



**UNESP -UNIVERSIDADE ESTADUAL
PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Faculdade de Ciências e Letras - Assis
Engenharia Biotecnológica**

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO FRUTO DA PLANTA *MORINDA
CITRIFOLIA* L., QUANTO À COMPOSIÇÃO CENTESIMAL,
ATIVIDADE ENZIMÁTICA E AVALIAÇÃO DA AÇÃO
INIBITÓRIA DE MICRORGANISMOS**

Pedro Martins Elias

**Assis
2022**

PEDRO MARTINS ELIAS

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO FRUTO DA PLANTA MORINDA
CITRIFOLIA L., QUANTO À COMPOSIÇÃO CENTESIMAL,
ATIVIDADE ENZIMÁTICA E AVALIAÇÃO DA AÇÃO
INIBITÓRIA DE MICRORGANISMOS**

Orientador: Pedro de Oliva Neto

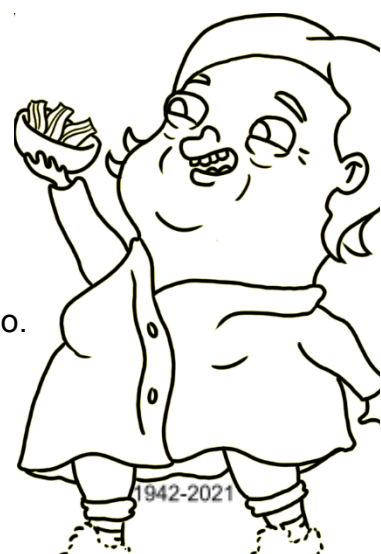
Co-orientadora: Joyce Faria de Souza

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Ciências
e Letras da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” –
Campus de Assis para obtenção do
grau de Bacharel em Engenharia
Biotecnológica.

Assis

2022

A Suilene Elias dedico este trabalho.



Agradecimentos

O presente projeto foi desenvolvido com apoio da CNPQ através da concessão de bolsa de estudo de iniciação científica PIBIC, nº de processo 2816. Agradeço a meus pais por todo apoio e cuidados que me deram a todo momento no percurso desta graduação.

Ao meu irmão Felipe pelas longas noites me escutando e me dando apoio para prosseguir. Eu não estaria aqui sem você.

Aos meus amigos que fiz durante todos esses anos por sempre estarem por perto quando precisei até das coisas mais simples.

À Joyce pelos incontáveis conselhos, por todas as boas conversas que tivemos enquanto esperávamos (pouco) atentos o tempo dos experimentos e por toda ajuda que me deu quando tudo deu errado na ida para Araraquara.

À minha avó, a quem dedico este trabalho, pelos cafés, as conversas, as músicas, o amor incansável e por estar comigo. Sempre.

RESUMO

O estudo de microrganismos é essencial na biotecnologia, principalmente no desenvolvimento e otimização de produtos, desde produção alimentícia à produção de biocombustíveis. Neste cenário é frequente o uso de extratos de frutos como base experimental de suas capacidades sobre diferentes microrganismos. O presente estudo buscou avaliar os potenciais antibióticos e antimicóticos do fruto da *Morinda citrifolia* L. (*M. citrifolia*), popularmente conhecido por suas capacidades curativas. Por meio de métodos bioquímicos foi estudada a composição centesimal, análise de pH, fibras, sólidos totais, cinzas, amido, lipídeos, proteínas, açúcares redutores, carboidratos totais, e atividades enzimáticas das enzimas proteolíticas, xilanolíticas, celulolíticas e amilolíticas. A composição do extrato do fruto foi analisada comparativamente a literatura. Também foi analisada a capacidade de inibição de crescimento do extrato do fruto da *M. citrifolia* L., sem sementes diluído em meio de cultura de *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus fermentum*, *Salmonella enterica* e *Escherichia coli*, na concentração de 5%. Nossos resultados mostram que a polpa do fruto apresenta alta umidade, e alto teor de fibras e açúcares. Além disso uma baixa porcentagem de proteínas e cinzas, e ausência de amido foi observada. Os resultados de xilanases indicaram baixa atividade e as enzimas proteolíticas estão em níveis médios quando comparados a estudos deste tipo, além disto, não foi observada atividade celulolítica e amilolítica. Em relação aos testes de inibição, não foi possível observar inibição da proliferação celular de nenhum dos organismos estudados, mesmo em concentração de 5% de extrato do fruto da *M. citrifolia* L. em meio de cultura. Baseado nos dados obtidos, pode-se concluir que o extrato do fruto da *M. citrifolia* L., embora incapaz de inibir alguns microrganismos contaminantes mesmo em concentração relativamente alta (5%), possui potencial biotecnológico nas áreas de fermentação e no estudo de suas proteases.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*; inibição; enzimas; composição centesimal.

ABSTRACT

The study of microorganisms is essential in biotechnology, especially in the development and optimization of products ranging from food to biofuel production. In this scenario fruit extracts are frequently used as an experimental scaffolding for microorganisms capacities. This study analyzed the antibiotic and antimycotic potentials of the fruit from *Morinda citrifolia* L. (*M. citrifolia*), commonly known by its healing capacities. With the use of biochemical methods, the fruit's extract from *M. citrifolia* was analyzed by its centesimal composition, pH analysis, fiber, solute solids, ashes, starch, lipids, protein, reducing sugars, total carbohydrates and enzymatic activities of proteolytic, xylanolytic, cellulolytic and amylolytic enzymes. Its composition was then compared to studies available in literature. The extracts inhibitory capacity was studied in 5% dilution on growth media of *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus fermentum*, *Salmonella enterica* and *Escherichia coli*. Results show high humidity in the fruit's Pulp, as well as high fiber and sugar content. Furthermore, a low percentage of protein and ashes and the absence of starch was observed. The extract enzymes indicate no cellulolytic and amylolytic activity, low xylanolytic activity, and a comparatively medium proteolytic activity. Regarding the inhibition tests, no cellular growth inhibition was observed in any of the microorganisms used, even in 5% concentration of *M. citrifolia* fruit's extract in their growth media. Based on the data gathered, *M. citrifolia* fruit's extract, although incapable of inhibiting cellular growth, even in high media concentration (5%), has potential biotechnological applications in fermentations and protease studies.

