

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

LUCAS CORRÊA SANTOS

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE FRUTOS
DE *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2021

LUCAS CORRÊA SANTOS

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS
DE FRUTOS DE *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae)**

**EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Morinda citrifolia* L.
(Rubiaceae) FRUIT EXTRACTS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Edimir Andrade Pereira.

Coorientadora: Profa. Dra. Vidianny Aparecida Queiroz Santos.

PATO BRANCO

2021



Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



TERMO DE APROVAÇÃO

Avaliação da capacidade antimicrobiana de extratos de frutos de *Morindacitrifolia* L. (Rubiaceae)

Por

Lucas Corrêa Santos

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 01 de dezembro de 2021 às 15 horas e 30 minutos, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

Edimir Andrade Pereira
Prof. Orientador

Simone Beux
Membro titular

Mário Antônio A. da Cunha
Membro titular

Nota: O Documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no SEI processo 23064.050681/2021-41.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me ajudaram, esse trabalho é uma etapa muito decisiva da minha vida.

Agradeço a minha família, que me deu a oportunidade de estudar, ao meu pai Valmir, minha mãe Fátima e meu irmão Caio.

Agradeço as minhas tias Dora e Mari, pela ótima ideia de estudar esse fruto, e por ter esse fruto no quintal de sua casa, sem vocês eu não estaria apresentando esse trabalho.

Agradeço aos meus colegas de graduação, as minhas amigas de apartamento Mariana e Giovanna que me deram muita força durante a execução de meu trabalho.

Agradeço a orientação do Prof. Edimir, que me ajudou muito durante a execução deste. Também venho agradecer a orientação da Profa. Sirlei, que me ajudou imensamente mesmo que de forma indireta.

Agradeço à Profa. Vidianny por me auxiliar em todas as partes de microbiologia, também agradeço aos alunos Vanuza e Thiago, por me guiarem durante a minha pesquisa.

Agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR/PB, e ao Centro Universitário de Pato Branco - UNIDEP pelos laboratórios e reagentes.

E também agradeço por eu ter saúde para eu poder realizar esse trabalho e poder continuar trilhando o rumo da minha vida.

RESUMO

SANTOS, Lucas Corrêa. Avaliação da capacidade antimicrobiana de extratos de frutos de *Morinda citrifolia* L (Rubiaceae). 71 f. TCC (Curso de Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2021.

O noni é o fruto da planta *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae), de origem asiática, usada há milênios pelos povos nativos da Polinésia e Taiti, como fonte de alimento e medicina alternativa. É usado amplamente para o tratamento do diabetes, hipertensão, como analgésico e utilizado como tratamento para a prevenção do câncer. Tanto o fruto como as folhas possuem potencial antioxidante, anti-inflamatório, cicatrizante e antiparasítico. O noni possui diversas substâncias bioativas como antraquinonas e cumarinas que conferem capacidade antimicrobiana. Os objetivos do trabalho foram caracterizar físico-quimicamente a polpa de noni, realizar extrações de compostos antimicrobianos com diferentes solventes e testar a capacidade antimicrobiana destes extratos frente a seis microrganismos: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Salmonella enterica typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. A metodologia de extrações sucessivas de sólido-líquido em *shaker*, com renovação de solvente foi utilizada. A atividade antimicrobiana foi testada pelo método de difusão em disco e microdiluição em caldo. As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com procedimentos do Instituto Adolfo Lutz. Os resultados obtidos foram de 86% de umidade, 0,64% de resíduo mineral total, 0,78% de proteínas totais, 0,88% de lipídios, 0,206% de acidez total titulável e 13 °Brix de sólidos solúveis totais. O resultado de disco-difusão mostrou inibição positiva em extratos de acetona e álcool, e nenhuma inibição no extrato aquoso. O teste de microdiluição em caldo mostrou que cepas de *C. tropicalis* foram resistentes tanto ao extrato alcoólico quanto em acetona. O fungo *C. albicans* foi o mais sensível ao extrato de álcool, sendo inibido em concentrações de até 1:100. O extrato acetônico inibiu todas as demais cepas utilizadas, na concentração testada. Por meio deste estudo pode-se concluir que os resultados da caracterização físico-química estão de acordo com dados da literatura e que as frações do extrato de frutos de *Morinda citrifolia* apresentaram capacidade de inibição *in vitro* frente à maioria dos microrganismos testados. O processo de extração mostrou-se eficiente ao extrair metabólitos com atividade inibitória.

