
Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani
Trabalho de Graduação

Curso de Tecnologia em Biocombustível

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE *MORINDA CITRIFOLIA*

**ALEXANDER SIMOGAKI KAVAFARA
MOURA**

**Orientadora: Profa. Dra. Mariana Carina Frigeri
Salaro**

**Coorientador: Prof.Dr. Claudenir Facincani Franco
Coorientador: Prof.Dr. Leonardo Lucas Madaleno**

**Trabalho apresentado a Faculdade de Tecnologia
Nilo De Stéfani - Jaboticabal, como um dos
requisitos para obtenção do título de Tecnólogo em
Biocombustível.**

**Jaboticabal – SP
2º Semestre/2019**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Moura, Alexander Simogaki Kavafara
Bioatividade de extratos de *Morinda citrifolia* /Alexander Simogaki Kvafara
Moura.— Jaboticabal : Fatec Nilo De Stéfani, Ano.2019

Orientadora: Profa.Dra. Mariana Carina Frigeri Salaro

Orientador: Prof.Dr. Claudenir Facincani Franco

Orientador: Prof.Dr. Leonardo Lucas Madaleno

Trabalho (graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em Biocombustível, Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani - Jaboticabal, 2019.

1.Hole plate. 2.noni. 3.microbiologia. I. Salaro, M. C. F. II.

Bioatividade de extratos de *Morinda citrifolia*

CDD 660.62

Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani
Trabalho de Graduação

Curso de Tecnologia em Biocombustível

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE *MORINDA CITRIFOLIA*

AUTOR: ALEXANDER SIMOGAKI KAVAFARA MOURA

ORIENTADOR (A): PROF^a. DR^a. MARIANA CARINA FRIGERI SALARO

COORIENTADOR: PROF.DR. CLAUDENIR FACINCANI FRANCO

COORIENTADOR: PROF.DR. LEONARDO LUCAS MADALENO

Trabalho de Graduação aprovado pela Banca Examinadora como parte das exigências para conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Biocombustível, apresentado à Fatec-JB para a obtenção do título de Tecnólogo.

PROF^a. DR^a. MARIANA CARINA FRIGERI SALARO

PROF. ME. JOSÉ HENRRIQUE FACCO

PROF^a. DR^a. RITA DE CÁSSIA VIEIRA MACRI

Data da apresentação: 23 de outubro de 2019.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família e a todos que me amam e me apoiaram e que me incentivou a realizar-lo.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus que me deu força e vontade para que eu pudesse dar o melhor de mim para concluir esse trabalho.

Agradeço ao meus pais que me incentivaram todos os anos que estive na faculdade.

Aos meus colegas de classe que se esforçaram arduamente nessa nossa caminhada e colaborarem nessa jornada.

Aos professores que sempre nos auxiliaram e forneceram todo o conhecimento que nos era necessário.

À Faculdade de tecnologia de Jaboticabal “Nilo de Stéfani” por oferecer professores capacitados, matérias e laboratórios de alta qualidade para que pudesse ser feito os experiomtos dessse trabalho.

À minha namorada Giulia Maria Zago Affonso por me apoiar e me incentivar a cada dia até a conclusão.

Agradeço a minha orientadora prof^a. Dr^a. Mariana Carina Frigeri Salaro e aos coorientadores Prof.Dr. Claudenir Facincani Franco e Prof. Dr. Leonardo Lucas Madaleno.

Enfim, agradeço a todos que fizeram parte dessa etapa decisiva em minha vida.

RESUMO

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE *MORINDA CITRIFOLIA*.

O estudo de plantas tem contribuído significativamente com a descoberta de novas moléculas bioativas de grande interesse para a humanidade. O objetivo do projeto foi avaliar as bioatividades de extrato de *Morinda citrifolia* referente ao uso principalmente como antimicrobiano. Essa ação foi verificada com bactérias consideradas padrões para testes de antibacterianos, uma bactéria gram positiva (*Staphylococcus aureus*) e uma gram negativa (*Escherichia coli*). Os micro-organismos contaminantes podem ser inseridos no processo fermentativo em todas as etapas, desde a obtenção da matéria prima (cana-de-açúcar) até o preparo do mosto e na fermentação propriamente dita. O ambiente gerado durante o processo fermentativo é favorável, possuindo temperatura, acidez e concentração de nutrientes e açúcares que contribuem com o desenvolvimento de muitos micro-organismos como bactérias e leveduras selvagens. O nível de contaminação bacteriana pode influenciar nos processos de centrifugação, floculação, podendo gerar alguns produtos indesejáveis e consumir os nutrientes e a sacarose presente no mosto, reduzindo a viabilidade da levedura selecionada. Em decorrência a este problema, pode-se verificar ainda o consumo de ácidos no tratamento do fermento, podendo prolongar o tempo de fermentação e a elevação de açúcares não fermentáveis e, com isso, reduzir o rendimento do processo. Para a avaliação do potencial biocida, os micro-organismos foram crescidos em meio Mueller-Hinton. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi crescida em meio YPD. A avaliação foi realizada pelo método Hole plate onde após a incubação foram verificadas a formação de halos de inibição, valores de diâmetro dos halos maiores que 7 mm foram considerados como positivos. Os extratos obtidos apresentam característica hidrofílicos, sendo solúveis em água, porém através dos experimentos realizados, foi possível observar que os extratos de *Morinda citrifolia* não teve ação sobre a *S. cerevisiae*, sendo esse dado muito interessante, mas também não foram eficazes contra as bactérias avaliadas.

Palavras-chave: 1. *Escherichia coli*. 2. Hole Plate. 3. antibacteriano. 4. *Morinda citrifolia*.

ABSTRACT

BIOACTIVITY OF MORINDA CITRIFOLIA EXTRACTS.

The use of plants has significantly contributed to the discovery of new bioactive molecules of great interest to humanity. The aim of the project was to evaluate the bioactivities of Morinda citrifolia extract referring mainly to its use as antimicrobial. This action was verified with bacteria considered standards for antibacterial testing, a gram positive bacterium (Staphylococcus aureus) and a gram negative (Escherichia coli). The microorganisms Contaminants can be inserted into the fermentation process at all stages, from obtaining the raw material (sugar cane) until the preparation of the must and in the fermentation itself. The environment generated during the fermentation process is favorable, having temperature, acidity and concentration of nutrients and sugars that contribute to the development of many microorganisms such as wild bacteria and yeast. The level bacterial contamination can influence the centrifugation, flocculation, can generate some undesirable products and consume the nutrients and sucrose present in the must, reducing the viability of the selected yeast. As a result of this problem, It is also possible to verify the acid consumption in the yeast treatment, which may prolong the fermentation time and the elevation of non-fermentable sugars and thereby reduce the process yield. For the evaluation of biocidal potential, microorganisms were grown in Mueller-Hinton medium. Saccharomyces cerevisiae yeast was grown in YPD medium. The evaluation was performed by the Hole plate method where after incubation inhibition halo formation, diameter values of halos greater than 7 mm were considered positive. The obtained extracts have hydrophilic characteristics, being soluble in water, but through the experiments performed, it was possible to observe that the extracts of Morinda citrifolia had no action on S. cerevisiae, which is very interesting, but also not effective against bacteria evaluated.

Keywords: 1. Escherichia coli. 2. Hole Plate. 3. antibacteriam. 4. Morinda citrifolia.