Key words: *Morinda citrifolia*; inhibition; enzymes; centesimal composition.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dados centesimais da tabela 1, em base seca..... 25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagens em base úmida.....	23
Tabela 2 - Tabela comparativa completa da caracterização... físico-química e bioquímica da polpa do fruto da <i>Morinda</i> <i>citrifolia</i>	24
Tabela 3 - Resultados das atividades enzimáticas.....	25
Tabela 4 - Relatório da inibição de microrganismos na concentração de 5% (m/m, base úmida) do extrato no meio de cultura.....	26

SUMÁRIO

1 Introdução	10
1.1 Bactérias	11
1.2 Leveduras	11
2 Objetivos	13
2.1 Objetivos Gerais	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3 Metodologia	15
3.1 Produção do Extrato.....	16
3.2 Meios de Cultura e Ativação dos Microrganismos.....	16
3.3 Caracterização Físico-Química e Análise Enzimática.....	17
3.3.1 Análise de Fibras.....	17
3.3.2 Umidade.....	17
3.3.3 Determinação do pH.....	18
3.3.4 Análise de Lipídeos.....	18
3.3.5 Amido e Atividade Amilolítica.....	18
3.3.6 Proteínas e Atividade Proteolítica.....	18
3.3.7 Açúcares e Carboidratos.....	19
3.3.8 Atividade Enzimática.....	29
3.3.9 Determinação de Sólidos.....	20
3.4 Teste da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	20
4 Resultados	22
4.1 Análises Físico-Químicas e Bioquímicas.....	23
4.2 Comparação com Resultados Físico-Químicos.....	24
4.3 Análise das Atividades Enzimáticas.....	25
4.4 Análise da Inibição de Microrganismos.....	26
5 Discussão	27
6 Conclusão	30
Referências	32

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O estudo de microrganismos tem grande importância para a biotecnologia e é essencial no desenvolvimento de novos produtos, principalmente por processos fermentativos (Bourdichon, 2012), e na otimização destes processos que variam de produção alimentícia (Zotta *et al.*, 2020; Capece *et al.*, 2018) à biocombustíveis (Júnior, 2020). Frutos são frequentemente utilizados como base de experimentos para a inibição de microrganismos com o objetivo de encontrar novas soluções tecnológicas (Momand, *et al.*, 2014; Aneka & Joshi, 2009; Takó, *et al.* 2020).

A *Morinda citrifolia* L. (fruta cujo nome comum é “Noni”) pertence à família *Rubiaceae*, utilizada há décadas como alimento nas regiões tropicais em todo o mundo, em uso medicinal por povos nativos das ilhas Cook (Whistler, W. A., 1985), além de fazer parte da cultura como no Havaí onde é referida pela mitologia como responsável pelo retorno do Deus Maui à vida como uso de as suas folhas (Neal M., 1965).

A frutificação ocorre durante todos os meses do ano, o que torna propício a utilização como produto comercial devido a disponibilidade de matéria prima (Nelson, 2003). Já a análise de sua composição centesimal (fibras, cinzas, lipídeos, proteínas, carboidratos e umidade) permite comparar diferentes frutos de regiões do Brasil e do mundo, visto que podem haver diferenças entre plantas produtoras em uma mesma região (Silva, 2013) e variações na qualidade do fruto dependendo da qualidade do solo (Rato *et al.*, 2008). Além disso, esta avaliação colabora na elucidação de futuras aplicações biotecnológicas deste fruto.

As aplicações dadas a fruta por diferentes povos vão desde a sua ação em diferentes patologias tais como queimaduras, câncer, doença renal, derrames, úlceras gástricas, malária (Rajivgandhi *et al.*, 2020; Vuanghao & Laghari, 2017), até sua capacidade bactericida e fungicida já demonstrada por Vuanghao & Laghari, 2017.

Este projeto buscou avaliar a capacidade de inibição do fruto para algumas bactérias, assim como leveduras. Foram selecionadas com base em sua importância biotecnológica o *Lactobacillus fermentum* que é um importante contaminante em processos fermentativos, assim como a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Collograi, Da Costa & Ienczak, 2019), além de analisar o potencial inibitório para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* que possuem

potencial patológico e com isso sua inibição é de grande interesse (Poirel, 2018; Lee *et al.*, 2018; Ministério da Saúde, 2011).

1.1 Bactérias

As bactérias são microrganismos unicelulares presentes em diversos ambientes do planeta incluindo na microbiota humana (Dewhirst *et al.*, 2010; Nogacka, 2018), solo (Bhatti, Haq & Bhat, 2017) e estratosfera (Dassarma, *et al.*, 2020). As bactérias apresentam uma grande variedade de aplicações.

A *Escherichia coli* é uma representante importante deste grupo, caracterizada pela sua resiliência e diversidade de aplicações biotecnológicas, principalmente na proteômica (Rosano *et al.*, 2019). Recentemente os estudos sobre a crescente resistência à antibióticos tem se destacado, colocando a espécie em foco na busca de novos métodos inibitórios (Poirel, 2018; Kot, 2019) visto seu potencial patogênico tanto no trato intestinal quanto fora dele (Gomes *et al.*, 2016; Kot, 2019).

O *Lactobacillus fermentum* é uma bactéria comumente encontrada como contaminante da fermentação alcoólica, prejudicando a produção de etanol de primeira e segunda geração e com isso reduzindo o rendimento e produtividade do processo (Costa, Cerri & Ceccato-Antoninni, 2018; Collograi, Da Costa & Ienczak, 2019). Baseado nisso, as usinas de bioenergia têm o objetivo de reduzir os contaminantes, através, por exemplo, da utilização de biocidas e antibióticos. Contudo tais práticas resultam em aumento nos custos de produção (Oliva Neto *et al.*, 2013).

A *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que apresenta resistência a diversos antibióticos, principalmente meticilina (Lee *et al.*, 2018), e indícios de resistência à vancomicina (McGuinness, Malachowa & DeLeo, 2017), que é indicada para o tratamento de *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) (Foster, 2017).

Já a *Salmonella enterica*, possui alta virulência e está entre as principais do gênero em septicemias e infecções do sistema nervoso central, segundo dados do Ministério da Saúde (2011, p. 12), reforçando a importância do desenvolvimento de novas estratégias para tratamento de infecções causada por ela.

1.2 Leveduras

As leveduras são organismos unicelulares ricos em vitaminas, minerais e proteínas usualmente aplicadas em diversos setores por sua capacidade fermentativa e potencial físico, sendo fonte de ribonucleotídeos, b-glucana, manana,

vitaminas, proteínas, entre outros compostos. As leveduras são utilizadas em diversos processos industriais como na indústria do etanol, panificação, produção de vinhos, cervejas, na indústria animal como fonte de nutrientes, probióticos, entre outros.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, é de extrema importância na produção do etanol de primeira geração e de diversas bebidas alcoólicas, e é objeto de diversas pesquisas que analisam e buscam melhorar o rendimento e produtividade destes processos (Kim, *et al.*, 2017; Bonatelli, Ienczak & Labate, 2019; Walker & Walker, 2018). Contudo, estes processos podem conter contaminantes que reduzem a eficiência da produção do etanol (Costa, Cerri & Ceccato-Antoninni, 2018).