Palavras-chave: noni, extração, concentração mínima inibitória, disco difusão, caracterização físico-química.

ABSTRACT

SANTOS, Lucas Corrêa. Evaluation of the antimicrobial activity of *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae) fruit extracts. 71 f. TCC (Curso de Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2021

Noni is the fruit of the plant *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae), of Asian origin, used for millennia by native peoples of Polynesia and Tahiti, as a source of food and alternative medicine. It is widely used for the treatment of diabetes, hypertension, as a pain reliever and used as a treatment for the prevention of cancer. Both the fruit and the leaves have antioxidant, anti-inflammatory, healing and antiparasitic potential. Noni has several bioactive substances such as anthraquinones and coumarins that confer antimicrobial capacity. The objectives of the work were to characterize physicochemically the noni pulp, perform extractions of antimicrobial compounds with different solvents and test the antimicrobial capacity of these extracts against six microorganisms: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Salmonella enterica typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The methodology of successive extractions of solid-liquid in a shaker, with solvent renewal was used. The antimicrobial activity was tested by the disk diffusion and broth microdilution method. The physicochemical analyzes were carried out according to the procedures of Instituto Adolfo Lutz. The results obtained were 86% moisture, 0.64% total mineral residue, 0,78% total protein, 0.88% lipid, 0.206% total titratable acidity and 13°Brix total soluble solids. The disk-diffusion result showed positive inhibition in acetone and alcohol extracts, and no inhibition in the aqueous extract. The microdilution test in broth showed that strains of *C. tropicalis* were resistant to both alcoholic extract and acetone. The fungus *C. albicans* was the most sensitive to the alcohol extract, being inhibited at concentrations up to 1:100. The acetonic extract inhibited all the other strains used, at the concentration tested. Through this study it can be concluded that the results of the physicochemical characterization are in agreement with data from the literature and that the fractions of the extract of *Morinda citrifolia* fruits showed in vitro inhibition capacity against most of the tested microorganisms. The extraction process proved to be efficient in extracting metabolites with inhibitory activity.

Keywords: noni, extraction, minimum inhibitory concentration, physicochemical characterization, disk diffusion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Frutos em diferentes estádios de maturação	16
Figura 2 - Folhas da árvore de <i>M. citrifolia</i>	17
Figura 3 - Estrutura da Xeronina	20
Figura 4 - Esquema do processo de extração	27
Figura 5 - Esquema representativo do ensaio de difusão em disco	33
Figura 6 - Esquema da placa de microtitulação para ensaio de MIC.....	35
Figura 7 - Esquema de repique para determinação de ação microbicida ou microbiostática	37
Figura 8- Consistência gelatinosa da solução de extração aquosa	39
Figura 9 - Extrato de acetona (A), extrato de álcool (B) e extrato de água depois do processo de secagem do solvente (C)	40
Figura 10 - Resultado de sólidos solúveis totais.....	44
Figura 11 - Efeito nutritivo do extrato aquoso frente a cepa de <i>Candida tropicalis</i>	48
Figura 12 - Coloração do teste MIC após aplicação do corante revelador (A) <i>S.</i> <i>aureus</i> e <i>E. Coli</i> ; (B) <i>S. enterica</i> e <i>P. aeruginosa</i> e (C) <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i>	50
Figura 13 - Resultado do repique pós-MIC de <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>	51
Figura 14 - Resultado do repique pós-MIC de <i>S. enterica</i> e <i>P. aeruginosa</i>	51
Figura 15 - Resultado do repique pós-MIC de <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i>	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados análises de caracterização da polpa.....	41
Tabela 2 - Resultados análises de Umidade e Cinzas Totais.....	41
Tabela 3 - Resultados análises de proteína	42
Tabela 4 - Resultados análises de acidez total titulável	43
Tabela 5 - Resultados análises lipídios	43
Tabela 6 - Resultados testes de difusão em ágar	46
Tabela 7- Resultados de inibição MIC.....	52