LISTA DE FIGURA

Figura 1 – Fluxograma do beneficiamento da cana para a produção de etanol	17
Figura 2 – Colheita manual da <i>Morinda citrifolia</i>	21
Figura 3 – Materias utilizadas para preparo dos extratos.....	22
Figura 4 – Arbusto de <i>Morinda citrifolia</i>	23
Figura 5 – Comércio de <i>Morinda citrifolia</i>	25
Figura 6 – Pré secagem dos materiais para maceração.....	27
Figura 7 – Estufa com as bandejas.....	27
Figura 8 – Materiais pós secagem.....	28
Figura 9 – Início da maceração.....	28
Figura 10 – Pós maceração.....	29
Figura 11 – Extratos dos materiais <i>in natura</i> pós filtração.....	30
Figura 12 – Extratos dos materiais secos pós filtração.....	30
Figura 13 – Equipamentos para rota-evaporação.....	31
Figura 14 – Extratos alcoólicos dos materiais <i>in natura</i> pós rota-evaporação.....	31
Figura 15 – Extratos alcoólicos dos materiais secos pós rota-evaporação.....	32
Figura 16 – Liofilizadora.....	32
Figura 17 – Extratos alcoólicos dos materiais <i>in natura</i> pós Liofilização.....	33
Figura 18 – Extratos alcoólicos dos materiais secos pós Liofilização.....	33
Figura 19 – Extrato alcoólico da fruta seca pós Liofilização.....	34
Figura 20 – Extratos aquosos dos materiais <i>in natura</i> pós Liofilização.....	34
Figura 21 – Extratos alcoólicos seco armazenados em frasco âmbar.....	35
Figura 22 – Extratos alcoólicos armazenados em frasco âmbar.....	35
Figura 23 – Extratos seco armazenado em frasco âmbar.....	36

Figura 24 – Folhas e sementes pós secagem.....	38
Figura 25 – Trituração das sementes.....	38
Figura 26 – Folha triturada.....	39
Figura 27 – Balança analítica.....	39
Figura 28 – Semente em pó nos papéis filtro.....	40
Figura 29 – Adição de algodão para evitar respingos no processo.....	40
Figura 30 – Trocador de calor.....	41
Figura 31 – Extrator de óleo e graxas MA044/1 Marconi (extrator de Soxhlet).....	42
Figura 32 – Balões na estufa para secagem do solvente.....	42
Figura 33 – Balões com óleo sem solvente.....	43
Figura 34 – Volume total de óleo obtido.....	43
Figura 35 – Resultados método Hole plate com <i>S. cerevisiae</i>	44
Figura 36 – Resultados método Hole plate com <i>S. aurus</i>	45
Figura 37 – Resultados método Hole plate com <i>E. coli</i>	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produção de óleo das sementes.....	48
Tabela 2 – Produção de graxas das folhas.....	48
Tabela 3 – Rendimento na produção de óleo das sementes.....	48
Tabela 4 – Rendimento da produção de graxas das folhas.....	49
Tabela 5 – Densidade do óleo (g/mL).....	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	13
2.1	Objetivo Geral.....	13
2.2	Objetivos Específicos	13
2.2.1	Obtenção dos extratos vegetais;	13
2.2.2	Avaliação do controle de micro-organismos contaminantes do processo.	13
3	REVIÃO DE LITERARIA	14
3.1	Setor sucro energético no brasil	14
3.1.1	História da cana no brasil.....	14
3.1.2	A cana na atualidade	14
3.1.3	Produção de cana e açúcar no Brasil	14
3.1.4	Produção de açúcar no Brasil atualmente	14
3.1.5	Produção de etanol no Brasil.....	15
3.1.6	Área de cana de açúcar colhida	15
3.2	A obtenção do Etanol	15
3.2.1	Matéria prima	15
3.2.2	As leveduras	15
3.2.3	Processo fermentativo	16
3.3	Os contaminantes	18
3.3.1	<i>Escherichia coli</i>	18
3.3.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	18
3.3.3	Contaminação bacteriana	18
3.3.4	Efeitos da contaminação bacteriana.....	19
3.4	Controle de contaminação	19
3.4.1	pH	19
3.4.2	Antibióticos	20

3.4.3	Biocidas naturais.....	20
3.4.4	Agentes antimicrobianos.....	20
3.4.5	Tipos de micro-organismos.....	20
3.5	Noni (<i>Morinda citrifolia</i>).....	21
3.5.1	Uso popular	22
3.5.2	Consumo	22
3.5.3	Características botânicas	23
3.5.4	Cultivo.....	24
3.5.5	Potencial antimicrobiano.....	24
3.5.6	Comercialização	24
3.6	Óleos.....	25
3.6.1	Óleos essenciais.....	25
3.6.2	Óleos fixos.....	26
4	MATERIAIS E METODOS	26
4.1.1	Local de realização dos experimentos	26
4.1.2	Obtenção dos extratos vegetais	26
4.1.3	Determinação da solubilidade em água dos extratos.....	36
4.1.4	Avaliação do potencial antibacteriano dos extratos vegetais	36
4.2	Obtenção dos materiais.....	37
4.3	Obtenção do óleo.....	37
5	Resultados e discussões	44
5.1	Resultados de Solubilidade dos Extratos.....	44
5.1.1	Resultados controle bacteriano por Hole plate.....	44
5.2	Obtenção do óleo das sementes	46
6	Conclusão.....	47
7	Referencia.....	48

1 INTRODUÇÃO

Na produção industrial do etanol um dos fatores relevantes a ser considerado é a contaminação bacteriana, por desviar a transformação das matérias-primas fermentáveis em outras substâncias que não o produto desejado. O ambiente em que o processo ocorre é ótimo para o crescimento de micro-organismos, devido a elevada quantidade de nutrientes orgânicos e inorgânicos, presença de água, pH e temperatura adequados (CAETANO & MADALENO, 2011).

Para controlar a proliferação bacteriana e conseqüentemente aumentar o rendimento fermentativo, além do tratamento com ácido sulfúrico, ocorre, frequentemente, a utilização de antibióticos, que são compostos orgânicos, naturais ou sintéticos, que causam a morte ou inibem micro-organismos específicos de maneira seletiva (FREITAS & ROMANO, 2014).

Por questões de saúde pública, muitos países não admitem o uso de levedura seca, que é obtida partir da separação no processo industrial de produção de etanol para ração animal ou até mesmo alimentação humana que apresente resíduos de antibióticos, tornando assim o uso de antimicrobianos de origem natural uma alternativa segura, eficaz e econômica (CAETANO & MADALENO, 2011; FREITAS & ROMANO, 2014).

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste projeto foi em avaliar o controle de micro-organismos contaminantes *S. aureus* e *E. coli* sem afetar do desenvolvimento das *S. cerevisiae*, empregando métodos naturais com extrato de *Morinda citrifolia*.

2.2 Objetivos Específicos

O estudo foi realizado em duas etapas:

2.2.1 Obtenção dos extratos vegetais;

2.2.2 Avaliação do controle de micro-organismos contaminantes do processo.

3 REVIÃO DE LITERARIA

3.1 Setor sucro energético no brasil

3.1.1 História da cana no brasil

O Brasil teve seu primeiro contato com a cana-de-açúcar oficialmente em 1532, trazida pelo Martim Affonso de Souza, foi o pioneiro na produção e no cultivo em grande escala de cana-de-açúcar no Brasil. Construindo seu primeiro engenho de açúcar. Porém, foi no nordeste brasileiro onde foram mais efetivas as produções de cana-de-açúcar, por ser uma região tropical com temperaturas de 31 a 36 °C e umidade elevada, sendo o clima mais apropriado para o cultivo de cana-de-açúcar. As primeiras maiores produções foram em Pernambuco e na Bahia. (MACHADO,2003).

3.1.2 A cana na atualidade

Atualmente, o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo com a cana, temos a produção de álcool (etanol), açúcares, cachaças, aguardentes, cera, doces tradicionais, além de ser consumida in natura.