Por outro lado, a levedura *Rhodotorula mucilaginosa* possui colônias de coloração rosa, normalmente lisa e ocasionalmente rugosa. É capaz de crescer utilizando diversos carboidratos, como glicose, sacarose, galactose, trealose, maltose, dentre outros. Possui importância biotecnológica que vai da produção de pigmentos a bioremediação (Sampaio, 2011). A espécie já foi reportada como produtora de diversas enzimas e produção de carotenoides.

Há estudos sobre o uso da levedura como agente de biocontrole em doenças de pós-colheita como mofo azul causado por *Penicillium expansum* e *Rhizopus stolonifer* em pêssego (Zhang *et al.*, 2013), mofo cinza e o azul em maçãs causado por *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*, respectivamente (Li *et al.*, 2011).

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Avaliar as características químicas e bioquímicas do fruto da *Morinda citrifolia*, e seus efeitos antibióticos e antimicóticos sobre um conjunto de microrganismos.

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir o extrato do fruto da *Morinda citrifolia* por trituração e posterior filtração;
- Analisar o teor de fibras, cinzas, umidade, amido, lipídeos e proteínas deste extrato;
- Analisar açúcares redutores e atividades celulolítica, xilanolítica, amilolítica e proteolítica do extrato;
- Analisar efeito das concentrações 0,05%; 0,1%; 1% e 3% e 5% sobre *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus fermentum*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella tiphimurium* e *E. coli* e posteriormente avaliar a concentração inibitória mínima para os microrganismos que apresentarem inibição nos testes anteriores.

Metodologia

3 METODOLOGIA

3.1 Produção do extrato

O fruto maduro (coloração branco-amarelada) foi triturado em triturador industrial (SPL-048, Spolu, Itajobi, Brasil). A massa produzida foi filtrada a fim de separar as sementes. O produto filtrado foi armazenado em câmara fria (-16°C) a fim de manter a integridade do material. O extrato utilizado na Concentração Inibitória Mínima é produzido após a preparação dos meios em relação da massa de extrato pela massa de meio.

3.2 Meios de cultura e ativação dos microrganismos

Os microrganismos e meios utilizados para o teste inibitório foram cultivados nos seguintes meios de cultura:

1. A *Rhodotorula mucilaginosa* foi ativada utilizando meio formulado de acordo com De Oliva Neto *et al.* (2004), contendo: 2% sacarose, 0,5% extrato de levedura, 0,1% sulfato de amônia, 0,114% $K_2HPO_4 \cdot 3 H_2O$, 0,0017% $MnSO_4 \cdot 7 H_2O$, 0,0028% $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ e 0,024% $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$, com ajuste de pH para 5,0;
2. A *Saccharomyces cerevisiae* foi ativada em meio YPD, de acordo com (Dymond, J. S., 2013), contendo: 1% extrato de levedura, 2% peptona, 0,033% triptofano e 2% dextrose.
3. A *Lactobacillus fermentum* foi ativada em meio MRS de acordo com De Man *et al.*, (1960), contendo: 1% peptona, 1% de extrato de carne (Lab-Lemco), 0,5% extrato de levedura, 2% glicose, 1 mL por litro de meio Tween 80, 0,2% K_2HPO_4 , 0,5% $CH_3COONa \cdot 3 H_2O$, 0,2% Citrato de triamônio, 0,02% $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$, 0,005% $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$, com ajuste de pH em 6,2.
4. O *Staphylococcus aureus* foi ativado com caldo infusão cérebro coração (BHI).
5. O meio LB foi utilizado para a ativação da *E. coli* de acordo com Lessard J. C., 2013, contendo: 1% triptona, 0,5% extrato de levedura, 1% NaCl com pH 7.2 ± 0.2 .
6. A *Salmonella* Typhimurium foi ativada com o Meio Verde Brilhante como composto por (BD TM, 2020, com ajustes), contendo: 1% peptona proteose, 0,3% extrato de levedura, 1% lactose, 1% sacarose, 0,5% NaCl, pH $6,9 \pm 0,2$.

Todos os meios foram autoclavados a 1 ATM por 20 min para posterior inoculação dos microrganismos, estes foram replicados anteriormente com alça de platina esterilizada para um tubo de ensaio autoclavado onde foram incubados em aproximadamente 10 mL de meio por dois dias às temperaturas de 30° para *S. cerevisiae* e *R. mucilaginosa* e 37° para *S. aureus*, *L. fermentum*, *E. coli*, *Salmonella Typhimurium* de maneira a controlar a quantidade de inóculo.

Após o período de incubação, os microrganismos foram inseridos em tubos identificados para suas respectivas concentrações (volume de extrato pelo volume de meio) e no controle em triplicata. As culturas foram mantidas por 96 horas nas temperaturas citadas, antes de serem levadas a câmaras de Neubauer para verificação da inibição.

3.3 Caracterização físico-química do fruto e análise enzimática:

3.3.1 Análise de fibras

Para fibras detergentes neutras (FDN) 100 mL de uma solução FDN foi preparada com os seguintes constituintes: 30 g/L de Lauril sulfato de sódio, 10 mL/L de etileno glicol. 18,61 g/L de EDTA de sódio, 6,81 g/L de borato de sódio e 4,56 g/L de fosfato de sódio dibásico anidro. O bloco digestor foi ligado à 150° C e 1 g da amostra foi pesada e transferida para tubos de fibras, a estes tubos foram adicionados 100 mL da solução FDN e o sistema foi mantido em ebulição por uma hora. A amostra então foi lavada com água destilada e transferida a um cadinho de alumínio (tarado) que foi levado à estufa de 105° C por 48 horas para evaporação da água e posteriormente foi pesado (AOAC, 1990).

3.3.2 Umidade

A umidade foi determinada em uma balança de umidade (Torbal) onde uma alíquota de 3g de extrato do fruto foi posicionada na balança em um recipiente previamente tarado e os seguintes cálculos foram efetuados, de acordo com Lutz, 1985:

$$U_{\%} = (m' / m) \times 100$$

Em que:

$U_{\%}$ = Umidade relativa à massa inicial (massa úmida);

m' = Massa após secagem;

m = Massa inicial.