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação de cálculo de Acidez Total Titulável (1).....	29
Equação de Carboidratos Totais por diferença (2).....	31
Equação de cálculo do Valor Calórico (3)	32

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

°C - grau Celsius

µL - Microlitro

AMH - Ágar Mueller Hinton

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC - *American Type Culture Collection*

C. albicans - *Candida albicans*

C. tropicalis - *Candida tropicalis*

E. coli – *Escherichia coli*

FDA - *Food and Drug Administration*

g - Grama

h - Hora

H₂SO₄ - Ácido sulfúrico

Kcal - Kilocaloria

L - Litro

LAQUA - Laboratório de Qualidade Agroindustrial

M - Concentração molar

mg - Miligrama

MH - Caldo Mueller Hinton

MIC - Concentração Mínima inibitória

mL - mililitro

NaClO - hipoclorito de sódio

NaOH - Hidróxido de sódio

P. aeruginosa - *Pseudomonas aeruginosa*

P.A. - Para análise

ppm - parte por milhão

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

S. enterica – *Salmonella enterica typhimurium*

TNJ - *Tahitian Noni Juice*®

UFC - Unidades formadoras de colônia

UNIDEP - Centro Universitário de Pato Branco

UTFPR/PB - Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Pato Branco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 <i>Morinda citrifolia</i>	15
3.2 Atividade Biológica.....	19
3.3 Extratos vegetais.....	21
3.4 Microrganismos.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Material	26
4.2 Obtenção dos extratos	26
4.3 Caracterização da polpa	28
4.3.1 Umidade (Perda por dessecação).....	28
4.3.2 Cinzas Totais (Resíduo Mineral Fixo).....	28
4.3.3 Acidez Total Titulável	28
4.3.4 Proteínas (Método de Kjeldahl modificado).....	30
4.3.5 Lipídios (Extração em Goldfish).....	30
4.3.6 Sólidos solúveis totais por refratometria.....	30
4.3.7 Carboidratos Totais por diferença	31
4.3.8 Valor calórico.....	31
4.3.9 Relação Sólidos Solúveis Totais/ Acidez Total Titulável	32
4.4 Atividade antimicrobiana	32
4.4.1 Disco difusão.....	32
4.4.2 Concentração Mínima Inibitória	34

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 Método de extração.....	38
5.2 Caracterização	40
5.2.1 Umidade e Cinzas Totais	41
5.2.2 Proteínas	42
5.2.3 Acidez Total Titulável	42
5.2.4 Lipídios.....	43
5.2.5 Sólidos Solúveis Totais	44
5.2.6 Carboidratos Totais	45
5.2.7 Valor calórico.....	45
5.2.8 Relação Sólidos Solúveis Totais/ Acidez Total Titulável (SST/ATT)	45
5.3 Atividade antimicrobiana	46
5.3.1 Disco-difusão.....	46
5.3.2 Concentração Mínima Inibitória (<i>MIC</i>).....	49
6 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55
APÊNDICE A – IMAGENS DO TESTE DE DIFUSÃO EM DISCO	63

1 INTRODUÇÃO

Morinda citrifolia é uma planta de origem asiática usada há milênios pelos povos nativos da Polinésia e Taiti para a prevenção e tratamento de enfermidades. O fruto de sua árvore, é denominado Noni. A planta como um todo é utilizada, desde as raízes e caule, como os frutos e as folhas. Estudos indicam propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, cicatrizantes, antiparasíticas e potencial para a cura do câncer (MORORÓ *et al.*, 2017).

O fruto possui alto teor de vitamina C, compostos fenólicos, cumarinas, alcaloides, antraquinonas e diversos outros compostos, os quais propiciam as mais diversas propriedades ao fruto. Os grandes grupamentos de moléculas bioativas na fruta, concedem propriedades antimicrobianas para o fruto e derivados deste. O noni é geralmente consumido como a fruta in natura, ou em forma de suco fermentado ou não-fermentado. Quando em forma de suco é misturado geralmente com suco de uva, para mascarar o odor característico, que lembra algo apodrecido e possui sabor levemente amargo.

