa

2025

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

Q3a Queiroga, Talita Silveira.

Aplicação de revestimentos formulados com alginato de sódio e extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados com bactérias lácticas para o controle de antracnose em mangas e goiabas / Talita Silveira Queiroga. - João Pessoa, 2025.

99 f. : il.

Orientação: Evandro Leite de Souza.

Coorientação: Kataryne Árabe Rimá de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Extratos de frutas. 2. Bactérias lácticas. 3. Fermentação. 4. Colletotrichum spp. I. Souza, Evandro Leite de. II. Oliveira, Kataryne Árabe Rimá de. III. Título.

UFPB/BC

CDU 613.262(043)

TALITA SILVEIRA QUEIROGA

**APLICAÇÃO DE REVESTIMENTOS FORMULADOS COM ALGINATO DE SÓDIO
E EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS
FERMENTADOS COM BACTÉRIAS LÁTICAS PARA O CONTROLE DE
ANTRACNOSE EM MANGAS E GOIABAS**

Dissertação APROVADA em 24 de fevereiro de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **EVANDRO LEITE DE SOUZA**
Data: 26/02/2025 18:23:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Evandro Leite de Souza
Orientador (DN/CCS/UFPB)
Presidente da Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
 **KATARYNE ARABE RIMA DE OLIVEIRA**
Data: 26/02/2025 20:50:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Kataryne Árabe Rimá de Oliveira
Coorientadora (DN/CCS/UFPB)

Documento assinado digitalmente
 **NOÁDIA PRISCILA ARAÚJO RODRIGUES**
Data: 26/02/2025 19:56:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Noádia Priscila Araújo Rodrigues
Examinadora Interna (DGA/CTDR/UFPB)

Documento assinado digitalmente
 **FRANCISCO HUMBERTO XAVIER JÚNIOR**
Data: 27/02/2025 15:12:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior
Examinador Externo (DCF/CCS/UFPB)

*À minhas queridas vovós Dorinha e Socorro,
exemplos de força e fé.*

Agradecimentos

Gostaria de expressar minha gratidão a todos que ajudaram e contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho e que tornaram de alguma maneira esse período mais leve.

Primeiramente, à Deus pela minha vida, por me guiar, me dado forças e calma durante essa jornada.

Aos meus orientadores, Professor Dr. Evandro Leite de Souza, pelo suporte constante e paciência durante todo o processo de pesquisa e escrita. À Professora Dra. Kataryne Árabe Rimá de Oliveira, pela disponibilidade para me auxiliar, pelo incentivo e todo apoio. A experiência, dedicação e ensinamentos transmitidos por vocês foram fundamentais não apenas para o desenvolvimento desta dissertação, mas para meu crescimento como pesquisadora.

Aos meus familiares, sobretudo aos meus pais, Joana Darc Queiroga da Silveira e Joaquim Honório de Queiroga, minhas irmãs, Cinthia Silveira Queiroga e Mariana Silveira Queiroga e minhas sobrinhas, Beatriz Queiroga e Laura Queiroga Leal, sem o incentivo, amor e carinho incondicionais de vocês, nada disso seria possível.

Aos professores integrantes da banca examinadora, Professor Dr. Fillipe de Oliveira Pereira (UFMG) e Professor Francisco Humberto Xavier Júnior (UEPB), pela disponibilidade e valiosas contribuições a este trabalho.

A todos os membros do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos (LMBA), com quem tive o privilégio de compartilhar momentos de aprendizado. Em especial à Professora Maria Lúcia, às técnicas Heloísa Almeida e Sônia, pela ajuda sempre necessária. Aos doutorandos Jaelison Yandro e Karina Fernandes, obrigada por toda ajuda desde meu primeiro dia no laboratório, pelas palavras de apoio e conselhos nos momentos em que precisei.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição (PPGCN), a Universidade Federal da Paraíba (UEPB) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela oportunidade e por garantirem toda estrutura e suporte de ensino e pesquisa para a execução e cumprimento das atividades propostas no mestrado.

A todos os colegas pós-graduandos do PPGCN, especialmente àqueles que integraram a linha de Segurança, Qualidade e Funcionalidade de Alimentos, Andressa Cavalcante, Kamylla Barbosa, Renally Lima e Tatiana Zanella, pela amizade e risadas.

Muito obrigada a todos!

“É justo que muito custe o que muito vale”

Santa Teresa D’Ávila

RESUMO

A antracnose é uma doença fúngica que afeta a qualidade de frutas como manga e goiaba. O uso de fungicidas, principal método aplicado para controle da antracnose, apresenta riscos à saúde e ao meio ambiente, o que destaca a necessidade de pesquisas sobre estratégias sustentáveis e seguras para manejo de fitopatógenos. A elaboração de extratos vegetais a partir dos subprodutos de frutas surge como uma alternativa viável para a formulação de antifúngicos naturais. Ademais, a fermentação desses subprodutos com bactérias láticas (BAL) pode potencializar a produção de compostos bioativos. Revestimentos com produtos naturais também vêm sendo usados como estratégias inovadoras para controle de doenças pós-colheita, podendo ser utilizados como carreadores de substâncias ativas para aplicação em frutas. Esse estudo objetivou avaliar o potencial de aplicação de revestimento formulado com alginato de sódio e extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados por BAL para controle de antracnose em manga cv. Palmer e goiaba cv. Paluma. Para isso, subprodutos de acerola, caju, manga e uva foram coletados em indústrias de processamento de polpas de frutas, esterilizados, liofilizados e armazenados ($-18 \pm 0,5$ °C). Para o processo de fermentação, os subprodutos foram diluídos na proporção de 1:5 em água destilada esterilizada, autoclavados e posteriormente inoculados com a cultura mista de BAL (*Levilactobacillus brevis* 59, *Lactiplantibacillus pentosus* 129 e *Limosilactobacillus fermentum* 263) na concentração de aproximadamente 9 log UFC/mL. O processo de fermentação ocorreu à temperatura de 37 °C por 24 horas em agitador orbital (200 rpm) sob condições aeróbicas. Os subprodutos de frutas fermentados foram misturados com etanol (70% ou 80%; 1:10 v/v) e homogeneizados a 37 °C, 200 rpm por 2h. Essas soluções foram centrifugadas, a parte líquida foi recuperada e o solvente foi removido com um evaporador rotativo. Foram realizadas contagens de células viáveis de BAL no fermentado e análises físico-químicas dos extratos obtidos. Esses extratos foram utilizados para avaliar a atividade antifúngica contra diferentes espécies de *Colletotrichum* pelo método de difusão em poços de ágar e concentração inibitória mínima, com resultados expressos em % de inibição do crescimento micelial (%ICM). Os extratos com os melhores resultados *in vitro* foram incorporados a um revestimento formulado com alginato de sódio (1,5%) e aplicados em mangas e goiabas para avaliar o potencial de reduzir o diâmetro da lesão da antracnose (%RDLA). Os extratos hidroalcoólicos de subprodutos de acerola (75 e 100 mg/mL) e manga (75 e 100 mg/mL) fermentados apresentaram as maiores taxas de inibição do crescimento micelial (%ICM: 35,00 - 82,75%) frente a todos os isolados de *Colletotrichum* testados *in vitro*. Em relação às características físico-químicas, os extratos apresentaram variações em acidez, pH, sólidos solúveis totais e ácido ascórbico com uma acidificação mais acentuada nos extratos hidroalcoólicos fermentados (pH 3,28 - 3,47). A análise de cor indicou diferenças associadas com a pigmentação das frutas. Variações no conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonoides e atividades antioxidantes também foram observadas. As aplicações de revestimentos de alginato de sódio adicionados dos extratos hidroalcoólicos de acerola e manga (100 mg/mL) fermentados retardaram o desenvolvimento da antracnose em mangas e goiabas durante o armazenamento (%RDLA 3.93-87.01). Estes resultados indicam que revestimentos formulados com extratos de subprodutos de frutas fermentadas por BAL podem ser estratégias inovadoras e sustentáveis para controlar a antracnose pós-colheita induzida por *Colletotrichum* spp. em frutas.

Palavras-chave: Extratos de frutas. Bactérias láticas. Fermentação. *Colletotrichum* spp.

ABSTRACT

Anthrachnose is a fungal disease that affects the quality of fruits such as mangoes and guavas. The use of fungicides, the main strategy applied to control anthracnose, presents health and environmental risks, which requests for studies into sustainable and safe strategies applied to the management of phytopathogens. Preparing plant extracts from fruit by-products is a viable alternative for formulating natural antifungals. In addition, the fermentation of these by-products with lactic acid bacteria (LAB) can enhance the production of bioactive compounds. Coatings with natural products have also been used as innovative strategies to control post-harvest diseases, and can be used as carriers of active substances for application to fruit. The aim of this study was to evaluate the potential of a coating formulated with sodium alginate and extracts of fruit by-products fermented by LAB to control anthracnose on Palmer mango and Paluma guava. For this purpose, by-products of acerola, cashew, mango and grape were collected from fruit pulp processing industries, sterilized (121 °C, 1 atm, 15 minutes), freeze-dried and stored (-18 ± 0.5 °C). To the fermentation process, the by-products were diluted 1:5 in sterilized distilled water, autoclaved and then inoculated with a mixed LAB culture (*Levilactobacillus brevis* 59, *Lactiplantibacillus pentosus* 129 and *Limosilactobacillus fermentum* 263) at a concentration of approximately 9 log CFU/mL. The fermentation process took place at 37°C for 24 hours on an orbital shaker (200 rpm) under aerobic conditions. The fermented fruit by-products were mixed with ethanol (70% or 80%; 1:10 v/v), and homogenized at 37 °C, 200 rpm for 2 hours. These solutions were centrifuged, the liquid part was recovered and the solvent was removed using a rotary evaporator. Viable LAB cell counts on the fermented product and physicochemical analyses of the extracts obtained were performed. The extracts obtained were used to assess antifungal activity using the agar well diffusion method and minimum inhibitory concentration, with results expressed as % mycelial growth inhibition (%MGI). The extracts with the best *in vitro* results were incorporated into a coating formulated with sodium alginate (1.5%) and applied to mangoes and guavas to assess their potential to reduce anthracnose lesion diameter (%ALDR). The fermented hydroalcoholic extracts of acerola (75 and 100 mg/mL) and mango by-products (75 and 100 mg/mL) showed the highest rate of mycelial growth inhibition (%MGI 35.00-82.75) in all the isolates of *Colletotrichum* tested *in vitro*. With regard to the physicochemical characteristics, the extracts showed variations in acidity, pH, total soluble solids and ascorbic acid, with a higher acidification in the fermented hydroalcoholic extracts (pH 3.28-3.47). Color analysis indicated significant differences associated with fruit pigmentation. Variations in the content of total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activities were also observed. The application of sodium alginate coatings added to the fermented hydroalcoholic extracts of acerola and mango (100 mg/mL) delayed the development of anthracnose in mangoes and guavas during storage (%ALDR xx-75.80). These results indicate that coatings formulated with fermented fruit by-products extracts could be innovative and sustainable strategies for managing post-harvest anthracnose caused by *Colletotrichum* in fruits.

Keywords: Fruit extracts. Lactic bacteria. Fermentation. *Colletotrichum* spp.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABD	Ágar Batata Dextrose
AT	Acidez titulável
BAL	Bactéria ácido láctica
CIM	Concentração inibitória mínima
cv.	Cultivar
EMPASA	Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços Agrícolas
EUA	Estados Unidos da América
GRAS	Substância geralmente considerada segura
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
%ICM	Percentual de inibição de crescimento micelial
IpeFarM	Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos
LBMA	Laboratório de Bioquímica e Microbiologia dos Alimentos
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
pH	Potencial hidrogeniônico
%RDLA	Percentual de redução do diâmetro da lesão de antracnose
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

Figura 1 -	Manga (<i>Mangifera indica</i> L.) cv. Palmer.	16
Figura 2 -	Goiaba (<i>Psidium guajava</i> L.) cv. Paluma.	17
Figura 3 -	Sintomas de antracnose causada por <i>Colletotrichum</i> sp. em manga cv. Palmer.	20
Figura 4 -	Etapas do desenho experimental.	28
Figura 5 -	Subprodutos do processamento de acerola (A), caju (B), manga (C) e uva (D).	29
Figura 6 -	Processo de extração de compostos fitoquímicos dos subprodutos de frutas fermentados.	32
Figura 7 -	Avaliação da atividade antifúngica de extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados frente <i>Colletotrichum</i> spp. pelo método de difusão em poço de ágar.	36
Figura 8 -	Avaliação da atividade antifúngica de extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados frente <i>Colletotrichum</i> spp. para determinação da concentração inibitória mínima.	37
Figura 9 -	Esquema da preparação dos revestimentos com extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados.	38
Figura 10 -	Esquema da aplicação dos revestimentos com extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados em mangas e goiabas.	40

FIGURAS DO ARTIGO

Fig 1 -	Viable cell count of lactic acid bacteria (LAB) (CFU/mL mean $\pm$ standard deviation, n: 3) in mixed culture (MIX) and acerola (ACE), cashew (CSW), mango (MG) and grape (GRP) fermented by-products during 48 h of fermentation.	82
S1 -	<i>In vitro</i> antifungal activity of against different <i>Colletotrichum</i> species after a 5-day incubation (25 ± 0.5 °C). Evaluation was done with different methods: (A) negative control - agar well diffusion method without adding fermented by-products extracts; (B) negative control - Minimal Inhibitory Concentration without adding fermented by-products extracts; (C) agar	

	well-diffusion method (fermented acerola by-product extract); (D) agar well-diffusion method + fermented mango by-product extract; (E) Minimal Inhibitory Concentration +; 100 mg/mL fermented acerola by-product extract; (F) Minimal Inhibitory Concentration + 100 mg/mL fermented mango by-product extract.	83
S2 -	Anthraxnose lesion inhibition in mango cv. Palmer and guava cv. Paluma coated with sodium alginate (SA) alone or with ethanolic extracts of acerola and mango fermented by-products and inoculated with different <i>Colletotrichum</i> species after 15 days of room temperature storage (25 ± 0.5 °C). (A) negative control - lesion severity (uncoated fruit) in mango cv. Palmer; (AA) mango cv. Palmer coated with SA + Acerola; (AAA) mango cv. Palmer coated with SA + Acerola; (AAAA) mango cv. Palmer coated with SA + Mango. (B) negative control - lesion severity (uncoated fruit) in guava cv. Paluma; (BB) guava cv. Paluma coated with SA; (BBB) guava cv. Paluma coated with SA + Acerola; (BBBB) guava cv. Paluma coated with SA + Mango during 15 days of room temperature storage (25 ± 0.5 °C).	84

LISTA DE TABELAS

TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1 -	Composição nutricional de manga cv. Palmer e goiaba por 100 gramas. ..	15
Tabela 2 -	Principais efeitos da aplicação de revestimentos em frutas.....	24

TABELAS DO ARTIGO

Table 1	Physicochemical parameters (average $\pm$ standard deviation, n: 3) in hydroalcoholic extracts of acerola, cashew, mango and grape by-products of fermented and non-fermented.	85
Table 2	Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant activity (average $\pm$ standard deviation, n: 3) in hydroalcoholic extracts of acerola, cashew, mango and grape by-products of fermented and non-fermented.	87
Table 3	Percent of mycelial growth inhibition (%MGI, average $\pm$ standard deviation, n:3) of different <i>Colletotrichum</i> isolates exposed to different hydroalcoholic extracts of fruit by-products (acerola, cashew, mango and grape), fermented with lactic acid bacteria after 5 days incubation (25 ± 0.5 °C).	88
Table 4	Percent of mycelial growth inhibition (%MGI, average $\pm$ standard deviation, n: 3) of different <i>Colletotrichum</i> isolates after a five-day exposure to different concentrations of hydroalcoholic extracts of fruit by-products (acerola, cashew, mango and grape) fermented.	90
Table 5	Percentage (average $\pm$ standard deviation, n: 3) of anthracnose lesion diameter reduction in mango cv. Palmer coated with hydroalcoholic extracts of acerola and mango fermented by-products and sodium alginate (SA) and inoculated with distinct pathogenic <i>Colletotrichum</i> species during 15 days of room temperature storage (25 ± 0.5 °C).	91
Table 6	Percentage (average $\pm$ standard deviation, n: 3) of anthracnose lesion diameter reduction in guava cv. Paluma coated with hydroalcoholic extracts of acerola and mango fermented by-products and sodium alginate	

	(SA) and inoculated with distinct pathogenic <i>Colletotrichum</i> species during 15 days of room temperature storage (25 ± 0.5 °C).	92
Table S1	Values of pH (mean $\pm$ standard deviation) of acerola (ACE), cashew (CSW), mango (MNG) and grape (GRP) fermented by-products, used in extraction with ethanol solvent, at different fermentation times.	93
Table S2	Metabolites identified in hydroalcoholic extracts of acerola (ACE) and mango (MNG) by-products at time zero and 24 h of fermentation analyzed by ¹ H-NMR.	98

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 PRODUÇÃO, COMERCIALIZAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE MANGA E GOIABA.....	15
2.2 PERDAS PÓS-COLHEITA EM FRUTAS.....	17
2.2.1 <i>Antracnose</i>	18
2.3 PROCESSO DE FERMENTAÇÃO POR BAL	20
2.4 POTENCIAL BIOATIVO DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS	22
2.5 REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS COMO TECNOLOGIAS PÓS-COLHEITA EM FRUTAS.....	23
3 METODOLOGIA.....	28
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	28
4.2 OBTENÇÃO DOS MATERIAIS	30
4.3 MICRORGANISMOS TESTES.....	31
4.4 PROCESSO DE FERMENTAÇÃO E PREPARO DOS EXTRATOS HIDROALCÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS FERMENTADOS.....	32
4.4.1 <i>Processo de fermentação de subprodutos de fruta fermentados</i>	32
4.4.2 <i>Contagem de células viáveis de BAL durante a fermentação</i>	32
4.4.3 <i>Elaboração de extratos hidroalcoólicos de subprodutos de fruta fermentados com BAL</i>	32
4.5. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS ANTES E APÓS A FERMENTAÇÃO COM BAL.....	33
4.5.1 <i>Determinação das características físico-químicas</i>	34
4.5.2 <i>Determinação do conteúdo total de fenólicos e flavonoides</i>	34
4.5.3 <i>Determinação da capacidade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas não fermentados e fermentados</i>	35
4.5.4 <i>Identificação do perfil metabólico global dos extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados</i>	36

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS FERMENTADOS FRENTE À <i>COLLETOTRICHUM SPP. IN VITRO</i>	36
4.6.1 Método de difusão em poços de ágar	36
4.6.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	37
4.7 ELABORAÇÃO DOS REVESTIMENTOS DE ALGINATO DE SÓDIO ADICIONADOS DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS FERMENTADOS.....	38
4.8 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS REVESTIMENTOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO E SEVERIDADE DE ANTRACNOSE.....	39
4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	41
5 RESULTADOS	42
REFERÊNCIAS	43
APÊNDICES	54
APÊNDICE A – ARTIGO	55

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com larga escala em produção de frutas, especialmente a região Nordeste, das quais algumas têm se destacado, a exemplo da manga (*Mangifera indica* L.) e goiaba (*Psidium guajava* L.) (Kist; Carvalho; Beling., 2023). Entretanto, barreiras na comercialização desses produtos são encontradas na fase da pós-colheita, devido à alta susceptibilidade a alterações metabólicas que contribuem para a deterioração fisiológica e desenvolvimento de patógenos (Chavan *et al.*, 2023).

Mais de 50% das doenças que acometem frutas com valor comercial são causadas por uma diversidade de fungos fitopatogênicos, que dificultam a sua preservação e manutenção de qualidade desejável aos consumidores (Bordoh *et al.*, 2020; Gomes *et al.*, 2020; Lundgren *et al.*, 2021). A antracnose causada por fungos do gênero *Colletotrichum* spp. destaca-se em decorrência da gravidade dos sintomas, que comprometem seriamente o valor nutricional, a aceitação pelo consumidor e o valor de mercado (Ciofini *et al.*, 2022; Neto *et al.*, 2022). Diferentes espécies de *Colletotrichum*, como *C. gloesporioides*, *C. asianum*, *C. fruticola*, *C. tropicale*, *C. siamense*, *C. karstii* e *C. chrysophilum*, foram associadas com o desenvolvimento de lesões em mangas e goiabas (Cheng *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2021; Soares *et al.*, 2024).

As principais medidas adotadas para o controle de doenças pós-colheita em frutas são a atmosfera modificada, os tratamentos térmicos e os fungicidas (Deresá; Diriba, 2023; Oliveira *et al.*, 2018). No entanto, esses métodos apresentam efeitos deletérios na qualidade final da fruta e ao meio ambiente. Esses aspectos somados a crescente preocupação entre os consumidores pelo uso abusivo de fungicidas, motiva a busca por estratégias alternativas que visem auxiliar no manejo do desenvolvimento da antracnose em frutas (Wu *et al.*, 2021). Nesse sentido, a aplicação de extratos vegetais com potencial fungitóxico pode apresentar-se como estratégia promissora, podendo ser aplicados de forma isolada ou combinada com outros métodos de proteção (Matrose *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2023; Reguengo *et al.*, 2022).

A necessidade de reduzir perdas econômicas e, conseqüentemente, a poluição ambiental causadas pelo descarte inadequado de subprodutos de frutas tem ganhado popularidade. Os subprodutos gerados durante o processamento industrial de frutas consistem principalmente em restos de cascas, sementes, talos e fibras e possuem altos teores de compostos bioativos, com destaque para os compostos fenólicos que podem apresentar atividade antimicrobiana (Ding *et al.*, 2023; Lima *et al.*, 2022; Tlais *et al.*, 2020). Ademais, mecanismos como a fermentação, podem aumentar ainda mais a produção de compostos bioativos interferentes no crescimento de microrganismos nocivos (Hurtado-Romero *et al.*, 2024). Em condições controladas, a adição

de microrganismos, como bactérias lácticas (BAL), pode inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (Zhou *et al.*, 2020).

A capacidade antagônica de BAL contra fungos deteriorantes pós-colheita tem sido utilizada como uma técnica de biopreservação promissora para a conservação de frutas (Md Nor; Ding, 2020; Ranjith *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2021). Pesquisas demonstram a capacidade das BAL de produzir compostos antimicrobianos, além de aumentar o conteúdo de ácidos fenólicos dos substratos fermentados, como ácido salicílico e caféico (de Oliveira *et al.*, 2020; Mpeluza *et al.*, 2023), que podem aumentar as propriedades antifúngicas do substrato fermentado (Omedi *et al.*, 2021).

Como alternativa aos fungicidas, os revestimentos comestíveis também vêm sendo usados como estratégias inovadoras para o controle da podridão fúngica, visto que retardam o processo de respiração, amadurecimento e deterioração microbiana destes produtos, repercutindo em melhor estabilidade, qualidade e segurança (Ghosh; Singh, 2022; Iñiguez-Moreno *et al.*, 2021; Iñiguez-Moreno *et al.*, 2020; Kupervaser *et al.*, 2023). A atividade antimicrobiana em revestimentos de frutas confere uma barreira protetora mais durável e capaz de estender a vida útil em comparação ao uso de fungicidas tradicionais (Dofuor *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2023).

Revestimentos são desenvolvidos a partir de polissacarídeos (a exemplo da quitosana, alginato de sódio, celulose, amido e pectina), proteínas e/ou lipídios, como glicerol, ácido esteárico, ácido oleico e óleos essenciais (Iñiguez-Moreno *et al.*, 2021; Md Nor; Ding, 2020). Os revestimentos à base de alginato de sódio têm sido comumente utilizados como carreadores de substâncias ativas para aplicação em frutas, sendo relatados resultados promissores em relação à conservação destes produtos (Yang *et al.*, 2022).

Nesse sentido, tendo em vista o aumento da demanda por frutas tropicais, em contrapartida da porcentagem de desperdício de frutas e subprodutos de frutas pela indústria de processamento, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de aplicação de revestimentos formulados com alginato de sódio e extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados por BAL para o controle de antracnose em manga cv. Palmer e goiaba cv. Paluma, bem como caracterizar os aspectos físicos, químicos e físico-químicos dos diferentes extratos elaborados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PRODUÇÃO, COMERCIALIZAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE MANGA E GOIABA

Manga e goiaba são importantes frutas tropicais de relevância econômica mundial e de ampla escala produtiva no Brasil, com destaque para os estados da Bahia, São Paulo e Pernambuco, como os principais produtores. Conforme o último Censo Agropecuário realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2017, a produção de manga foi superior a 605 mil toneladas, enquanto a de goiaba atingiu mais de 146 mil toneladas. O valor estimado de vendas foi mais de 872 milhões de reais (IBGE, 2017). Em 2023, a manga foi a fruta com maior produção destinada à exportação, atingindo o volume de 267 milhões de quilos, enquanto a goiaba alcançou mais de 470 mil quilos produzidos. O valor obtido com a comercialização dessas frutas somadas foi de aproximadamente 314 milhões de dólares (Kist; Carvalho; Beling, 2023).

A manga é uma fruta com características sensoriais agradáveis (Cheng *et al.*, 2022) e possui valor nutricional significativo, contribuindo para a promoção da saúde (Oliver-Simancas *et al.*, 2021). Em sua composição, destacam-se fibras alimentares, como pectina, e vários compostos fitoquímicos, como carotenoides, polifenóis, óleos, vitaminas, além do alto teor de carboidratos (Tabela 1). No Brasil, há predomínio da comercialização dos cultivares Tommy Atkins, Palmer, Rosa, Espada, Keitt e Haden. Contudo, os cultivares mais exportados, principalmente para a União Europeia e Estados Unidos da América (EUA), são cultivares Tommy Atkins e Palmer, devido às suas características sensoriais (Figura 1) (Sousa *et al.*, 2021).

Porém, por ser uma fruta climatérica, a manga apresenta modificações durante o amadurecimento, sendo relacionadas ao aumento da taxa respiratória, produção de etileno e atividade enzimática (Cheng *et al.*, 2022). Entre as principais alterações, destacam-se a perda de peso, amolecimento dos tecidos, amarelamento da casca pela degradação da clorofila, redução dos ácidos orgânicos e elevação dos teores de açúcares, sólidos solúveis e pigmentos carotenoides e antocianinas (Sousa *et al.*, 2021). Essas rápidas alterações de amadurecimento podem reduzir o tempo de prateleira, diminuir a qualidade visual e prejudicar a conservação da fruta (Gómez-Maldonado *et al.*, 2020; Konsue; Dethoup; Limtong, 2020; Sharma *et al.*, 2021).

Figura 1 - Manga (*Mangifera indica* L.) cv. Palmer.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

A goiaba é uma fruta climatérica de sabor doce e aroma característico, de composição nutricional relevante, com presença de fibras, vitaminas, minerais, além de polifenóis, carotenoides e ácido ascórbico (Tabela 1) (Oliveira *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2024). Está presente em muitos produtos da indústria alimentícia, como suco, néctar, polpa, geleia, em caldas, produtos desidratados e como aditivo em outros sucos de frutas (Vitti; Lima; Martines Filho, 2020).