3.3.3 Determinação do pH

O pH foi determinado com pHmetro TEC-11 (Tecnal), com separação de 10 ml de amostra homogeneizada constantemente durante a leitura até obtenção de um pH constante pelo monitor do aparelho.

3.3.4 Análise de Lipídios

A análise de lipídios foi realizada em aparelho extrator soxhlet. O balão soxhlet foi previamente seco a 105°C, pesado em balança analítica e acoplado ao extrator com éter de petróleo. 3 g de amostra foram adicionados em papel filtro dobrado e, posteriormente, adicionados ao extrator. O aparelho então foi resfriado a 20°C para que ocorra a condensação e o balão foi aquecido com manta térmica. As amostras ficaram por 10 horas em lavagem com éter. O balão então foi seco à 105°C, mantido em dessecador e pesado em balança analítica (AOAC, 1990).

3.3.5 Amido e atividade amilolítica

A análise de amido foi realizada utilizando o protocolo de AOAC (1995) 996.11* Determinação de Amido Disponível e Resistente (modificado).

A atividade amilolítica foi realizada em tubos de ensaio com substrato formado por uma solução 0,5% de amido solúvel em tampão acetato (0,05 M, pH 5,5). Nos tubos foram adicionados 0,1 mL de extrato do fruto e 0,9 mL de substrato. A solução

foi colocada e banho maria à 60°C por 10 minutos com adição de 0,5 mL de DNS (Miller, 1959) e banho de ebulição por 5 minutos. As amostras foram então diluídas e lidas em espectrofotômetro à 540 nm. A unidade de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzimas necessárias para liberar 1 µmol de açúcar redutor por minuto nas condições do ensaio, utilizando a curva padrão de xilose.

3.3.6 Proteínas e atividade proteolítica

A determinação de proteínas seguiu a metodologia proposta por AOAC (2000). É realizada com 1 g de amostra seca a ser digesta em tubos de digestão com 1 g de catalisador e 3 mL de ácido sulfúrico à 350 °C. Pós digestão os tubos foram resfriados, adicionados 5 gotas de fenolftaleína e conectados ao aparelho de destilação. NaOH 40% (m/v) é adicionado aos tubos de digestão até o aparecimento da coloração rosada para posterior destilação em Erlenmeyer de 125 mL contendo uma solução de 10 mL de H₃BO₃ com 2 gotas de vermelho de metila e de verde de bromocresol. O destilado deve ser titulado com solução de HCl a 0,02 M.

A atividade proteolítica do extrato tem como substrato uma solução de azocaseína 1% (m/v) em tampão acetato 0,05 M, pH 5,5, sendo adicionados 250 µL em cada tubo. A reação foi feita em banho maria a 50° C por 30 minutos. Após este período foi adicionado 1 mL de solução de Ácido Tricloroacético - TCA (10% m/v). As amostras então foram transferidas pra tubos de centrifuga de 1,5 mL e centrifugados à 10000 rpm por 5 minutos. Do sobrenadante foi retirado 1 mL que foi colocado em novos tubos. Foi adicionado a mesma quantidade retirada de amostra de NaOH 1 M. A leitura foi feita em espectrofotômetro à 440 nm (Leighton *et al.*, 1973).

3.3.7 Açúcares e carboidratos

Os açúcares redutores presentes no extrato do fruto noni foram avaliados pelo método DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) conforme descrito por Miller (1959). Onde foram adicionados 1 mL da amostra em tubos de reação com diluição caso se mostre necessário. A amostra então foi colocada em banho maria a 100°C por 5 minutos, diluída e lida em espectrofotômetro a 540 nm.

Os carboidratos totais foram calculados por diferença (ANVISA, 2003b).

Em que:

Carboidratos Totais = 100% - (proteínas + cinzas + umidade + fibras totais + lipídeos)

3.3.8 Atividade Enzimática

A atividade celulolítica do extrato do fruto noni foi realizada de acordo com Ghose (1987). Papel filtro whatman nº 1 em tiras de 1x6 cm foi utilizado como substrato para a celulase do fruto em 1,5 mL de tampão citrato 0,05 M (pH 4,8). A reação foi feita em banho maria a 50° C por 1 hora com 0,5 mL do fruto processado. Após este período foram adicionados 3,0 mL de DNS (Miller, 1959) e levado à ebulição por 5 minutos seguido de banho de gelo. As amostras então foram agitadas e lidas em espectrofotômetro a 540 nm.

A unidade de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzimas necessárias para liberar 1 µmol de açúcar redutor por minuto nas condições do ensaio, utilizando a curva padrão de glicose.

A atividade xilanolítica do extrato do fruto noni foi medida de acordo com a metodologia de Bailey *et al.*, (1992). Foram adicionados 0,9 mL do substrato xilana Birchwood 0,5% (Sigma Aldrich) em tampão acetato (pH 5,0) em conjunto de 0,1 mL do fruto processado. Então, a solução foi colocada e banho maria à 50°C por 10 minutos com adição de 0,5 mL de DNS (Miller, 1959) e banho de ebulição por 5 minutos.

As amostras foram então diluídas para que a absorbância fique entre 0,1 e 1,0 e lidas em espectrofotômetro à 540 nm. A unidade de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzimas necessárias para liberar 1 µmol de açúcar redutor por minuto nas condições do ensaio, utilizando a curva padrão de xilose.

3.3.9 Determinação de sólidos

Para a determinação de sólidos solúveis totais foi analisado o teor de BRIX por um refratômetro Tiaoyeer com variação $\pm 0,2$ °Brix (Ministério da Agricultura, 1986).

A determinação de cinzas foi realizada em triplicata em cadinhos previamente pesados com posterior adição de 1 g de amostra seca mantida em mufla a 550° C por 5 horas. Após isto a amostra foi deixada em dessecador para chegar à temperatura ambiente, seguido de pesagem em balança analítica (Lutz, 1985).

3.4 Teste da concentração inibitória mínima (CIM):

Testes iniciais foram realizados para as bactérias e leveduras nas concentrações de 0,05%; 0,1%; 1% e 3% e 5%, posteriormente os microrganismos

que apresentarem inibição partirão para a determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de acordo com Jones *et al.* (1985) por análise em câmara de Neubauer para verificação do crescimento.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Análises físico-químicas e bioquímicas

A *tabela 1* indica as porcentagens e respectivos desvios padrões das análises físico-químicas e bioquímicas, com todas as porcentagens em base úmida. Todos experimentos foram feitos com o extrato do fruto à temperatura ambiente. Quando necessário o uso do extrato seco, este foi colocado por 12 horas em estufa a 105°C. A polpa do fruto apresenta alta umidade, teor de fibras e açúcares, principalmente. Além disso uma baixa porcentagem de proteínas e cinzas, e ausência de amido foi observada.