As pessoas continuam consumindo o noni devido as propriedades fitoterápicas, mesmo tendo cheiro forte e desagradável. O fruto possui propriedade antimicrobiana que pode ajudar na prevenção de doenças causadas por bactérias e fungos, além de ser uma alternativa natural aos medicamentos presentes no mercado. Apesar de que a venda de produtos comercializados contendo noni está proibida pela ANVISA no Brasil, uma vez que foram identificados diversos relatos de hepatotoxicidade após o consumo da fruta, estudos sobre a sua ação dos componentes dessa planta são necessários.

Devido ao uso inadequado de antibióticos ao longo dos anos, alguns microrganismos evoluíram, se tornando cada vez mais resistentes aos medicamentos convencionais. O estudo de novos compostos com capacidade antimicrobiana é de extrema importância para a indústria farmacêutica, alimentícia e outras. O presente trabalho visa caracterizar a polpa e estudar a ação antimicrobiana de extratos obtidos com diferentes solventes em gradiente de polaridade do fruto da *Morinda citrifolia*, e avaliar a ação antimicrobiana do mesmo frente à microrganismos de interesse médico e alimentício.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o potencial antimicrobiano de extratos obtidos da polpa do fruto de *Morinda citrifolia* (noni).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar físico-quimicamente a polpa de noni;
- Obter extratos com solventes de diferentes polaridades;
- Testar a capacidade antimicrobiana do extrato pelo método de disco-difusão;
- Avaliar a Concentração Mínima Inibitória dos extratos com resultados positivos no teste de disco-difusão;
- Analisar a atividade antimicrobiana dos extratos frente à seis microrganismos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica typhimurium*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Morinda citrifolia*

A *Morinda citrifolia* é uma árvore de pequeno porte, da família *Rubiaceae*, tem sua origem no sudeste asiático, tendo hoje, como maior produtor o Taiti, entretanto está difundida em grande parte do mundo. É uma planta incomum e fácil de ser reconhecida por suas características exóticas. O fruto da *Morinda citrifolia* é popularmente conhecida como Noni, e em inglês *Indian Mulberry* (PAWLUS; KINGHORN, 2007a). É bem adaptada em regiões tropicais, onde um hectare de árvores pode gerar cerca de 35 toneladas de suco do noni por mês. Começou a ser comercializada em meados dos anos 90 nos EUA, em sua forma de suco, como *Tahitian Noni Juice*® (TNJ) (ABOU ASSI *et al.*, 2017; BARBOSA *et al.*, 2017).

Esta é classificada botanicamente como:

- Reino: Plantae
- Divisão: Magnoliophyta
- Classe: Magnoliopsida
- Ordem: Gentianales
- Família: Rubiaceae
- Gênero: *Morinda*
- Espécie: *Morinda citrifolia*
- Nome científico: *Morinda citrifolia* L. (MÜLLER, 2007)

O fruto (**Figura 1**) tem uma aparência diferente da maioria dos frutos, cheio de curvas e formato inusitado, porém, o fator mais impactante é o odor da fruta (ZHANG *et al.*, 2019). Quando está verde, a fruta não apresenta odor, porém quando está no auge do seu estágio de maturação, a fruta apresenta uma coloração translúcida branca-amarelada e odor muito forte, lembrando um queijo em seu estado de putrefação, tendo um odor podre ou azedo, por este motivo é chamada de *cheese-fruit* (fruta-queijo) nas ilhas do Caribe (ABOU ASSI *et al.*, 2017).

Figura 1 - Frutos em diferentes estádios de maturação.



Fonte: Aatoria própria (2021)

Pode ser reconhecida também pelas suas folhas (**Figura 2**), as quais são elípticas, opostas e com margens onduladas, com coloração verde brilhante na face superior e apresentam-se opacas na face inferior. As folhas são grandes, chegando a mais de 40 centímetros de comprimento, apresentam limbo, pecíolo e nervuras bem definidas, o qual confirma sua identidade dicotiledônea. As flores são brancas, tubulares e pequenas (OLIVEIRA, 2014).