As variedades de goiaba são classificadas de acordo com a cor da polpa. Exemplos de cultivares com polpa de cor branca são Kumagai e Chinesa, enquanto de polpa vermelha incluem-se as cultivares Paluma, Pedro Sato e Sassaoka, que têm fonte importante de licopeno e tempos de armazenamento comparativamente mais curtos (Martins *et al.*, 2020; Formiga; Pereira; Júnior, 2022). A cultivar Paluma (Figura 2) é a mais cultivada no Brasil devido à sua aptidão para o consumo da fruta fresca e processamento industrial (Oliveira *et al.*, 2020).

Tabela 1 - Composição nutricional de manga cv. Palmer e goiaba por 100 gramas.

Composição	Manga			Goiaba
	<i>In natura</i>	Casca	Semente	<i>In natura</i>
Água (g)	79,70	72,50	9,10	83,40
Energia (kcal)	77,00	-	327	50,00
Proteínas (g)	0,41	3,60	6,61	0,92
Lipídeos (g)	0,17	2,20	9,40	0,54
Carboidratos (g)	19,40	28,20	18,20	14,32
Fibra alimentar total (g)	1,63	40-72,50	2,80	5,59
Açúcares (g)	13,66	25,00	70,00	7,65
Vitamina C (mg)	65,50	18-257,00	17,00	89,10

Fonte: Adaptado de TBCA (Tabela de Composição de Alimentos) (2023); USDA (U.S. Department of Agriculture) (2024); Gupta *et al.* (2022); Lebaka *et al.* (2021).

O seu processo de amadurecimento pós-colheita resulta em alterações químicas e físicas associadas à alta perecibilidade e redução de vida útil (Formiga; Pereira; Júnior, 2022). Usualmente, as goiabas apresentam vida útil de quatro a cinco dias quando armazenadas em temperatura ambiente. No entanto, esse período pode ser estendido em condições de acondicionamento sob refrigeração (Francisco *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2024).

Figura 2 - Goiaba (*Psidium guajava* L.) cv. Paluma.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

2.2 PERDAS PÓS-COLHEITA EM FRUTAS

O relatório do Programa das Nações Unidas para o Ambiente (2021) estimou que o desperdício global alimentar representa mais de 931 milhões de toneladas de alimentos anualmente. Segundo este relatório, o desperdício alimentar é definido como alimentos e partes não comestíveis associadas removidas da cadeia de abastecimento alimentar humana. Desse desperdício, 40% a 50% correspondem a frutas, hortaliças e culturas de raízes (Sirohi *et al.*, 2021). Enquanto a taxa de perdas pós-colheita de frutas em países desenvolvidos varia de 5% a 25%, nos países em desenvolvimento, pode chegar a 80% (Cuéllar-Torres *et al.*, 2022; Francisco *et al.*, 2020). Entre os fatores associados a esses percentuais estão a susceptibilidade a mudanças físico-químicas, como o aumento da taxa respiratória, rápido metabolismo fisiológico e maturação, além do risco de contaminação microbiana, com ênfase nos fungos fitopatogênicos (Cheng *et al.*, 2022). Entre as importantes doenças fúngicas pós-colheita incluem-se a podridão da extremidade do caule, a podridão negra e a antracnose (Ranjith *et al.*, 2021).

A antracnose é uma doença causada por diferentes espécies do gênero *Colletotrichum*, sendo *C. gloeosporioides* uma das principais e amplamente disseminado como fitopatógeno em todo o mundo (Fernandes *et al.*, 2024). Foi isolado pela primeira vez de citros na Itália, como *Vermicularia gloeosporioides* (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023). A antracnose está associada a perdas econômicas significativas de culturas frutíferas e hortaliças, tendo incidência principalmente em climas tropicais e subtropicais (Rattanakreetakul *et al.*, 2023).

2.2.1 Antracnose

A antracnose é a principal doença responsável por afetar a qualidade geral de mangas e goiabas durante a produção, nas fases pré e pós-colheita, além de afetar a sua capacidade de armazenamento e valor de mercado mundialmente (Chuacharoen; Sabliov, 2022; Liang *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2020). A infecção normalmente ocorre durante a floração, em condições de alta umidade, mas as características da doença se desenvolvem principalmente na fase pós-colheita. Os principais fitopatógenos responsáveis pela doença pertencem ao gênero *Colletotrichum*, caracterizado por seu impacto significativo e relevância econômica do ponto de vista científico (Ciofini *et al.*, 2022; Rattanakreetakul *et al.*, 2023; Zakaria *et al.*, 2021).

A identificação e caracterização das espécies de *Colletotrichum* ocorrem pela combinação de técnicas moleculares e de análises de características morfológicas, como formato e tamanho de conídios (oblongos a ovoides, hialinos e obtusos), apressórios, bem como cor da colônia, taxas de crescimento, tipo de hospedeiro e presença de cerdas (Khodadadi *et al.*, 2020). Entretanto, alguns desafios têm sido apresentados devido à variabilidade de características morfológicas. Essa variabilidade depende do meio de cultura, condições de crescimento, dificuldade de padronização, gama variável de hospedeiros, patogenicidade e nomes errôneos de sequências de isolados em bancos de dados públicos, gerando identificação deficiente na delimitação das espécies (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023; Silva Neto *et al.*, 2021).

Na fase biotrófica, a infecção por *Colletotrichum* spp. inicia-se após adesão dos conídios à superfície foliar e posterior germinação. Na sequência, o fungo penetra nas células epidérmicas da planta através de um apressório. As hifas primárias crescem e colonizam células selecionadas, enquanto o fungo secreta pequenas proteínas e absorve metabólitos secundários necessários para a sua sobrevivência na planta por meio de sua interação com o apoplasto, sem perturbar a célula hospedeira. Os sintomas da doença não são observados nesse estágio (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023; da Silva *et al.*, 2020).

Na fase necrótica ocorre o aparecimento dos sintomas da doença na planta; produção de hifas secundárias, que se ramificam através dos tecidos do hospedeiro e liberam enzimas,

causando degradação das células e redução das suas respostas de defesa (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023). A duração do período de transição entre as fases biotrófica e necrotrófica varia conforme as características de patogenicidade, atividade enzimática e sensibilidade a fungicidas das espécies de *Colletotrichum*, como também depende do hospedeiro e de condições ambientais (Khodadadi *et al.*, 2020; da Silva *et al.*, 2020).

As condições ambientais de umidade relativa do ar superior a 90% e temperaturas entre 22 e 32 °C favorecem o desenvolvimento de sintomas de antracnose. No entanto, durante o período de pós-colheita, danos teciduais podem ocorrer em condições mais secas devido à presença fúngica e ao envelhecimento dos frutos (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023).

Diferentes hospedeiros são afetados pela doença, interferindo na produtividade, principalmente, de plantas e frutas climatéricas, como manga, mamão, abacate, azeitona, café, banana, berinjela, goiaba e pera. Isso ocorre, visto que no estágio de amadurecimento dessas frutas ocorrem mudanças fisiológicas e bioquímicas, devido à remodelação e degradação das paredes celulares, nas quais são proporcionadas condições adequadas para o desenvolvimento do patógeno (Ciofini *et al.*, 2022).

As cepas de *Colletotrichum* induzem o desenvolvimento de lesões de antracnose com características semelhantes nas frutas (Figura 3), as quais compreendem manchas profundas, proeminentes, geralmente arredondadas ou irregulares, de marrom escuro a preto, em alguns casos, com áreas encharcadas de massas de conídios rosadas ou alaranjadas que podem evoluir em necrose do tecido (Ciofini *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2020).

Embora a maioria das espécies do gênero *Colletotrichum* sejam reconhecidas como fitopatogênicas, algumas espécies foram descritas como endofíticas, saprófitas, entomopatógenas e patógenas humanos. As interações endofíticas podem evoluir continuamente do mutualismo para o parasitismo (da Silva *et al.*, 2020). O patógeno pode sobreviver em resíduos vegetais e crescer saprotroficamente após dispersão por respingos de chuva e transmissão de ar (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023).

Figura 3 - Sintomas de antracnose causada por *Colletotrichum* sp. em manga cv. Palmer.



Fonte: Autoria própria, 2024.

No geral, as infecções fúngicas pós-colheita vêm sendo tradicionalmente controladas por meio do uso de fungicidas. Por conseguinte, esses produtos representam um fator de risco ao aumento da toxicidade e efeitos adversos dos resíduos químicos na saúde humana e ao meio ambiente, bem como contribuem para a proliferação de cepas de microrganismos patógenos resistentes (Martínez-Blay *et al.*, 2020; Peralta-Ruiz *et al.*, 2023).

Além disso, o interesse dos consumidores por produtos de alta qualidade, microbiologicamente seguros e sustentáveis, juntamente com iniciativas, como a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, proposta pela Organização das Nações Unidas (ONU), aumentou o interesse por novas alternativas para a proteção de plantas e alimentos (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023). Nessa perspectiva, estudos vem desenvolvendo novas estratégias para o manejo de doenças pós-colheita.

2.3 PROCESSO DE FERMENTAÇÃO POR BAL

A fermentação láctica é uma técnica antiga que resulta em produtos com novas características físicas, químicas e sensoriais, além de melhor qualidade nutricional e maior conservação contra microrganismos patógenos e deteriorantes, prolongando a sua vida útil (Abbasi-Parizad *et al.*, 2022). Essa abordagem é amplamente utilizada na produção de diversos produtos incluindo carnes, queijos, laticínios, bebidas e produtos de panificação (de Oliveira *et al.*, 2023; Mapelli-Brahm *et al.*, 2020; Souza; Oliveira; Oliveira, 2023).

As comunidades microbianas complexas presentes em alimentos fermentados são responsáveis por desencadear diferentes reações bioquímicas a partir de diferentes substratos e condições, resultando na liberação de múltiplos compostos (Diez-Ozaeta; Astiazaran, 2022). Devido à demanda nos últimos anos por alimentos minimamente processados e “rótulos

limpos”, a fermentação de alimentos tem ganhado destaque como uma estratégia associada a novas tecnologias que permitem a liberação de compostos bioativos, conversões enzimáticas microbianas e atividades probióticas (Bahule *et al.*, 2022).

A partir disso, os probióticos são atualmente definidos como microrganismos vivos que, quando ingeridos em quantidades adequadas, conferem efeitos benéficos à saúde do consumidor (Hill *et al.*, 2014), incluindo proteção contra infecções gastrointestinais, redução do colesterol sérico, estimulação do sistema imunológico, estabilização da microbiota intestinal e prevenção de alergias e intolerâncias associadas a produtos de origem animal (Mathur *et al.*, 2020; Ruiz Rodríguez *et al.*, 2021). Na indústria alimentícia, cepas probióticas são utilizadas na microbiologia de alimentos como iniciadores tecnológicos e atuam na inibição de contaminações e deterioração de alimentos (Freire *et al.*, 2024). Nessa perspectiva, pesquisas adicionais de bioatividade, atividades antimicrobianas ou evidências clínicas são imprescindíveis para confirmar tais benefícios e propriedades dos alimentos fermentados (Diez-Ozaeta; Astiazaran, 2022).

As BAL são classificadas como Gram-positivas, catalase-negativas, não formadoras de esporos e anaeróbias facultativas (Nasrollahzadeh *et al.*, 2022; Souza; Oliveira; Oliveira, 2023). Em condições de anaerobiose do meio, apenas grupos de BAL e fungos conseguem sobreviver. As BAL que possuem a via metabólica homofermentativa produzem ácido lático como único produto final, enquanto as heterofermentativas produzem além de ácido lático, CO₂ e etanol ou acetato (Abbasi-Parizad *et al.*, 2022; Nasrollahzadeh *et al.*, 2022). Além disso, algumas espécies heterofermentativas possuem vias metabólicas que degradam os compostos fenólicos, polifenóis, glicosídeos, taninos e ésteres de ácido gálico, sendo estratégias de adaptação a alguns ambientes com limitação de nutrientes (Hurtado-Romero *et al.*, 2024).

Os principais metabólitos produzidos por fermentação de BAL incluem ácidos orgânicos, como ácido lático e acético, ácidos graxos, aminoácidos, exopolissacarídeos, bacteriocinas, acetoína e acetaldeído. Esses metabólitos contribuem para as características nutricionais e sensoriais desejadas, bem como desempenham ação antimicrobiana nos alimentos fermentados (Nasrollahzadeh *et al.*, 2022; Souza; Oliveira; Oliveira, 2023). Dessa forma, o perfil dos metabólitos nos produtos fermentados está relacionado às culturas iniciadoras, ou *starters*, e seu controle é fundamental para sincronizar e equilibrar eventos microbiológicos (Levante *et al.*, 2020). Devido ao seu *status* GRAS, as cepas de BAL são os principais microrganismos escolhidos para a biopreservação de alimentos (Li *et al.*, 2021; Omedi *et al.*, 2021).

Dentre as aplicações de BAL em produtos alimentares, estudos incluíram a utilização de subprodutos de frutas, visando avaliar potencial efeito protetor aos probióticos contra condições adversas encontradas no trato gastrointestinal humano, verificar o potencial prebiótico e de atuar em sinergia com os microrganismos no intestino após sua ingestão (Araújo *et al.*, 2024a; Araújo *et al.*, 2024b; Casarotti *et al.*, 2018).

Em produtos de panificação, o estudo de Omedi *et al.* (2021) investigou a adequação da incorporação de substrato de pitaya fermentado por duas cepas de BAL (*Lactiplantibacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*) com propriedades antifúngicas como um ingrediente bioconservante. Porém, não há na literatura pesquisas que investiguem o efeito inibitório de extratos de subprodutos de frutas fermentados por microrganismos probióticos para aplicação em frutas e vegetais.

2.4 POTENCIAL BIOATIVO DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS

Visto que as indústrias agroalimentares são responsáveis por gerarem enorme quantidade de resíduos, os subprodutos são compostos por partes não utilizadas após o processo de extração da porção líquida, sendo cascas, sementes, raízes, caules, porções fibrosas e folhas (Mármol *et al.*, 2021). Geralmente, esses componentes possuem maior conteúdo de fitoquímicos bioativos (ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides, taninos, ligninas, entre outros), vitaminas, enzimas, fibras alimentares e óleos em comparação com as respectivas frutas (Mohammadnezhad; Valdés; Álvarez-Rivera, 2023; Sirohi *et al.*, 2021). Essas características podem tornar esses subprodutos matrizes favoráveis para desempenhar atividades prebióticas, antioxidantes e antimicrobianas (Freire *et al.*, 2024).

Os compostos bioativos são encontrados principalmente nas frações não comestíveis de frutas tropicais e geralmente são descartadas. Nesse sentido, a revalorização e novas aplicações para os subprodutos dessas frutas como fonte de compostos funcionais vem sendo estudados na prevenção ou melhoria de algumas doenças (Mohammadnezhad; Valdés; Álvarez-Rivera, 2023). Esse aproveitamento de compostos extraídos de subprodutos de frutas tropicais pode contribuir para a produção de produtos de valor acrescentado em aplicações industriais alimentares, funcionais, nutraceuticas, cosmeceuticas e bioenergéticas (Cádiz-Gurrea *et al.*, 2020).

Extratos oriundos de plantas representam uma fonte natural de compostos com alta atividade antimicrobiana. A distribuição desses compostos fitoquímicos varia conforme suas estruturas de folhas, frutos, sementes, raízes e cascas, sendo quimicamente classificados em

terpenos, alcaloides e flavonas (Kupervaser *et al.*, 2023). Em subprodutos de frutas foi reconhecida uma concentração significativa de polifenóis, antocianinas e carotenoides. Especificamente, a casca das frutas podem ser uma fonte de ácidos fenólicos, flavonoides e xantonas (Gupta *et al.*, 2022; Wongkaew *et al.*, 2021).

O efeito antimicrobiano de extratos de subprodutos de frutas depende do tipo de método de extração e solvente utilizados, bem como do microrganismo inoculado. A atividade antimicrobiana ocorre através dos mecanismos de acidificação e dano de membrana celular, que aumenta a sua permeabilidade, inibição da síntese de ácidos nucléicos, inibição do metabolismo celular e redução de substratos microbianos (Kupervaser *et al.*, 2023).

Abbasi-Parizad *et al.* (2022) estudaram o potencial da fermentação espontânea por BAL e leveduras endógenas de aumentar a bioatividade de extratos fenólicos de subprodutos de tomate, uva e café proveniente de indústrias alimentares. Os extratos analisados demonstraram atividade anti-inflamatória, indicando potencial para aplicação em nutracêuticos e fortificantes alimentares. No entanto, investigações adicionais mostraram-se necessárias para identificar e selecionar microrganismos específicos responsáveis por essa atividade. Ademais, Oliveira *et al.* (2023) observaram o potencial da fermentação espontânea de BAL em subprodutos de acerola e goiaba, visando aumentar diversos compostos bioativos, o que resultou em um aumento da atividade antioxidante.

Contudo, visando melhorar a aplicabilidade desses compostos, a incorporação em matrizes poliméricas, como revestimentos comestíveis, pode-se ser necessária. Um revestimento inovador, composto por gelatina e carboximetilcelulose combinado com extrato de casca de romã, foi aplicado na preservação de framboesas, prolongando sua vida útil por 15 dias. Esse efeito causado foi relacionado às propriedades antioxidantes e proteção contra raios UV de seus componentes (Vargas-Torrico *et al.*, 2024).

2.5 REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS COMO TECNOLOGIAS PÓS-COLHEITA EM FRUTAS

Os filmes e revestimentos podem ser utilizados como embalagens primárias de alimentos. Os filmes comestíveis são estruturas aplicadas posteriormente ao produto como uma fina camada na sua superfície. Já os revestimentos, são usados na forma líquida e podem ser diretamente formados na superfície do alimento por imersão ou pulverização (Janowicz *et al.*, 2023; Sapna *et al.*, 2024). São caracterizados por diferentes propriedades, como transparência, opacidade, estabilidade térmica, resistência mecânica, solubilidade e permeabilidade, além de

ação de proteção e/ou propriedades antioxidantes (Kupervaser *et al.*, 2023). Esses revestimentos e filmes atuam como barreira na superfície de frutas e vegetais, que causa maior retenção de umidade e água, além de criar microambientes favoráveis, otimizando a concentração de gases e, por conseguinte, estendendo a vida útil desses produtos (Nair *et al.*, 2020).

Os biopolímeros de revestimento são materiais biodegradáveis, biocompatíveis e possuem capacidade de formar filmes e revestimentos não tóxicos capazes de desempenhar importante papel na preservação de alimentos contra fatores ambientais (Sapna *et al.*, 2024). Entre os materiais formadores de revestimentos aplicados em frutas que são mais estudados, incluem-se alginato de sódio, celulose, carboximetilcelulose, gelatina, goma arábica e quitosana (Arroyo *et al.*, 2020; Ebrahimzadeh *et al.*, 2023).

O alginato de sódio é um polissacarídeo natural, linear, aniônico, solúvel em água, obtido das paredes celulares de algas marinhas marrons pertencentes à família *Phaeophyceae* (Nair *et al.*, 2020). É classificado como uma substância GRAS (geralmente considerada segura) pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA, está registrado como aditivo alimentar autorizado pela Comissão Europeia (CE), além de ser utilizado como emulsificante e estabilizante coloidal na indústria de bebidas, como espessante e agente gelificante no setor alimentício, além de ser empregado em embalagens para prevenir a desidratação de carnes, em produtos farmacêuticos e como matriz polimérica para encapsulação de medicamentos, proteínas, células e DNA (Parreidt *et al.*, 2019; Ranjbar *et al.*, 2023).

A formação de filmes de derivados de algas apresenta vantagens sobre outros polímeros, uma vez que são comestíveis, de custo inferior, rápido crescimento e fácil cultivo (Ebrahimzadeh *et al.*, 2023). Além disso, o alginato de sódio compreende propriedades coloidais como espessamento, estabilização, resistência térmica e à luz ultravioleta, sendo um material de revestimento para retardar o processo de respiração e amadurecimento de frutas (Parreidt *et al.*, 2019). Ainda, sua eficácia pode aumentar com a incorporação de agentes antioxidantes ou antimicrobianos, repercutindo no prolongamento do tempo de armazenamento dos alimentos (Janowicz *et al.*, 2023; Nair; Saxena; Kaur, 2018).

Em um estudo anterior foram formulados e avaliados revestimentos comestíveis de alginato aplicados em mangas e melões minimamente processados, os quais continham probióticos (*Lactocaseibacillus casei*), prebióticos (frutoligossacarídeos) ou combinação desses componentes (simbióticos). Os resultados indicaram que os revestimentos à base de alginato e simbióticos foram os que melhor mantiveram os parâmetros de qualidade, incluindo características físico-químicas, químicas e enzimáticas, além de preservar o perfil sensorial das

frutas (Dias *et al.*, 2023). Revestimentos funcionais contendo probióticos (*Bifodbacterium lactis* e *Lactobacillus rhamnosus*) e prebióticos (inulina e oligofrutose) foram aplicados em maçãs (Alvarez *et al.*, 2021) e mirtilos (Bambace; Alvarez; Moreira, 2019), favorecendo a manutenção de qualidade microbiológica, físico-química, nutricional e sensorial durante o período de armazenamento.

O uso de revestimentos de alginato adicionados de biocompósitos de resíduos de chá preto, chá verde, chá de jasmim e chá Oolong demonstrou potencial para prolongar a vida útil da banana e do tomate, surgindo como potenciais biossorventes para aplicação segura e sustentável (Kulviwat; Eze; Ovatlarnporn, 2023). A incorporação de pós-bióticos de *Lactiplantibacillus plantarum* resultou em uma melhoria nos atributos mecânicos, de barreira e térmicos dos filmes de alginato de sódio, além de demonstrar forte atividade antibacteriana contra todos os patógenos alimentares (Akman *et al.*, 2023).

Ademais, outros estudos também apontaram o efeito de revestimentos adicionados de compostos vegetais e/ou microrganismos antagônicos sobre parâmetros microbiológicos e físico-químicos em diferentes frutas, como abacate (Iñiguez-Moreno *et al.*, 2020), banana (Li *et al.*, 2020), goiaba e manga (Fernandes; de Oliveira; de Souza, 2021) e morango (Li *et al.*, 2024a; Li *et al.*, 2024b) (Tabela 2).

Tabela 2 - Principais efeitos da aplicação de revestimentos em frutas.

Composição do revestimento	Fruta	Efeitos principais	Referência
Alginato de sódio (1,05%), Aloe vera (2,95%) e nanopartículas de óxido de zinco (4,93%)	Tomate	Incorporação dos compostos melhorou significativamente as propriedades térmicas, permeabilidade ao vapor de água, mecânicas e antimicrobianas do alginato. Além disso, os filmes otimizados estenderam a vida útil dos frutos em até 16 dias sem defeitos.	Abdel Aziz; Salama, 2022
Alginato de sódio (2%), glicerol (1,5%), inulina (8%), oligofrutose (8%)	Maçã	Manutenção da qualidade microbiológica e das propriedades nutricionais durante armazenamento	Bambace <i>et al.</i> , 2025

e <i>Lacticaseibacillus casei</i> (10 log UFC/mL)		(5 °C, 8 dias). Efeito bactericida foi exercido pela cepa probiótica contra <i>Listeria innocua</i> e <i>Escherichia coli</i> .	
Alginate de sódio (2%), glicerol (1,5%) e cepas de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (9 UFC/mL)	Uva	Manutenção da viabilidade do probiótico e atividade antifúngica frente à <i>Aspergillus niger</i> associada a produção de compostos ativos, como peptídeos e compostos orgânicos voláteis durante armazenamento refrigerado (4 °C, 14 dias).	De Simone et al., 2024
Alginate de sódio (1,5%), glicerol (1,5%) e <i>Lacticaseibacillus casei</i> 01 (9 log UFC/mL)	Manga e melão	Manutenção da viabilidade do probiótico e preservação da qualidade física, química, enzimática e sensorial das frutas durante armazenamento refrigerado (5 °C, 12 dias).	Dias et al., 2023
Alginate de sódio (1,5%) glicerol (1,5%), e BAL (9-10 log UFC/mL)	Goiaba e manga	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> e redução da severidade das lesões de antracnose causada por diferentes espécies de <i>Colletotrichum in situ</i> (25 °C, 15 dias)	Fernandes; de Oliveira; de Souza, 2021
Alginate de sódio (2%), glicerol (1%) e extrato de cominho preto (1,5%)	Goiaba	Preservação da qualidade física, sensorial das frutas e compostos bioativos presentes no extrato (16 dias, 11 °C). Atividade antibacteriana frente à <i>E. coli</i> e <i>Staphylococcus hominis</i> , devido à presença de compostos fenólicos.	Hasan et al., 2022
Alginate de sódio (1,5%), glicerol (20%) e <i>Meyerozyma</i>	Abacate	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> e redução da severidade de lesões de <i>Colletotrichum</i>	Iñiguez-Moreno et al., 2020

<i>caribbica</i> (9 log UFC/mL)		<i>gloesporioides in situ</i> (15 dias, 25 °C, ou 4 dias, 13 °C/11 dias, 25 °C). Atividade foi relacionada ao processo de competição por espaço e nutrientes, produção de compostos voláteis.
Gelatina (2%), mucilagem de chia e <i>Lactococcus lactis</i> (10 UFC/mL)	Morango	O tratamento melhorou as propriedades físicas de flexibilidade e barreira à umidade e ao oxigênio, propriedades antifúngicas frente à <i>Botrytis cinerea</i> e aumentou a qualidade pós-colheita durante o armazenamento (6 dias, 25 °C). Li et al., 2024a
Alginato de sódio (2%), glicerol (1.5%) e cepas BAL (8-9 UFC/mL)	Morango	Inibição do crescimento de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> , explicada pela produção de metabólitos e liberação gradual. Manutenção da qualidade física e química das frutas (28 dias, 28 °C). Li et al., 2024b

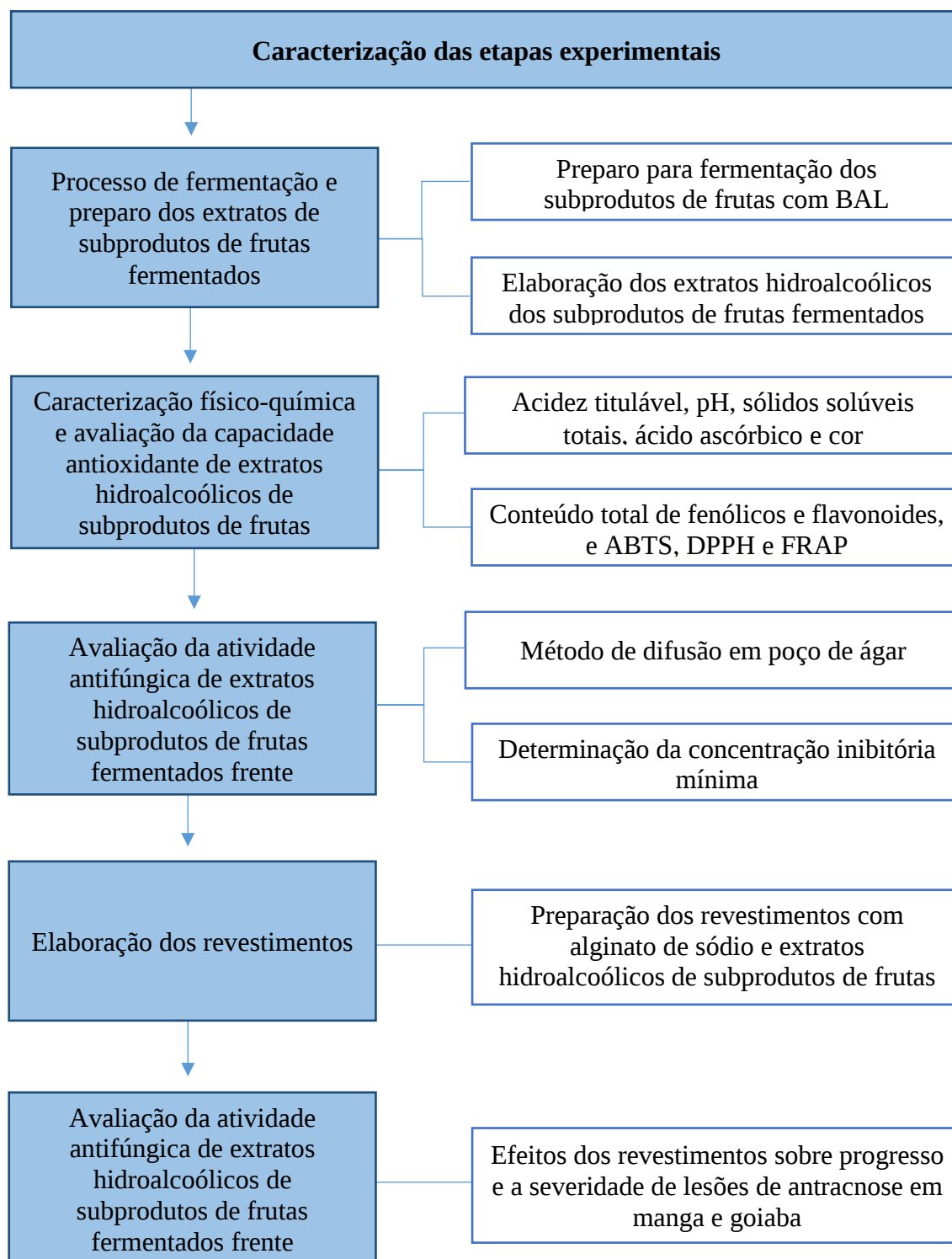
Considerando as vantagens potenciais do uso combinado de alginato de sódio e extratos de subprodutos do processamento de frutas fermentadas por BAL, a aplicação de revestimentos para a inibição de espécies patogênicas de *Colletotrichum* pode representar uma alternativa viável para a preservação da qualidade pós-colheita de manga e goiaba. A aplicação dessa tecnologia poderia proporcionar vantagens para a comercialização de frutas, considerando as dificuldades que os produtores enfrentam para o controle da antracnose e as consideráveis perdas econômicas para a sua cadeia produtiva decorrentes do progresso da doença.