Tabela 1: Porcentagens em base úmida. Representada como *Dados ±Desvio padrão*, quando disponível.

Parâmetro	Resultados obtidos
Polpa filtrada	76,43%
Umidade	88,89±0,0048%
Sólidos totais	10 °Brix
Açúcares redutores totais	7,41 ±0,2160%
Amido	0
Fibra detergente neutra	1,76±0,1563%
Cinzas	0,71±0,0085%
Lipídeos	0,041±0,0070%
Proteínas	1,002±0,0336%
Carboidratos totais	7,59% ¹
pH	3,5

¹calculado por: 100 – (proteínas + cinzas + umidade + fibras detergentes neutras + lipídeos)

4.2 Comparação com resultados físico-químicos

A *tabela 2* foi elaborada com base em artigos com dados semelhantes na literatura onde a primeira coluna com dados representa os encontrados pelo autor e as seguintes os dados dos artigos referenciados. As análises de fibra detergente neutra envolvem a composição de hemicelulose, celulose e lignina e foi comparada aos valores de fibras totais encontrados por outros autores. A comparação dos

resultados mostra alta variação na presença de proteínas, carboidratos, açúcares redutores totais e lipídeos, em relação a Chunhieng (2003), Faria (2014) e Nascimento (2018). Esta variação pode ter ocorrido devido a variação entre diferentes plantas e também da qualidade do solo.

Tabela 2- Tabela comparativa completa da caracterização físico-química e bioquímica da polpa do fruto da *Morinda citrifolia*. (porcentagens em base úmida). Tabela representada como Dados $\pm$ Desvio padrão, quando disponível.

Parâmetro	Resultados obtidos	Chunhieng (2003)	Faria et al. (2014)	Nascimento et al. (2018)
Polpa filtrada	76,43%	-	-	-
Umidade	88,89 $\pm$ 0,0048%	90,25%	90,66 $\pm$ 0,01%	90,00 $\pm$ 0,01%
Sólidos totais	10 °Brix	8 °Brix	-	8,17 $\pm$ 0,05 °Brix
Açúcares redutores totais	7,41 $\pm$ 0,2160%	-	3,71 $\pm$ 0,17%	-
Fibra detergente neutra	1,76 $\pm$ 0,1563%	-	-	-
Fibras totais	-	3,38%	1,00 $\pm$ 0,05%	2%
Cinzas	0,71 $\pm$ 0,0085%	0,86%	0,66 $\pm$ 0,04%	0,82 $\pm$ 0,01%
Lipídeos	0,041 $\pm$ 0,0070%	0,15%	0,04 $\pm$ 0,01%	0,34 $\pm$ 0,04%
Proteínas	1,002 $\pm$ 0,03361%	2,5%	2,36 ²	4,20 $\pm$ 0,01%
Carboidratos totais	7,59% ¹	-	5,27% $\pm$ 0,41	2,68 $\pm$ 0,01%
pH	3,5	3,72	3,54	3,95

¹calculado por: 100 – (proteínas + cinzas + umidade + fibras detergentes neutras + lipídeos)

²calculado por: 100 – (umidade + lipídeos + cinzas + carboidratos totais + fibras dietéticas)

A figura 1 foi elaborada com o objetivo de comparar os resultados de composição centesimal (fibras, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos) dos mesmos autores selecionados para a tabela 2 e colabora para o entendimento das diferenças na composição do fruto entre eles.

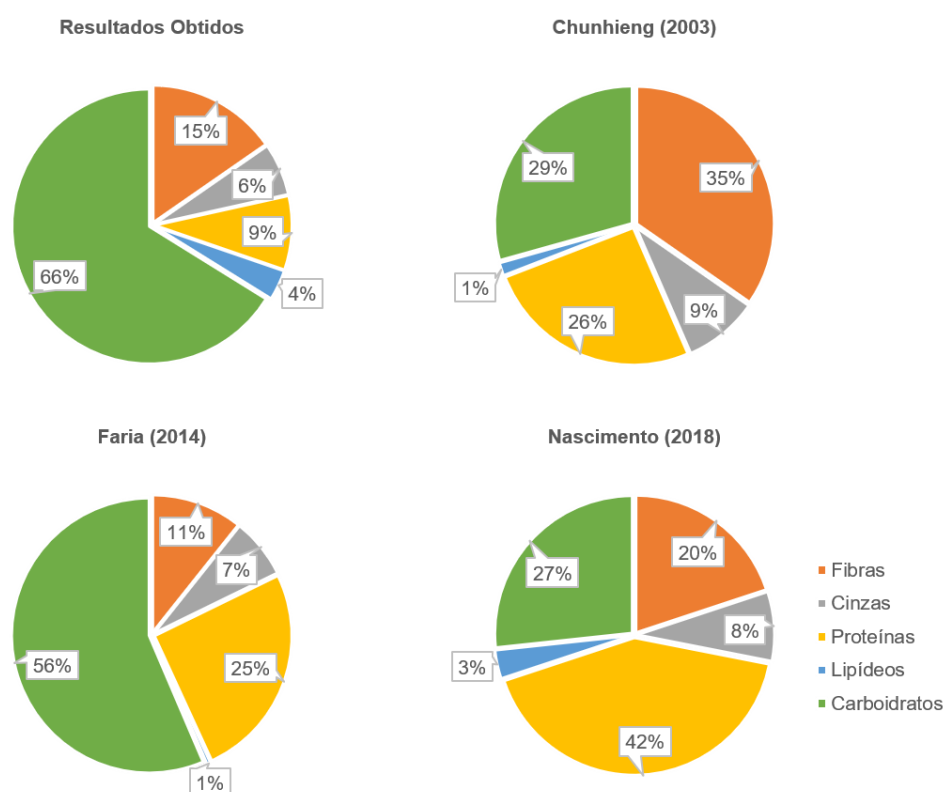


Figura 1- Dados centesimais da tabela 1, em base seca.

4.3 Análise das atividades enzimáticas

A *tabela 3* representa a atividade enzimática de cada uma das quatro enzimas estudadas. A atividade das enzimas amilase e celulase foi inexistente, já xilanases apresentaram pequena atividade. Além disso os valores das atividades de proteases são comparáveis com dados de Giongo (2006), que analisou proteases de bactérias do gênero *Bacillus sp.*

Tabela 3: Resultados das atividades enzimáticas. Representada como *Dados ± Desvio padrão*, quando disponível.