A *Morinda citrifolia* é uma planta medicinal conhecida há mais de 2000 anos, sendo utilizada como fonte de tratamento para diabetes, doenças cardiovasculares e até mesmo o câncer (KRISHNAIAH *et al.*, 2015). O uso de suas folhas, casca, raízes e frutos como fitoterapia foi utilizado principalmente por povos asiáticos e é utilizado até os dias de hoje (PAWLUS; KINGHORN, 2007b).

O *Noni* (fruto) se tornou mais popular após os anos 90, onde começou a ser comercializado principalmente em sua forma de suco (ABOU ASSI *et al.*, 2017).

Figura 2 - Folhas da árvore de *M. citrifolia*.



Fonte: Autoria própria (2021)

O suco de noni é vendido em duas formas: o suco fermentado e o suco não-fermentado. O suco fermentado é bastante popular no sudeste asiático e nos EUA (BARROS, 2009). O tempo mínimo de fermentação para a obtenção do produto é de 60 dias, depois de passado esse período, o suco passa por um processo de filtração e envase, podendo ser mantido em temperatura ambiente sem a necessidade de ser pasteurizado. Devido ao processo fermentativo, os açúcares contidos na fruta são convertidos em ácidos orgânicos, resultando em uma redução do pH para 3,5 – 4,0 (BARBOSA *et al.*, 2017).

O suco não-fermentado possui uma coloração mais clara e um sabor mais adocicado, quando em comparação ao suco fermentado, sendo produzido pela prensagem da fruta madura em recipientes para o envase, sendo necessário em muitas vezes o processo de pasteurização e/ou refrigeração para preservar a integridade do mesmo (DE SOUSA, 2015).

A partir do ano de 1996, onde ocorreu o depósito da patente do suco *Tahitian Noni Juice*®, os produtos de noni acabaram sendo mais difundidos. Esse suco era comercializado em mais de 72 países, no ano de 2014, pela empresa Morinda Bioactives (OLIVEIRA, 2014). O suco e alguns produtos feitos a partir dessa planta

não têm sua venda regulamentada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (BARROS, 2009).

Como o suco de noni é consumido com finalidade terapêutica, como “medicamento” para tratamento/prevenção de doenças, é necessário uma documentação científica que comprove sua segurança e que seja solicitado o registro do mesmo junto a ANVISA (BARBOSA *et al.*, 2017; MORORÓ *et al.*, 2017).

Conforme o art. 56 do Decreto-Lei nº 986/69, produtos com finalidade terapêutica ou medicamentosa não podem ser considerados produtos alimentícios no Brasil. Uma vez que não há histórico de consumo no Brasil, produtos derivados do noni, necessitam de comprovação que são seguros para o consumo e não são tóxicos, assim podendo ser submetidos à registros na ANVISA, desse modo possibilitando a sua liberação para o mercado (DE SOUSA, 2015). Devido a este fato, produtos à base de noni foram proibidos no mercado, de acordo com o Informe Técnico nº 25 emitido pela ANVISA em maio de 2007. Essa decisão se baseia na alegação da ANVISA que os estudos apresentados até o momento apresentam muitas discordâncias nos resultados e muitos relatos de hepatotoxicidade foram identificados após o consumo de noni (NASCIMENTO, 2012).

A instituição estadunidense *Food and Drug Administration* (FDA), não aprovou o uso médico ou terapêutico da fruta ou suco de noni. O suco de noni está registrado como um suplemento alimentar, dessa maneira, também não sendo permitidas propaganda de derivados de noni com finalidades ou indicações terapêuticas em toda a Europa (MOTTA, 2015). O suco de fruta do Noni tinha sido aprovado como um novo alimento pela Comissão Europeia em 2003 (POTTERAT; HAMBURGER, 2007). Devido a relatórios recentes de casos de hepatotoxicidade, a questão da segurança foi reexaminada na Europa. Lesão hepática idiossincrática (imprevisível) induzida por drogas é uma das as doenças hepáticas mais desafiadoras enfrentadas pelos hepatologistas, por causa da miríade de drogas usadas na prática clínica, ervas disponíveis e suplementos dietéticos com potencial hepatotóxico, a capacidade da condição de se apresentar com uma variedade de e fenótipos patológicos e a ausência atual de biomarcadores. Isso torna o diagnóstico de fígado induzido por drogas lesão um processo incerto, exigindo um alto grau de consciência da condição e a exclusão cuidadosa de alternativas etiologias da doença hepática (ANDRADE *et al.*, 2019).