Os subprodutos como o bagaço, melaço, vinhaça e outros, em que são utilizadas para produção de energia, papel e fertilização. Dessa forma, a cana de açúcar é uma das mais importantes culturas Brasileiras, conforme LUCCHESI (1995) apud ARRUDA PINTO (2002)

3.1.3 Produção de cana e açúcar no Brasil

De acordo com o 2º Levantamento da Safra de cana-de-açúcar 2018/2019, divulgado nesta terça-feira (21) pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), a produção total de cana está atualmente estimada em 635,51 milhões de toneladas, o que representa um aumento de 0,4% em relação à safra 2017/18, que fechou em 633,26 milhões de toneladas. (Conab.gov.br, 2019)

3.1.4 Produção de açúcar no Brasil atualmente

Os números do açúcar seguem o movimento de retração. Segundo o levantamento, a produção deve chegar a 34,25 milhões de toneladas, ou seja, uma queda de 9,6% se comparada com a safra de 2017/18, que foi de 37,87 milhões de toneladas. (NOVACANA, 2019)

3.1.5 Produção de etanol no Brasil

O Brasil registrou oferta recorde de etanol na safra 2018/2019 com a produção de 33,10 bilhões de litros, sendo 9,91 bilhões de litros de anidro e 23,18 bilhões de litros de hidratado, conforme os dados consolidados da região Norte-Nordeste publicados pelo Ministério da Agricultura (MAPA) e do Centro-Sul pela União da Indústria de Cana-de-Açúcar (UNICA).

3.1.6 Área de cana de açúcar colhida

A área colhida também sofreu diminuição de 0,8%, que agora está estimada em 8,66 milhões de hectares. Esta queda foi influenciada pela devolução de terras arrendadas e pela rescisão de contratos com fornecedores, (NOVACANA, 2019)

3.2 A obtenção do Etanol

3.2.1 Matéria prima

As matérias primas para a fermentação são classificadas como misturas açucaradas, tais como amilase, celulose e a principal e mais eficiente para a fermentação alcoólica, a sacarose. Na produção nacional a fonte do caldo açucarado é extraída da cana-de-açúcar, em sua composição se possui uma maior quantidade de sacarose, com baixa taxa de glicose e frutose que torna mais fácil e rápido o processo fermentativo, física e quimicamente. (MADALENO, 2013)

3.2.2 As leveduras

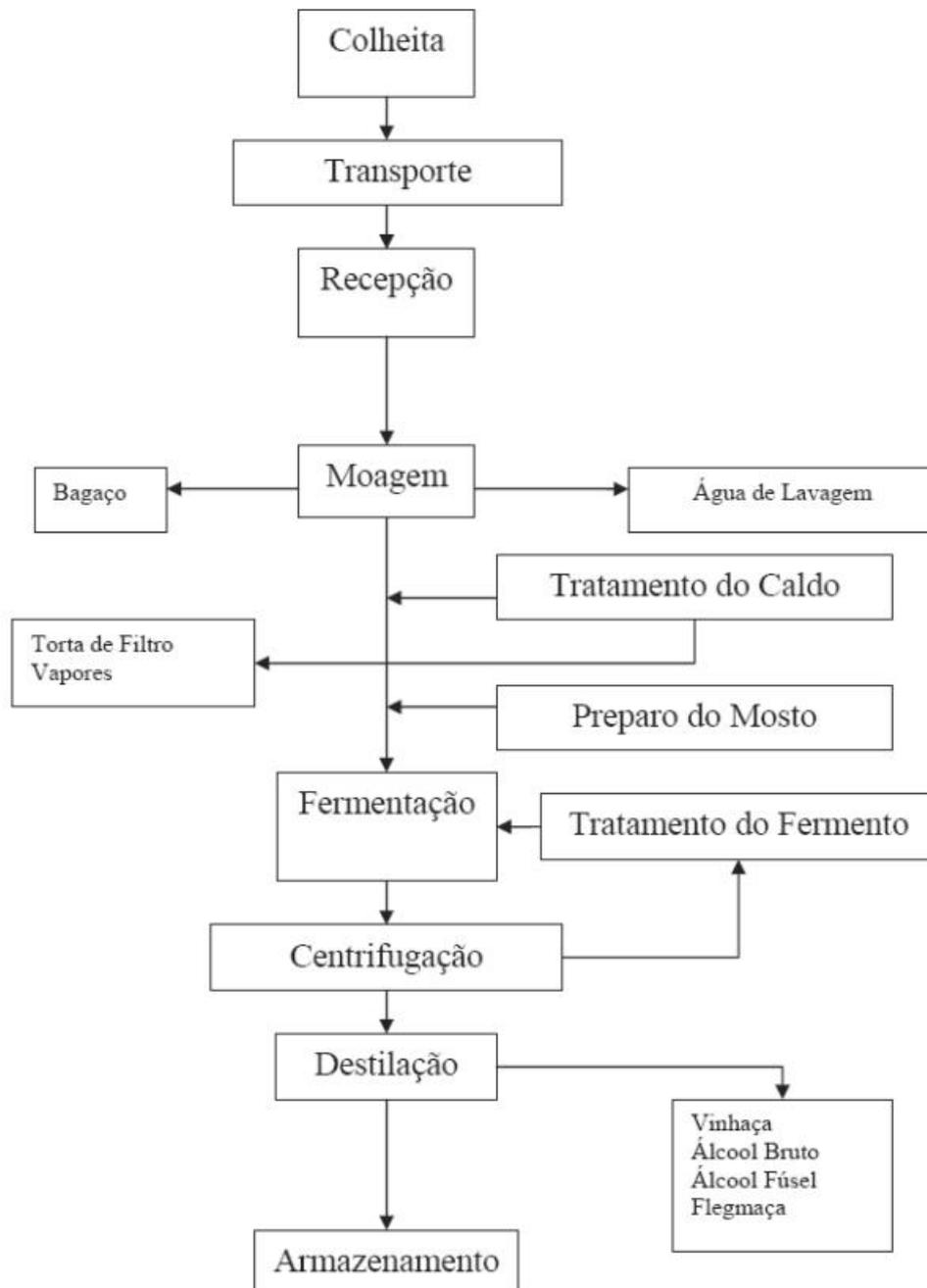
Os micro-organismos, geralmente, usados na produção de etanol são as leveduras. As leveduras podem estar na forma de culturas puras, ou podem estar na forma de fermento prensado, que pode ser adquirido nas panificadoras ou indústrias produtoras de fermento. Entre

as leveduras produtoras de álcool, as linhagens são geralmente provenientes das espécies: *Saccharomyces cerevisiae*, *S. uvarum*, *Schizosaccharomyces pombe*. É importante mencionar que a grande maioria das destilarias de álcool no Brasil utiliza o fermento Fleischmann. (CASTRO, 2011)

3.2.3 Processo fermentativo

A seguir, mostra-se o fluxograma da produção do álcool etílico e na Figura 1 o fluxograma para beneficiamento da cana e a produção de etanol. As etapas do processo de obtenção de álcool etílico podem ser descritas na sequência como: Recepção da Cana; Pesagem da Cana-de-Açúcar; Descarga da Cana-de-Açúcar; Armazenamento da Cana-de-Açúcar; Moagem da Cana-de-Açúcar; Lavagem da Cana-de-Açúcar; Preparo da Cana-de-açúcar; Extração do Caldo; Purificação do Caldo; Tratamento do Caldo; Embebição; Calagem, Aquecimento e Sedimentação; Sulfitação; Evaporação; filtração do Iodo; Preparo do Mosto; Fermentação Alcoólica; Reação de Fermentação Alcoólica; Processo de Fermentação Alcoólica; Destilação Alcoólica; Armazenamento do Álcool (SOUZA, et al 2009).

Figura 1 – Fluxograma do beneficiamento da cana para a produção de etanol



(Fonte: SOUZA,2006)

3.3 Os contaminantes

3.3.1 *Escherichia coli*

E. coli (abreviação de *Escherichia coli*) é uma bactéria que vive em geral nos intestinos das pessoas e dos animais. Há vários tipos diferentes de *E. coli*. Na maior parte, a *E. coli* tem um papel importante no auxílio da digestão dos alimentos. Entretanto, alguns tipos de *E. coli* podem causar diarreia e outras doenças se ingeridos. (Boston Public Health Commission, 2014).