Enzimas	Resultados obtidos (U/mL)
Amilase	0
Celulase	0
Xilanase	3,35±0,8912
Protease	685,93± 9,7912

4.4 Análise da inibição de microrganismos:

A análise de microrganismos utilizou 5% (volume de extrato por volume de meio) do extrato diluído no meio de cultura. Foi ausente a inibição para todos os microrganismos, como representado na tabela 4.

Tabela 4: Relatório da inibição de microrganismos na concentração de 5% (m/m, base úmida) do extrato no meio de cultura.

Microrganismo	Inibição
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Ausente
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ausente
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Ausente
<i>Salmonella enterica</i> thiphymurium	Ausente
<i>E. coli</i>	Ausente

Discussão

5 DISCUSSÃO

Os dados da tabela 1 indicam que uma pequena parte do fruto foi retida durante o processo de filtração, resultando em uma massa final pós filtração de 76,43% da massa inicial.

O extrato é majoritariamente água compondo aproximadamente 88,89% de toda a massa adquirida. O nível de sólidos solúveis totais de 10° Brix é justificado pela alta presença de carboidratos (7,59%) e açúcares redutores totais (7,41%). Além disso, o extrato apresenta bom teor de fibras detergentes neutras, com 1,76% e níveis de cinzas (0,71%), lipídeos (0,041%) e proteínas (1,002%) relativamente baixos, como serão analisados na tabela 2.

Levando em conta a tabela 2 de comparação dos resultados físico-químicos e bioquímicos se observa que a umidade está de acordo com o observado nos trabalhos de Chunhieng (2003), Faria (2014) e Nascimento (2018), estando ao redor de 90%.

Os sólidos totais apresentaram aumento de 2 °Brix em relação aos estudos de Chunhieng (2003) e Nascimento (2018), indo de 8 à 10. Este teor é comumente utilizado como uma maneira de medir indiretamente açúcares, mesmo que seu resultado não seja preciso uma vez que pode haver interferência causada por outros sólidos solúveis. Hoehn (2003) vincula a presença de maiores níveis de sólidos totais à um sabor mais agradável.

Quando comparado, o extrato da polpa do fruto possui um alto valor de açúcares redutores totais, sendo observado aproximadamente o dobro do observado por Faria (2014). Estes açúcares, segundo Walker (2016) são importantes ferramentas em processos fermentativos, agindo como fonte de carbono aos microrganismos.

O extrato do fruto da *M. citrifolia* L. valor de fibras detergentes neutras intermediários entre os quatro autores, sendo menor apenas que Chunhieng (2003), segundo Lutz (1985) esta composição é de grande importância para a saúde do sistema digestório contribuindo com o trânsito, absorção e digestão dos nutrientes presentes no alimento.

A análise de cinzas engloba o peso relativo da amostra após incineração à 550 °C e é utilizada para aproximar a presença de material inorgânico na amostra, segundo Lutz (1985). Os trabalhos de Chunhieng (2003), Faria (2014) e Nascimento

(2018) comparados apresentam uma faixa próxima de cinzas, sendo a média entre eles de $0,76 \pm 0,093\%$.

O fruto apresentou níveis de lipídeos semelhantes aos de Faria (2014), com $0,041 \pm 0,0070$ e $0,04 \pm 0,01\%$, respectivamente. Já Chunhieng (2003) obteve 0,15% e Nascimento (2018), 0,34%, demonstrando uma alta variação deste analito entre os experimentos.

Quando comparados os resultados de proteínas, este estudo demonstrou o menor nível entre os quatro autores, com 1,002%, sendo seguido por Faria (2014) 2,36%, Chunhieng (2003) com 2,5% e Nascimento (2018), que obteve o maior valor, com 4,20%.

Os cálculos de carboidratos totais variam entre os autores, porém foi encontrado o maior valor entre eles, com 7,59% de carboidratos, que estão em um nível um pouco superior ao de Faria (2014), porém se mostram maiores que Nascimento (2018) que encontrou 2,68%.

O pH encontrado pelos autores se mantém na faixa (3,5-3,95), o que sugere que o fruto seja levemente ácido.

Analizando a figura 1 se verifica alta variação entre as composições centesimais obtidas pelos autores com alta variação nas composições de carboidratos, fibras e proteínas entre si. Já cinzas e lipídeos se mostraram relativamente constantes entre os estudos.

A tabela 3 representa as atividades das enzimas amilases, celulasas, xilanases e proteases. Tanto as amilases quanto as celulasas apresentaram resultados nulos, o que sugere que não estejam presentes neste fruto. A atividade das xilanases se mostrou baixa, com média de 3,35 U/mL. Além disso as proteases do fruto apresentaram um resultado considerável com média de 685,93 U/mL.

A análise da tabela 4 permite observar a ausência de inibição nos microrganismos propostos, à concentração proposta do extrato do fruto da *M. citrifolia* L. de 5%. Entretanto Sunder (2011) testou a inibição do extrato de diferentes partes do fruto em microrganismos que incluíram *Salmonella spp.* e *E. coli*, pelo método de difusão de disco e encontraram que extratos do fruto em metanol, clorofórmio e acetona inibiram, em média 69,5% do controle positivo (antibiótico). Assim, se observa que extrações com metanol, clorofórmio e acetona podem concentrar compostos de interesse.

Conclusão

6 CONCLUSÃO

O extrato obtido da polpa do fruto da *M. citrifolia* L. neste estudo apresentou altos níveis de açúcares redutores, portanto pode ser aplicado como fonte de carbono para diferentes tipos de fermentações. A ausência de atividades enzimáticas celulolíticas e amilolíticas no extrato foi observada, enquanto houve baixa atividade xilanolítica. Já a atividade proteolítica se mostrou promissora, sendo comparada a algumas culturas bacterianas. O extrato do fruto da *M. citrifolia* L. na concentração de 5% (v/v) foi incapaz de inibir o crescimento de *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus fermentum*, *Salmonella enterica* thiphymurium e *Escherichia coli*, portanto não confirmando as propriedades antibacterianas e/ou antifúngicas esperadas.