3 METODOLOGIA

O presente estudo caracteriza-se como uma pesquisa de natureza experimental de finalidade tecnológica do tipo descritiva com abordagem quantitativa. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos (LMBA) (análises microbiológicas e análises físico-químicas), no Laboratório de Bromatologia (processo de liofilização e análises físico-químicas), vinculados ao Departamento; e no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IpeFarM) e Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (processo de rotaevaporação e ressonância magnética nuclear), todos localizados no Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, *Campus I*, João Pessoa - PB.

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As etapas de desenvolvimento estão apresentadas no esquema da Figura 4. Inicialmente, foram realizados os testes *in vitro*, nos quais foi avaliada a atividade antagônica de diferentes extratos de subprodutos de frutas fermentados frente a diferentes espécies de *Colletotrichum* spp. utilizadas como microrganismos alvo. Os extratos de subprodutos de frutas fermentados formulados também foram caracterizados quanto a sua composição física, físico-química e de compostos principais. Posteriormente, os extratos com os melhores resultados de efeitos antifúngicos foram selecionados para a elaboração de revestimentos a base de alginato de sódio e aplicação em frutas visando avaliar a eficácia para diminuição da taxa de progresso de lesões de antracnose em mangas e goiabas, durante o armazenamento, sob temperatura ambiente.

Figura 4 - Etapas do desenho experimental do estudo.

Fonte: Autoria Própria, 2024.

4.2 OBTENÇÃO DOS MATERIAIS

Subprodutos do processamento de polpas de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), caju (*Anacardium occidentale* L.), manga (*Mangifera indica* L.) e uva (*Vitis unífera* L.), foram obtidos das empresas Ideal Ltda. e Pé de Fruta Ltda. localizadas na cidade de João Pessoa – PB. Foram coletadas aproximadamente 2000g de cada subproduto, do mesmo lote de processamento de frutas. Cada subproduto foi embalado separadamente, colocado em caixas isotérmicas com gelo e transportado para o Laboratório de Bioquímica e Microbiologia de Alimentos (LMBA), aonde foram autoclavados (121 °C, 1 atm, 15 min), armazenados a ± -18 °C e liofilizados (temperatura - $50 \pm 0,5$ °C, 20 – 24 h, pressão de vácuo abaixo de 200 μ Hg, velocidade de liofilização 1 mm/h) utilizando liofilizador de bancada (modelo L-101, Liotop, São Carlos, SP, Brasil (Figura 5).

Figura 5 - Subprodutos do processamento de acerola (A), caju (B), manga (C) e uva (D).



Fonte: Autoria Própria, 2024.

Mangas cv. Palmer e goiabas cv. Paluma foram adquiridas na Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços Agrícolas (EMPASA), João Pessoa, Paraíba, Brasil. Foram selecionadas mangas com estágio de maturação 3 (média com 50% da casca amarela ou vermelha) e goiabas no estágio 2 (até 80% da casca verde). As frutas foram escolhidas conforme a padronização de tamanho, aparência, cor, forma e ausência de lesões físicas ou sinais visíveis de infecção fúngica (Moreira *et al.*, 2022; Vilvert *et al.*, 2021). Previamente aos experimentos, as frutas foram higienizadas com detergente neutro e água corrente potável, desinfetadas superficialmente por meio de imersão em solução de hipoclorito de sódio (2%, 150 ppm, pH

7,2 ajustado com NaOH 1 M) por 15 minutos, enxaguadas com água estéril e secas por duas horas em temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C) (Fernandes; de Oliveira; Souza, 2021).

O alginato de sódio (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, SP, Brasil), glicerol (Química Moderna, Barueri, SP, Brasil), óleo de girassol (Cargill Agrícola SA, Recife, PE, Brasil) e tween 80 (Sigma - Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foram utilizados para formular os revestimentos. O cloreto de cálcio (PA) (Synth, Diadema, SP, Brasil) foi aplicado nas frutas revestidas para formar um gel por meio de reticulação com alginato de sódio (Fernandes, 2021; Zhang *et al.*, 2024).

4.3 MICRORGANISMOS TESTES

Três diferentes cepas de BAL (*Levilactobacillus brevis* 59, *Lactiplantibacillus pentosus* 129 e *Limosilactobacillus fermentum* 263) foram selecionadas com base em resultados anteriores que demonstraram sua capacidade antifúngica frente à *Colletotrichum* spp. (Fernandes; de Oliveira; de Souza, 2021). Essas cepas foram isoladas de subprodutos do processamento de polpas de frutas e foram caracterizadas como possuidoras de propriedades probióticas, destacando-se a atividade antimicrobiana frente a microrganismos contaminantes de alimentos (Albuquerque *et al.*, 2018; Garcia *et al.*, 2016). Os estoques foram armazenados ($-20 \pm 0,5$ °C) em caldo de Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (HiMedia, Mumbai, Índia) com glicerol (Sigma Aldrich; 20 mL/100 mL). Antes do uso, as três cepas foram cultivadas anaerobicamente (Anaerobic System Anaerogen, Oxoid, Hampshire, UK) em caldo MRS ($37 \pm 0,5$ °C) por 20-24 horas. As células testadas foram coletadas por centrifugação ($4500 \times g$, 10 min, 4 °C). Na sequência, a massa celular (*pellet*) de cada cepa testada de BAL foi ressuspensa em água destilada estéril e misturadas na proporção de 1:1:1 (Freire *et al.*, 2021).

Seis espécies de *Colletotrichum*, nomeadamente *C. fruticola* LM 680, *C. chrysophilum* LM 685, *C. tropicale* CMM 4071, *C. siamense* CMM 4077, *C. karstii* CMM 4101 e *C. gloeosporioides* CMM 320, foram fornecidos pela coleção de cultura de Fungos Fitopatogênicos “Prof. Maria Menezes” (Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil) e pela Coleção do Laboratório de Micologia (UFRPE, Recife, PE, Brasil). As culturas estoques foram mantidas em ágar batata dextrose (ABD; HiMedia, Mumbai, India) sob refrigeração ($4 \pm 0,5$ °C) e proteção da luz. Antes do uso nos experimentos, as culturas foram cultivadas em ABD por sete dias ($25 \pm 0,5$ °C). Cada cepa foi inoculada separadamente em uma manga e goiaba e, após o desenvolvimento da lesão com sintomas característicos da antracnose, as cepas foram recuperadas das lesões e cultivadas em ABD ($25 \pm 0,5$ °C, 7 dias).

4.4 PROCESSO DE FERMENTAÇÃO E PREPARO DOS EXTRATOS HIDROALCÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS FERMENTADOS

4.4.1 Processo de fermentação de subprodutos de fruta fermentados

Para preparação dos fermentados uma proporção de 1:5 (p:v) dos subprodutos triturados em multiprocessador doméstico foi diluído em água destilada esterilizada. Posteriormente, a massa celular (*pellet*) de cada cepa testada de LAB foi adicionada em cultura mista (proporção de 1:1:1) nos subprodutos de acerola (ACE), caju (CJU), manga (MGA) e uva (UV) e submetidos à fermentação sob aerobiose em agitador orbital (Tecnal, TE-424, Piracicaba, SP, Brasil), a uma temperatura controlada de 37 ± 0.5 °C, com agitação de 200 rpm (Rotação por Minuto) durante 24 horas ininterruptas. Durante os intervalos dos tempos de 0, 24 e 48 horas de fermentação, foi realizada a contagem de células viáveis dos subprodutos fermentados.

4.4.2 Contagem de células viáveis de BAL durante a fermentação

Para a contagem de células viáveis de BAL nos subprodutos fermentados (tempos 0, 24 e 48 horas de fermentação), uma amostra foi diluída em solução salina (NaCl 8,5 g/L), e, em seguida, homogeneizada e diluída em série (1:9, 10^{-1} a 10^{-6}) com o mesmo diluente. Uma amostra de 10 µL de cada diluição foi inoculada em placas de ágar MRS (HiMedia), usando a técnica de inoculação por microgota (Herigstad; Hamilton; Heersink, 2001) e incubadas durante 48 horas a 37 ± 0.5 °C sob anaerobiose (Anaerogen System Anaerogen, Oxoid). Os resultados foram expressos em log UFC/mL em cada intervalo de tempo monitorado. O limite de detecção dos ensaios para contagem de células viáveis foi de 1 log UFC/mL.

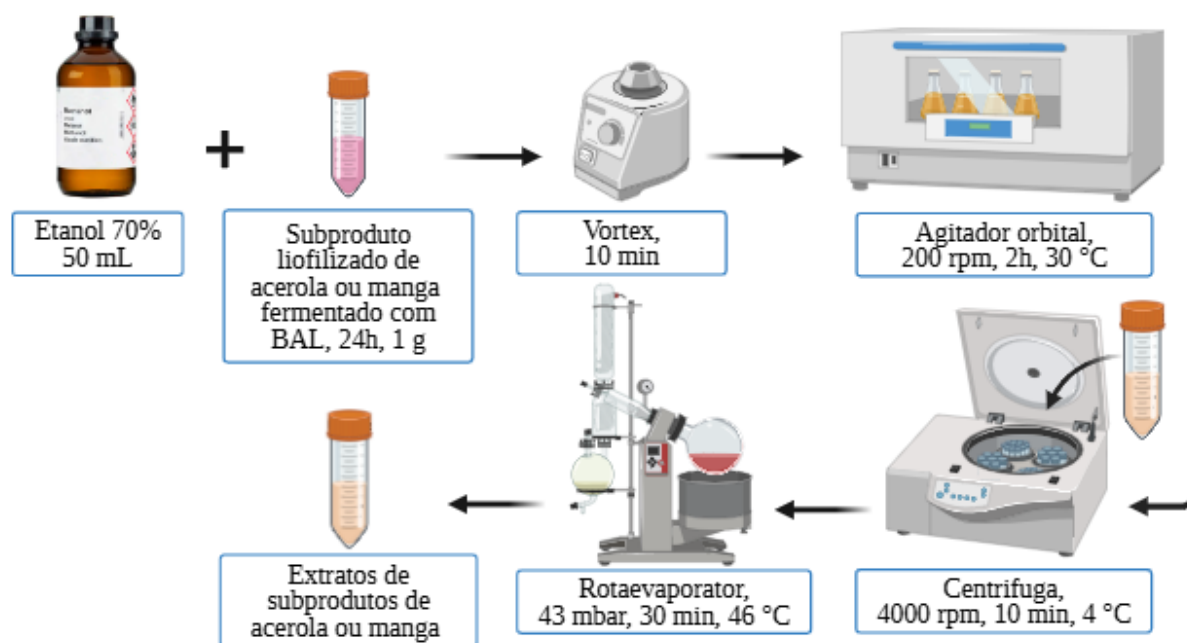
4.4.3 Elaboração de extratos hidroalcoólicos de subprodutos de fruta fermentados com BAL

O processo de extração de moléculas com potencial atividade antifúngica foi realizado conforme adaptação do protocolo anteriormente relatado na literatura (Gomes *et al.*, 2020). O esquema apresentado na Figura 6 caracteriza a produção dos extratos hidroalcoólicos dos subprodutos de fruta fermentados. Os subprodutos fermentados foram homogeneizados com

etanol 70% em água destilada na proporção de 1:10 (soluto:solvente), seguido por agitação em agitador orbital a 200 rpm durante 2 h (modelo TE-141, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil).

Em seguida, o homogeneizado obtido foi centrifugado (MPW, 1696 x g, 10 minutos, 4° C). A parte líquida foi recuperada e a parte sólida novamente submetida à extração usando as mesmas condições descritas. Por fim, as partes líquidas obtidas foram misturadas e concentradas em evaporador rotativo a 150 rpm a $40 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (LGI-52CS-1, LS Logen Scientific, Flawil, Suíça) sob pressão reduzida a $45 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (Gomes *et al.*, 2020). Cada extrato obtido foi armazenado em frascos sob refrigeração a $4 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ até a realização dos ensaios.

Figura 6 – Processo de extração hidroalcoólica de compostos fitoquímicos dos subprodutos de frutas fermentados.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

4.5. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS ANTES E APÓS A FERMENTAÇÃO COM BAL

Os extratos de subprodutos de frutas não fermentados e fermentados com BAL foram caracterizados após 24 horas de fermentação, de acordo com os seguintes parâmetros: cor, pH, acidez titulável (AT), sólidos solúveis totais (°Brix) e ácido ascórbico. Ainda foram determinados os compostos bioativos (total de compostos fenólicos e flavonoides totais), perfil

metabólico global e capacidade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP) dos subprodutos ao longo da fermentação, segundo metodologias descritas a seguir.

4.5.1 Determinação das características físico-químicas

A cor dos extratos dos subprodutos de frutas fermentados foi determinada por meio de um colorímetro (CR-410, Konica Minolta Sensing Americas, New Jersey, EUA), no qual L* mede a luminosidade (0: escuro, 100: branco), a* indica o eixo verde-vermelho (valor negativo: verde, valor positivo: vermelho), b* o eixo azul-amarelo (valor negativo: azul, valor positivo: amarelo), C* (croma) a saturação da cor e H° o ângulo de matiz (CIE, 1986).

Os valores de pH foram determinados em duplicata a partir de 10 mL da solução homogeneizada, utilizando potenciômetro com eletrodo de vidro combinado calibrado com solução tampão com pH 7 e 4 (AOAC, 2016; Método 981,12).

A acidez titulável foi determinada por titulometria com NaOH 0,1 M na presença de fenolftaleína como indicador de modificação de pH. Os resultados foram expressos em g de ácido cítrico/100 g da amostra (AOAC, 2016, método 920,15).

Os Sólidos Solúveis Totais (°Brix) foram analisados por amostras de 5 mL dos extratos dos subprodutos de frutas fermentados homogeneizadas e analisadas por refratômetro digital para leitura (Brix/RI Chek Model, Reichert Analytical Instruments, Depew, NY, USA) (AOAC 2016, método 932,12). Os resultados foram expressos em °Brix.

O conteúdo total de ácido ascórbico foi determinado segundo o método de Tillman's, usando solução de corante 2,6-diclorofenol-indofenol e os resultados foram expressos em mg por 100 g da amostra (mg/100 g) (AOAC, 2016, método 967,26).

4.5.2 Determinação do conteúdo total de fenólicos e flavonoides

O conteúdo de compostos fenólicos totais dos extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas foi analisado conforme o padrão metodológico de Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999), com adaptações. Foram preparadas diferentes diluições em etanol P.A. das amostras e 30 µL de cada diluição foi transferida para microplaca de 96 poços. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de FolinCiocalteu (10%) e a placa foi mantida por 6 minutos sob temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C). Logo após, 120 µL de solução de carbonato de sódio a 7,5% foram adicionados nos poços e deixados por 5 minutos em banho-maria a $50 \pm 0,5$ °C. Por fim, foi realizada a leitura da absorbância em comprimento de onda de 765 nm

utilizando Eon BioTek (Instruments Inc, Winooski, VT, USA). Foi utilizada curva padrão de ácido gálico para determinar o teor de fenólicos totais. Para a análise do branco da curva padrão e das amostras utilizou-se apenas a solução extratora. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 gramas de amostra (mg EAG/100 g) (Ouahabi *et al.*, 2024).

O teor total de flavonoides foi determinado segundo metodologia descrita por Guevara-Figueroa *et al.* (2010). Uma alíquota de 0,5 mL dos extratos foi adicionada à 2 mL de água destilada. Em seguida, foi adicionado 150 µL de nitrito de sódio a 5%. Após 5 min, 150 µL de cloreto de alumínio a 10% foram adicionados e, após 6 min, 1 mL de hidróxido de sódio a 1 M, seguido pela adição de 1,2 mL de água destilada. A absorbância da amostra foi medida a 510 nm usando um espectrofotômetro de microplacas (EON, BioTek) contra um branco na ausência dos extratos. O teor de flavonoides totais foi determinado usando uma curva padrão de equivalentes de catequina (EC) (Sigma-Aldrich). Os resultados foram expressos em mg equivalentes de EC por 100 gramas de amostra (mg EC/100 g) (Zitha *et al.*, 2022).

4.5.3 Determinação da capacidade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas não fermentados e fermentados

A capacidade antioxidante dos extratos de subprodutos de frutas fermentados foi determinada pelos métodos ABTS (ácido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e FRAP (poder antioxidante redutor férrico). As medições de absorbância para os métodos foram realizadas com um espectrofotômetro de microplacas (BioTek Eon, Winooski, VT, EUA) nos respectivos comprimentos de onda de 734, 515 e 595 nm (Silva *et al.*, 2023).

A capacidade antioxidante equivalente a trolox por meio da captura do radical ABTS^{•+}, foi medida conforme o método descrito por Silva *et al.* (2023), utilizando uma curva padrão de Trolox (50-2000 µM), sendo os resultados expressos em µmol equivalentes de Trolox por grama de amostra (µmol/g). A capacidade antioxidante medida por meio da eliminação do radical DPPH[•] (Silva *et al.*, 2023), foi medida utilizando uma curva padrão de Trolox (50-2000 µM), sendo os resultados expressos em µmol equivalentes de Trolox por grama de amostra (µmol/g). O poder antioxidante para a redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe³⁺ no ensaio de FRAP, foi avaliado de acordo com Silva *et al.* (2023), com pequenas modificações. Utilizou-se uma curva padrão de sulfato ferroso (50-2000 µM) e os

resultados foram expressos em μmol de sulfato ferroso por grama de amostra ($\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$) (Paula *et al.*, 2022).

4.5.4 Identificação do perfil metabólico global dos extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados

A determinação do perfil metabólico global foi realizada a partir da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Trata-se de um método robusto que analisa qualitativamente amostras em nível molecular sem exigir etapas de separação e/ou purificação de amostras (Hatzakis, 2019).

Para a análise, alíquotas de 2 mL de cada tempo de fermentação avaliado (0 e 24 horas) em cada extrato hidroalcoólico fermentado foram diluídas (1:1) em solução com água (H_2O) e água deuterada (D_2O) (9:1, v/v), centrifugadas (MPW, 1696 x g, 10 minutos, 4° C) e filtradas através de uma membrana de éster de celulose de 0,45 μm (Millipore®). Foram transferidos 550 μL da solução resultante em um tubo quantitativo (5 mm $\times$ 177,8 mm). Os experimentos de RMN foram realizados em equipamento Bruker Ascend 400, operando a 400 MHz para ^1H NMR e 100 MHz para ^{13}C NMR (Bruker, Billerica, MA, EUA). Os seguintes parâmetros foram usados para obter a sequência do espectro: lc1pngpf2; temperatura: 26 °C; número de varreduras: 64; varredura dummer: 4; ganho do receptor: 36; e tempo de aquisição: 2,04 segundos (da Silva *et al.*, 2024).

A matriz de dados das amostras consistiu em espectros formados por linhas e colunas (picos) variando conforme a intensidade de sinais nas diferentes regiões avaliadas. Os espectros foram processados usando o software Bruker TopSpin 4.1.1. As intensidades das regiões foram utilizadas para quantificação relativa dos metabólitos no material analisado durante a fermentação. A região referente a H_2O e D_2O foram suprimidas da análise (da Silva *et al.*, 2024).

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS FERMENTADOS FRENTE À *Colletotrichum* spp. *in vitro*

4.6.1 Método de difusão em poços de ágar

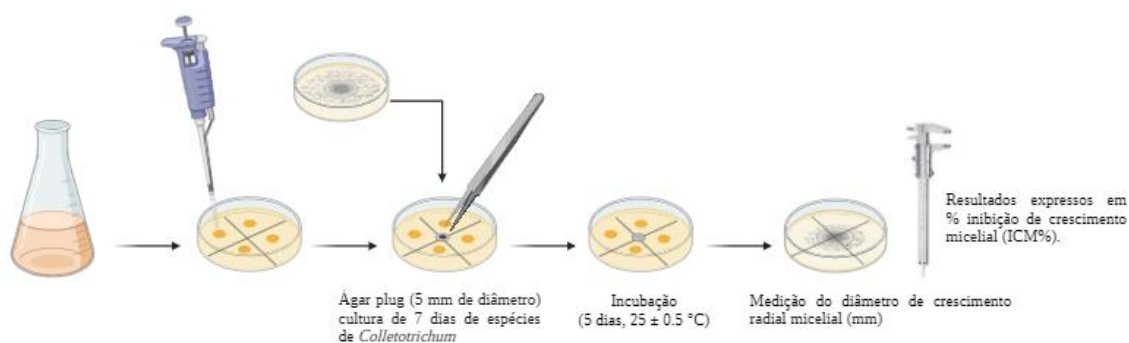
Para o método de difusão em poço de ágar, poços de 6 mm de diâmetro foram perfurados em placa de Petri com dupla camada de ágar com distância de 2 cm do ponto central. Em seguida, uma alíquota de 70 μL do extrato de subprodutos fermentados foi dispensada em cada

poço. Água destilada esterilizada em substituição a suspensão do extrato foi utilizada como controle negativo para cada aplicação (Chen *et al.*, 2021). Um tampão de ágar (5 mm de diâmetro) contendo estruturas das espécies de *Colletotrichum* testadas foi transferido para o centro da placa com ágar MRS sobreposto com ABD, seguido por incubação sob aerobiose ($25 \pm 0,5$ °C) por cinco dias (Figura 7) (Gómez-Maldonado *et al.*, 2020). Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição do crescimento micelial (%ICM), calculada conforme equação 1:

$$\%ICM = [(CT - TT) / CT] \times 100 \quad (\text{equação 1})$$

Onde %ICM é o percentual de inibição do crescimento micelial; CT é o diâmetro do crescimento total de fungos no ensaio de controle e TT é o diâmetro do crescimento total de fungos no ensaio com extratos de subprodutos de frutas fermentados (Braga *et al.*, 2019).

Figura 7 - Avaliação da atividade antifúngica de extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados frente *Colletotrichum* spp. pelo método de difusão em poço de ágar.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

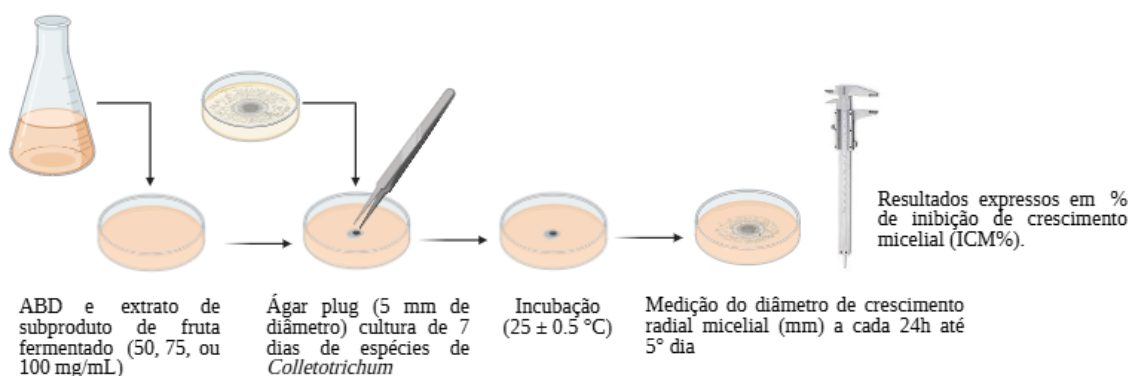
Os extratos de subprodutos de frutas fermentados que apresentaram os efeitos antifúngicos mais destacados neste ensaio foram selecionados para avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e posterior formulação de revestimentos de alginato de sódio para aplicação em frutas.