3.2 ATIVIDADE BIOLÓGICA

Plantas são usadas há milênios pelos seres humanos como fonte de tratamento de enfermidades. O uso farmacêutico de extratos, tinturas, pomadas e outros tipos de matérias-primas provenientes de plantas com algum efeito farmacológico é chamado de fitoterapia (BARBOSA *et al.*, 2017). Para ser considerado fitoterapia, não pode-se utilizar substâncias ativas isoladas, porém pode-se usar matérias primas (extratos, pós, tinturas) com alta concentração da substância de interesse.

No Brasil, a fitoterapia é proveniente da cultura indígena e dos conhecimentos trazidos pelos colonizadores, os quais foram incorporados nos saberes da população e são respeitados no dia-a-dia, sendo difundidos de geração em geração (DE SOUSA, 2015).

Ao se falar em biodiversidade de flora, o Brasil é um dos grandes centros do mundo. Existem uma grande quantidade de plantas medicinais, as quais são estudadas experimentalmente ou clinicamente. Essa enorme variedade, apresenta um grande potencial, com efeito anti-inflamatórios, cicatrizantes e no auxílio a outras fontes de tratamento (VEGGI, 2009).

Para fins medicinais, é possível, em sua maioria, utilizar todas as partes das plantas, como folhas, frutos, caule, raízes e sementes. Cada uma dessas partes é relacionada à uma função ou melhor método de utilização, sendo as folhas as mais empregadas, uma vez que podem ser usadas em forma de infusão, chás, além de possuir um método de conservação de mais fácil acesso (DE SOUSA, 2015).

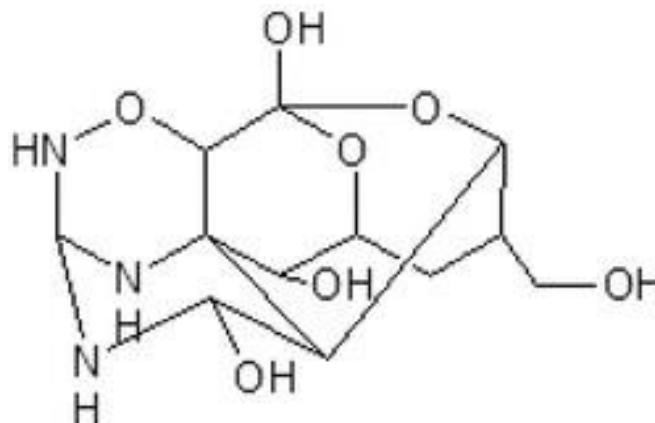
A atividade biológica de plantas está ligada aos grandes grupamentos de moléculas que as compõem. A maioria das plantas com algum efeito medicinal é rica em compostos fenólicos, os quais conferem grande capacidade antioxidante (KRISHNAIAH *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2007).

Como a maioria das plantas medicinais, a *Morinda citrifolia* tem alto poder antioxidante, sendo rica em flavonoides, antraquinonas, cumarinas, alcaloides e compostos fenólicos, o que confere capacidade antifúngica, antibactericida e diversos usos fitoterápicos (WANG; SU, 2001; YANG *et al.*, 2007). Os compostos bioativos presentes nas plantas, são produzidos, tipicamente como metabólitos secundários, onde estes, podem ser caracterizados e identificados (SCARAMUSSA; SANTANA, 2020).

O noni é amplamente usado na medicina polinésia e havaiana desde antiguidades, sendo usado como tratamento para diabetes, câncer, hipertensão e dislipidemia, também como anti-inflamatório, antiparasítico, antitumoral, cicatrizante, entre outros (BARBOSA *et al.*, 2017).