Referências

REFERÊNCIAS

1. AOAC. Official methods of analysis of AOAC. 15 ed., In International. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemist International, 1990.
2. AOAC. Official Methods of Analysis. 17 ed., In Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists, 2000.
3. BAILEY, M. J.; BIELY, P.; POUTANEN, K. Laboratory testing of method for assay of xylanase activity. *Journal Biotechnology*, v. 23, p. 257-270, 1992.
4. BHATTI, Asma Absar; HAQ, Shamsul; BHAT, Rouf Ahmad. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial pathogenesis*, v. 111, p. 458-467, 2017.
5. BONATELLI, Maria Letícia; IENCZAK, Jaciane Lutz; LABATE, Carlos Alberto. Sugarcane must fed-batch fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: impact of sterilized and non-sterilized sugarcane must. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 112, n. 8, p. 1177-1187, 2019.
6. BOURDICHON, François et al. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *International journal of food microbiology*, v. 154, n. 3, p. 87-97, 2012.
7. BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 76 de 26 de novembro de 1986. Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagre. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 28 nov. 1986. Seção 1, pt. 2.
8. BRAZIL, R. P.; RODRIGUES, A. A. F.; ANDRADE FILHO, J. D. Sand fly vectors of *Leishmania* in the Americas-a mini review. *Entomology, Ornithology & Herpetology*, v. 4, n. 2, p. 1, 2015.
9. Brilliant Green: Agar meios em placas preparados. BD, 2020 disponível em: <<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9059>>. Acesso em: 01 de jun. de 2020.
10. CAPECE, Angela et al. Conventional and non-conventional yeasts in beer production. *Fermentation*, v. 4, n. 2, p. 38, 2018.
11. CHUNHIENG, Thavarith. Développement de nouveaux aliments santé à partir de graines et fruits d'origine tropicale: application à la noix du Brésil *Bertholletia excelsa* et au fruit du Cambodge *Morinda citrifolia*. 2003. Tese de Doutorado. INPL.
12. COLLOGRAI, K. C.; DA COSTA, A. C.; IENCZAK, J. L.. Effect of contamination with *Lactobacillus fermentum* I2 on ethanol production by *Spathaspora passalidarum*. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 103, n. 12, p. 5039-5050, 2019.
13. COLLOGRAI, Karen Cristina; DA COSTA, Aline Carvalho; IENCZAK, Jaciane Lutz. Effect of contamination with *Lactobacillus fermentum* I2 on ethanol production by *Spathaspora passalidarum*. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 103, n. 12, p. 5039-5050, 2019.
14. COMPART, D. M. P. et al. Presence and biological activity of antibiotics used in fuel ethanol and corn co-product production. *Journal of animal science*, v. 91, n. 5, p. 2395-2404, 2013.
15. COSTA, M. A. S.; CERRI, B. C.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Ethanol addition enhances acid treatment to eliminate *Lactobacillus fermentum* from the fermentation process for fuel ethanol production. *Letters in applied microbiology*, v. 66, n. 1, p. 77-85, 2018.
16. CTC, CENTRO TECNOLOGIA CANAVIEIRA.; Manual de Métodos Analíticos Controle Químico da Fermentação. 2011. Central Analítica. Maceió.

17. DASSARMA, Priya et al. Earth's Stratosphere and Microbial Life. Current issues in molecular biology, v. 38, n. 1, p. 197-244, 2020.
18. DE MAN, J. C.; ROGOSA, deM; SHARPE, M. E. A medium for the cultivation of lactobacilli. Journal of applied Bacteriology, v. 23, n. 1, p. 130-135, 1960.
19. DE OLIVA NETO, P.; FERREIRA, M. A.; YOKOYA, F. Screening for yeast with antibacterial properties from an ethanol distillery. Bioresource technology, v. 92, n. 1, p. 1-6, 2004.
20. DEWHIRST, Floyd E. et al. The human oral microbiome. Journal of bacteriology, v. 192, n. 19, p. 5002-5017, 2010.
21. DYMOND, J. S. Saccharomyces cerevisiae growth media. Methods Enzymol, v. 533, p. 191-204, 2013.
22. ESPINOSA, O. A. et al. An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as Leishmania and Endotrypanum. Parasitology, v. 145, n. 4, p. 430-442, 2018.
23. FARIA, W. C. S. et al. Caracterização físico-química e análise fitoquímica preliminar do fruto noni (Morinda citrifolia L.) produzido na cidade de Cuiabá-MT. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 8, n. 1, p. 1208-1215, 2014.
24. FOSTER, Timothy J. Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects. FEMS microbiology reviews, v. 41, n. 3, p. 430-449, 2017.
25. FREITAS, A.; ESCARAMBONI, B.; CARVALHO, A.; LIMA, V.; & OLIVA-NETO, P. Production and application of amylases of Rhizopus oryzae and Rhizopus microsporus var. oligosporus from industrial waste in acquisition of glucose. Chemical Papers, v.68, n.4, p.442-450, 2014.
26. GHOSE, T. K. Measurement of cellulose activities. Pure Applied Chemistry, v.59, p. 257-268, 1987.
27. GIONGO, Janice Luehring. Caracterização e aplicação de proteases produzidas por linhagens de Bacillus sp. 2006.
28. GOMES, Tânia AT et al. Diarrheagenic escherichia coli. brazilian journal of microbiology, v. 47, p. 3-30, 2016.
29. HOEHN, E. et al. Efficacy of instrumental measurements for determination of minimum requirements of firmness, soluble solids, and acidity of several apple varieties in comparison to consumer expectations. Postharvest Biology and Technology, v. 27, n. 1, p. 27-37, 2003.
30. JONES, R. D. et al. Susceptibility tests: Microdilution and macrodilution broth procedures. Manual of Clinical Microbiol, p. 972-977, 1985.
31. JÚNIOR, Juarez Corrêa Furtado et al. Biorefineries productive alternatives optimization in the brazilian sugar and alcohol industry. Applied Energy, v. 259, p. 113092, 2020.
32. KIM, Sun-Ki et al. Enhanced ethanol fermentation by engineered Saccharomyces cerevisiae strains with high spermidine contents. Bioprocess and biosystems engineering, v. 40, n. 5, p. 683-691, 2017.
33. KOT, Barbara. Antibiotic resistance among uropathogenic Escherichia coli. Polish journal of microbiology, v. 68, n. 4, p. 403, 2019.