4.6.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Visando analisar o potencial antifúngico em diferentes concentrações, os extratos hidroalcoólicos dos subprodutos de fruta fermentados foram adicionados em ABD isoladamente nas concentrações de 50, 75 e 100 mg/mL. Em seguida, um tampão de ágar (5 mm de diâmetro) contendo estruturas das espécies de *Colletotrichum* testadas foi transferido

para o centro de cada placa contendo as concentrações dos extratos. ABD foi usado como controle (Gomes *et al.*, 2020). As placas foram incubadas sob aerobiose $25 \pm 0,5$ °C. A avaliação do crescimento micelial foi realizada a cada 24 h até o crescimento micelial atingir as bordas da placa de Petri no tratamento controle (Figura 8). O %ICM foi calculado com a fórmula descrita na equação 1 (Gómez-Maldonado *et al.*, 2020). A CIM foi considerada como a menor concentração dos extratos hidroalcoólicos, dentre as concentrações avaliadas, que mais reduziu o crescimento micelial (Oliveira Filho *et al.*, 2021).

Figura 8 - Avaliação da atividade antifúngica de extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados com BAL frente *Colletotrichum* spp. para determinação da concentração inibitória mínima.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

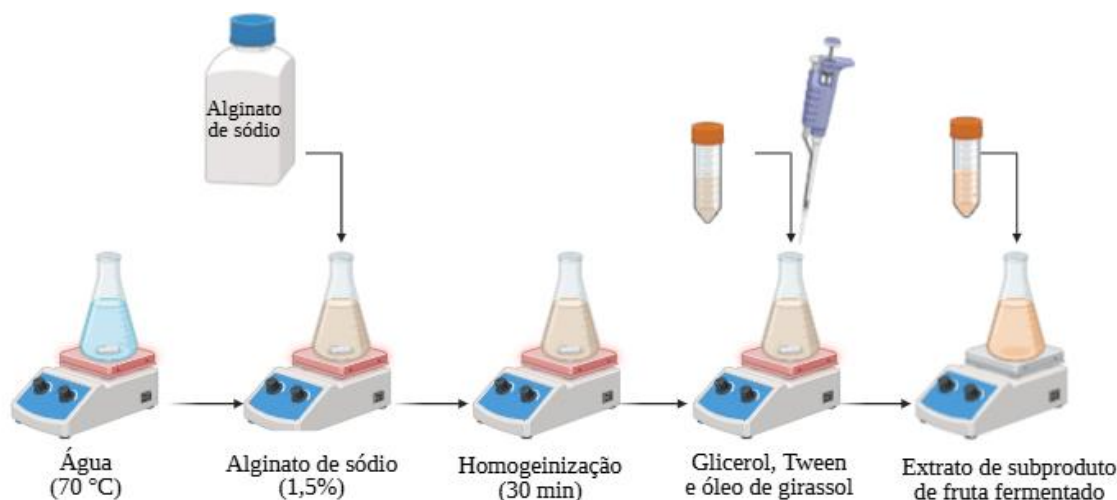
4.7 ELABORAÇÃO DOS REVESTIMENTOS DE ALGINATO DE SÓDIO ADICIONADOS DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE SUBPRODUTOS DE FRUTAS FERMENTADOS

O alginato de sódio (1,5 g/100 mL) foi dissolvido em água destilada esterilizada aquecida (70 °C), sob agitação magnética (MA 085, Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) (240 rpm), até a dissolução completa. Posteriormente, o glicerol (0,75 g/100 g) foi incorporado na dispersão de alginato de sódio para aumentar a flexibilidade dos revestimentos formulados. O surfactante tween 80 (0,05 g/100 g) foi incorporado aos revestimentos para melhorar a aderência às frutas. O óleo de girassol (0,04 g/100g) foi incorporado aos revestimentos como fonte de lipídios para aumentar as características de barreira à água. Todos os componentes da formulação dos revestimentos foram misturados e agitados por 10 minutos sob temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C) até a dispersão completa (Fernandes; De Oliveira; Souza, 2021). Na

sequência, foi incorporada a CIM dos extratos de subprodutos de fruta fermentados (100 mg/mL) (Figura 9).

Revestimentos de alginato de sódio sem adição de extrato de subproduto de fruta fermentado, bem como a aplicação de água destilada esterilizada adicionada de glicerol (2,5 mL/100 mL) também foram preparados e utilizados como controles negativos. Cloreto de cálcio (2 g/100mL) diluído em água destilada esterilizada foi aplicado por um minuto em cada fruta após imersão na dispersão do revestimento (2 minutos) para induzir o mecanismo de geleificação e reação de reticulação, que pode melhorar a resistência à água e as propriedades de barreira (Fernandes; De Oliveira; Souza, 2021; Zhang *et al.*, 2024).

Figura 9 - Esquema da preparação dos revestimentos com extratos hidroalcoólicos de subprodutos de frutas fermentados



Fonte: Autoria Própria, 2024.

4.8 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS REVESTIMENTOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO E SEVERIDADE DE ANTRACNOSE

Revestimentos formulados com as concentrações selecionadas de alginato e dos extratos hidroalcoólicos dos subprodutos de fruta fermentados foram avaliados quanto potencial para controle da antracnose em mangas e goiabas (Figura 10).

A epiderme de cada fruta foi ferida (cinco feridas por fruta) com o uso de agulha esterilizada (3 mm de profundidade e 2 mm de largura) na região central do mesmo lado da fruta. Posteriormente, cada fruta foi cuidadosamente imersa em 400 mL da dispersão formadora do revestimento de alginato de sódio adicionado do extrato de subproduto de fruta fermentado,

por dois minutos e, em seguida, imersa em solução de cloreto de cálcio (2 g/100 mL) por um minuto como forma de promover a reticulação do revestimento.

As frutas foram secas ao ar sob papel de filtro absorvente e mantidas em uma cabine de biossegurança por duas horas para secagem completa. Um tampão de ágar (5 mm de diâmetro) contendo estruturas das espécies de *Coletotrichum* testadas (obtidas da margem de uma colônia cultivada em ABD por sete dias a 25 °C) foi inoculado no ponto de punção da fruta. O tampão de ágar foi aderido à superfície das frutas com fita adesiva (Fernandes; De Oliveira; Souza, 2021). Para controle negativo, as frutas foram imersas por dois minutos nos revestimentos de alginato de sódio, bem como em água destilada esterilizada com glicerol (2,5 mL/100mL) (Gomes *et al.*, 2020).

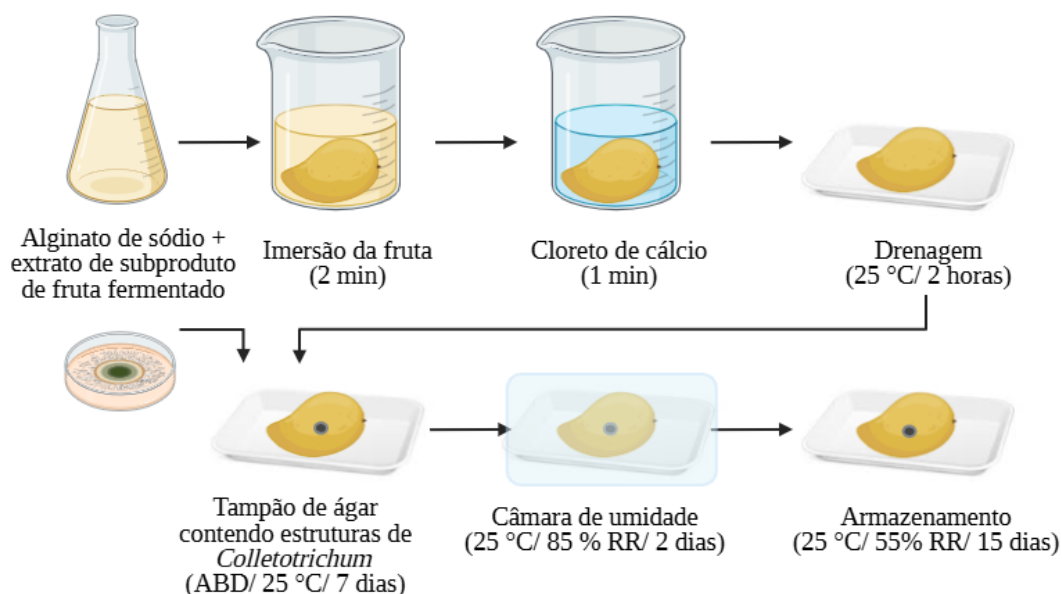
Posteriormente, as frutas foram distribuídas individualmente em recipientes de polietileno forrados com papel toalha umedecido com água destilada esterilizada para formar uma câmara úmida e cobertas com saco plástico comercialmente esterilizado para manter a umidade relativa do ar elevada (aproximadamente 85%). Os recipientes foram mantidos em temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C) e as câmaras de umidade removidas após 48 horas de armazenamento ($25 \pm 0,5$ °C, 55% UR) (Carrillo-Lomelí *et al.*, 2024).

As frutas revestidas foram analisadas quanto ao progresso dos sintomas característicos de antracnose e medição do diâmetro da lesão de antracnose (Braga *et al.*, 2019) em diferentes intervalos de tempo de armazenamento (6, 9, 12 e 15 dias) sob temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C), simulando as condições de comercialização. Os resultados foram expressos como percentual de redução do diâmetro da lesão de antracnose (%RDLA), o qual foi medido com base na diferença do diâmetro da lesão nas frutas revestidas com alginato de sódio e de extratos hidroalcoólicos dos subprodutos de fruta fermentados em comparação com o diâmetro da lesão nas frutas não tratadas (controle negativo) e calculado com a seguinte equação (Braga *et al.*, 2019):

$$\%RDLA = [(N - F) / N] \times 100 \quad (\text{equação 2})$$

Onde N é o diâmetro da lesão de antracnose em frutas não tratadas (controle negativo) e F é o diâmetro da lesão de antracnose em frutas revestidas.

Figura 10 - Esquema da aplicação dos revestimentos com extratos de subprodutos de frutas fermentados com BAL em mangas e goiabas.



Fonte: Autoria Própria, 2024.

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os ensaios dos efeitos sobre o crescimento micelial fúngico e dos parâmetros físico-químicos dos extratos foram realizados em triplicata em três experimentos independentes. Os experimentos para avaliar o desenvolvimento de antracnose nas frutas foram realizados considerando um delineamento experimental com três repetições para cada grupo experimental (tratamentos) e seis frutas por repetição em três experimentos independentes. Os resultados foram expressos por análise descritiva como média $\pm$ desvio padrão. O teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov avaliou se os dados obtidos tinham uma distribuição normal. O teste de Levene determinou se os dados satisfaziam a suposição de homogeneidade (variância igual). A análise de variância (ANOVA) seguida do teste post hoc de Tukey ou Duncan determinou as diferenças ($p \leq 0,05$) entre os resultados. A análise estatística foi realizada utilizando o software Sigma Stat 3.5 (Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA).

5 RESULTADOS

Conforme as normas estipuladas pelo colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição/CCS/UFPB, os resultados desta dissertação estão apresentados na forma de um artigo original apresentado no apêndice A.

No artigo intitulado “A novel sodium alginate coating with extracts of fruit by-products fermented with lactic acid bacteria to control anthracnose in mango and guava”, foi observado que os extratos hidroalcoólicos fermentados dos subprodutos de acerola e manga apresentaram teores mais altos de flavonoides e fenólicos totais do que os do caju e da uva, o que possivelmente contribuiu para a maior atividade antioxidante e antifúngica observada nos ensaios *in vitro*. Quanto aos demais parâmetros físico-químicos os extratos apresentaram variações em acidez, pH, sólidos solúveis totais e ácido ascórbico, com uma acidificação mais acentuada nos extratos hidroalcoólicos fermentados. A análise de cor indicou diferenças significativas, associadas à pigmentação das frutas. A aplicação de revestimentos formulados com extratos hidroalcoólicos fermentados dos subprodutos de acerola e manga foi capaz de reduzir o progresso e a severidade do desenvolvimento de antracnose em mangas e goiabas durante 15 dias de armazenamento em temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C). Os revestimentos formulados com alginato de sódio e extratos de subprodutos de acerola e manga fermentados podem ser usados como estratégias tecnológicas e sustentáveis para o manejo de antracnose pós-colheita em mangas e goiabas.

REFERÊNCIAS

ABBASI-PARIZAD, P. *et al.* Polyphenol bioactivity evolution during the spontaneous fermentation of vegetal by-products. **Food Chemistry**, v. 374, e131791, 2022.

ABDEL AZIZ, M. S.; SALAMA, H. E. Development of alginate-based edible coatings of optimized UV-barrier properties by response surface methodology for food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 212, p. 294–302, 2022.

AGUIRRE-GÜITRÓN, L. *et al.* Formulation of the biological control yeast *Meyerozyma caribbica* by electrospraying process: effect on postharvest control of anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.) and papaya (*Carica papaya* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 2, p. 696–706, 2022.

AKMAN, P. K.; KUTLU, G.; TORNUK, F. Development and characterization of a novel sodium alginate based active film supplemented with *Lactiplantibacillus plantarum* postbiotic. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 244, p. 125240, 2023.

ALBUQUERQUE, T. M. R. *et al.* In vitro characterization of *Lactobacillus* strains isolated from fruit processing by-products as potential probiotics. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, United States, v. 10, p. 704-716, 2018.

ALVAREZ, M. V. *et al.* Prebiotic-alginate edible coating on fresh-cut apple as a new carrier for probiotic lactobacilli and bifidobacteria. **LWT - Food Science and Technology**, v. 137, e110483, 2021.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 20th ed, Gaithersburg: AOAC 50 International, 2016.

ARAÚJO, C. M. *et al.* Exploiting tropical fruit processing coproducts as circular resources to promote the growth and maintain the culturability and functionality of probiotic lactobacilli. **Food Microbiology**, v 123, e104596, 2024a. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104596>

ARAÚJO, C. M. *et al.* Fermenting Acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) and Guava (*Psidium guayaba* L.) Fruit Processing Co-Products with Probiotic Lactobacilli to Produce Novel Potentially Synbiotic Circular Ingredients. **Foods**, v. 13, n. 9, p. 1375, 2024b.

BAHULE, C. E. *et al.* Metaproteomics as a tool to optimize the maize fermentation process. **Trends in Food Science & Technology**, v. 129, p. 258-265, 2022.

BAMBACE, M. F; ALVAREZ, M. V.; MOREIRA, M.R. Novel functional blueberries: Fructo-oligosaccharides and probiotic *lactobacilli* incorporated into alginate edible coatings. **Food Research International**, v. 122, p. 653-660, 2019.

BAMBACE, M. F.; ALVAREZ, M. V.; MOREIRA, M. DEL R. Alginate coatings applied on apple cubes as a vehicle for *Lacticaseibacillus casei*: probiotic viability and overall quality of a new functional product. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 105, p. 74–83, 2025.

- BRAGA, S. P. *et al.* Application of coatings formed by chitosan and *Mentha* essential oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum gloesporioides* and *C. brevisporum* in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 139, p. 631-639, 2019.
- BORDOH, P. K. *et al.* A review on the management of postharvest anthracnose in dragon fruits caused by *Colletotrichum* spp. **Crop Protection**, v. 130, p. 105067, 2020.
- CÁDIZ-GURREA, M. L. *et al.* Revalorization of bioactive compounds from tropical fruit by-products and industrial applications by means of sustainable approaches. **Food Research International**, v. 138, e109786, 2020.
- CARRILLO-LOMELÍ, D. A. *et al.* Influence of edible multilayer coatings with *Opuntia stenopetala* polysaccharides and *Flourensia microphylla* extract on the shelf-life of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 332, e113224, 2024.
- CASAROTTI, S. N. *et al.* Guava, orange and passion fruit by-products: Characterization and its impacts on kinetics of acidification and properties of probiotic fermented products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 98, p. 69-76, 2018.
- CHAVAN, P. *et al.* Recent advances in the preservation of postharvest fruits using edible films and coatings: A comprehensive review. **Food Chemistry**, v. 418, e135916, 2023.
- CHEN, H. *et al.* Antifungal activity and mode of action of lactic acid bacteria isolated from kefir against *Penicillium expansum*. **Food Control**, v. 130, e108274, 2021.
- CHENG, Y. J. *et al.* Impact of Storage Condition on Chemical Composition and Antifungal Activity of Pomelo Extract against *Colletotrichum gloesporioides* and Anthracnose in Post-harvest Mango. **Plants**, v. 11, n. 15, 2022.
- CHUACHAROEN, T.; SABLIOV, C. Development of coating material by incorporating curcumin-loaded zein nanoparticles to maintain the quality of mango (*Mangifera indica* L. cv. Nam Dokmai). **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 10, e100444, 2022.
- CIOFINI, A. *et al.* Management of Post-Harvest Anthracnose: Current Approaches and Future Perspectives. **Plants**, v. 11, n. 14, 2022.
- CUÉLLAR-TORRES, E. A. *et al.* Postharvest application effect of agave fructans on anthracnose disease, defense-related enzyme activities, and quality attributes in avocado fruit. **Food Science and Biotechnology**, v. 31, n. 11, p. 1411–1421, 2022.
- Commission Internationale de l'Eclairage (CIE). Colorimetry. 2 ed., Publication CIE, n. 15.2. Commission Internationale de l'Eclairage, Vienna, 1986.
- DA SILVA, L. L. *et al.* *Colletotrichum*: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 5, p. 1891–1904, 2020.
- DA SILVA, J. Y.P. *et al.* Revealing the Potential Impacts of Nutraceuticals Formulated with Freeze-Dried Jabuticaba Peel and *Limosilactobacillus fermentum* Strains Candidates for

Probiotic Use on Human Intestinal Microbiota. *Probióticos e Antimicro. Prot.* 16, 1773–1789 (2024). <https://doi.org/10.1007/s12602-023-10134-x>

DE ALBUQUERQUE, M. A. C. *et al.* Tropical fruit by-products water extracts of tropical fruit by-products as sources of soluble fibres and phenolic compounds with potential antioxidant, anti-inflammatory, and functional properties. **Journal of Functional Foods**, v. 52, p. 724-733, 2019.

DE OLIVEIRA, S. D. *et al.* Spontaneous fermentation improves the physicochemical characteristics, bioactive compounds, and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) and guava (*Psidium guajava* L.) fruit processing by-products. **3 Biotech**, v. 13, e315, 2023.

DE OLIVEIRA, S. D. *et al.* Improvement in physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) and guava (*Psidium guajava* L.) fruit by-products fermented with potentially probiotic lactobacilli. **LWT - Food Science and Technology**, v. 134, e110200, 2020.

DE SIMONE, N. *et al.* Inclusion of Antifungal and Probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* Strains in Edible Alginate Coating as a Promising Strategy to Produce Probiotic Table Grapes and Exploit Biocontrol Activity. **Horticulturae**, v. 10, n. 4, 2024.

DE SOUZA LIMA, A. C. *et al.* Evaluation of freeze-dried phenolic extract from cashew apple by-product: Physical properties, in vitro gastric digestion and chemometric analysis of the powders. **Food Chemistry: Molecular Sciences**, v. 5, e100149, 2022.

DERESA, E. M; DIRIBA, T. F. Phytochemicals as alternative fungicides for controlling plant diseases: A comprehensive review of their efficacy, commercial representatives, advantages, challenges for adoption, and possible solutions. **Heliyon**, v. 9, e13810, 2023.

DIAS, J. V. B. *et al.* Probiotic and synbiotic edible coatings: Effects on *Lactocaseibacillus casei* viability and general quality of minimally processed fruit during storage. **Food Bioscience**, v. 56, e103144, 2023.

DIEZ-OZAETA, I.; ASTIAZARAN, O. J. Fermented foods: Na update on evidence-based health benefits and future perspectives. **Food Research International**, v. 156, e111133, 2022.

DING, Z. *et al.* Valorization of tropical fruits waste for production of commercial biorefinery products – A review. **Bioresource Technology**, v. 374, p. 1–9, 2023.

DOFUOR, A. K. *et al.* Mango anthracnose disease: the current situation and direction for future research. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1–18, 2023.

DOS SANTOS NASCIMENTO, D., SAMPAIO, K.B., DO NASCIMENTO, Y.M. *et al.* Evaluating the Stability of a Novel Nutraceutical Formulation Combining Probiotic *Limosilactobacillus fermentum* 296, Quercetin, and Resveratrol Under Different Storage Conditions. **Probiotics & Antimicro. Prot.**, v. 16, p. 13–25, 2024. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-10011-z>

EBRAHIMZADEH, S. *et al.* Incorporation of essential oils in edible seaweed-based films: A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 135, p. 43-56, 2023.

FERNANDES, K. F. D. Aplicação de revestimentos à base de alginato de sódio incorporados de bactérias lácticas para controle de antracnose em goiaba e manga. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/22340>. Acesso em: 15 set. 2023.

FERNANDES, K. F. D.; DE OLIVEIRA, K. A. R.; SOUZA, E. L. Application of Potentially Probiotic Fruit-Derived Lactic Acid Bacteria Loaded into Sodium Alginate Coatings to Control Anthracnose Development in Guava and Mango During Storage. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 15, p. 573–587, 2021.

FERRI, M. *et al.* Phytochemicals Recovery from Grape Pomace: Extraction Improvement and Chemometric Study. **Foods**, v. 12, e959, 2023.

FORMIGA, A. S. *et al.* Effects of edible coatings on the quality and storage of early harvested guava. **Food Chemistry Advances**, v. 1, e100124, 2022.

FRANCISCO, C. B. *et al.* Shelf-life of guavas coated with biodegradable starch and cellulose-based films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 152, p. 272–279, 2020.

FREIRE, M. O. L. *et al.* *Limosilactobacillus fermentum* Strains as Novel Probiotic Candidates to Promote Host Health Benefits and Development of Biotherapeutics: A Comprehensive Review. **Probiotics & Antimicro. Prot.**, v. 16, p. 1483–1498, 2024.
<https://doi.org/10.1007/s12602-024-10235-1>

GARCIA, E. F. *et al.* Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing byproducts and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. **Frontiers in microbiology**, [Switzerland], v. 7, p. 1371, 2016.

GHOSH, M.; SINGH, A. K. Potential of engineered nanostructured biopolymer based coatings for perishable fruits with Coronavirus safety perspectives. **Progress in Organic Coatings**, v. 163, e106632, 2022.

GOMES, A. C. A. *et al.* Coatings with chitosan and phenolic-rich extract from acerola (*Malpighia emarginata* DC) or jabuticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) processing by-product to control rot caused by *Lasiodiplodia* spp. in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 331, e108694, 2020.

GÓMEZ-MALDONADO, D. *et al.* Antifungal activity of mango kernel polyphenols on mango fruit infected by anthracnose. **Lwt**, v. 126, e109337, 2020.

GUPTA, A. K. *et al.* A review on valorization of different byproducts of mango (*Mangifera indica* L.) for functional food and human health. **Food Bioscience**, v. 48, e101783, 2022.

HASAN, K. *et al.* Effect of Alginate Edible Coatings Enriched with Black Cumin Extract for Improving Postharvest Quality Characteristics of Guava (*Psidium guajava* L.) Fruit. **Food**

and Bioprocess Technology, v. 15, n. 9, p. 2050–2064, 2022.

HATZAKIS, E. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy in Food Science: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 1, p. 189–220, 2019.

HERIGSTAD, B.; HAMILTON, M.; HEERSINK, J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, v. 44, n. 2, p. 121–129, 2001.

HILL, C. *et al.* Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol.**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

HUSAIN, A. *et al.* Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from soil rhizosphere on *Fusarium* species infected chilli seeds. **American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences**, [s.l.], v. 29, p. 182–202, 2017.

HURTADO-ROMERO, A. *et al.* Characterization of berry by-products as fermentable substrates: Proximate and phenolic composition, antimicrobial activity, and probiotic growth dynamics. **Lwt**, v. 204, e116468, 2024.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agro 2017**. Resultados definitivos. Disponível em: https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/index.html. Acesso em: 23 dez. 2024.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores Brasileiros para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável**. Transformando Nosso Mundo - A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. Disponível em: <https://odsbrasil.gov.br/home/agenda>. Acesso em: 31 mai. 2023.

IÑIGUEZ-MORENO, M. *et al.* Characterization of sodium alginate coatings with *Meyerozyma caribbica* and impact on quality properties of avocado fruit. **LWT - Food Science and Technology**, v. 152, e 112346, 2021.

IÑIGUEZ-MORENO, M. *et al.* Sodium alginate coatings added with *Meyerozyma caribbica*: Postharvest biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado (*Persea Americana* Mill. cv. Hass). **Postharvest Biology and Technology**, v. 163, e111123, 2020.

JANOWICZ, M. *et al.* The Potential of Edible Films, Sheets, and Coatings Based on Fruits and Vegetables in the Context of Sustainable Food Packaging Development. **Polymers**, v. 15, n. 21, 2023.

KAYA, M. *et al.* Production and characterization of chitosan based edible films from *Berberis crataegina*'s fruit extract and seed oil. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 45, p. 287–297, 2018.

KIST, B. B.; CARVALHO, C.; BELING, R. R. **Anuário Brasileiro de Horti & Fruti 2023**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2023. 96p.

- KHODADADI, F. *et al.* Identification and characterization of *Colletotrichum* species causing apple bitter rot in New York and description of *C. noveboracense* sp. nov. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–19, 2020.
- KONSUE, W.; DETHOUP, T.; LIMTONG, S. Biological control of fruit rot and anthracnose of postharvest mango by antagonistic yeasts from economic crops leaves. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, p. 1–16, 2020.
- KULVIWAT, N.; EZE, F. N.; OVATLARNPORN, C. The impact of alginate composites enriched with spent black tea, green tea, jasmine tea, and Oolong tea wastes on the shelf-life extension of fruits and vegetables. **Applied Food Research**, v. 3, e100290, 2023.
- KUPERVASER, M. G. *et al.* Trends in starch-based edible films and coatings enriched with tropical fruits extracts: a review. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 4, e100138, 2023.
- LEBAKA, V. R. *et al.* Nutritional Composition and Bioactive Compounds in Three Different Parts of Mango Fruit. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 2, p. 741, 2021.
- LEVANTE, A. *et al.* Phenotypic Diversity of *Lactobacillus casei* Group Isolates as a Selection Criterion for Use as Secondary Adjunct Starters. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 128, 2020.
- LI, S. *et al.* Cassava starch/carboxymethylcellulose edible films embedded with lactic acid bacteria to extend the shelf life of banana. **Carbohydrate Polymers**, v. 248, p. 116805, 2020.
- LI, S. N. *et al.* Metabolomic profile of milk fermented with *Streptococcus thermophilus* cocultured with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, or both during storage. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 8493-8505, 2021.
- LI, M. *et al.* Incorporation of *Lactococcus lactis* and Chia Mucilage for Improving the Physical and Biological Properties of Gelatin-Based Coating: Application for Strawberry Preservation. **Foods**, v. 13, n. 7, 2024a.
- LI, N. *et al.* An alginate-based edible coating containing lactic acid bacteria extends the shelf life of fresh strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 274, p. 133273, 2024b.
- LIANG, Y.-S. *et al.* Postharvest Application of *Bacillus amyloliquefaciens* PMB04 Fermentation Broth Reduces Anthracnose Occurrence in Mango Fruit. **Agriculture**, v. 12, e1646, 2022.
- LIMA, M. C. *et al.* Phenolic-rich extracts from acerola, cashew apple and mango by-products cause diverse inhibitory effects and cell damages on enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 75, n. 3, p. 565–577, 2022.
- LIMA, M. C. *et al.* Evidence for the Beneficial Effects of Brazilian Native Fruits and Their By-Products on Human Intestinal Microbiota and Repercussions on Non-Communicable Chronic Diseases—A Review. **Foods**, v. 12, e3491, 2023.