Estudos apontam que o *Tahitian Noni Juice*[®] é uma grande fonte de proxeronina, um composto que ajuda na prevenção do câncer. A proxeronina é a molécula que a célula usa para a síntese de xeronina, a qual, pode ser considerada como um alcaloide essencial para a vida (HEINICKE, 1985; SANNI *et al.*, 2017; WANG; SU, 2001). A xeronina (**Figura 3**) traz um efeito preventivo no processo inicial da carcinogênese química, prevenindo a formação do aduto carcinógeno-DNA (NASCIMENTO, 2012). Esse efeito acontece, pois, a xeronina atua diretamente no núcleo celular, aumentando a absorção de nutrientes pelas células, melhorando a capacidade dos órgãos do corpo humano, aumentando a energia física e mental (DE SOUSA, 2015).

Figura 3 - Estrutura da Xeronina



Fonte: Sanni *et al.* (2017)

Além da xeronina, a *Morinda citrifolia* possui uma antraquinona com efeitos de combate ao câncer. O damnacanthal é extraído com água subcrítica e também com outros solventes orgânicos (ANEKPANKUL *et al.*, 2007). O potencial antitumoral é devido a presença de atividade inibitória frente a diferentes tirosinas quinases em concentrações na ordem de nanomolar (BARBOSA *et al.*, 2017). Essas enzimas são responsáveis pela indução da apoptose celular, a qual é uma morte programada das células. O damnacanthal também é um metabólito capaz de conter a atividade antitumoral, além de ter potencial analgésico, usado para amenizar as dores (LEMES; AMAIS; MOURA, 2020).

Diversos compostos presentes no noni possui capacidade antimicrobiana, como as antraquinonas, as quais estão presentes nos frutos e nas raízes da planta. Esses compostos apresentaram uma ação significativa contra *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella spp* e muitos outros microrganismos. (MATHIVANAN *et al.*, 2005). O Noni pode ser usado para tratamento de doenças de pele, febre, resfriados e muito mais. Muitos trabalhos vem fazendo a identificação de compostos nas folhas e frutos da *Morinda citrifolia*, o que , futuramente, ajudará muito na explicação das propriedades desse fruto (SUNDER, JAI *et al.*, 2011).

Uma substância antimicrobiana é um composto químico que consegue inibir a reprodução e crescimento de microrganismos, podendo ser microbicida ou microbiostático. Os antimicrobianos microbicidas matam os microrganismos diretamente, enquanto os microbiostáticos apenas impedem o crescimento e reprodução dos microrganismos por determinado tempo (TORTORA; FUNKE; CASE, 2010)

Muitos estudos oferecem uma base para evidenciar esta propriedade nos frutos, a maioria dos trabalhos faz a busca desta propriedade em extratos do fruto obtidos por diferentes solventes, como etanol, água, acetona, clorofórmio, hexano, metanol, entre muitos outros.(BARBOSA *et al.*, 2017; MORORÓ *et al.*, 2017).

3.3 EXTRATOS VEGETAIS

Diversas plantas possuem propriedades funcionais, que foram descobertas nas antiguidades e foram precursores da medicina moderna (GONÇALVES, A. L.; FILHO; MENEZES, 2005). Desde os primórdios da humanidade é feito o uso de compostos naturais derivados de plantas, como fonte medicamentosa alternativa (PACHÚ, 2007).

Plantas como um todo apresentam uma variedade quase infinita de compostos químicos em suas folhas, raízes, caules e flores. Alguns desses compostos tem grande uso tecnológico, como propriedade antioxidante, antimicrobiana, antineoplásica, entre outras (SANTOS, P. L. *et al.*, 2013).

Essas substâncias de interesse podem ser extraídas, isoladas e separadas, por exemplo em extratos. Extrato é o produto de um processo de extração, onde os compostos de interesse na matéria-prima podem ser extraídos de diversas formas (VEGGI, 2009). Os extratos de plantas são comuns na indústria de cosméticos (perfumes), farmacêutica, como extratos secos e tinturas, os quais podem ser usados

em cápsulas e xaropes, e também na indústria alimentícia, usado como antioxidantes, aromatizantes e flavorizantes (MELO *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2018).