34. KOVENDAN, Kalimuthu et al. Larvicidal activity of *Morinda citrifolia* L.(Noni)(Family: Rubiaceae) leaf extract against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus*, and *Aedes aegypti*. *Parasitology research*, v. 111, n. 4, p. 1481-1490, 2012.
35. KWEKA, E. J. et al. Ethnobotanical study of some of mosquito repellent plants in north-eastern Tanzania. *Malaria journal*, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2008.
36. LEE, Andie S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature reviews Disease primers*, v. 4, n. 1, p. 1-23, 2018.
37. LEIGHTON, T. J.; DOI, R. H.; WARREN, R. A. J.; KELLN, R. A. "The relationship of serine protease activity to RNA polymerase modification and sporulation in *Bacillus subtilis*". *J. Mol. Biol.*, v.76, p.103– 122, 1973
38. LESSARD, Juliane C. Growth media for *E. coli*. In: *Methods in enzymology*. Academic Press, 2013. p. 181-189.
39. LI, R.; ZHANG, H.; LIU, W.; ZHENG, X. Biocontrol of postharvest gray and blue mold decay of apples with *Rhodotorula mucilaginosa* and possible mechanisms of action. *International Journal of Food Microbiology*, v. 146, p. 151–156, 2011.
40. LI, X. et al. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments, and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 60, n. 2, p. 188-192, 2005.
41. LUTZ, A. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, v.2, p.1-1000, 1985.
42. MACAGNAN, N. et al. Toxicity of cypermethrin and deltamethrin insecticides on embryos and larvae of *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae). *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 25, p. 20699-20704, 2017.
43. MAIA, N. J. L. et al. Combination of natural antimicrobials for contamination control in ethanol production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 35, n. 10, p. 1-9, 2019.
44. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella* /Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.
45. MCGUINNESS, Will A.; MALACHOWA, Natalia; DELEO, Frank R. Focus: infectious diseases: vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Yale journal of biology and medicine*, v. 90, n. 2, p. 269, 2017.
46. MILLER, G. L. Use of de dinitrosalicylic acid reagent of determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v.31, p. 426-428, 1959.
47. MOMAND, Lailuma et al. Antimicrobial effect of *Baccaurea angulata* fruit extracts against human pathogenic microorganisms. *Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, v. 2, n. 10, p. 229-237, 2014.
48. NEAL, M. C. In gardens of Hawaii. Bishop Museum Press, 1965.
49. NELSON, S. C. Noni cultivation and production in Hawaii. In: *Proceedings of the 2002 Hawaii Noni Conference*. University of Hawaii at Nanao. College of Tropical Agriculture and Human Resources. Hawaii, 2003, p. 33-50

50. NOGACKA, Alicja M. et al. Early microbiota, antibiotics and health. *Cellular and molecular life sciences*, v. 75, n. 1, p. 83-91, 2018.
51. NORRIS, E. J. et al. Mosquitocidal activity of p, p'-difluoro-diphenyl-trichloroethane (DFDT). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 170, p. 104686, 2020.
52. OLIVA-NETO, P. De et al. The Brazilian technology of fuel ethanol fermentation—yeast inhibition factors and new perspectives to improve the technology. *Materials and Processes for Energy: Communicating Current Research and Technological Developments*, v. 1, p. 371-379, 2013.
53. OMS. Organização Mundial de Saúde. Trabalhando para superar o impacto global de doenças tropicais negligenciadas: relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas. Genebra: World Health Organization. 2011. Disponível em: https://www.who.int/neglected_diseases/2010report/WHO_NTD_report_update_2011.pdf. Acesso em 27 de maio de 2021.
54. POIREL, Laurent et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, v. 6, n. 4, p. 6.4. 14, 2018.
55. RAJIVGANDHI, G. et al. Enhanced anti-cancer activity of chitosan loaded *Morinda citrifolia* essential oil against A549 human lung cancer cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 164, p. 4010-4021, 2020.
56. RATO, A. E. et al. Soil and rootstock influence on fruit quality of plums (*Prunus domestica* L.). *Scientia Horticulturae*, v. 118, n. 3, p. 218-222, 2008.
57. ROSANO, Germán L.; MORALES, Enrique S.; CECCARELLI, Eduardo A. New tools for recombinant protein production in *Escherichia coli*: A 5-year update. *Protein science*, v. 28, n. 8, p. 1412-1422, 2019.
58. SAMPAIO, J.P. *Rhodotorula* Harrison (1928). In: KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. (Eds). *The Yeasts – A Taxonomic Study*. Amsterdam: Elsevier, 2011. pp. 1873-1927.
59. SANTOYO, Gustavo et al. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research*, v. 183, p. 92-99, 2016.
60. SILVA, L. R. da, Pontes, C. A., Sousa, J. A. de and SILVA, E. de O. 2013. Quality of Noni fruits (*Morinda citrifolia* L.) grown in Trairi-CE. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 18(1): 100-108.
61. SUNDER, Jai et al. Antibacterial activity in solvent extract of different parts of *Morinda citrifolia* plant. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v. 3, n. 8, p. 1404, 2011.
62. TAKÓ, Miklós et al. Plant phenolics and phenolic-enriched extracts as antimicrobial agents against food-contaminating microorganisms. *Antioxidants*, v. 9, n. 2, p. 165, 2020.
63. THRELFALL, E. J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food-and water-borne infections. *FEMS microbiology reviews*, v. 26, n. 2, p. 141-148, 2002.
64. VUANGHAO, L.; LAGHARI, M. H. *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 10, p. 691-707, 2017.

65. WALKER, Graeme M.; STEWART, Graham G. *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, v. 2, n. 4, p. 30, 2016.
66. WALKER, Graeme M.; WALKER, Roy SK. Enhancing yeast alcoholic fermentations. *Advances in applied microbiology*, v. 105, p. 87-129, 2018.
67. WANG, Kui; SHU, Changlong; ZHANG, Jie. Effective bacterial insecticidal proteins against coleopteran pests: A review. *Archives of insect biochemistry and physiology*, v. 102, n. 3, p. e21558, 2019.
68. WHISTLER, W. A. Traditional and herbal medicine in the Cook Islands. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 13, n. 3, p. 239-280, 1985.
69. WHO, 2016. Leishmaniosis worldwide epidemiological and drug access update. World Health Organization. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em 27 de Maio de 2021.
70. YAGHOUBI-ERSHADI, M. R. Control of phlebotomine sand flies in Iran: a review article. *Journal of arthropod-borne diseases*, v. 10, n. 4, p. 429, 2016.
71. YUAN, J. et al. Acute toxicity of cypermethrin on the juvenile of red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Chemosphere*, v. 237, p. 124468, 2019.
72. ZHANG, H.; LIU, Z.; XU, B.; CHEN, K.; YANG, Q.; ZHANG, Q. Burdock fructooligosaccharide enhances biocontrol of *Rhodotorula mucilaginosa* to postharvest decay of peaches. *Carbohydrate Polymers*, v. 98, p. 366– 371, 2013.
73. ZOTTA, Teresa et al. Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 104, n. 7, p. 2749-2764, 2020.