LIMA, N. B. *et al.* Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, London, v. 141, p. 679-688, 2015.

LIMA, N. B. *et al.* Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, [s.l.], v. 61, p. 75-88, 2013.

LUNDGREN, G. A. *et al.* Antifungal effects of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist essential oil against pathogenic *Colletotrichum musae* and its incorporation in gum Arabic coating to reduce anthracnose development in banana during storage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, p. 547-561, 2021.

MAPELLI-BRAHM, P. *et al.* The impact of fermentation processes on the production, retention and bioavailability of carotenoids: An overview. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 389-401, 2020.

MÁRMOL, I. *et al.* Valorization of agro-food by-products and their potential therapeutic applications. **Food and Bioproducts Processing**, v. 128, p. 247-258, 2021.

MARTÍNEZ-BLAY, V. *et al.* Edible coatings formulated with antifungal GRAS salts to control citrus anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and preserve postharvest fruit quality. **Coatings**, v. 10, n. 8, p. 1–19, 2020.

MARTINS, A. N. *et al.* Desempenho de cultivares de goiabeiras em ambientes irrigado e sequeiro. **Colloquium Agrariae**, v. 16, n. 2, p. 82–89, 2020.

MATHUR, H. *et al.* Health Benefits of Lactic Acid Bacteria (LAB) Fermentates. **Nutrients**, v. 12, e1679, 2020.

MATROSE, N. A. *et al.* Plant extracts and other natural compounds as alternatives for post-harvest management of fruit fungal pathogens: A review. **Food Bioscience**, v. 41, n. 2020, p. 100840, 2021.

MD NOR, S.; DING, P. Trends and advances in edible biopolymer coating for tropical fruit: A review. **Food Research International**, n. 134, p. 109208, 2020.

MOHAMMADNEZHAD, P.; VALDÉS, A.; ÁLVAREZ-RIVERA, G. Bioactivity of food by-products: an updated insight. **Current Opinion in Food Science**, v. 52, e1010652023, 2023.

MOREIRA, E. De S. *et al.* Effect of modified starch and gelatin by-product based edible coating on the postharvest quality and shelf life of guava fruits. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.

MPELUZA, A. S. *et al.* Efficacy of Lactic Acid Bacteria as a Biocontrol Agent against Anthracnose (*Persea americana* Miller) Decay in Avocado (*Persea americana*) cv Fuerte Fruit. **Agriculture (Switzerland)**, v. 13, n. 2, 2023.

NAIR, M. S.; SAXENA, A.; KAUR, C. Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava* L.). **Food chemistry**, v. 240, p. 245-252, 2018.

- NAIR, M. S. *et al.* Enhancing the functionality of chitosan-and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 304-320, 2020.
- NASROLLAHZADEH, A. *et al.* Antifungal Preservation of Food by Lactic Acid Bacteria. **Foods**, v. 11, e395, 2022.
- NETO, J. A. DA S. *et al.* Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Colletotrichum Gloeosporioides* isolated from mango. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 3, p. 514–527, 2022.
- OLIVER-SIMANCAS, R. *et al.* Comprehensive research on mango by-products applications in food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 118, p. 179–188, 2021.
- OLIVEIRA FILHO, J. G. *et al.* Chemical composition and antifungal activity of essential oils and their combinations against *Botrytis cinerea* in strawberries. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, p. 1815-1825, 2021.
- OLIVEIRA, L. I. G. *et al.* Characterization and efficacy of a composite coating containing chitosan and lemongrass essential oil on postharvest quality of guava. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 66, e102506, 2020.
- OLIVEIRA, P. D. L. *et al.* Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (D.C. ex Nees) Stapf. essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 266, p. 87–94, 2018.
- OMEDI, J. O. *et al.* Suitability of pitaya fruit fermented by sourdough LAB strains for bread making: its impact on dough physicochemical, rheo-fermentation properties and antioxidant, antifungal and quality performance of bread, **Heliyon**, v. 7, n. 11, e08290, 2021.
- OUAHABI, S. *et al.* Study of the Phytochemical Composition, Antioxidant Properties, and *In Vitro* Anti-Diabetic Efficacy of *Gracilaria bursa-pastoris* Extracts. **Marine Drugs**, v. 21, n. 7, p. 372, 2023.
- PAULA, D. G. C. DE. *et al.* Maceration time over antioxidant activity, volatile compounds and temporal dominant sensation of fermented jabuticaba. **Food Science and Technology**, v. 42, p. e43221, 2022.
- PARREIDT, T. S. *et al.* The development of a uniform alginate-based coating for cantaloupe and strawberries and the characterization of water barrier properties. **Foods**, v. 8, p. 203, 2019.
- PERALTA-RUIZ, Y. *et al.* Green Management of Postharvest Anthracnose Caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Fungi**, v. 9, e623, 2023.
- PEREIRA, D. T. V. *et al.* Integration of pressurized liquids and ultrasound in the extraction of bioactive compounds from passion fruit rinds: Impact on phenolic yield, extraction kinetics and technical-economic evaluation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.

67, e102549, 2021.

RANJBAR, M. *et al.* Investigating the microbial properties of sodium alginate/chitosan edible film containing red beetroot anthocyanin extract for smart packaging in chicken fillet as a pH indicator. **Heliyon**, v. 9, n. 8, e18879, 2023.

RANJITH, F. H. *et al.* Influence of natural antifungal coatings produced by lacto-fermented antifungal substances on respiration, quality, antioxidant attributes, and shelf life of mango (*Mangifera indica* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 189, e111904, 2022.

RATTANAKREETAKUL, C. *et al.* Two Newly Identified *Colletotrichum* Species Associated with Mango Anthracnose in Central Thailand. **Plants**, v. 12, n. 5, 2023.

REGUENGO, L. M. *et al.* Agro-industrial by-products: Valuable sources of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 152, n. 2021, 2022.

RIOS, D. A. S. *et al.* Food coating using vegetable sources: importance and industrial potential, gaps of knowledge, current application, and future trends. **Applied Food Research**, v. 2, e100073, 2022.

RUIZ RODRÍGUEZ, L. G. *et al.* Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages. **Food Research International**, v. 140, e109854, 2021.

SAPNA *et al.* Potential of emerging “all-natural” edible coatings to prevent post-harvest losses of vegetables and fruits for sustainable agriculture. **Progress in Organic Coatings**, v. 193, p. 108537, 2024.

SHARMA, A. *et al.* Effectiveness of fungal, bacterial and yeast antagonists for management of mango anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, n. 1, 2021.

SHI, X. C. *et al.* Biocontrol strategies for the management of *Colletotrichum* species in postharvest fruits. **Crop Protection**, v. 141, n. August 2020, p. 105454, 2021

SILVA NETO, J. A. D. *et al.* Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from mango. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 3, p. 514–527, 2022.

SILVA, S. P. M.; TEIXEIRA, J. A.; SILVA, C. C. G. Recent advances in the use of edible films and coatings with probiotic and bacteriocin-producing lactic acid bacteria. **Food Bioscience**, v. 56, 2023.

SINGH, M.; SAROJ, R.; KAUR, D. Optimized chitosan edible coating for guava and its characterization. **Measurement: Food**, v. 14, p. 100145, 2024.

SIROHI, R. *et al.* Harnessing fruit waste for poly-3-hydroxybutyrate production: A review. **Bioresource Technology**, v. 326, e124734, 2021.

SOARES, W. R. O. *et al.* Diversity of *Colletotrichum* causing anthracnose on Psidium

guajava in varied Brazilian physiographic regions. **Plant Pathology**, v. 73, n. 5, p. 1213–1228, 2024.

SOUSA, F. F. *et al.* Conservation of ‘Palmer’ mango with an edible coating of hydroxypropyl methylcellulose and beeswax. **Food Chemistry**, v. 346, n. 2020, 2021.

SOUZA, E. L.; OLIVEIRA, K. Á. R.; OLIVEIRA, M. E. G. de. Influence of lactic acid bacteria metabolites on physical and chemical food properties. **Current Opinion in Food Science**, v. 49, e100981, 2023.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). **Goiaba, vermelha, inteira, c/ casca, in natura, Brasil, *Psidium guajava* L.** Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo, 2023. Disponível em: https://www.tbca.net.br/base-dados/int_composicao_alimentos.php?cod_produto=BRC0016C. Acesso em: 23 dez. 2024.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). **Manga, Palmer, polpa, in natura, Brasil, *Mangifera indica* L. << Manga, ‘Palmer’, polpa, crua, Brasil** Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo, 2023. Disponível em: https://www.tbca.net.br/base-dados/int_composicao_alimentos.php?cod_produto=BRC0047C. Acesso em: 23 dez. 2024.

TLAIS, A. Z. A. *et al.* High-Value Compounds in Fruit, Vegetable and Cereal Byproducts: An Overview of Potential Sustainable Reuse and Exploitation. **Molecules**, v. 25, e 2987, 2020.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **UNEP FOOD WASTE INDEX REPORT 2021**. Disponível em: <https://www.unep.org/resources/report/unep-food-waste-index-report-2021>. Acesso em: 1 out. 2023.

U.S. Department of Agriculture (USDA). **Guava, raw**: USDA food and nutrient Database for dietary studies 2021-2023. U.S. Department of agriculture, agricultural research service. <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/2709238/nutrients>. Acesso em: 16 nov. 2024.

U.S. Department of Agriculture (USDA). **Mango, raw**: USDA food and nutrient Database for dietary studies 2021-2023. U.S. Department of agriculture, agricultural research service. <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/2709242/nutrients>. Acesso em: 16 nov. 2024.

VARGAS-TORRICO, M. F. *et al.* Preparation and characterization of gelatin-carboxymethylcellulose active film incorporated with pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extract for the preservation of raspberry fruit. **Food Hydrocolloids**, v. 150, p. 109677, 2024.

VIEIRA, W. A. S. *et al.* First report of papaya fruit anthracnose caused by *Colletotrichum brevisporum* in Brazil. **Plant Disease**, [s.l.], v. 97, p. 1659-1659, 2013.

VINDEROLA, G.; SANDERS, M. E.; SALMINEN, S. The Concept of Postbiotics. **Foods**, v. 11, n. 8, e1077, 2022. doi: 10.3390/foods11081077.

VITTI, K. A.; LIMA, L. M.; MARTINES FILHO, J. G. Agricultural and economic characterization of guava production in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 42, n.

1, p. e–447, 2020.

WONGKAEW, M. *et al.* Mango Peel Pectin: Recovery, Functionality and Sustainable Uses. **Polymers**, v. 13, e3898, 2021.

WU, Y. M. *et al.* *Bacillus amyloliquefaciens* strains control strawberry anthracnose through antagonistic activity and plant immune response intensification. **Biological Control**, v. 157, e104592, 2021.

ZAKARIA, L. Diversity of colletotrichum species associated with anthracnose disease in tropical fruit crops - A review. **Agriculture (Switzerland)**, v. 11, n. 4, 2021.

ZHANG, Y. *et al.* The dual function of calcium ion in fruit edible coating: Regulating polymer internal crosslinking state and improving fruit postharvest quality. **Food Chemistry**, v. 447, n. 2023, p. 138952, 2024.

ZHOU, D. *et al.* Biocontrol potential of a newly isolated *Streptomyces* sp. HSL-9B from mangrove forest on postharvest anthracnose of mango fruit caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Food Control**, v. 135, n. January, p. 108836, 2022.

ZHOU, Y. *et al.* Biotransformation of phenolics and metabolites and the change in antioxidant activity in kiwifruit induced by *Lactobacillus plantarum* fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 8, p. 3283–3290, 2020.

ZITHA, E. Z. M. *et al.* Impact of processing and packages on bioactive compounds and antioxidant activity of Mangaba Jelly. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.

YANG, Z. *et al.* Development and characterization of sodium alginate/tea tree essential oil nanoemulsion active film containing TiO₂ nanoparticles for banana packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 213, n. 31, p. 145-154, 2022.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Artigo

Controlling anthracnose in mango and guava with sodium alginate coatings containing extracts of fruit by-products fermented with lactic acid bacteria

Running title:

Abstract (250 words)

This study evaluated the efficacy of the application of a coating formulated with sodium alginate and hydroalcoholic extracts of fruit byproducts fermented with lactic acid bacteria (LAB), i.e. a mix of *Levilactobacillus brevis* 59, *Lactiplantibacillus pentosus* 129, and *Limosilactobacillus fermentum* 263, for the control of anthracnose caused by different species of *Colletotrichum* spp. in mango cv. Palmer and guava cv. Paluma. The hydroalcoholic extracts of fermented and unfermented acerola, cashew, mango, and grape by-products presented variations in acidity, pH, total soluble solids, and ascorbic acid, with a more pronounced acidification in the fermented hydroalcoholic extracts. Variations in the content of total phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activities were also observed. Sixteen chemical constituents were identified in hydroalcoholic extracts of fermented and unfermented acerola and mango by-products. Among the four hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products examined, acerola and mango extracts caused the highest percentage of mycelial growth inhibition (%MGI) against the target *Colletotrichum* species in the agar-well diffusion method (%MGI 19.5-76.31). Similarly, hydroalcoholic extracts of fermented acerola and mango by-products (100 mg/mL) showed the most promising inhibition results in minimal inhibitory concentration (%MGI 35.00-82.75). Coatings formulated with these extracts delayed the development and severity of anthracnose in mango and guava during storage with percentage of anthracnose lesion diameter reduction (%ALDR) of 3.93-87.01. The results indicate that coatings with added hydroalcoholic extracts of fermented acerola and mango by-products could be innovative and biocontrol strategies to manage postharvest anthracnose induced by *Colletotrichum* spp. in fruits.

Keywords: *Colletotrichum* spp.; post-harvest biocontrol; tropical fruits; fruit by-products; fermented extracts.

1. INTRODUCTION

Mango (*Mangifera indica* L.) and guava (*Psidium guajava* L.) are tropical fruits well accepted for consumption in their natural state, presenting a variety of nutrients, such as sugars, minerals, fiber, ascorbic acid, carotenoids, and phenolic compounds (Ding et al., 2023; Vitti et al., 2020). Brazil is a large consumer market, mainly for producing and exporting these fruits, especially in the Brazilian northeastern region (Kist et al., 2022). In 2022, production reached 564 thousand tons of guava and 1.5 million tons of mango, totaling an income of more than 550 thousand dollars (Kist et al., 2023). However, as one of the largest global producers, Brazil also faces problems with significant losses and waste of these products at different chain stages (Forbes, 2021; Sapna et al., 2024).

Due to their climacteric characteristics, guava and mango are highly susceptible to post-harvest metabolic changes that lead to physiological deterioration and the development of pathogens causing rot (Chuacharoen; Sabliov, 2022; Liang et al., 2022). More than 50% of diseases affecting fruits with commercial value are caused by a diversity of pathogenic fungi, resulting in quality loss and market devaluation (Bordoh et al., 2020; Gomes et al., 2020; Lundgren et al., 2021). Anthracnose caused by *Colletotrichum* spp. is a critical post-harvest disease (Ciofini et al., 2022; Neto et al., 2022). Due to the quiescent infection of the pathogen, its detection and occurrence management is complex, increasing fruit loss in marketing (Gómez-Caro et al., 2022). Although *C. gloesporioides* has traditionally been considered the primary agent of anthracnose in guava and mango, different *Colletotrichum* species, such as *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. tropicale*, *C. siamense*, *C. karstii*, and *C. chrysophilum*, have been associated with the development of anthracnose in these fruits (Cheng et al., 2022; Shi et al., 2022; Soares et al., 2024).

The main measures adopted to control post-harvest diseases caused by phytopathogenic fungi in fruits are the application of modified atmosphere, heat treatments, and synthetic fungicides (Deresa; Diriba, 2023; Oliveira et al., 2018). However, these methods have

deleterious effects on the final quality of the fruit, consumer health, and the environment. These aspects, combined with the growing consumer demand for foods with reduced use of chemicals, direct the search for alternative strategies to help manage anthracnose development in fruits (Wu et al., 2021). The application of plant extracts can be a promising method for controlling post-harvest diseases, with the possibility of using alternative circular resources for their preparation, such as fruit by-products (Matrose et al., 2021; Oliveira et al., 2023; Reguengo et al., 2022).

By-products from industrial fruit processing consist mainly of peels and seed remains and have high contents of bioactive compounds, primarily phenolic compounds with antimicrobial properties (Tlais et al., 2020). Studies reported that the preparation of extracts from fruit by-products could be a viable alternative for the formulation of natural antimicrobials to be incorporated into foods (Chit-aree et al., 2021; Lundgren et al., 2022; Gomes et al., 2020). Furthermore, biotechnological strategies, such as fermentation, can increase the production of bioactive compounds in these matrices (Ranjith et al., 2022).

The antagonistic capacity of LAB against post-harvest spoilage fungi has been used as a promising biopreservation technique in fruit conservation (Ranjith et al., 2022). LAB produce antifungal compounds, such as organic acids, bioactive peptides, and fatty acids, and the fermentation of plant products with LAB have resulted in increased antimicrobial activities against common food-borne pathogens (Ricci et al., 2019). An early study reported that fermenting fruit by-products with LAB increased the content of phenolic acids, such as salicylic and caffeic acid (Septembre-Malaterre et al., 2018), which could enhance the antifungal properties of the fermented substrate (Omedi et al., 2021).

Fruit coatings with antifungal properties have been used in the supply chain to maintain postharvest quality. The most common traditional application consists of incorporating synthetic fungicides into polyethylene waxes. However, there is an attempt to replace synthetic

waxes with natural biodegradable edible coatings and to activate these coatings with bioproducts instead of synthetic fungicides (Riolo et al., 2024). The application of edible coatings could delay the process of respiration, ripening, and microbial deterioration of fruits, resulting in better stability, quality, and safety (Ghosh; Singh, 2022; Iñiguez-Moreno et al., 2021; Iñiguez-Moreno et al., 2020). Sodium alginate-based coatings have been used as carriers of active substances for fruit application, with promising results reported in preserving these products (Ranjbar et al., 2023; Yang et al., 2022).

This study aimed to evaluate the potential application of a novel coating formulated with sodium alginate and hydroalcoholic extracts of fruit by-products fermented with LAB for the control of anthracnose caused by different *Colletotrichum* species in mango cv. Palmer and guava cv. Paluma, as well as to characterize the physical, chemical, and physicochemical aspects of the examined extracts.

2 Materials and methods

2.1 Materials

Fruit by-products were obtained from a local fruit pulp processing industry (João Pessoa, PB, Brazil). Samples (1000 g) of each by-product were collected, frozen (-18 ± 2 °C), and freeze-dried (temperature -55 ± 2 °C, vacuum pressure < 138 µHg, freeze drying speed 1 mm/h) for 24 h with a bench top lyophilizer (L-101 model, LIOTOP, São Carlos, SP, Brazil). Freeze-dried by-products were ground with a domestic blender to reduce particle size and stored at -18 ± 2 °C (Gomes et al., 2020).

Mangos (*Mangifera indica* L.) and guavas (*Psidium guajava* L.) were purchased in a commercial establishment (EMPASA, João Pessoa, PB, Brazil), considering uniform size and shape, absence of mechanical damage, and fungal infection. Mangos were selected at ripeness stage 3 (average of 50 % yellow or red peel) (Vilvert et al., 2021) and guavas at stage 2 (up to

80 % light green peel) (Moreira et al., 2022). Fruits were washed with neutral detergent and running tap water, immersed in sodium hypochlorite (150 ppm, 15 min), washed with potable water, and dried at room temperature (25 ± 0.5 °C, 2 h) (Gomes et al., 2020).

Sodium alginate (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, SP, Brazil), glycerol (Química Moderna, Barueri, SP, Brazil), sunflower oil (Cargill Agrícola SA, Recife, PE, Brazil), and tween 80 (Sigma - Aldrich, St. Louis, MO, USA) were used to formulate the coatings. Calcium chloride (Synth, Diadema, SP, Brazil) was applied to the coated fruits to form a gel through crosslinking with sodium alginate (Fernandes; de Oliveira; de Souza, 2021; Zhang et al., 2024).

2.2 Microorganisms and growth conditions

Three different LAB strains, namely *Levilactobacillus brevis* 59, *Lactiplantibacillus pentosus* 129, and *Limosilactobacillus fermentum* 263) were selected based on previous results demonstrating their antifungal capacity against *Colletotrichum* spp. (Fernandes; de Oliveira; de Souza, 2021). Stocks were maintained (-20 ± 0.5 °C) in de Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) broth (HiMedia, Mumbai, India) with glycerol (Sigma-Aldrich; 20 mL/100 mL). Before use in the assays, each LAB strain tested was cultured in MRS broth at 37 ± 0.5 °C for 20–24 h under anaerobiosis (Anaerobic System Anaerogen, Oxoid, Hampshire, UK). The mixed cell suspension was prepared by mixing the suspensions of each strain (ratio 1:1:1) (de Luna Freire et al., 2021).

Six different *Colletotrichum* species supplied by Culture Collection of Phytopathogenic Fungi Prof. Maria Menezes (Federal Rural University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil) were used as target organisms (Lima et al., 2013). The groups were separated according to the origin fruit source: *C. tropicale* CMM 4071, *C. siamense* CMM 4077, *C. karstii* CMM 4101, *C. gloeosporioides* CMM 320 isolated from mango; and *C. fruticola* LM 680, and *C. chrysophilum*

LM 685 isolated from guava. Stock cultures were maintained on potato dextrose agar (PDA; HiMedia, Mumbai, India) under refrigeration (4 ± 0.5 °C) and protected from light. Before use in the experiments, cultures were grown in ABD for seven days (25 ± 0.5 °C). Each isolate was inoculated separately on mango and guava, and after the development of lesions with anthracnose symptoms, they were recovered from the lesions and grown in PDA (25 ± 0.5 °C, 7 days).

2.3 Preparation of hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products

Freeze-dried fruits by-products (10 g) were mixed with sterile distilled water (30 mL) and mixed LAB culture (1:1:1 ratio) (20 mL) and subjected to fermentation under aerobics in an orbital shaker (Tecnal, TE-424, Piracicaba, SP, Brazil) at controlled temperature of 37 ± 0.5 °C, with agitation of 200 rpm (Rotation per Minute) for 48 h. Subsequently, fermented by-products (times 24 and 48 h) were homogenized with ethanol at 70% and 80% (1:10 v/v) (Modern Chemistry, Barueri, São Paulo, Brazil), followed by agitation in an orbital shaker at 200 rpm for 2 h at 30 ± 1 °C (model TE-141, Tecnal, Piracicaba, SP, Brazil).

These solutions were centrifuged (MPW-351R, MPW Med. Instruments, Warsaw, Poland; 1696 x g, 10 min, 4 °C), supernatants were collected, and the solid part was remixed using the same conditions. The solvent was removed with a rotary evaporator (model LGI-52CS-1, LS Logen Scientific, Flawil, Switzerland) under reduced pressure at 45 ± 0.5 °C. Each hydroalcoholic extract of fermented fruit by-products was stored in amber bottles under refrigeration (4 ± 0.5 °C) until the tests were performed (Gomes et al., 2020).

2.4 Viable cell count of LAB during fermentation

To count the viable cells of LAB in the fermented by-products at 0, 24, and 48 h of fermentation, a sample was diluted in saline solution (NaCl 8.5 g/L), homogenized, and serially

diluted (1:9, 10^{-1} to 10^{-6}) with the same diluent. An aliquot (10 μ L) of each dilution was inoculated into MRS agar plates (HiMedia) using the microdrop inoculation technique (Herigstad; Hamilton; Heersink, 2001) and incubated for 48 h at 37 ± 0.5 °C under anaerobiosis (Anaerogen System Anaerogen, Oxoid). The results were expressed in log CFU/mL for each monitored time interval. The detection limit for the viable cell count tests was 1 log CFU/mL (Fig 1).

2.5 Determination of physicochemical parameters of hydroalcoholic extracts of unfermented and fermented fruit by-products

The hydroalcoholic extracts of acerola, cashew, mango, and grape by-products unfermented and fermented with LAB were characterized for color, pH, titratable acidity (TA), total soluble solids (TSS), and ascorbic acid after 24 h of fermentation.

The color of the unfermented and fermented fruit by-product extracts was determined using a colorimeter (CR-410, Konica Minolta Sensing Americas, New Jersey, NY, USA), in which L^* measures luminosity, a^* indicates the green-red axis, b^* the blue-yellow axis, C^* (chroma) the color saturation and H° the hue angle (CIE, 1986). For pH measurements, an aliquot (10 mL) of the homogenized solution in duplicate was analyzed with a potentiometer with a combined glass electrode (AOAC, 2016; Method 981.12). Titratable acidity was determined by titration with 0.1 M NaOH in the presence of phenolphthalein as a pH change indicator. The results were expressed in g of citric acid/100 g of the sample (AOAC, 2016, method 920.15).

For TSS, aliquots (5 mL) of the fruit by-product extracts were homogenized and analyzed using a digital refractometer (Brix/RI Chek Model, Reichert Analytical Instruments, Depew, NY, USA) (AOAC 2016, method 932.12). The results were expressed as °Brix. The total ascorbic acid content was determined according to Tillman's method using a 2,6-

dichlorophenol-indophenol coloring solution, and the results were expressed in mg per 100 g of the sample (mg/100 g) (AOAC, 2016, method 967.26).

2.6 Determination of total phenolic compound and flavonoid content in hydroalcoholic extracts of unfermented and fermented fruit by-products

The total phenolic compound content of the fermented fruit by-product extracts was analyzed according to a previously reported method (Singleton, Orthofer, and Lamuela-Raventos, 1999). Dilutions of the samples were prepared (1.3, 1.7, 2.5, 5, 6.7, 10, 20, 25, 33.3, 50, and 100 $\mu\text{g/mL}$), and 30 μL of each dilution was transferred to a 96-well microplate. Then, 150 μL of Folin-Ciocalteu solution (10%) was added, and the plate was kept for 6 min at room temperature ($25 \pm 0.5^\circ\text{C}$). Subsequently, 120 μL of the 7.5% sodium carbonate solution was added to the wells and left for 5 min in a water bath ($50 \pm 0.5^\circ\text{C}$). Finally, the absorbance was read at a wavelength of 765 nm using BioTek Eon (Winooski, VT, USA). A gallic acid standard curve was used to determine the total phenolic content. Only the extracting solution was used to analyze the blank of the standard curve and the samples. The results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAA) per 100 grams of sample (mg GAA/100 g) (Ouahabi et al., 2024).