3.3.2 *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* (abreviação de *Staphylococcus aureus*) é uma bactéria do grupo dos cocos gram-positivos que faz parte da microbiota humana, porém pode provocar doenças que vão desde uma infecção simples, como espinhas e furúnculos, até as mais graves, como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia, entre outras. Essa bactéria foi uma das primeiras a serem controladas com a descoberta dos antibióticos, mas, devido a sua enorme capacidade de adaptação e resistência, tornou-se uma das espécies de maior importância no quadro das infecções hospitalares e comunitárias. (SANTOS et al, 2007).

3.3.3 Contaminação bacteriana

Durante o processo industrial de produção de álcool pode ocorrer contaminação por micro-organismos oriundos da cana-de-açúcar, resistindo aos tratamentos do caldo e condições como pH, temperatura e produtos inibitórios no meio fermentativo e se estabelecem nas dornas de fermentação (ANGELIS, 2010). As leveduras da fermentação alcoólica competem pelo substrato com bactérias que normalmente habitam as dornas. (ANDRIETTA et al, 2006).

3.3.4 Efeitos da contaminação bacteriana

A contaminação bacteriana tem um importante destaque na produção de etanol, pois como consequência de sua existência há competição por nutrientes entre as bactérias e as leveduras, consumindo a sacarose que seria destinada as leveduras para a produção de etanol, porem com as bactérias teremos produtos indesejáveis que afetam a qualidade do etanol como ácidos lácticos e acéticos. Provocando assim, perdas irreparáveis no rendimento da fermentação (ALQUATI, 1990).

A redução no rendimento fermentativo devido a presença de bactérias lácticas é óbvia, pois, quando uma molécula de glicose é convertida em duas de ácido láctico, duas moléculas de álcool deixaram de ser produzidas pela levedura. Além do mais, outro problema causado pela presença de bactérias contaminantes é a floculação, que ocasiona a redução na velocidade de fermentação, além de inconvenientes como entupimento de tubulações, aumento de fundo de dorna, dificuldades do tratamento ácido do creme de levedura, além de reduzir a eficiência das centrífugas e dos antimicrobianos utilizados (SOUZA, 2009).

3.4 Controle de contaminação

3.4.1 pH

O pH é um fator importante para o processo fermentativo por estar diretamente ligado ao crescimento dos micro-organismos, o controle dos contaminantes e seus efeitos sobre o crescimento das leveduras, formação de subprodutos e a taxa de fermentação (SOUZA, 2009).

O pH interno da célula se mantém na faixa de 5,8 a 6,9, seja qual for o valor do pH extracelular na faixa de 2 a 7. Entretanto, baixos valores de pH tornam o meio mais agressivo, uma vez que exigem das leveduras um maior consumo de energia na manutenção do pH interno, além de afetar as proteínas de transporte da membrana citoplasmática que ficam expostas ao meio externo. O pH do meio externo também afeta a velocidade de crescimento das leveduras, a qual atinge um máximo quando o pH está compreendido entre 5 e 6. Na fermentação alcoólica, o estabelecimento e controle do pH do meio em valores inferiores a 5 é também considerado importante como meio para prevenir a contaminação por bactérias lácticas e acéticas (MAIA, 1989)

3.4.2 Antibióticos

Antibióticos são compostos orgânicos naturais ou sintéticos, e que impedem o desenvolvimento ou possam causar a morte de microrganismos específicos. Apresenta característica seletivas quanto aos alvos. Outra característica, é que, devido os microrganismos alvos serem específicos, o constante uso de antibióticos para o controle de contaminação em indústrias pode levar à seleção de microrganismos resistentes (EGUCHI, 2007).

3.4.3 Biocidas naturais

Biocidas naturais, quando utilizados para controle de contaminantes da fermentação, estão reduzindo com sucesso a carga microbiana, mas os resultados são demonstrados de forma isolada. As formas de utilização dos biocidas naturais podem, de certa forma, auxiliar nas decisões para o controle microbiológico. O controle exercido pelos biocidas apresenta baixos custos de utilização (CAETANO; MADALENO, 2011).

3.4.4 Agentes antimicrobianos

Existem três resultados distintos quando um agente antimicrobiano é implantado à uma cultura bacteriana na fase exponencial do crescimento: o efeito bacteriostático, o efeito bactericida e o bacteriolítico (EGUCHI, 2007).

O primeiro, inibição do crescimento, entretanto sem morte celular. Esses agentes são frequentemente inibidores de síntese proteica e atuam por ligação aos ribossomos. É o caso dos antibióticos que inibem a síntese da parede celular em bactérias como a penicilina (SILVA, 2010).

O segundo refere-se uma morte das células, mas não há lise celular. Por fim, o efeito bacteriolítico provoca a indução da morte celular por lise, levando à diminuição da turbidez do meio de cultura e do número de células viáveis (SILVA, 2010).

3.4.5 Tipos de micro-organismos

Existem três tipos de micro-organismos, os toleram a presença de oxigênio (anaeróbios) os que exigem a presença de oxigênio para sua sobrevivência não tolerando nem sequer pressões normais de O₂ atmosférico e há aqueles que podem se desenvolver tanto na presença

como na ausência do oxigênio livre (facultativos) (BORZANI et al., 2001)

Embora pareça contraditório, sabe-se hoje que a completa falta de oxigênio não é benéfica ao processo de produção de álcool. Níveis mais altos de rendimentos alcoólicos e menos glicerol formado foram obtidos em culturas nas quais havia certa quantidade de oxigênio disponível (SOUZA, 2009).

3.5 Noni (*Morinda citrifolia*)

A *Morinda citrifolia*, conhecida popularmente no Brasil como Noni, é nativa do Sudeste da Ásia e Austrália e, foi distribuída em toda a região do Pacífico principalmente na Polinésia e Taiti (NELSON; ELEVITCH, 2006)

Figura 2 - colheita manual da *Morinda citrifolia*



Colheita manual do fruto (a) e o fruto (b). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 3 - Materiais utilizadas para preparo dos extratos



Folha (a) fruto (b) Caule (c). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

São utilizadas como alimento, bebida, medicamento e para tingimento de tecidos (MÜLLER, 2007). Os polinésios usam o noni há mais de 2000 anos, seu uso é atribuído aos efeitos relacionados com atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica, analgésica, antitumoral, anti-helmíntica, anti-inflamatória, hipotensora e imunestimulante (WANG et al., 2002)

3.5.1 Uso popular

O uso de *Morinda citrifolia* conhecida popularmente como: noni, índia mulberry, iada, nono, canary, Wood ou mengkudu, vem aumentando rapidamente no Brasil, embora seja uma planta nativa do Sudeste da Ásia, Indonésia e Polinésia (Wang e Su, 2001)

Resistente e adaptável em regiões tropicais é utilizada há muito tempo na terapêutica pelos polinésios, para o tratamento de diversas doenças, como: diabetes, câncer, hipertensão, distúrbios menstruais, artrite e, ainda, como antimicrobiano, antiinflamatório, antioxidante, dentre outros (Rao e Subramanian, 2009; West et al., 2007; Potterat e Hamburger, 2007).

3.5.2 Consumo

Atualmente seu consumo não se restringe apenas aos países produtores, mas também nos Estados Unidos, Japão e Europa, através de sua comercialização. (KRISHNAIAH et al., 2012). Apesar da grande demanda internacional pelos produtos derivados desta espécie, o noni é praticamente desconhecido no Brasil. Sua introdução deu-se há poucos anos e, ainda, não há

material propagativo suficiente para o cultivo em escala comercial (VEIGA et al., 2005).