The total flavonoid content was determined using a previously described method (Guevara-Figueroa et al., 2010). An aliquot (0.5 mL) of fruit by-product extract was added to 2 mL of distilled water, and 150 μL of 5% sodium nitrite was added. After 5 min, 150 μL of 10% aluminum chloride was added, and after 6 min, 1 mL of 1 M sodium hydroxide and 1.2 mL of distilled water were added. The absorbance of the sample was measured at 510 nm using a microplate spectrophotometer (EON, BioTek Instruments Inc, Highland Park, USA) against a blank in the absence of the extracts. The total flavonoid content was determined using a standard curve of catechin equivalents (EC) (Sigma-Aldrich). The results were expressed as mg EC equivalents per 100 grams of sample (mg EC/100 g) (Zitha et al., 2022).

2.7 Determination of antioxidant capacity of hydroalcoholic extracts of unfermented and fermented fruit by-products

The antioxidant capacity of the fermented fruit by-product extracts was determined using the ABTS (2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), and FRAP (ferric reducing antioxidant power) methods. The absorbance measurements for the methods were carried out using a microplate spectrophotometer (EON, BioTek Instruments Inc, Winooski, VT, USA) at the respective wavelengths of 734, 515 and 595 nm (Silva et al., 2023).

The antioxidant capacity equivalent to Trolox by capturing the ABTS-[•] radical was measured according to a previously described method (Silva et al., 2023) using a Trolox standard curve (50-2000 μ M), with the results expressed in μ mol Trolox equivalents per gram of sample (μ mol Trolox/g). The antioxidant capacity measured by eliminating the DPPH-radical (Silva et al., 2023) was measured using a Trolox standard curve (50-2000 μ M), with the results expressed in μ mol Trolox equivalents per gram of sample (μ mol Trolox/g). The antioxidant power for the reduction of the TPTZ complex (2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine) with Fe³⁺ in the FRAP assay was evaluated according to Silva et al. (2023), with minor modifications. A ferrous sulfate standard curve (50-2000 μ M) was used, and the results were expressed as μ mol of ferrous sulfate per gram of sample (μ mol FeSO₄ /g) (Paula et al. 2022).

2.8 Determination of the global metabolic profile of fermented fruit by-product hydroalcoholic extracts

The Nuclear Magnetic Resonance (NMR) technique determined the global metabolic profile of fermented fruit by-product hydroalcoholic extracts. For the analysis, 2 mL aliquots of the hydroalcoholic extract at each fermentation time evaluated (0 and 24 h) were diluted

(1:1) in a solution with HPLC standard water (H₂O) and deuterated water (D₂O) (9:1, v/v), centrifuged (MPW-351R, 1696 x g, 10 min, 4 °C), and filtered through a 0.45 µm cellulose ester membrane (Millipore®). A 550 µL aliquot of the resulting solution was transferred into a quantitative tube (5 mm × 177.8 mm). The NMR experiments were carried out on Bruker Ascend 400 equipment, operating at 400 MHz for ¹H NMR and 100 MHz for ¹³C NMR (Bruker, Billerica, MA, USA). The following parameters were used to obtain the spectrum sequence: lc1pngpf2; temperature: 26 °C; the number of scans: 64; drummer scan: 4; receiver gain: 36; and acquisition time: 2.04 seconds (da Silva et al., 2024). The sample data matrix consisted of spectra formed by rows and columns (peaks) varying according to the intensity of the signals in the different regions evaluated. The spectra were processed using Bruker TopSpin 4.1.1 software. The intensities of the areas were used to quantify the relative quantities of the metabolites in the material analyzed during fermentation. The H₂O and D₂O regions were removed from the analysis (da Silva et al., 2024).

2.9 Evaluation of the effects of hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products on mycelial growth of Colletotrichum spp. in vitro

2.9.1 Agar-well diffusion method

The agar well diffusion method evaluated the effects of extracts from fermented fruit by-products on the mycelial growth of *Colletotrichum* spp. (Chen et al., 2021). Six mm diameter wells were punched in a dual-agar plate 2 cm away from a central point. A 100 µL aliquot of the fermented fruit by-products extracts tested was dispensed in wells. Sterile peptone water was used as a control in each application. An agar plug (5 mm diameter) with mycelia from target *Colletotrichum* isolates (previously grown for 7 days at 25 ± 0.5 °C in PDA) was transferred to the center of the dual-agar plate and incubated aerobically (25 ± 0.5 °C) for 5

days (Gómez-Maldonado et al., 2020). The percentage of the mycelial growth inhibition (%MGI) was calculated with the equation:

$$\%MGI = [(CT - TT)/CT] \times 100 \quad (Eq. 1)$$

Where %MGI is the percentage of mycelial growth inhibition, CT is the total mycelial growth of the target fungi in control assay, and TT is the total mycelial growth of the target fungi in media with the fermented hydroalcoholic extracts. After the screening, the fermented hydroalcoholic extracts that caused the most potent antifungal effects were used to evaluate the minimal inhibitory concentration.

2.9.2 Determination of minimal inhibitory concentration

Hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products were separately incorporated into PDA agar (pH 5.6), resulting in the final concentrations of 50, 75, and 100 mg/mL. One agar plug (5 mm diameter) with mycelia from the target *Colletotrichum* isolate (previously grown for 7 days at 25 ± 0.5 °C in PDA) was transferred to the center of a Petri dish with PDA supplemented with the different concentrations of the hydroalcoholic extracts and incubated (25 ± 0.5 °C). PDA without extracts was tested as a negative control (Gomes *et al.*, 2020).

Fungal growth was evaluated by measuring the diameter of the mycelial growth area in two orthogonal axes every 24 h of incubation until mycelial growth reached the edges of the Petri dish. Results were expressed as percentage of mycelial growth inhibition (%MGI) (Eq. 1) (Gómez-Maldonado et al., 2020). The concentrations of the fermented fruit by-products showing the more potent antifungal effects in these experiments were selected for incorporation into the sodium alginate coatings for application on fruits.

2.10 Preparation of coatings with sodium alginate and hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products

Sodium alginate (1.5 g/100 mL) was dissolved in distilled sterile heated water (70 °C) under stirring (240 rpm) for 30 min until its complete dissolution. Glycerol (0.75 g/100 g) was incorporated into sodium alginate dispersion to increase the flexibility of the formulated coatings. The surfactant Tween 80 (0.05 g/100 g) was incorporated into the coatings to improve their adherence to the fruit. Sunflower oil (0.04 g/100 g) was incorporated into the coatings as a source of lipids to increase the water barrier characteristics. All ingredients were stirred for 10 min under room temperature until their complete dissolution (Fernandes; de Oliveira; Souza, 2021).

The extracts of fermented fruit by-products were mixed separately into the sodium alginate coating, forming dispersions. A sodium alginate coating with glycerol (2.5 mL/100 mL), but without hydroalcoholic extracts, and sterile distilled water added to glycerol (2.5 mL/100 mL) were also prepared as negative controls. Calcium chloride (2 g/100 g) dispersed in sterile distilled water was applied by immersion on the fruit after coating to induce a gelling mechanism and crosslinking reaction to improve the water resistance and barrier properties (Fernandes; De Oliveira; Souza, 2021; Zhang et al., 2024).

2.11 Evaluation of the effects of coatings with sodium alginate and hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products on the anthracnose lesion development in mango and guava

The surface (epidermis) of each fruit (mango or guava) was wounded (five wounds per fruit) with a sterilized needle (3 mm-deep and 2 mm-wide) in the middle region on the same fruit side. Subsequently, each fruit was carefully immersed in 400 mL of the sodium alginate (1.5 g/100 mL) coating-forming dispersion containing the hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products (100 mg/mL) for 2 min and immersed in a calcium chloride solution (2 g/100 mL) for 1 min to promote crosslinking of the coating.

Fruits were air-dried on absorbent filter papers and maintained in a biosafety cabinet for 2 h for drying. An agar plug (5-mm diameter) with mycelia from *Colletotrichum* isolates (previously grown for 7 days at 25 ± 0.5 °C in PDA) was inoculated on the puncture point of an individual fruit. The agar plug was fixed with tape on the fruit surface (Ferreira; de Oliveira; Souza, 2021). For negative control, the fruits were immersed for 2 min in the sodium alginate coatings and in distilled water sterilized with glycerol (2.5 mL/100mL) (Gomes et al., 2020).

Fruits were distributed individually in Petri dishes and polyethylene containers lined with paper towels previously moistened with sterile distilled water to form a humid chamber and covered with a commercially sterile plastic bag to keep a high relative humidity (approximately 85%). Containers were maintained at room temperature (25 ± 0.5 °C), and humidity chambers were removed after 48 h of storage, which are conditions like those of fruit during retail commercialization. On different storage time intervals (days 6, 9, 12, and 15 days), the fruits were examined for visible characteristic symptoms and measurements of the diameter of anthracnose lesions (Carrillo-Lomelí et al., 2024).

Results were expressed as the percentage of anthracnose lesion diameter reduction (%ALDR) measured based on the difference of the lesion diameter in fruit coated with sodium alginate and hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products when compared to the lesion diameter in untreated fruit (negative control) and calculated with the equation 2 (Braga et al., 2019):

$$\%ALDR = [(N - F)/N] \times 100 \quad (Eq. 2)$$

N is the anthracnose lesion diameter in untreated fruit (negative control) and F is the anthracnose lesion diameter in coated fruit.

2.12 Statistical analysis

The experiments to evaluate the effects on fungal mycelial growth and physicochemical parameters in hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products were performed in triplicate in three independent experiments. The analysis of the anthracnose lesion development was developed using a completely randomized design with three repetitions for each experimental group (treatments) and six fruits per repetition in three independent experiments. The results were expressed as average $\pm$ standard deviation. The Kolmogorov–Smirnov normality test assessed whether the obtained data had a normal distribution. Levene’s test determines if the data satisfied the homogeneity assumption (equal variance). Analysis of variance (ANOVA) followed by post hoc Tukey’s or Duncan’s test determined differences ($p \leq 0.05$) among the results. Statistical analysis was done with Sigma Stat 3.5 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA).

3 Results and discussion

3.1 Viable cell count of LAB in fruit by-products during fermentation process

The viable cell counts of *L. brevis* 59, *L. pentosus* 129, and *L. fermentum* 263 in mixed culture were evaluated at 0 and 24 h of fermentation (Figure 1). Overall, the viable cell count was higher than 9 log CFU/g, and the highest count was detected in the fermented acerola by-product at 24 h of fermentation (9.8 ± 0.39 CFU/mL, $p \leq 0.05$). This substrate also resulted in an increase in viable cell count during the evaluated fermentation period. In the other by-products, the LAB viable cell count was impacted by the fermentation time, with a gradual decrease in viable cell counts over time. This behavior may reflect nutrient depletion or the accumulation of antagonistic metabolites, such as organic acids, produced by LAB during fermentation (Asadzadeh et al., 2020). This acidification can be characterized by decreasing the pH of the by-product samples during fermentation. It was possible to observe pH values ranging from

2.86 (± 0.01) to 3.17 (± 0.01), with a slight decrease in pH with increasing fermentation time (Table S1).

3.2 Physicochemical parameters of hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products

Table 1 shows the physicochemical parameters of the ethanol extracts of fermented and non-fermented acerola, cashew, mango, and grape by-products. The TA values were higher in fermented hydroalcoholic extracts than unfermented ones ($p \leq 0.05$). The lowest titratable acidity was 0.34 (± 0.10) for the unfermented grape by-product extract, and the highest titratable acidity was 1.12 (± 0.00) for the fermented acerola by-product extract. The pH values ranged from 3.01 (± 0.10) to 3.96 (± 0.04), with a lower pH detected for the unfermented acerola extract.

The fermented and unfermented acerola by-product extracts had higher values ascorbic acid content (328.46 ± 2.66 and 216.92 ± 4.42 , respectively) compared to the fermented and unfermented cashew by-product extracts (8.44 ± 2.81 and 8.44 ± 2.81 , respectively) (Table 1). The results of titratable acidity, pH, and ascorbic acid content can be explained by the fact that acerola and its derivatives naturally have high contents of organic acids, which can be increased during fermentation and concentrated in the extract preparation (Tian et al., 2020; Nascimento, 2021).

As expected, TSS contents were lower in fermented compared to unfermented hydroalcoholic extracts ($p \leq 0.05$). Unfermented mango and cashew by-products extracts showed the highest TSS values. These results may be related to the greater bioavailability of soluble sugars and fibers in these fruits (Menezes et al., 2021; Oliver-Simancas et al., 2021). Biochemical changes, such as increased TA and decreased pH and TSS levels, usually occur in fermented fruit by-products (de Oliveira et al., 2023; Sánchez-Velázquez et al., 2021). This may be related to the increase in LAB metabolism and the presence of enzymes, such as glucose

dehydrogenases, during fermentation, increasing the consumption of reducing sugars and the production of organic acids (Hashemi; Jafarpour, 2023).

Regarding the color analysis, Chroma values ranged from $0.96 (\pm 0.07)$ to $2.86 (\pm 0.13)$ (Table 1), indicating that among the fruit by-products extracts tested, unfermented mango by-product has a higher degree of saturation and therefore a more intense color. These color properties reflect the presence of compounds that account for antioxidant activity, such as carotenoids, and UV absorption properties (Santos et al., 2023). Color compounds can undergo enzymatic oxidation during processing (fermentation) and storage, modifying their perception (Mashitoa et al., 2021).

There was no difference in luminosity between the analyzed extract samples ($p > 0.05$), with all the extracts showing values in the dark color range. The fermented acerola by-product extract showed the lowest value for this parameter (12.10 ± 0.78), indicative of a darker sample. On the other hand, the unfermented cashew by-product extract showed the highest luminosity (14.76 ± 2.19) ($p > 0.05$).

The Hue (h^*) results ranged from 72.17 ± 4.72 to 96.44 ± 3.51 , indicating a transition from more yellowish to more greenish tones between the groups (Table 1). The results for the a^* parameter varied ($p < 0.05$) from 0.63 ± 0.12 for unfermented acerola, indicating a slight inclination towards red, and -0.28 ± 0.22 for unfermented cashew, suggesting a tendency towards green. About the b^* parameter, there was variation between the samples, with the lowest value detected for fermented cashew (0.95 ± 0.07) and the highest value detected for unfermented mango (2.86 ± 0.13), showing it to be the extract with the most intense/vibrant color (Mashitoa et al., 2021).

Like a previous study analyzing spontaneous fermentation of acerola by-product (Oliveira et al., 2023), only in fermented acerola extract, the Chroma value decreased, and the Hue value increased. An increase in luminosity and a decrease in contrast suggest a color

change from red to yellowish red. Carotenoids in fermented acerola might have undergone oxidation during fermentation, causing these color changes (Araújo et al., 2020). Due to their sensitivity to acidic pH and heat, carotenoids may experience isomerization, resulting in color loss (Araújo et al., 2020). However, lactic acid fermentation could also modify carotenoid contents, depending on the plant material and the fermentation condition (Mapelli-Brahm et al., 2020).

3.3 Total content of phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activity in fermented and unfermented fruit by-product extracts

The fermented and unfermented acerola and mango by-product extracts had higher contents of total phenolic compounds than the hydroalcoholic extracts of cashew and grape fermented by-products (Table 2). The high phenolic compound content in acerola and mango by-product extracts may be associated with the intrinsic characteristics of these fresh fruits, which contain flavones, isoflavonoids, lignans, phenolic acids, and phenolic compounds in their composition (Xu et al., 2020). In addition, fermentation with LAB contribute to making these compounds more bioavailable by modifying and/or improving their composition and quantification (Silva et al., 2023).

Phenolic compounds are phytochemicals produced by plants as secondary metabolites for their defense against stresses, such as contamination by phytopathogenic fungi, bacterial infection, and disease progression (Vilvert et al., 2024). Mangiferin, quercetin, catechins, rhamnetin, kaempferol, anthocyanins, ellagic and gallic acids, propyl and methyl gallate, protocatechuic acid, and benzoic acid are the main bioactive compounds in mango (Akther et al., 2023). Ascorbic acid, together with phenolic compounds, such as flavonoids, phenolic acids, and stilbenes, is the main one responsible for the high antioxidant activity of acerola (Vilvert et al., 2024).

The antimicrobial properties in fruit extracts can be associated with the presence of these phenolic compounds in their chemical composition. The hydroxyl groups can establish interactions through hydrogen bonds with the active sites of enzymes, leading to their inactivation, inhibition of protein biosynthesis, and reduction of fungal growth (Al Aboody; Mickymaray, 2020).

The highest contents of flavonoids were detected in non-fermented hydroalcoholic extracts, especially in acerola (790.76 ± 4.04 mg QE/100 g) and grape by-product fermented hydroalcoholic extracts (746.72 ± 21.56). These fresh fruits are considered source of flavonoids (Miskinis; do Nascimento; Colussi, 2023; de Oliveira et al., 2023), and the reduction in flavonoid contents may also be associated with the metabolism of LAB during the fermentation, modifying their bioavailability and biological activities (Zhou et al., 2020). Flavonoids inhibit fungal growth by different mechanisms, as plasma membrane disruption, induction of mitochondrial dysfunction, and inhibiting division cell activities (Al Aboody; Mickymaray, 2020).

Furthermore, the extracts were characterized by high antioxidant capacity when measured by the ABTS $\bullet^+$, DPPH $\bullet$ or FRAP methods, although the values varied according to the method used to calculate this parameter (Table 2). Higher values were observed when the FRAP method was used concerning the ABTS and DPPH methods. In addition, the non-fermented hydroalcoholic extracts presented greater oxidative capacity than the fermented hydroalcoholic extracts. This may be related to modifying the bioavailability of bioactive compounds, including antioxidants, during fermentation (Reguengo et al., 2022). In the case of by-products (seeds and peels), the availability of sugars/carbohydrates is lower, which justifies using phenolic compounds (Ding et al., 2023; Silva et al., 2022). LAB can use phenolic compounds and flavonoids as nutrients for fermentation, affecting their bioactive properties (Wang et al., 2023). This phenolic metabolism is characterized by being dependent on the LAB

species and strain and the type of phenolic compounds in the fermented substrate (Khubber et al., 2022). These characteristics could corroborate the reduction in the total content of phenolic compounds and flavonoids detected in the fermented samples.

3.4 Characterization of global metabolic profile of hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products

The global metabolic profile in hydroalcoholic extracts of fermented (24 h of fermentation) and unfermented acerola and mango by-products was evaluated using ^1H -NMR (Supplementary material data, Table S2). Sixteen chemical constituents were identified, including metabolites and/or small molecules, such as sugars (fructose, α -xylose, β -xylose, β -glucose, α -glucose, and D-galactose), amino acids (alanine, glycine, and methionine), and organic molecules (ethanol, methanol, trimethylamine, dihydroxyacetone, phenylacetate, 3-hydroxyisovalerate, and syringic acid).

Picos de ressonância foram identificados nas faixas de deslocamento químico de ^1H de 2 a 6 ppm, correspondendo a compostos com ligações de carbonila ($\text{C}=\text{O}$) e hidroxila ($-\text{OH}$), grupo amina ($-\text{NH}_2$) e carboxila ($-\text{COOH}$), éster ($-\text{CO-O-}$) e phenyl (C_6H_5-), and metoxi ($-\text{OCH}_3$).

Trimethylamine, D-galactose, and 3-hydroxyisovalerate were detected in fermented and unfermented acerola hydroalcoholic extracts, while phenylacetate was detected only in unfermented mango hydroalcoholic extract and after 24 h of fermentation. Ethanol, methanol, alanine, methionine, dihydroxyacetone, α -xylose, β -xylose, and α -glucose were detected in fermented (24 h) and unfermented mango by-product hydroalcoholic extracts. These same compounds were also detected in acerola hydroalcoholic extract. The remaining compounds (glycine, fructose, β -glucose, and syringic acid) were detected in hydroalcoholic extracts of fermented and non-fermented acerola and mango by-products.

Carbohydrate identification was higher in non-fermented hydroalcoholic extracts. The reduction in signal intensity between the initial time and 24 h of fermentation may indicate the consumption of sugars by LAB metabolism (Araújo et al., 2024). In addition, the non-detection of some sugars (α -xylose, β -xylose, and α -glucose) in fermented acerola by-product extracts may suggest a higher consumption of these compounds, in addition to a lower quantity in the matrix (when compared to mango) (Sabino et al., 2020). Greater availability of sugars may ensure a more effective fermentation process, which may positively influence the bioactive properties of the fermented products (de Oliveira et al., 2023).

Furthermore, some phenolic compounds identified in the extracts (phenylacetate, 3-hydroxyisovalerate, and syringic acid) may have influenced their antifungal activity (Gomes et al., 2020). The biotransformation in the phenolic profile due to fermentation depends on the type of LAB strain involved, the composition, and the substrate intrinsic characteristics (Mashitoa et al., 2021). In an ethanolic extract of mango seed, phenolic compounds, such as syringic acid, chlorogenic acid, p-hydroxybenzoic acid, and apigenin, were identified, which demonstrated antifungal activity against *C. brevisporum* *in vitro* and *in situ* (Gómez-Maldonado et al., 2020).

Although some sugars were not detected in the hydroalcoholic acerola by-product extracts, these by-products may be rich in organic acids that have synergistic interaction with antifungal effects and selectively enhance microbial growth (Hurtado-Romero et al., 2024). It was observed that organic acids, such as caftaric acid, chlorogenic acid, and hesperidin present in ethanolic extract had positive antifungal effects against the development of rot caused by *Lasiodiplodia* spp. in papaya (Gomes et al., 2020).

3.5 Effects of hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products on mycelial growth of *Colletotrichum* *in vitro*.

Various solvents can be used to extract different types of compounds in plant matrices. The variation of solvent (including concentration) modifies the composition of the extract and consequently their biological activities (Ricci et al., 2019). Hydroalcoholic extracts of fermented and unfermented fruit by-products were tested to evaluate their capacity to inhibit mycelial growth of *Colletotrichum* isolates with agar well diffusion method (Table 3). 24 h of fermentation produced extracts with greater antifungal capacity (%MGI: 14.76 ± 1.14 to $76.31 \pm 3.91\%$) compared to the 48 h of fermentation (%MGI: 19.35 ± 2.2 to $54.20 \pm 1.98\%$). The greater antifungal capacity of hydroalcoholic extracts fermented for 24 h may be related to the higher viable cell counts of LAB, increasing their metabolism and, consequently, the production of organic acids, contributing to decreasing the environmental pH and, consequently, inhibiting fungal activities (Ranjith et al., 2021).

Furthermore, the extracts from mango, cashew, and acerola by-products at 70% ethanol concentration showed the highest inhibitory effects, with %MGI (19.5 ± 4.82 to $76.31 \pm 3.91\%$) (Table 3). These variations may be related to the availability of nutrients and the production of antagonistic compounds that affect the LAB viability and, consequently, the production of bioactive metabolites (Asadzadeh et al., 2020). These results were slightly lower than those previously observed in *in vitro* assays with the synthetic fungicide azoxystrobin at $1 \mu\text{g a.i./mL}$ (9 to 45%) (Lima et al., 2015) and carbendazim at $20 \mu\text{g/mL}$ ($\sim 40\%$) (Ajaz et al., 2021). Based on these results, the 24 h of fermentation and the production of extracts at a concentration of 70% ethanol were the conditions selected for carrying out the other analyses. In addition, the acerola, cashew, and mango by-product extracts were also selected considering the inhibitory effects on fungal mycelial growth.

Regarding the determination of the minimum inhibitory concentration of the hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products, the extracts at 75 and 100 mg/mL presented the highest %ICM varying between 70.20 ± 1.25 and $82.75 \pm 1.98\%$, respectively,

regardless of the tested by-product (Table 4). The hydroalcoholic extracts of mango and acerola by-products fermented with LAB showed the highest inhibitory effects (35.00 ± 1.01 to $82.75 \pm 1.98\%$). The higher concentration of phenolic compounds in these fruits (and their by-products) may favor the production of antifungal compounds during fermentation, particularly phenolic and organic acids (Oliveira et al., 2023; Hadj Saadoun et al., 2021). The production of lactic, acetic, and formic acids by LAB could affect their ability to inhibit mycelial growth (Mpeluza et al., 2023). These primary and secondary antifungal metabolites have already been shown to inhibit *Colletotrichum* spp. mycelial growth (Ranjith et al., 2021; Konsue et al., 2020).

To explore the potential for controlling anthracnose in fruits, a concentration of 100 mg/mL of hydroalcoholic extracts from fermented mango and acerola by-products was selected for incorporation into sodium alginate coatings.

3.6 Effects of coatings with sodium alginate and hydroalcoholic extracts of fermented acerola and mango by-products on the development of anthracnose in mango and guava

Coatings with sodium alginate loaded with 100 mg/mL of hydroalcoholic extracts of fermented mango and acerola by-products effectively reduced the anthracnose lesion development (Table 5 and 6). %ALDR values varied from 3.93 ± 3.30 to $78.45 \pm 3.09\%$ during 15 days of storage at room temperature. Coatings with 100 mg/mL of hydroalcoholic extracts of fermented fruit by-products caused %ALDR values between 3.93 ± 3.30 – $78.45 \pm 3.09\%$ in mango contaminated with *Colletotrichum* during storage (Table 5). In coated guava, %ALDR values ranged from 30.43 ± 4.35 – $71.19 \pm 4.48\%$ (Table 6). The coating with fermented acerola extract was more effective than the coating with fermented mango hydroalcoholic extract based on the %ALDR values for the initial days. However, at the end of storage, fermented mango by-product hydroalcoholic extract showed the greatest reduction in lesions. These results

indicate that the types of bioactive compounds present in the different hydroalcoholic extracts influence the achievement of their antifungal activities (Gomes et al., 2020).

Notably, there was a noticeable delay in the ripening of the fruit and the appearance of symptoms of *Colletotrichum* infection. The treated mango reached the end of its storage period with a predominantly dark green peel, while the guava extended the storage period with a predominantly light green peel color (Fig S2).

The application of biocontrol methods to avoid fruit spoilage is an alternative and environmentally friendly substitute for the use of chemical fungicides to control fruit anthracnose (Chit-aree et al., 2023; Mpluza et al 2023; Zakaria, 2021). The main activities of bioactive components, such as organic acids (citric acid, fumaric acid, gluconic acid, and lactic acid) present in edible coatings, include inhibition of microbial enzymes, protein denaturation, disrupting cell membranes configuration, and inhibiting ATP production (Sapna et al., 2024). Furthermore, organic acids contribute directly to the inhibition, as they penetrate the cytoplasm and reduce the cytoplasmic pH of the pathogen target cells (Ranjith et al., 2021).