Tradicionalmente seu consumo é feito através de sucos da poupa da fruta, o suco pode ser consumido puro ou por meio de misturas com outros sucos (geralmente de uva), para melhorar o sabor, podendo ser engarrafado com ou sem pasteurização. Algumas vezes o suco de noni é utilizado em combinação com outras substâncias vegetais, como alho e pimenta com intuito de aumentar sua eficácia (McKOY; THOMAS SIMON 2002 NELSON, 2005)

3.5.3 Características botânicas

Pertence à família Rubiaceae; subfamília Rubioideae; ao gênero *Morinda* e é da espécie *M. citrifolia*. A árvore pode ter de 3 a 10 metros de altura, na sua forma adulta. Segundo Pawlus e Kinghorn (2007), existem duas variedades de *M. citrifolia* reconhecidas, *M. citrifolia* var. *citrifolia* e *M. citrifolia* var. *bracteata*. Entretanto, na maioria das publicações essa distinção não é feita e a nomenclatura.

Figura 4 - Arbusto de *Morinda citrifolia*



Arbusto de *Morinda citrifolia* (Fonte: Alexander S. K. Moura)

3.5.4 Cultivo

Em meio as características da *Morinda citrifolia* se apartam as suas habilidades de adaptações as diversas condições climáticas, solo e sob estresses ambientais.

Desenvolve tanto em florestas de solos férteis, como em áreas de baixa fertilidade em terras arenosas e em solo poucos profundos e rochosos (NUNES et al., 2009). Conforme descrito por Nelson e Elevite (2006) é uma cultura resistente aos efeitos salinos e alcalinos dos solos e se desenvolve tanto em regiões de clima seco como de clima úmido.

3.5.5 Potencial antimicrobiano

Sua atividade antibacteriana tem sido pesquisada por vários autores, a exemplo de Bushnell et al. (1950) foi relatado que o noni impede o crescimento de certas bactérias, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus margai*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* e *Shigella* (ATKINSON, 1956).

3.5.6 Comercialização

Pesquisadores comprovam a toxidade dos produtos do noni porem em alguns casos não conseguiram comprovar a segurança dos produtos através de suas análises, devido ao baixo nível de informação e conhecimento sobre a fruta, a Anvisa proíbe que os produtos do fruto sejam comercializados sem uma análise pela agência (COSTA et. al.,2013)

Entretanto, estudos mostram a comercialização em várias regiões do Brasil (ALMEIDA-SOUZA et. al., 2016) A ANVISA adverte: Com o intuito de proteger e promover a saúde da população os produtos contendo noni não devem ser comercializados no Brasil como alimento até que os requisitos legais que exigem a comprovação de sua segurança de uso e registro sejam atendidos (ANVISA, 2007). Portanto comercialização de produtos do noni está proibida no Brasil.

Não influenciam na cor do produto final ao qual são adicionados; são livres de enzimas e taninos e oxidam rapidamente devido aos terpenos.

3.6.2 Óleos fixos

São misturas de substâncias lipídicas, geralmente provenientes de sementes (óleo de rícino, manteiga de cacau e óleo de linhaça). Apresentam-se geralmente incolores ou levemente amarelados, com sabor ácido e picante, pouco estáveis em presença de luz, calor e ar, além de serem pouco solúveis em água (Simões & Spitzer, 1999; Saito & Scramin, 2000).

4 MATERIAIS E METODOS

4.1.1 Local de realização dos experimentos

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios da Fatec – Jaboticabal.

4.1.2 Obtenção dos extratos vegetais

Os extratos vegetais foram obtidos pela maceração na proporção 1:10 em etanol 70% por 7 dias ou em água por 3 dias (Figura 9). Após a filtração (Figura 11), os extratos hidroalcolólicos e aquosos resultantes foram concentrados em rota-evaporador (Figuras 13 e 14) e liofilizados (Figura 17 a 20) para eliminação do etanol e da água, respectivamente. O extrato obtido no final do processo foi armazenado em refrigeração em frasco âmbar (Figuras 21 a 23).

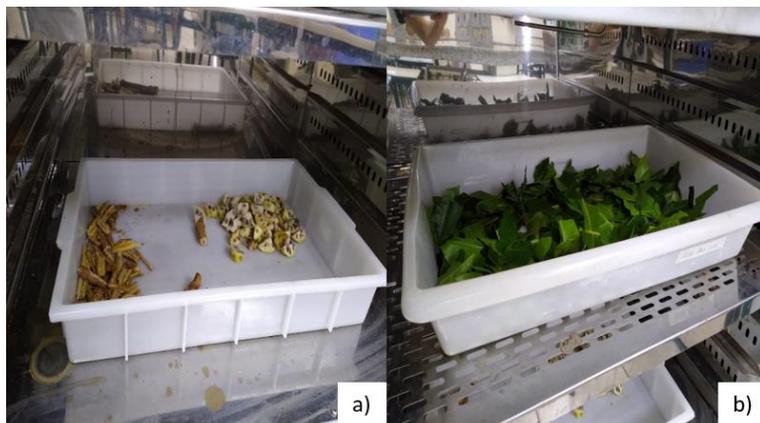
Os materiais (fruto, caule e folha) passaram pelo processo de remoção de umidade com a secagem em estufa, com a temperatura de 60°C em um período de 7 dias (Figuras 6 a 8) tendo como objetivo concentrar ao máximo as substâncias presentes no fruto caule e folhas para a maceração.

Maceração em etanol 70% - fruto, caule, e folhas *in natura*

Maceração em etanol 70% - fruto, caule, e folhas secos

Maceração em água - fruto, caule, e folhas *in natura*

Figura 6 - Pré secagem dos materiais para maceração



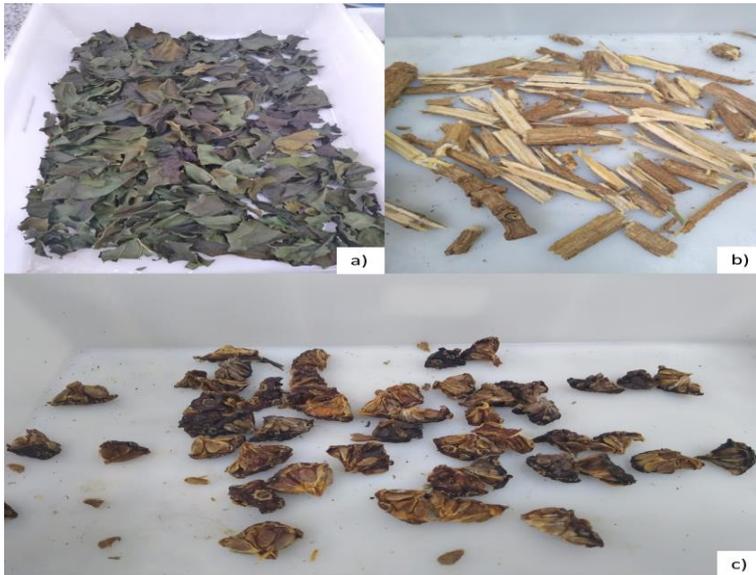
(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 7 - Estufa com as bandejas



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 8 - Materiais pós secagem



Folha seca (a) Caule seco (b) fruto seco (c). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 9 - Início da maceração



Maceração das Folha em álcool e água (a) Maceração da fruta em álcool e água (b) Maceração do caule em álcool e água (c). Maceração do caule, fruto e folha seca em álcool (d). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 10 - Pós maceração



Após 7 dia em maceração alcoólica (a). Após 3 dia em maceração Aquosa (b). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 11 - Extratos dos materiais *in natura* pós filtração



Fruta aquosa (a) Folha aquosa (b) Caule aquoso (c) Fruta em álcool (d) Folha em álcool (e) Caule em álcool (f). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 12 - Extratos dos materiais secos pós filtração



Fruta seca em álcool (a) Folha seca em álcool (b) Caule seco em álcool (c). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 13 - Equipamentos para rota-evaporação



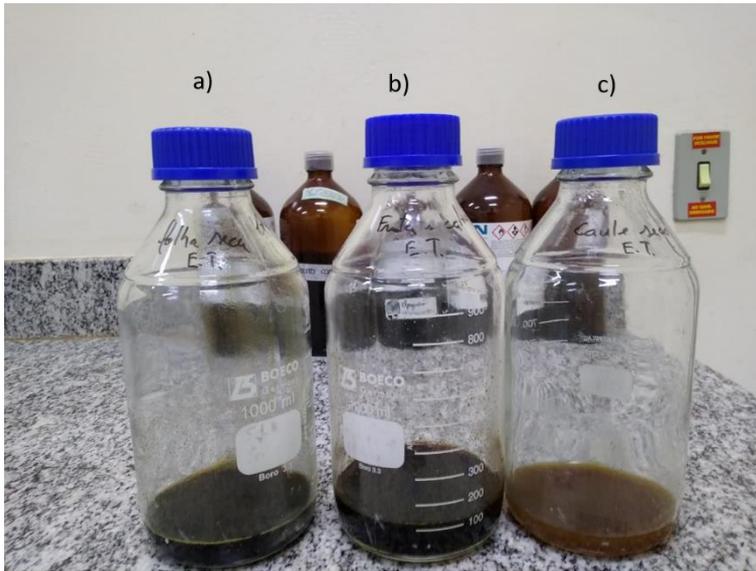
Processo de rota-evaporação (a) Trocador de calor (b) Sistema completo com compressor de ar (c) (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 14 - Extratos alcoólicos dos materiais *in natura* pós rota-evaporação



Caule (a) Folha (b) Fruta (c). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 15 – Extratos alcoólicos dos materiais secos pós rota- evaporação



Folha (a) Fruta (b) Caulo (c). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 16 - Liofilizadora



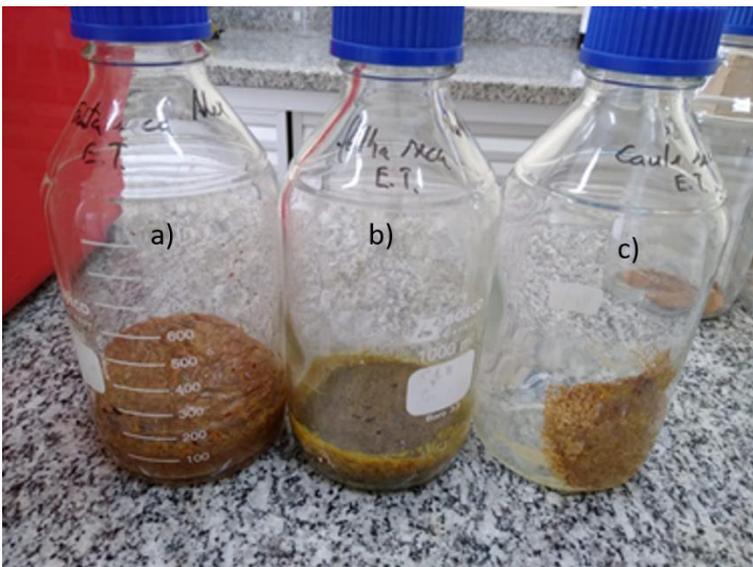
Liofilizadora da UNESP de Jaboticabal – SP (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 17 – Extratos alcoólicos dos materiais *in natura* pós Liofilização



Folha (a) Caule (b) Fruta (c). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 18 – Extratos alcoólicos dos materiais secos pós Liofilização



Fruta (a) Folha (b) Caule (c). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 19 - Extrato alcoólico da fruta seca pós Liofilização



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 20 - Extratos aquosos dos materiais *in natura* pós Liofilização



Fruta (a) Caule (b) Folha (c). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 21 - Extratos alcoólicos seco armazenados em frasco âmbar



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 22 - Extratos alcoólicos armazenados em frasco âmbar



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 23 - Extratos aquosos armazenado em frasco âmbar



Fruta e folha (a) Caule dissolvido em 10mL de água estéril (b)
(Fonte: Alexander S. K. Moura)

4.1.3 Determinação da solubilidade em água dos extratos

A determinação da solubilidade em água foi realizada transferindo determinada quantidade dos extratos para tubo de ensaio ou erlenmeyer onde foram adicionados volumes sucessivos de solvente, exatamente medidos, utilizando o agitador mecânico (vórtex) para completa homogeneização e solubilização das amostras. Em seguida, foi centrifugada uma alíquota por 5 minutos a 100 rpm para confirmação da ausência de material suspenso. A solubilidade foi expressa conforme os termos descritivos da Farmacopéia Brasileira 5ª edição.

4.1.4 Avaliação do potencial antibacteriano dos extratos vegetais

A atividade antimicrobiana dos extratos vegetais obtidos foi avaliada método hole plate de difusão em ágar (SILVA, 2012). Para os ensaios os micro-organismos foram crescidos em caldo Mueller-Hinton (extrato bovino 2g/L, hidrolisado ácido de caseína 17,5g/L e amido 1,5g/L) até que a cultura atingir a fase exponencial, e posteriormente diluídos até densidade ótica correspondente ao padrão 0,5 da escala de Mac-Farland ($OD_{620}=0,10$). Após isso, 100 μ L da suspensão microbiana foram espalhados com alça de Drigalsky em placas de ágar Mueller Hinton (Caldo anteriormente descrito adicionado de 2% de ágar). Em seguida furos de aproximadamente 5 mm de diâmetro e 3 mm de altura foram feitos no ágar e 30 μ L dos extratos adicionados. Como controles foram utilizados água e Amoxicilina (1 μ g/ μ L). Após 24h de

incubação à 32°C os halos obtidos foram medidos. Todos os testes foram realizados em triplicata.

4.2 Obtenção dos materiais

Os frutos, caules e folhas foram coletados no município de Barrinha-SP nas coordenadas -21,2234571, -48,1609079; nos dias – 11/06/2019; às 18:32 horas. A colheita foi feita manualmente, foram colhidas 300g de cada material. As sementes foram colhidas posteriormente, na mesma localização, no dia 27/06/2019 às 13:30 horas.

4.3 Obtenção do óleo

Extração de óleos fixos e essenciais

Materiais

Foram utilizados. Extrator de óleo e graxas MA044/1 Marconi (extrator de Soxhlet); Triturador; Papel filtro; Béquer; Estufa; balança analítica; Algodão; Semente de Morinda seca; Folha de Morinda seca e um Liquidificador 1L.

Extração e secagem da semente

Para o processo de extração das sementes é necessário o utilizar um liquidificador, onde a fruta madura e mole será colocada na jarra do liquidificador com água com cerca de 900mL para cada unidade de fruta, após a trituração, as sementes flocularam e a poupa se sedimentara, facilitando assim sua separação.

Com uma peneira retirar as sementes floculadas e colocar em uma bandeja para ser levar a estufa a 45°C por um período de 5 dias com circulação ligada.

Secagem das folhas e sementes

Após colocar as folhas e sementes em uma bandeja plástica, foram levadas para estufa a 45°C por um período de 5 dias com circulação ligada. (Figura 24).

Figura 24 - Folhas e sementes pós secagem



Folha seca (a) Semente seca (b). (Fonte: Alexander S. K. Moura)

Moagem das sementes e pesagem

A trituração das sementes secas foi feita em um liquidificador, até que as sementes ficassem em pó (Figura 25). Após serem trituradas, fazer a pesagem da massa de semente moída em uma balança analítica (Figura 27).

Figura 25 - Trituração das sementes



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 26 - Folha triturada



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 27 - Balança analítica



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Extração do óleo

Com adaptação do material da professora Solange Brazaca do DEPARTAMENTO DE AGROINDÚSTRIA, ALIMENTOS E NUTRIÇÃO – ESALQ/USP LABORATÓRIO DE ANÁLISE DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO a extração do óleo foi feita com o procedimento abaixo.