Additionally, the results of %MGI *in vitro* were higher than the %ALDR in *in situ* tests, which may be related to better conditions for fungal growth. The availability of nutrients and storage conditions of fruits directly influence the antifungal activity of bioactive substances (Rios et al., 2022). Therefore, *in situ* tests are more accurate in evaluating the antagonistic effects of novel fruit biopreservation techniques (Melo et al., 2021; Fernandes; de Oliveira; de Souza, 2021).

4. Conclusion

Hydroalcoholic extracts of fermented acerola and mango by-products had higher contents of total flavonoids and phenolic compounds than fermented cashew and grape by-product extracts, possibly contributing to the higher antioxidant and antifungal activity.

Coatings with hydroalcoholic extracts of fermented acerola and mango by-products delayed the development and severity of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in mango and guava during 15 days of room temperature storage. Therefore, coatings with hydroalcoholic extracts of fermented acerola and mango by-products could be innovative and effective biocontrol strategies to manage postharvest anthracnose induced by *Colletotrichum* spp., as well as potential alternative treatments to reduce the postharvest use of synthetic fungicides and to prolong the storability of these fruits.

REFERENCES

- Ajaz, S., Ahmed, T., Shahid, M., Noman, M., Shah, A. A., Mehmood, M. A., Li, B. (2021). Bioinspired green synthesis of silver nanoparticles by using a native *Bacillus* sp. strain AW1-2: Characterization and antifungal activity against *Colletotrichum falcatum* Went. *Enzyme and Microbial Technology*, 144(January), 109745. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109745>
- Amaral, D. D., Monteiro, A. L. R., Silva, E. I. D., Lins, S. R. D. O., Oliveira, S. (2017). Frequency of quiescent fungi and post-harvest alternative management of stem end rot in papaya. *Revista Caatinga*, 30, 786-793. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n327rc>
- Araújo, C. M., Sampaio, K. B., Menezes, F. N. D. D., Almeida, E. T. da C., Lima, M. D. S., Viera, V. B., de Oliveira, M. E. G. (2020). Protective effects of tropical fruit processing coproducts on probiotic *Lactobacillus* strains during freeze-drying and storage. *Microorganisms*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010096>
- Araújo, Carolyn M., de Albuquerque, T. M. R., Sampaio, K. B., de Oliveira, J. N., da Silva, J. Y. P., Lima, M. dos S., de Oliveira, M. E. G. (2024). Fermenting acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) and guava (*Psidium guayaba* L.) fruit processing co-products with probiotic lactobacilli to produce novel potentially synbiotic circular ingredients. *Foods*, 13(9), 1375. <https://doi.org/10.3390/foods13091375>
- Asadzadeh, A.; Jalali, H.; Azizi, M. H.; Nafchi, A. M. Production of oat bran functional probiotic beverage using *Bifidobacterium lactis*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 1301-1309, 2020.
- Athayde, A.J.A.A., Oliveira, P.D.L., Guerra, I.C.D., da Conceição, M.L., de Lima, M.A.B., Arcanjo, N.M., Madruga, M.S., Berger, L.R.R., de Souza, E.L., 2016. A coating composed of chitosan and *Cymbopogon citratus* (Dc. Ex Nees) essential oil to control *Rhizopus* soft rot and quality in tomato fruit stored at room temperature. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 91, 582–591. <https://doi.org/10.1080/14620316.2016.1193428>.
- Braga, S.P., Lundgren, G.A., Macedo, S.A., Tavares, J.F., Vieira, W.A.S., Câmara, M.P.S., Souza, E.L. (2019) Application of coatings formed by chitosan and *Mentha essential* oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum gloesporioides* and *C. brevisporum* in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. *Int J Biol Macromol*, 139:631–639. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.010>
- Bordoh, P. K., Ali, A., Dickinson, M., Siddiqui, Y., Romanazzi, G. (2020). A review on the management of postharvest anthracnose in dragon fruits caused by *Colletotrichum* spp. *Crop Protection*, 130, 105067.
- Carrillo-Lomelí, D. A., Cerqueira, M. A., Moo-Huchin, V., Bourbon, A. I., Souza, V. G. L., Lestido-Cardama, A., Jasso de Rodríguez, D. (2024). Influence of edible multilayer coatings with *Opuntia stenopetala* polysaccharides and *Flourensia microphylla* extract on the shelf-life of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Scientia Horticulturae*, 332(February). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113224>
- Chen, H., Ju, H., Wang, Y., Du, G., Yan, X., Cui, Y., Yue, T. (2021). Antifungal activity and mode of action of lactic acid bacteria isolated from kefir against *Penicillium expansum*. *Food Control*, 130, 108274. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108274>

- Cheng, D., Ma, Q., Zhang, J., Jiang, K., Cai, S., Wang, W., Sun, J. (2022). Cactus polysaccharides enhance preservative effects of ultrasound treatment on fresh-cut potatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 90(October), 106205. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106205>
- Chit-aree, L., Unpaprom, Y., Ramaraj, R., Thirabunyanon, M. (2023). Valorization and biorefinery of kaffir lime peels waste for antifungal activity and sustainable control of mango fruit anthracnose. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(12), 10735–10749. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01768-4>
- Chuacharoen, T., Sabliov, C. M. (2022). Development of coating material by incorporating curcumin-loaded zein nanoparticles to maintain the quality of mango (*Mangifera indica* L. cv. Nam Dokmai). *Journal of Agriculture and Food Research*, 10(September), 100444. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100444>
- Ciofini, A., Negrini, F., Baroncelli, R., Baraldi, E. (2022). Management of post-harvest anthracnose: Current approaches and future perspectives. *Plants*, 11(14). <https://doi.org/10.3390/plants11141856>
- Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) (1986) Colorimetry. 2nd Edition, Publication CIE n. 15.2. Commission Internationale de l'Eclairage, Vienna.
- Cunniff P, AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis of AOAC international. 20 th.ed., Rockville, Maryland (2016)
- De Albuquerque, T. M. R., Garcia, E. F., de Oliveira Araújo, A., Magnani, M., Saarela, M., de Souza, E. L. (2018). *In vitro* characterization of *Lactobacillus* strains isolated from fruit processing by-products as potential probiotics. *Probiotics and Antimicrobial proteins*, 10(4), 704–716. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9318-2>
- de Luna Freire, M. O., do Nascimento, L. C. P., de Oliveira, K. Á. R., de Oliveira, A. M., Napoleão, T. H., Lima, M. D. S., Lagranha, C. J., de Souza, E. L., & de Brito Alves, J. L. (2021). Effects of a mixed *Limosilactobacillus fermentum* formulation with claimed probiotic properties on cardiometabolic variables, biomarkers of inflammation and oxidative stress in male rats fed a high-fat diet. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(9), 2202. <https://doi.org/10.3390/foods10092202>
- de Oliveira, K.Á.R., Berger, L.R.R., de Araújo, S.A., Câmara, M.P.S., de Souza, E.L., 2017. Synergistic mixtures of chitosan and *Mentha piperita* L. essential oil to inhibit *Colletotrichum* species and anthracnose development in mango cultivar Tommy Atkins. *Food Microbiol.* 66, 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.012>.
- de Oliveira, S. D., de Souza, E. L., Araújo, C. M., Martins, A. C. S., Borges, G. da S. C., Lima, M. dos S., de Oliveira, M. E. G. (2023). Spontaneous fermentation improves the physicochemical characteristics, bioactive compounds, and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) and guava (*Psidium guajava* L.) fruit processing by-products. *3 Biotech*, 13(9), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03738-1>
- da Silva, S. R. F., de Sousa Rocha, S., da Silva, J. Y. P., de Medeiros, V. P. B., Aburjaile, F. F., de Oliveira Carvalho, R. D., de Souza, E. L. (2024). Integrative investigation of the potential impacts of *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes on the human intestinal microbiota. *Journal of Functional Foods*, 122, 106501. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106501>
- Deresa, E. M., Diriba, T. F. (2023). Phytochemicals as alternative fungicides for controlling

- plant diseases: A comprehensive review of their efficacy, commercial representatives, advantages, challenges for adoption, and possible solutions. *Heliyon*, 9, 13810.
- Ding, Z., Ge, Y., Sar, T., Kumar, V., Harirchi, S., Binod, P., Awasthi, M. K. (2023). Valorization of tropical fruits waste for production of commercial biorefinery products – A review. *Bioresource Technology*, 374(February), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128793>
- Fernandes, K. F. D., de Oliveira, K. Á. R., de Souza, E. L. (2021). Application of potentially probiotic fruit-derived lactic acid bacteria loaded into sodium alginate coatings to control anthracnose development in guava and mango during storage. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 15(3), 573–587. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09871-8>
- Forbes, H. (2021). Food waste index report 2021. United Nations Environment Programme. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/35356>
- Garcia, E. F., Luciano, W. A., Xavier, D. E., da Costa, W. C., de Sousa Oliveira, K., Franco, O. L., de Moraes Júnior, M. A., Lucena, B. T., Picão, R. C., Magnani, M., Saarela, M., de Souza, E. L. (2016). Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing by products and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. *Front Microbiol* 7:1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01371>
- Gomes, A. C. A., da Costa Lima, M., de Oliveira, K. Á. R., dos Santos Lima, M., Magnani, M., Câmara, M. P. S., de Souza, E. L. (2020). Coatings with chitosan and phenolic-rich extract from acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) or jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) processing by-product to control rot caused by *Lasiodiplodia* spp. in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 331(May), 108694. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108694>
- Gómez-Caro, S., Mendoza-Vargas, L. A., Ramírez-Gil, J. G., Burbano-David, D., Soto-Suárez, M., Melgarejo, L. M. (2022). Close-range thermography and reflectance spectroscopy support *in vitro* and *in vivo* characterization of *colletotrichum* spp. isolates from mango fruits. *Plant Disease*, 106(9), 2355–2369. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-21-1774-RE>
- Gómez-Maldonado, D., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Leyva-Mir, S. G., Robles-Yerena, L., Vernon-Carter, E. J. (2020). Antifungal activity of mango kernel polyphenols on mango fruit infected by anthracnose. *Lwt*, 126, 109337. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109337>
- Herigstad, B., Hamilton, M., Heersink, J. (2001). How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of microbiological methods*, 44(2), 121–129. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(00\)00241-4](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(00)00241-4)
- Hurtado-Romero, A., Garcia-Amezquita, L. E., Carrillo-Nieves, D., Montilla, A., Villamiel, M., Requena, T., & García-Cayuela, T. (2024). Characterization of berry by-products as fermentable substrates: Proximate and phenolic composition, antimicrobial activity, and probiotic growth dynamics. *Lwt*, 204. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116468>
- Khubber, S., Marti-Quijal, F. J., Tomasevic, I., Remize, F., Barba, F. J. (2022). Lactic acid fermentation as a useful strategy to recover antimicrobial and antioxidant compounds from food and by-products. *Current Opinion in Food Science*, 43, 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.11.013>
- Kist, B. B., Carvalho, D. C., Beling, R. R. (2023). Anuário Brasileiro de Horti & Fruti 2024.

Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 44-45.

- Liang, Y. S., Fu, J. Y., Chao, S. H., Tzean, Y., Hsiao, C. Y., Yang, Y. Y., Lin, Y. H. (2022). Postharvest application of *Bacillus amyloliquefaciens* PMB04 fermentation broth reduces anthracnose occurrence in mango fruit. *Agriculture (Switzerland)*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/agriculture12101646>
- Lima, B. N. *et al.* Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil, *Eur J Plant Pathol*, v. 141, p. 679–688, 2015.
- Lima, N.B.A., Batista, M.V., de Moraes, M.A., Barbosa, M.A.G., Michereff, S.J., Hyde, K.D., Câmara, M.P.S. (2013) Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. *Fungal Divers* 61:75–88. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0237-6>
- Lundgren, G. A., Braga, S. dos P., de Albuquerque, T. M. R., Árabe Rimá de Oliveira, K., Tavares, J. F., Vieira, W. A. dos S., de Souza, E. L. (2022). Antifungal effects of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist essential oil against pathogenic *Colletotrichum musae* and its incorporation in gum Arabic coating to reduce anthracnose development in banana during storage. *Journal of Applied Microbiology*, 132(1), 547–561. <https://doi.org/10.1111/jam.15244>
- Mapelli-Brahm, P., Barba, F. J., Remize, F., Garcia, C., Fessard, A., Mousavi Khaneghah, A., Meléndez-Martínez, A. J. (2020). The impact of fermentation processes on the production, retention and bioavailability of carotenoids: An overview. *Trends in Food Science and Technology*, 99(March), 389–401. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.013>
- Matrose, N. A., Obikeze, K., Belay, Z. A., Caleb, O. J. (2021). Plant extracts and other natural compounds as alternatives for post-harvest management of fruit fungal pathogens: A review. *Food Bioscience*, 41(May 2020), 100840. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100840>
- Melo, J. J. M., Álvarez, A., Ramirez, C., Bolivar, G. (2021) Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme). *Curr Microbiol* 78:1399–1408. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
- Menezes, F. N. D. D., da Cruz Almeida, É. T., da Silva Vieira, A. R., de Souza Aquino, J., dos Santos Lima, M., Magnani, M., de Souza, E. L. (2021). Impact of cashew (*Anacardium occidentale* L.) by-product on composition and metabolic activity of human colonic microbiota *in vitro* indicates prebiotic properties. *Current Microbiology*, 78(6), 2264–2274. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02502-z>
- Miskinis, R. A. S., do Nascimento, L. Á., Colussi, R. (2023). Bioactive compounds from acerola pomace: A review. *Food Chemistry*, 404(October 2022). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134613>
- Moreira, E. de S., Silva, N. M. C. da., Brandão, M. R. S., Santos, H. C., Ferreira, T. A. P. de C. (2022). Effect of modified starch and gelatin by-product based edible coating on the postharvest quality and shelf life of guava fruits. *Food Science and Technology*, 42, e26221. <https://doi.org/10.1590/fst.26221>
- Neto, J. A. da S., Ambrósio, M. M. de Q., Araújo, M. B. M., da Silva, R. M., Pinto, P. S. L., Holanda, I. S. A. (2022). Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from mango. *Revista Caatinga*, 35(3), 514–527.

<https://doi.org/10.1590/1983-21252022v35n302rc>

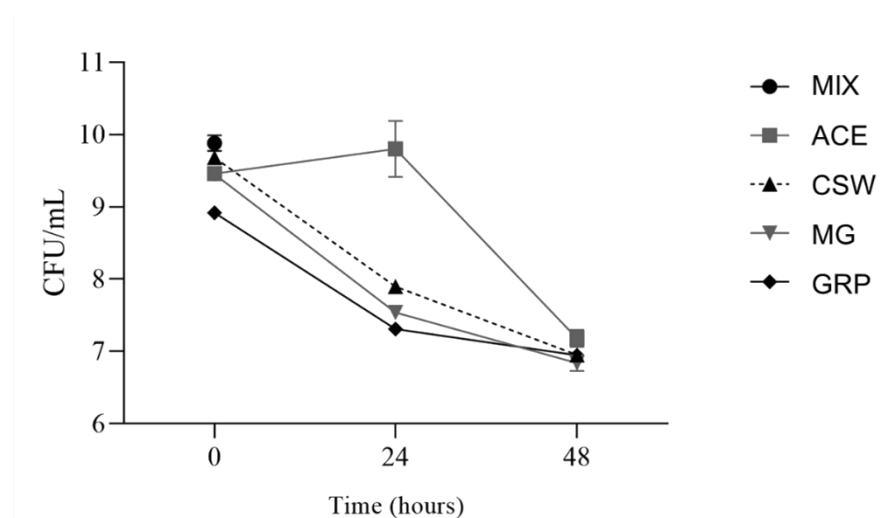
- Oliver-Simancas, R., Labrador-Fernández, L., Díaz-Maroto, M. C., Pérez-Coello, M. S., Alañón, M. E. (2021). Comprehensive research on mango by-products applications in food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 118(September), 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.024>
- Oliveira, P. D. L., de Oliveira, K. Á. R., dos Santos Vieira, W. A., Câmara, M. P. S., de Souza, E. L. (2018). Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (DC ex Nees) Stapf. essential oil. *International journal of food microbiology*, 266, 87–94.
- Omedi, J. O., Huang, J., Huang, W., Zheng, J., Zeng, Y., Zhang, B., Zhou, L., Zhao, F., Li, N., Gao, T. (2021). Suitability of pitaya fruit fermented by sourdough LAB strains for bread making: its impact on dough physicochemical, rheo-fermentation properties and antioxidant, antifungal and quality performance of bread. *Heliyon*, 7(11), e08290. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08290>
- Ouahabi, S., Loukili, E. H., Daoudi, N. E., Chebaibi, M., Ramdani, M., Rahhou, I., Bnouham, M., Fauconnier, M. -L., Hammouti, B., Rhazi, L., Ayerdi Gotor, A., Dépeint, F., Ramdani, M. (2023). Study of the phytochemical composition, antioxidant properties, and *in vitro* anti-diabetic efficacy of *gracilaria bursa-pastoris* extracts. *Marine Drugs*, 21(7), 372. <https://doi.org/10.3390/md21070372>
- Parreidt, T.S., Lindner, M., Rothkopf, I., Schmid, M., Müller, K. (2019) The development of a uniform alginate-based coating for cantaloupe and strawberries and the characterization of water barrier properties. *Foods*, 8:203. <https://doi.org/10.3390/f808203>
- Rakariyatham, K., Zhou, D., Rakariyatham, N. e Shahidi, F. (2020). *Sapindaceae* (*dimocarpus longan* and *nephelium lappaceum*) seed and peel by-products: potential sources for phenolic compounds and use as functional ingredients in food and health applications. *Journal of Functional Foods*, 67, 103846. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103846>
- Ranjbar, M., Azizi Tabrizzad, M. H., Asadi, G., Ahari, H. (2023). Investigating the microbial properties of sodium alginate/chitosan edible film containing red beetroot anthocyanin extract for smart packaging in chicken fillet as a pH indicator. *Heliyon*, 9(8), e18879. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18879>
- Ranjith, F. H., Ariffin, S. H., Muhialdin, B. J., Yusof, N. L., Mohammed, N. K., Marzlan, A. A., Hussin, A. S. M. (2022). Influence of natural antifungal coatings produced by Lacto-fermented antifungal substances on respiration, quality, antioxidant attributes, and shelf life of mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 189, 111904. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2022.111904>
- Reguengo, L. M., Salgaço, M. K., Sivieri, K., Maróstica Júnior, M. R. (2022). Agro-industrial by-products: Valuable sources of bioactive compounds. *Food Research International*, 152(November 2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110871>
- Ricci, A., Bernini, V., Maoloni, A., Cirilini, M., Galaverna, G., Neviani, E., Lazzi, C. (2019). Vegetable by-product lacto-fermentation as a new source of antimicrobial compounds. *Microorganisms*, 7(12), 607.
- Riolo, M., Villena, A. M., Calpe, J., Luz, C., Meca, G., Tuccitto, N., Cacciola, S. O. (2024). A

- circular economy approach: A new formulation based on a lemon peel medium activated with *Lactobacilli* for sustainable control of post-harvest fungal rots in fresh citrus fruit. *Biological Control*, 189(November 2023), 105443. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105443>
- Rios, D. A. S., Nakamoto, M. M., Braga, A. R. C., da Silva, E. M. C. (2022). Food coating using vegetable sources: importance and industrial potential, gaps of knowledge, current application, and future trends. *Applied Food Research*, 2(1), 100073.
- Sánchez-Velázquez, O. A., Cuevas-Rodríguez, E. O., Reyes-Moreno, C., Ríos-Irbe, É. Y., Hernández-Álvarez, A. J., León-López, L., Milán-Carrillo, J. (2021). Profiling modifications in physicochemical, chemical and antioxidant properties of wild blackberry (*Rubus* sp.) during fermentation with EC 1118 yeast. *Journal of Food Science and Technology*, 58(12), 4654–4665. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04953-x>
- Santos, L. B., Silva, R. D., Alonso, J. D., Brienza, M., Silva, N. C., Perotto, G., Azeredo, H. M. C. (2023). Bioplastics from orange processing byproducts by an ecoefficient hydrothermal approach. *Food Packaging and Shelf Life*, 38(May), 101114. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101114>
- Septembre-Malaterre, A., Remize, F., Poucheret, P. (2018). Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International*, 104, 86-99.
- Silva, S. P. M., Teixeira, J. A., Silva, C. C. G. (2023). Recent advances in the use of edible films and coatings with probiotic and bacteriocin-producing lactic acid bacteria. *Food Bioscience*, 56(September). <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103196>
- Shi, X. C., Wang, S. Y., Duan, X. C., Wang, Y. Z., Liu, F. Q., Laborda, P. (2021). Biocontrol strategies for the management of *Colletotrichum* species in postharvest fruits. *Crop Protection*, 141(August 2020), 105454. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105454>
- Soares, W. R. O., Vieira, W. A. S., Reis, A., Miller, R. N. G., Santos, M. D. M., de CastroCosta, É., Café-Filho, A. C. (2024). Diversity of *Colletotrichum* causing anthracnose on *Psidium guajava* in varied Brazilian physiographic regions. *Plant Pathology*, 73(5), 1213–1228. <https://doi.org/10.1111/ppa.13879>
- Tlais, A. Z. A., Fiorino, G. M., Polo, A., Filannino, P., Di Cagno, R. (2020). High-value compounds in fruit, vegetable and cereal byproducts: an overview of potential sustainable reuse and exploitation. *Molecules*, 25(13), 2987.
- Tian, X et al. The supplement of vitamin C facilitates L-lactic acid biosynthesis in *Lactobacillus thermophilus* A69 from sweet sorghum juice coupled with soybean hydrolysate as feedstocks. *Industrial Crops and Products* [s. l.] v. 146, p. 112159 , 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112159>
- Vilvert, J. C., Freitas, S. T. de., Ferreira, M. A. R., Costa, E. B. S. da., Aroucha, E. M. M.. (2021). Sample size for postharvest quality traits of ‘Palmer’ mangoes. *Revista Brasileira De Fruticultura*, 43(5), e–014. <https://doi.org/10.1590/0100-29452021014>
- Vitti, K. A., de Lima, L. M., Filho, J. G. M. (2020). Agricultural and economic characterization of guava production in Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 42(1), 1–11. <https://doi.org/10.1590/0100-29452020447>
- Wang, J., Wei, B.-C., Wei, B., Yu, H.-Y., Thakur, K., Wang, C.-Y., Wei, Z.-J.. (2023).

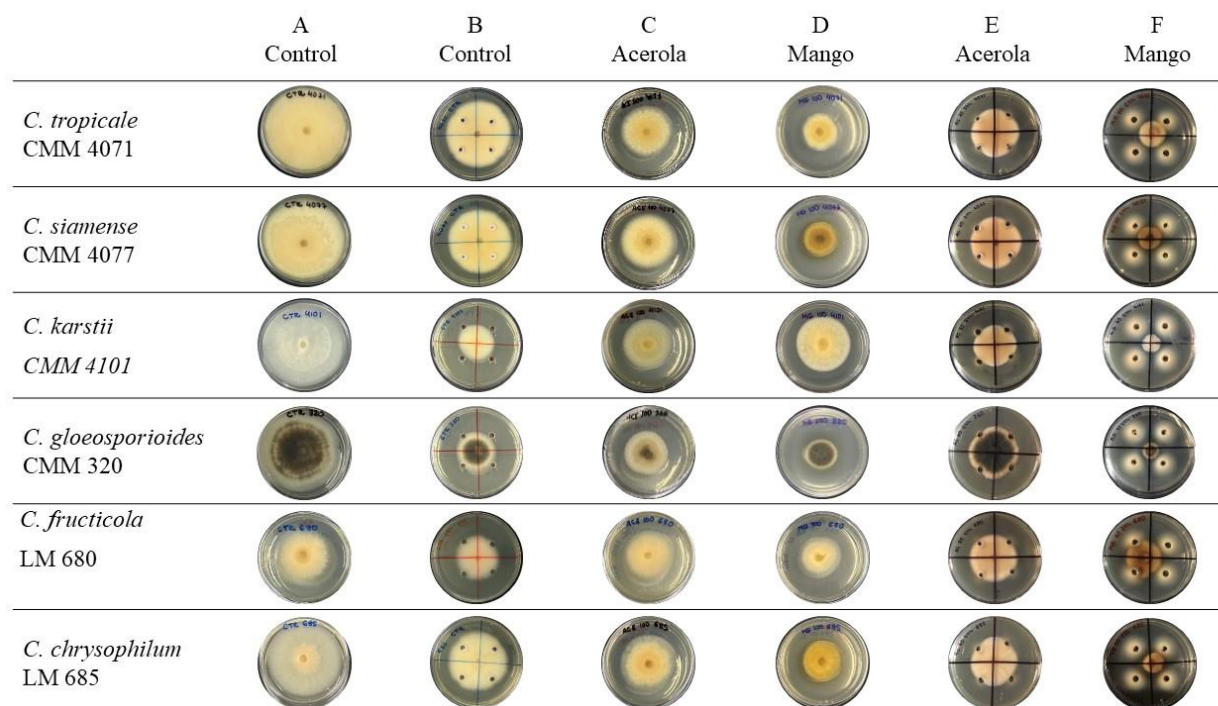
- Evaluation of phenolics biotransformation and health promoting properties of blueberry juice following lactic acid bacteria fermentation. *Food Science and Technology*, 43, e104522. <https://doi.org/10.1590/fst.104522>
- Wu, Y. M., Chen, X., Wang, F., Hsiao, C. Y., Yang, C. Y., Lin, S. T., Lin, Y. H. (2021). *Bacillus amyloliquefaciens* strains control strawberry anthracnose through antagonistic activity and plant immune response intensification. *Biological Control*, 157, 104592.
- Xu, M. et al. Metabolomic analysis of acerola cherry (*Malpighia emarginata*) fruit during ripening development via UPLC-Q-TOF and contribution to the antioxidant activity. *Food Research International*, v. 130, p. 108915, 2020.
- Yang, Z., Li, M., Zhai, X., Zhao, L., Tahir, H. E., Shi, J., Xiao, J. (2022). Development and characterization of sodium alginate/tea tree essential oil nanoemulsion active film containing TiO₂ nanoparticles for banana packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 213(May), 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.164>
- Zhang, Y., Kong, Q., Niu, B., Liu, R., Chen, H., Xiao, S., Gao, H. (2024). The dual function of calcium ion in fruit edible coating: Regulating polymer internal crosslinking state and improving fruit postharvest quality. *Food Chemistry*, 447(December 2023), 138952. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138952>
- Zitha, E. Z. M., Araújo, A. B. S., Machado, P. Da S., Elias, H. H. De S., Carvalho, E. E. N., Vilas Boas, E. V. de B.. (2022). Impact of processing and packages on bioactive compounds and antioxidant activity of mangaba jelly. *Food Science and Technology*, 42, e28221. <https://doi.org/10.1590/fst.28221>
- Zhou, Y., Wang, R., Zhang, Y., Yang, Y., Sun, X., Zhang, Q., Yang, N. (2020). Biotransformation of phenolics and metabolites and the change in antioxidant activity in kiwifruit induced by *Lactobacillus plantarum* fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(8), 3283–3290. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10272>

Figure captions

Fig 1. Viable cell counts of lactic acid bacteria (LAB) (CFU/mL, average $\pm$ standard deviation, n:3) in mixed culture (MIX) and acerola (ACE), cashew (CSW), mango (MG), and grape (GRP) by-products during 48 h of fermentation with lactic acid bacteria.