Secar em estufa a 105°C um balão de fundo chato até peso constante (aproximadamente uma noite); retirar o balão da estufa e deixar esfriar em dessecador; identificar e pesar o balão em balança analítica e anotar o peso; identificar um papel de filtro com lápis preto; Pesar, em balança analítica o papel de filtro e anotar o peso; dobrar o papel de filtro em formato de um cone; pesar em balança analítica 10g de amostra dentro do cone de papel de filtro (Figura 28).

Figura 28 - Semente em pó nos papéis filtro



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 29 - Adição de algodão para evitar respingos no processo



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Inserir o papel de filtro mais a amostra no tubo extrator de gordura; adicionar aproximadamente 100 mL do solvente a ser usado no balão; encaixar o tubo extrator ao condensador e ao balão contendo o solvente; abrir a torneira de água que alimenta o trocador de calor (Figura 30).

Figura 30 - Trocador de calor



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Acionar o sistema de exaustão da capela; ligar o aquecimento do extrator de Soxhlet e elevar a temperatura para 45°C (Figura31).

Figura 31 - Extrator de óleo e graxas MA044/1 Marconi (extrator de Soxhlet)



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Deixar a amostra 4 a 6 horas em refluxo; decorrido este tempo de extração, retirar o tubo extrator de gordura; colocar o tubo recuperador de solvente; ajustar a temperatura do extrator de Soxhlet para 70°C; manter por uma hora e meia ou até que todo o solvente tenha passado para o tubo recuperador de solvente; desligue o extrator de Soxhlet;

Fechar a torneira de água; retire o tubo recuperador de solvente e armazene o solvente recuperado em vidro adequado; retire o balão com a gordura levar a estufa a 105°C para evaporar o solvente (Figura 32).

Figura 32 - Balões na estufa para secagem do solvente



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Após evaporação do solvente, retirar o balão da estufa e deixar esfriar (Figura 33).

Figura 33 - Balões com óleo sem solvente



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Pesar o balão com a gordura da amostra em balança analítica; Anotar o peso e anotar os valores (Tabela 1 a 5); Armazenar o óleo em um recipiente, em local sem umidade e fora de alcance de luz solar (Figura 34).

Figura 34 - Volume total de óleo obtido



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

5 Resultados e discussões

5.1 Resultados de Solubilidade dos Extratos

Os extratos vegetais hidroalcoólicos e aquosos foram preparados como descrito anteriormente e armazenado em refrigeração em frasco âmbar até o momento da realização das análises.

A determinação da solubilidade dos extratos vegetais em água foi realizada para verificar a possibilidade do uso desse solvente, pois isso facilita muito o interesse do setor industrial por ser um solvente universal abundante e relativamente de baixo custo. O extrato hidroalcoólico apresentou maior dificuldade para a solubilização.

A partir dos experimentos de solubilidade concluímos que todos os extratos foram solúveis em água e etanol.

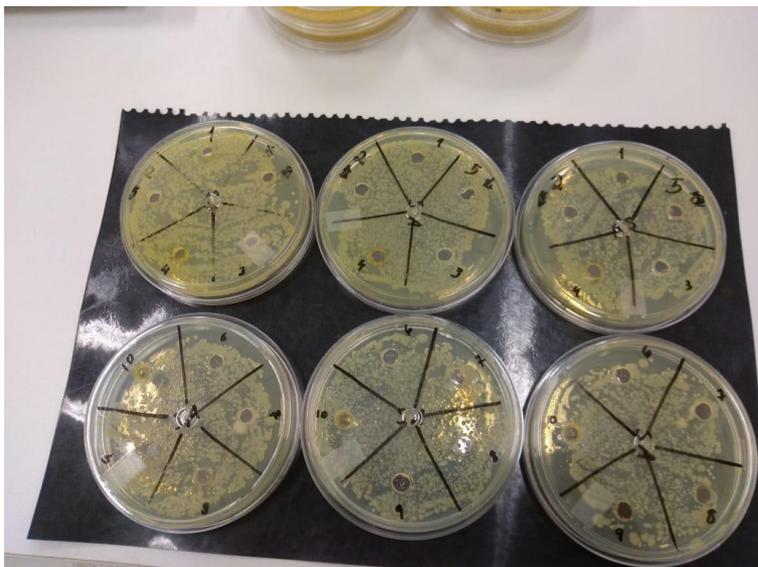
5.1.1 Resultados controle bacteriano por Hole plate

Figura 35 - Resultados método Hole plate com *S. cerevisiae*



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 36 - Resultados método Hole plate com *S. aureus*



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Figura 37 - Resultados método Hole plate com *E. coli*



(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Cada extrato foi testado para os micro-organismos padrões e para os isolados do processo fermentativo realizado na Fatec. Os extratos vegetais não foram efetivos contra todas as amostras bacterianas testadas.

5.2 Obtenção do óleo das sementes

Tabela 1 – produção de óleo das sementes

Peso do balão com óleo (g)	Peso do balão limpo e seco (g)	Peso do óleo (g)
142,2353	141,3707	0,8646
132,6774	131,5706	1,1068
122,3269	121,2320	1,0949
140,1388	139,0290	1,1098
135,4069	134,5003	0,9066
Total		5,0027

(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Tabela 2- produção de graxas das folhas

Peso do balão com graxa (g)	Peso do balão limpo e seco (g)	Peso da graxa (g)
140,1698	139,6116	0,5582

Tabela 3- rendimento na produção de óleo das sementes

peso da massa (g)	peso do óleo extraído(g)	rendimento (g)
10,0361	0,8646	0,08615
10,0034	1,1068	0,11064
10,0044	1,0949	0,10944
10,0022	1,1098	0,11095
8,1714	0,9066	0,11094
peso da massa total (g)	peso do óleo extraído total (g)	rendimento total (g)
48,2175	5,0827	0,52812

(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Tabela 4- rendimento da produção de graxas das folhas

peso da massa (g)	peso do graxas extraído (g)	rendimento (g)
10,0154	0,5582	0,05573

(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Tabela 5- densidade do óleo (g/mL)

volume de óleo (mL)	peso do óleo (g)	densidade do óleo (g/ml)
5,5	0,52812	0,09602

(Fonte: Alexander S. K. Moura)

Obs: não foi possível calcular a densidade da graxa das folhas por ser muito viscosa e por não ser possível fazer seu recolhimento.

6 Conclusão

Através dos experimentos realizados, podemos concluir que a atividade dos extratos de *Morinda citrifolia* não foram eficazes contra as bactérias *S. aureus* e *E. coli* e não teve ação sobre a *S. cerevisiae*.

Os extratos obtidos apresentam característica hidrofílicos. Sendo eles solúveis em água.

7 Referencia

A SILVA J. J M. BREHM MAS. Formação de mudas de noni sob irrigação com águas Acesso em: 13/03/2008.

AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA (ANVISA). Informe técnico nº25, de 29 de maio de 2007. Esclarecimentos sobre a comercialização do suco de fruta noni (Morinda citrifolia). Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507 Acesso em: 13/03/2008.

ALMEIDA-SOUZA, F.; SOUZA, C.S. et al. Ultrastructural Changes and Death of *Leishmania infantum* Promastigotes Induced by Morinda citrifolia Linn. Fruit (Noni) Juice Treatment. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v.2016, p 19, 2016.

ANDRIETTA, M. G. S., STECKELBERG, C., ANDRIETTA, S. R., Bioetanol - Brasil 30 anos na vanguarda. Multi-Ciência: Revista Interdisciplinar dos Centros e Núcleos da UNICAMP, v. 7, p. 1-16, Out. 2006

ANGELIS, D. F. Contaminação bacteriana na fermentação alcoólica. Disponível em: <http://www.cca.ufscar.br/~vico/Contaminacao%20bacteriana%20na%20fermentacao%20etanolica.pdf>. Acesso em 23 de agosto de 2010.

ARRUDA PINTO, RICARDO SOARES de. (2002). Indicadores de desempenho de frota de empresas agroindustriais canavieiras brasileiras. Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo para obtenção de Mestre em Agronomia.

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16 ed. Washington: AOAC, 1995. 2v.

ATKINSON, N. Antibacterial substances from flowering plants: Antibacterial activity of dried Australian plants by rapid direct plate test. Australian Journal of Experimental Biology, v. 34, p. 17–26, 1956

BORZANI, W., SCHIMIDELL, W., LIMA, U., AQUARONE, E. Biotecnologia Industrial: Fundamentos, v.1, São Paulo, SP, Editora Edgard Blucher, 2001.

BOSTON PUBLIC HEALTH COMMISSION. (2014). Fonte: www.bphc.org: <https://bphc.org/whatwedo/infectious-diseases/Infectious-Diseases-A-to-Z/Documents/Fact%20Sheet%20Languages/E.coli/Portuguese.pdf>

BUSHNELL, O. A.; FUKUDA, M.; MAKINODIAN, T. The antibacterial properties of some plants found in Hawaii. Pacific Science, v. 4, p. 167–183, 1950.

CAETANO, A. C. G.; MADALENO, L. L. Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais. *Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal*, v.2, n.1, p. 27-37, 2011.

CAETANO, A. C. G.; MADALENO, L. L. Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais. *Ciência e Tecnologia, Jaboticabal*, v. 2, n. 1, p. 27-37, 2011. Disponível em: Acesso em: 22 jan. 2013.

CASTRO, P. H. (2011). *Processos Químicos Industriais II -INDÚSTRIA ALCOOLEIRA*. Lorena: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Escola de Engenharia de Lorena – EEL .

CONAB(14 de 8 de 2019). Fonte: conab.gov.br: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2489-safra-de-cana-estimada-em-635-milhoes-de-t-tera-producao-de-30-bilhoes-de-litros-de-etanol>

CONAB(21 de agosto de 2018). Fonte: conab: : conab.gov.br: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2489-safra-de-cana-estimada-em-635-milhoes-de-t-tera-producao-de-30-bilhoes-de-litros-de-etanol>

COSTA, A. B; OLIVEIRA, A. M. C.; SILVA, A. M. O; FILHO-MANCINI, J; LIMA, A. Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do noni (*Morinda citrifolia* Linn). *Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal - SP*, v. 35, n. 2, p. 345-354, Jun. 2013.

EGUCHI, J. Y. Ativos antimicrobianos utilizados na indústria. *Revista Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação, São Paulo*, v. 2, n. 22, p. 35-39, 2007. Disponível em: . Acesso em: 15 jan 2011.

FERREIRA, S. R. S. Extração com dióxido de carbono líquido subcrítico de óleoessencial de pimenta-do-reino. Tese de Mestrado em Engenharia de Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

FREITAS, M. D.; ROMANO, F. P. Avaliação do controle bacteriano na fermentação alcoólica com produtos naturais. *Bioenergia em Revista: Diálogos, Piracicaba*, v.4, n.2, p. 109-119, jul./dez.2014. *Holualoa-Hawaii:Permanent Agriculture Resources*, 2006.

INVESTE SÃO PAULO . (10 de Maio de 2019). Fonte: Investe São Paulo : <https://www.investe.sp.gov.br/noticia/safra-2018-2019-brasil-bate-recorde-de-producao-consumo-e-venda-de-etanol/>

KRISHNAIAH D, Bono A, Sarbatly R, Anisuzzaman SM. Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated *Morinda citrifolia* L. methanolic extract from Polyethersulphone (PES) membrane separator. *Journal of King Saud University – Engineering Sciences*. 2013; 27(1):1-5. ISSN: 1018-3639

MACHADO, F. B. P. (2003). *Brasil, a doce terra - História do Setor*. Disponível na internet: < <http://www.procana.com.br> >. Acesso em: janeiro 2019.

MADALENO, P. L. (2013). PRODUÇÃO DE BIOETANOL . Processo Fermentativo e de Destilação, p. 3.

MAIA, A.B.R.A. fundamentos da fermentação alcoólica. 1989.129p. (Apostila do curso de engenharia Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1989.

McKOY, M. G.; THOMAS, E. A.; SIMON, O. R. Preliminary Investigation of the Antiinflammatory Properties of an Aqueous Extract from *Morinda citrifolia* (noni). *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, v. 45, p. 76-78, 2002

MOURA, Alexander Simogaki et al. EXTRATOS DE BYRSONIMA INTERMEDIA COMO ALTERNATIVA NO CONTROLE MICROBIOLÓGICO. *Ciência & Tecnologia Fatec-JB*, v. 11, 2019.

MÜLLER, J. C. Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn. 2007. 88p. Dissertação de mestrado, Pós-graduação em Farmacologia - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2007.

NELSON, S. C. ELEVITCH, C. R. *Noni: the complete guide for consumers and growers*.

NELSON, S. C; ELEVITCH, C. R. *Noni: the complete guide for consumers and growers*. Permanent Agriculture Resources, Holualoa-Hawaii, 2006. 104p

NOVACANA, (21 de agosto de 2018). Fonte: novacana : <https://www.novacana.com/n/cana/safra/conab-levantamento-safra-2018-19-cana-de-acucar-210818>

NUNES, J.C CAVALCANTE, L F.REBEQUI A M; LIMA NETO, AJ DINIZ, A

PAWLUS, A. D.; KINGHORN, A. D. Review of ethnobotany, chemistry, biological activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 59, n. 12, p. 1587-1609, 2007

RAO USM, Subramanian SM. Biochemical evaluation of antihyperglycemic and antioxidative effects of *Morinda citrifolia* fruit extract studied in streptozotocin-induced diabetic rats. *Medicinal Chemistry Research*. 2009; 18(6):433–46. ISSN: 1554-8120. salinas e biofertilizante no solo. *Eng. Amb. Espirito Santo do Pinhal*, v. 6, n. 2. p. 451-463

SANTOS, André Luis dos et al. *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SILVA, D. M. Efeito de extratos vegetais e antibióticos sobre *Staphylococcus aureus* de origem bovina. 2012. Dissertação - Universidade Federal de Viçosa, 2012.

SILVA, D. M. Efeito de extratos vegetais e antibióticos sobre *Staphylococcus aureus* de origem bovina. 2012. Dissertação - Universidade Federal de Viçosa, 2012.

SILVA, G. K. C. Avaliação da ação de diferentes antibióticos sobre o crescimento de microrganismos contaminantes do processo fermentativo para obtenção do etanol. 2010. 93 f.

Trabalho de Conclusão Curso (Graduação do curso de Tecnologia em Biocombustíveis). Faculdade de Tecnologia, Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, Araçatuba, 2010.

SIMÕES, C. M. O. & Spitzer, V. Óleos voláteis. In: Simões, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre. Ed. da UFRGS; Florianópolis. Ed. Ed. da UFSC. 1999. pp. 387-415.

SOUZA, C. S. Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S. cerevisiae*. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (USP), Instituto Butantan (IPT), São Paulo, SP, Brasil, 2009.

SOUZA, C. S. Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S. cerevisiae*. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (USP), Instituto Butantan (IPT), São Paulo, SP, Brasil, 2009.

VEIGA, R. F. A. et al. Noni: Frutífera medicinal em introdução e aclimação no Brasil. *O Agrônômico*, v. 57, n. 1, p. 20-21, 2005.

WANG, M. Y. et al. *Morinda citrifolia* (noni): A literature review and recent advances in noni research. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 23, n. 12, p. 1127-1141, 2002.

WANG, M.; SU, C. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (noni). *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 952, p. 161-168, 2001.