S1 - *In vitro* antifungal activity of hydroalcoholic extracts of acerola, cashew, mango, and grape by-products fermented and non-fermented with lactic acid bacteria against different *Colletotrichum* species after 5 days of incubation (25 ± 0.5 °C). Evaluation was done with different methods: (A) Negative control - agar well diffusion method without adding hydroalcoholic extracts of fermented by-products; (B) Negative control - Minimal inhibitory concentration without adding hydroalcoholic extracts of fermented by-products; (C) Agar well-diffusion method (hydroalcoholic extract of fermented acerola by-product); (D) Agar well-diffusion method + hydroalcoholic extract of fermented mango by-product; (E) Minimal inhibitory concentration + 100 mg/mL hydroalcoholic extract of fermented acerola by-product; (F) Minimal inhibitory concentration + 100 mg/mL hydroalcoholic extract of fermented mango by-product.



S2 - Anthracnose lesion inhibition in mango cv. Palmer and guava cv. Paluma coated with sodium alginate (SA) alone or with hydroalcoholic extracts of acerola and mango fermented by-products and inoculated with different *Colletotrichum* species after 15 days of room temperature storage (25 ± 0.5 °C). (A) Negative control - lesion severity (uncoated fruit) in mango cv. Palmer; (AA) Mango cv. Palmer coated with SA + Acerola; (AAA) Mango cv. Palmer coated with SA + Acerola; (AAAA) Mango cv. Palmer coated with SA + Mango. (B) Negative control - lesion severity (uncoated fruit) in guava cv. Paluma; (BB) guava cv. Paluma coated with SA; (BBB) Guava cv. Paluma coated with SA + Acerola; (BBBB) Guava cv. Paluma coated with SA + Mango during 15 days of room temperature storage (25 ± 0.5 °C).

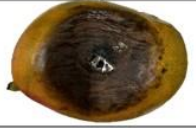
	A Acerola	AA Acerola	AAA Acerola	B Mango	BB Mango	BBB Mango
<i>C. tropicale</i> CMM 4071						
<i>C. siamense</i> CMM 4077						
<i>C. karstii</i> CMM 4101						
<i>C. gloeosporioides</i> CMM 320						
<i>C. fructicola</i> LM 680						
<i>C. chrysophilum</i> LM 685						

Table 1. Physicochemical parameters (average $\pm$ standard deviation, n: 3) in hydroalcoholic extracts acerola, cashew, mango, and grape by-products fermented and non-fermented with lactic acid bacteria.

	AT (%)	pH	SST (°Brix)	AA (mg/100 g)	Choma (C*)	L*	Hue (h*)	a*	b*
NF ACE 70%	0.87 (± 0.10) ^{Bb}	3.01 (± 0.10) ^{Be}	4.67 (± 0.06) ^{Ac}	216.92 (± 4.42) ^{Bb}	2.41 (± 0.47) ^{Aab}	13.04 (± 1.42) ^{Aa}	72.17 (± 4.72) ^{Bd}	0.63 (± 0.12) ^{Aa}	1.81 (± 0.54) ^{Ab}
ACE 70%	1.12 (± 0.00) ^{Aa}	3.28 (± 0.02) ^{Ad}	3.53 (± 0.06) ^{Bd}	328.46 (± 2.66) ^{Aa}	1.80 (± 0.06) ^{Bb}	12.10 (± 0.78) ^{Ab}	83.94 (± 3.85) ^{Ac}	0.28 (± 0.06) ^{Bb}	1.74 (± 0.09) ^{Ab}
NF CSW 70%	0.41 (± 0.10) ^{Bde}	3.96 (± 0.04) ^{Aa}	6.73 (± 0.06) ^{Aa}	8.44 (± 2.81) ^{Ac}	2.30 (± 0.53) ^{Aab}	14.76 (± 2.19) ^{Aa}	96.44 (± 3.51) ^{Aa}	-0.28 (± 0.22) ^{Bd}	2.28 (± 0.51) ^{Aa}
CSW 70%	0.69 (± 0.10) ^{Ac}	3.33 (± 0.01) ^{Bcd}	2.73 (± 0.06) ^{Be}	8.44 (± 2.81) ^{Ac}	0.96 (± 0.07) ^{Bc}	12.84 (± 1.47) ^{Aab}	81.12 (± 0.48) ^{Bc}	0.15 (± 0.00) ^{Ac}	0.95 (± 0.07) ^{Bc}
NF MG 70%	0.62 (± 0.10) ^{Ac}	3.65 (± 0.04) ^{Ab}	6.40 (± 0.00) ^{Ab}	9.75 (± 2.25) ^{Ac}	2.86 (± 0.13) ^{Aa}	14.19 (± 1.55) ^{Aa}	93.66 (± 4.63) ^{Aa}	-0.20 (± 0.20) ^{Bd}	2.86 (± 0.13) ^{Aa}
MG 70%	0.72 (± 0.11) ^{Abc}	3.47 (± 0.10) ^{Bc}	3.53 (± 0.06) ^{Bd}	14.12 (± 3.06) ^{Ac}	1.47 (± 0.21) ^{Bb}	13.01 (± 1.56) ^{Aab}	85.69 (± 3.02) ^{Bbc}	0.11 (± 0.07) ^{Ac}	1.46 (± 0.22) ^{Bb}
NF GRP 70%	0.34 (± 0.10) ^{Ae}	3.44 (± 0.10) ^{Ac}	2.27 (± 0.06) ^{Ae}	11.78 (± 1.10) ^{Ac}	1.29 (± 0.25) ^{Abc}	13.12 (± 2.03) ^{Aab}	89.82 (± 1.56) ^{Abc}	0.11 (± 0.13) ^{Abc}	1.27 (± 0.26) ^{Ab}
GRP 70%	0.41 (± 0.10) ^{Ade}	3.43 (± 0.02) ^{Accl}	1.03 (± 0.12) ^{Bf}	10.74 (± 1.26) ^{Ac}	1.39 (± 0.08) ^{Abc}	13.29 (± 1.60) ^{Aab}	82.07 (± 4.61) ^{Accl}	0.16 (± 0.16) ^{Abc}	1.37 (± 0.06) ^{Ab}

*Titrable acidity; **Total soluble solids; ACE: Extract of acerola by-product; CSW: Extract of cashew by-product; MNG: Extract of mango by-product; GRP: Extract of grape by-product; NE: Not evaluated; NF: Non fermented; ^{a-e} Average values in the same row with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test; ^{A-B} Average values in the same column, for a same antifungal substance, with different capital letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test.

Table 2. Total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant activity (average $\pm$ standard deviation, n: 3) in hydroalcoholic extracts of acerola, cashew, mango, and grape by-products of fermented and non-fermented with lactic acid bacteria.

Parameters	NF ACE 70%	ACE 70%	NF CSW 70%	CSW 70%	NF MG 70%	MG 70%	NF GRP 70%	GRP 70%
Total flavonoids (mg QE/100 g)	790.76 (± 4.04) ^a	368.87 (± 11.62) ^d	109.27 (± 2.35) ^g	30.31 (± 5.49) ^h	566.06 (± 11.85) ^c	170.90 (± 8.02) ^e	746.72 (± 21.56) ^b	152.63 (± 3.41) ^f
TPC (mg GAE/100 g)	1428.60 (± 41.01) ^a	601.55 (± 4.52) ^b	202.38 (± 0.93) ^d	160.50 (± 4.13) ^e	1448.99 (± 65.98) ^a	630.83 (± 90.35) ^b	399.41 (± 16.69) ^c	224.84 (± 4.65) ^d
ABTS ^{•+} ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	36.47 (± 0.16) ^a	28.63 (± 1.98) ^b	10.74 (± 0.05) ^f	27.41 (± 0.97) ^b	27.65 (± 1.69) ^b	11.81 (± 0.24) ^e	22.38 (± 0.48) ^c	19.90 (± 0.35) ^d
DPPH ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	0.03 (± 0.0) ^d	0.04 (± 0.00) ^{cd}	0.08 (± 0.01) ^b	0.07 (± 0.01) ^{bc}	0.05 (± 0.01) ^c	0.08 (± 0.01) ^b	0.11 (± 0.01) ^a	0.07 (± 0.01) ^b _c
FRAP ($\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$)	499.27 (± 5.24) ^b	254.51 (± 6.25) ^c	47.61 (± 0.25) ^f	40.26 (± 0.69) ^g	541.19 (± 27.02) ^a	111.57 (± 1.16) ^d	70.07 (± 1.49) ^e	28.57 (± 1.23) ^f

ACE: Extract of acerola by-product; CSW: Extract of cashew by-product; MNG: Extract of mango by-product; GRP: Extract of grape by-product; NF: Non fermented; Ferric-reducing power (FRAP); Gallic acid equivalent (GAE), Trolox equivalence (TE); Total phenolic content (TPC); Total flavonoid content (TFC); Radical scavenging activity (DPPH); ^{a-h} Average values in the same row with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test..

Table 3. Percent of mycelial growth inhibition (%MGI, average $\pm$ standard deviation, n: 3) of different *Colletotrichum* isolates exposed to hydroalcoholic extracts of acerola, cashew, mango, and grape) by-products fermented with lactic acid bacteria after 5 days of incubation (25 ± 0.5 °C).

<i>Colletotrichum</i> isolates	T (h)	NF ACE 70%	ACE 70%	ACE 80%	NF CSW 70%	CSW 70%	CSW 80%	NF MNG 70%	MNG 70%	MNG 80%	NF GRP 70%	GRP 70%	GRP 80%
<i>C. tropicale</i> CMM 4071	24	8.54 (± 3.66) ^{ef}	32.75 (± 1.89) ^{Aab}	19.50 (± 4.82) ^{Ac}	4.88 (± 2.44) ^f	28.00 (± 1.50) ^{Ab}	24.50 (± 4.84) ^{Abc}	18.29 (± 2.44) ^{cd}	34.70 (± 4.34) ^{Bab}	36.20 (± 3.02) ^{Ba}	3.66 (± 2.54) ^f	27.25 (± 3.00) ^{Ab}	14.76 (± 1.14) ^{Ade}
	48	NE	25.00 (± 1.50) ^{Bb}	23.13 (± 4.88) ^{Ab}	NE	25.75 (± 3.44) ^{Ab}	24.75 (± 4.33) ^{Abc}	NE	47.05 (± 3.88) ^{Aa}	45.85 (± 3.43) ^{Aa}	NE	21.35 (± 4.81) ^{Abc}	22.46 (± 4.79) ^{Ab}
<i>C. siamense</i> CMM 4077	24	5.83 (± 1.44) ^e	40.09 (± 1.44) ^{Aa}	35.33 (± 1.82) ^{Aab}	7.50 (± 2.50) ^e	34.33 (± 4.21) ^{Aab}	36.63 (± 3.93) ^{Aa}	16.25 (± 1.25) ^d	35.02 (± 4.90) ^{Bab}	39.86 (± 4.15) ^{Aa}	3.75 (± 2.60) ^e	31.42 (± 4.10) ^{Abc}	23.96 (± 4.84) ^{Ac}
	48	NE	39.40 (± 4.50) ^{Aa}	24.76 (± 2.49) ^{Bbc}	NE	25.58 (± 2.11) ^{Bbc}	37.47 (± 1.24) ^{Aa}	NE	44.65 (± 4.16) ^{Aa}	42.49 (± 3.13) ^{Aa}	NE	26.96 (± 4.53) ^{Ac}	22.00 (± 4.39) ^{Ac}
<i>C. karstii</i> CMM 4101	24	9.33 (± 1.54) ^g	39.12 (± 2.53) ^{Acde}	41.25 (± 4.95) ^{Acde}	14.67 (± 4.81) ^{fg}	45.45 (± 2.48) ^{Ac}	41.05 (± 4.55) ^{Acde}	18.67 (± 1.33) ^f	62.26 (± 2.53) ^{Ab}	76.31 (± 3.91) ^{Aa}	6.67 (± 4.81) ^g	33.79 (± 4.43) ^{Be}	43.47 (± 3.44) ^{Ac}
	48	NE	40.77 (± 4.16) ^{Aa}	38.95 (± 4.96) ^{Aa}	NE	43.09 (± 1.99) ^{Aa}	40.22 (± 1.72) ^{Aa}	NE	47.77 (± 3.25) ^{Ba}	41.93 (± 3.40) ^{Ba}	NE	41.70 (± 4.68) ^{Aa}	39.50 (± 4.45) ^{Aa}
<i>C. gloeosporioides</i> CMM 320	24	8.11 (± 4.13) ^f	43.17 (± 4.13) ^{Ac}	36.28 (± 4.93) ^{Ad}	8.11 (± 2.70) ^f	52.95 (± 4.81) ^{Ab}	36.28 (± 4.93) ^{Ad}	51.35 (± 2.70) ^{bc}	39.62 (± 4.94) ^{Bd}	62.40 (± 4.68) ^{Aa}	8.11 (± 4.13) ^f	21.97 (± 4.35) ^{Ae}	35.68 (± 2.05) ^{Ad}
	48	NE	37.71 (± 3.76) ^{Ab}	38.52 (± 2.16) ^{Ab}	NE	36.88 (± 4.56) ^{Bb}	35.79 (± 4.66) ^{Ab}	NE	52.53 (± 4.81) ^{Aa}	51.04 (± 2.7) ^{Ba}	NE	26.69 (± 1.82) ^{Ab}	33.61 (± 1.82) ^{Bb}
<i>C. fructicola</i> LM 680	24	10.96 (± 2.85) ^{de}	19.05 (± 4.20) ^{Ac}	29.63 (± 3.01) ^{Ab}	15.07 (± 1.58) ^{cde}	30.63 (± 4.86) ^{Ab}	32.54 (± 4.96) ^{Aab}	15.07 (± 2.74) ^{cde}	32.17 (± 3.08) ^{Bab}	39.16 (± 3.30) ^{Aa}	9.59 (± 1.58) ^e	16.67 (± 4.20) ^{Bcde}	18.47 (± 3.58) ^{Bcd}
	48	NE	22.49 (± 1.66) ^{Ac}	28.84 (± 1.21) ^{Ac}	NE	29.84 (± 2.94) ^{Ac}	30.32 (± 4.77) ^{Ac}	NE	54.20 (± 1.98) ^{Aa}	42.59 (± 2.47) ^{Ab}	NE	24.87 (± 3.20) ^{Ac}	24.34 (± 1.41) ^{Ac}
<i>C. chrysophilum</i> LM 685	24	10.71 (± 1.19) ^e	33.33 (± 4.88) ^{Ab}	29.65 (± 3.94) ^{Abc}	15.48 (± 3.57) ^{de}	35.77 (± 2.44) ^{Aab}	29.81 (± 4.76) ^{Abc}	15.48 (± 3.57) ^{de}	24.44 (± 3.01) ^{Ac}	43.41 (± 2.20) ^{Aa}	2.38 (± 3.64) ^f	23.04 (± 4.09) ^{Ac}	15.18 (± 4.48) ^{Ade}
	48	NE	27.37 (± 1.69) ^{Ac}	29.97 (± 2.95) ^{Ac}	NE	29.81 (± 4.62) ^{Ac}	31.71 (± 1.82) ^{Ac}	NE	29.54 (± 3.66) ^{Abc}	43.20 (± 3.01) ^{Aa}	NE	19.62 (± 3.66) ^{Ad}	19.35 (± 2.2) ^{Ad}

ACE: Extract of acerola by-product; CSW: Extract of cashew by-product; MNG: Extract of mango by-product; GRP: Extract of grape by-product; NE: Not evaluated; NF: Non fermented; ^{a-e} Average values in the same row with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test; ^{A-B} Average values in the same column, for a same antifungal substance, with different capital letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test.

Table 4. Percent of mycelial growth inhibition (%MGI, average $\pm$ standard deviation, n: 3) of different *Colletotrichum* isolates after 5 days of exposure to hydroalcoholic extracts of fermented acerola, cashew, mango, and grape by-products.

Treatments	%MGI					
	<i>C. tropicale</i> CMM 4071	<i>C. siamense</i> CMM 4077	<i>C. gloeosporioides</i> CMM 320	<i>C. karstii</i> CMM 4101	<i>C. fructicola</i> LM 680	<i>C. chrysophilum</i> LM 685
ACE						
50 mg/mL	25.32 (± 1.01) ^{Ba}	19.36 (± 1.12) ^{Cab}	22.00 (± 1.20) ^{Cab}	16.92 (± 2.31) ^{Bb}	19.34 (± 2.36) ^{Aab}	18.53 (± 4.99) ^{Bab}
75 mg/mL	31.13 (± 1.01) ^{ABa}	23.23 (± 1.48) ^{Bcd}	27.00 (± 1.25) ^{Bb}	22.50 (± 1.20) ^{Ac}	20.75 (± 1.88) ^{Ad}	25.58 (± 1.03) ^{ABbc}
100 mg/mL	35.00 (± 1.01) ^{Aa}	27.26 (± 1.01) ^{Abc}	30.40 (± 1.20) ^{Ab}	24.81 (± 1.20) ^{Ac}	22.17 (± 2.36) ^{Ad}	27.56 (± 1.03) ^{Abc}
CSW						
50 mg/mL	12.39 (± 2.42) ^{Bb}	10.97 (± 2.91) ^{Abc}	5.20 (± 1.20) ^{Bc}	13.66 (± 1.20) ^{Ab}	22.64 (± 3.78) ^{Aa}	10.89 (± 1.98) ^{Bbc}
75 mg/mL	14.84 (± 1.94) ^{ABbcd}	11.77 (± 1.01) ^{Ac}	10.60 (± 1.80) ^{Ad}	16.15 (± 3.52) ^{ABcd}	23.58 (± 1.89) ^{Aa}	17.66 (± 1.03) ^{Ab}
100 mg/mL	17.58 (± 1.01) ^{Ab}	11.77 (± 1.01) ^{Ac}	12.34 (± 1.10) ^{Ac}	20.38 (± 1.56) ^{Ab}	25.00 (± 2.36) ^{Aa}	19.73 (± 1.09) ^{Ab}
MNG						
50 mg/mL	33.06 (± 1.01) ^{Cbc}	35.76 (± 4.86) ^{Bb}	50.80 (± 1.20) ^{Ca}	27.13 (± 1.20) ^{Cc}	28.30 (± 3.78) ^{Ac}	31.85 (± 1.03) ^{Bbc}
75 mg/mL	43.87 (± 1.94) ^{Bbc}	48.87 (± 1.01) ^{Ab}	70.20 (± 1.25) ^{Ba}	42.79 (± 3.06) ^{Bcd}	30.19 (± 1.89) ^{ABe}	37.78 (± 1.03) ^{ABd}
100 mg/mL	54.35 (± 1.01) ^{Ab}	53.55 (± 1.94) ^{Abc}	82.75 (± 1.98) ^{Aa}	50.19 (± 1.20) ^{Ac}	34.43 (± 1.42) ^{Ad}	45.71 (± 1.03) ^{Ae}

ACE: Extract of acerola by-product; CSW: Extract of cashew by-product; MNG: Extract of mango by-product; ^{a-e} Average values in the same row with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test; ^{A-C} Average values in the same column, for a same *Colletotrichum* isolate, with different capital letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test.

Table 5. Percentage (average $\pm$ standard deviation, n: 3) of anthracnose lesion diameter reduction in mango cv. Palmer coated with hydroalcoholic extracts of acerola and mango fermented by-products and sodium alginate (SA) and inoculated with pathogenic *Colletotrichum* species during 15 days of room temperature storage (25 ± 0.5 °C).

<i>Colletotrichum</i> strains	Coatings	Day of storage			
		6	9	12	15
<i>C. tropicale</i> CMM 4071	SA + ACE	51.85 (± 3.71) ^{Ad}	56.27 (± 3.28) ^{Ac^d}	76.67 (± 1.16) ^{Aa}	74.83 (± 4.60) ^{Aab}
	SA + MNG	33.08 (± 3.77) ^{Bd}	53.41 (± 4.48) ^{Ac}	78.45 (± 3.09) ^{Aa}	66.61 (± 4.84) ^{Ab}
	SA	14.07 (± 4.86) ^{Cd}	39.64 (± 4.31) ^{Bc}	52.95 (± 4.95) ^{Ba}	50.56 (± 3.06) ^{Bab}
<i>C. siamense</i> CMM 4077	SA + ACE	33.90 (± 4.48) ^{ABd}	57.48 (± 3.19) ^{Bc}	78.35 (± 1.33) ^{Aa}	71.76 (± 4.34) ^{Aab}
	SA + MNG	43.28 (± 4.81) ^{Ac}	66.86 (± 3.05) ^{Ab}	78.23 (± 2.63) ^{Aa}	75.80 (± 4.41) ^{Aab}
	SA	32.02 (± 3.41) ^{Bd}	62.69 (± 3.04) ^{ABc}	75.58 (± 4.79) ^{Aa}	72.72 (± 1.18) ^{Aab}
<i>C. karstii</i> CMM 4101	SA + ACE	9.57 (± 1.65) ^{Ad}	10.86 (± 3.34) ^{Ccd}	26.98 (± 4.89) ^{Bb}	59.85 (± 3.38) ^{Ba}
	SA + MNG	3.93 (± 3.30) ^{Ad}	25.93 (± 3.70) ^{Bc}	42.86 (± 2.86) ^{Ab}	73.11 (± 3.36) ^{Aa}
	SA	5.64 (± 2.71) ^{Ad}	35.19 (± 1.85) ^{Ac}	41.43 (± 4.29) ^{Ab}	65.55 (± 4.20) ^{ABa}
<i>C. gloeosporioides</i> CMM 320	SA + ACE	76.67 (± 2.18) ^{Ac}	83.77 (± 1.32) ^{Ab}	85.31 (± 1.03) ^{ABab}	87.01 (± 1.30) ^{Aa}
	SA + MNG	68.57 (± 2.86) ^{Bc}	80.41 (± 1.34) ^{Ab}	82.86 (± 1.43) ^{Bab}	85.50 (± 1.35) ^{Aa}
	SA	73.81 (± 2.18) ^{ABc}	83.63 (± 2.03) ^{Aab}	86.08 (± 1.07) ^{Aa}	84.56 (± 1.32) ^{Aab}

ACE: Extract of acerola by-product; MNG: Extract of mango by-product; SA: Sodium alginate; ^{a-d} Average values in the same row with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test; ^{A-B} Average values in the same column, for a same isolate, with different capital letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test.

Table 6. Percentage (average $\pm$ standard deviation, n: 3) of anthracnose lesion diameter reduction in guava cv. Paluma coated with hydroalcoholic extracts of acerola and mango fermented by-products and sodium alginate (SA) and inoculated with distinct pathogenic *Colletotrichum* species during 15 days of room temperature storage (25 ± 0.5 °C).

<i>Colletotrichum</i> strains	Coatings	Day of storage			
		6	9	12	15
<i>C. fruticola</i> LM 680	SA + Ace	30.15 (± 4.37) ^{Ac}	66.67 (± 1.34) ^{Aab}	73.11 (± 3.83) ^{Aa}	56.81 (± 3.77) ^{Cb}
	SA + Mng	30.43 (± 4.35) ^{Ac}	68.22 (± 3.55) ^{Aab}	71.19 (± 4.48) ^{Aa}	68.29 (± 4.88) ^{Bab}
	SA	27.25 (± 4.79) ^{Ad}	66.67 (± 3.55) ^{Ac}	76.27 (± 3.39) ^{Aab}	80.89 (1.86) ^{Aa}
<i>C. chrysophilum</i> LM 685	SA + Ace	57.58 (± 3.97) ^{Bd}	59.40 (± 1.73) ^{Bcd}	73.41 (± 3.83) ^{Aab}	76.50 (± 3.61) ^{Aa}
	SA + Mng	56.80 (± 3.94) ^{Ba}	62.54 (± 4.64) ^{Ba}	55.32 (± 1.79) ^{Ba}	62.64 (± 4.94) ^{Ba}
	SA	65.91 (± 4.72) ^{Aab}	73.86 (± 4.28) ^{Aa}	54.44 (± 5.00) ^{Bc}	64.61 (± 4.49) ^{Bacb}

ACE: Extract of acerola by-product; MNG: Extract of mango by-product; SA: Sodium alginate; ^{a-e} Average values in the same row with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test; ^{A-B} Average values in the same column, for a same isolate, with different capital letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test.

Table S1. Values of pH (average $\pm$ standard deviation, n: 3) of acerola (ACE), cashew (CSW), mango (MNG), and grape (GRP) by-products at different fermentation times.

Time of fermentation	ACE	CSW	MNG	GRP
0	2.91 (± 0.01) ^{Aa}	2.91 (± 0.02) ^{Bb}	3.17 (± 0.01) ^{Aa}	2.91 (± 0.02) ^{ABb}
24	2.86 (± 0.01) ^{Bc}	2.86 (± 0.01) ^{Cc}	3.01 (± 0.01) ^{Ca}	2.94 (± 0.02) ^{Ab}
48	2.86 (± 0.01) ^{Bd}	2.95 (± 0.01) ^{Ab}	3.13 (± 0.01) ^{Ba}	2.88 (± 0.02) ^{Bcd}

^{a-d} Average values in the same row with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test; ^{A-C} Average values in the same column, for a same fermented by-product, with different capital letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Turkey's test.

Table S2. Metabolites identified in hydroalcoholic extracts of acerola (ACE) and mango (MNG) by-products at 0 and 24 h of fermentation analyzed by ^1H -NMR.

Number	Chemical constituents	Fermentation medium/Time of fermentation			
		ACE		MNG	
		0	24 h	0	24 h
1	Ethanol	x		x	x
2	Methanol	x		x	x
3	Alanine	x		x	x
4	Methionine	x		x	x
5	Trimethylamine	x	x		
6	Glycine	x	x	x	x
7	Fructose	x	x	x	x
8	Dihydroxyacetone	x		x	x
9	α -Xylose	x		x	x
10	β -Xylose	x		x	x
11	β -Glucose	x	x	x	x
12	α -Glucose	x		x	x
13	D-galactose	x	x		
14	Phenylacetate			x	x
15	3-Hydroxyisovalerate	x	x		
16	Syringic acid	x	x	x	x

Note: "x" represents the presence of the metabolite.