A extração é uma operação físico-química de transferência de massa, onde, em contato com solventes, pode-se extrair compostos voláteis e sólidos solúveis. As principais técnicas de extração, envolvem o uso de solventes, vapores e fluidos supercríticos (LIMA *et al.*, 2018). O processo de extração é diretamente influenciado por diversos fatores e condições na qual o mesmo é realizado. A importância de parâmetros como solvente, temperatura, pressão e agitação mecânica afetam diretamente a qualidade do extrato final obtido, assim como o rendimento do extrato (VEGGI, 2009).

Entre os métodos de extração mais empregados, destaca-se a extração sólido-líquido, o qual foi utilizado neste trabalho, ocorre por meio de transferências dos sólidos biológicos para um líquido adjacente. O princípio dessa operação dá-se pela passagem do solvente pelos capilares da matéria-prima, dessa maneira dissolvendo as substâncias, produzindo uma solução com alta concentração (VEGGI, 2009). Por conta do fenômeno de difusão, ocorre a mudança da concentração entre o solvente que envolve as partículas do material e o solvente da solução. Dessa maneira, ao término do processo de extração as partículas de matéria-prima ainda continuam retendo uma certa quantidade da solução, o que acarreta em um processo que nunca ocorrerá de forma completa (FONSECA, 2009).

O princípio para a extração sólido-líquido ocorre quando os compostos solúveis da matéria sólida são extraídos por um solvente líquido (MARQUES, 2005). Para um melhor rendimento na extração vários fatores devem ser levados em conta, como a matéria prima, que deve conter compostos capazes de serem solubilizados no solvente, a moagem da matéria prima também é um fator de impacto, uma vez que aumenta a superfície de contato entre o solvente e a matriz. Outro fator decisivo é a umidade do material, já que a água pode competir com o solvente pela dissolução dos sólidos, dessa maneira diminuindo a transferência de massa para a solução (VEGGI, 2009).

O solvente também deve ser estudado, com a finalidade de selecionar o mais adequado, ou seja, o solvente com maior afinidade aos compostos de interesse que serão extraídos, além de avaliar sua toxidez, para um caso de extrato com propósito alimentício, o custo do solvente, o ponto de ebulição para poder trabalhar em uma

temperatura adequada de extração e a volatilidade do mesmo, sendo mais fácil separar o extrato do solvente utilizado (VEGGI, 2009).

Entre os tipos mais comuns de extratos, estão presentes os óleos essenciais, os extratos secos e tinturas. Os óleos essenciais são classificados como grupamentos de óleos voláteis responsáveis por odores e fragrâncias características das plantas. Possuem uma grande mistura complexa de vários grupamentos e compostos químicos diferentes, como terpenoides, fenóis, cetonas e aldeídos (SANTOS, A. S. *et al.*, 2004). Os óleos essenciais são obtidos por meio do arraste de substâncias voláteis por solventes, na sua maioria, a matriz vegetal não entra em contato direta (submersa) com o solvente. O rendimento de óleos essenciais é muito inferior quando comparado a extratos comuns, uma vez que só os compostos voláteis são retirados, tendo um produto final bem mais puro e com valor agregado muito maior (FIGUEIREDO; PEDRO; BARROSO, 2014).

As tinturas são extratos líquidos concentrados preparados com álcool e plantas medicinais. Este tipo de preparação permite que as ervas e suas propriedades sejam armazenadas por um período maior e é uma forma de fácil manuseio (ALVES, M. M. *et al.*, 2011). Os extratos secos é um tipo de extrato sólido, em pó, que é obtido a partir da extração de princípios ativos de plantas. Geralmente o processo de obtenção de extratos secos é feito a partir da técnica de secagem por atomização (*Spray drying*) (MARQUES, 2005).

Em escalas industriais é comumente realizada a extração por fluido supercrítico, onde são utilizados solventes à altas pressões, geralmente gasosos, que após o período de extração se separam facilmente do extrato. O principal solvente nesta extração é o dióxido de carbono, onde sua pressão e temperatura crítica de 73,8bar e 31,2 °C, respectivamente, são de fácil acesso usando equipamentos adequados, além de não ser tóxico ou inflamável e se apresentar inerte. A extração ocorre em leito fixo com a matriz vegetal moída, entrando em contato com o solvente no estado de fluido supercrítico. Após o tempo de contato necessário ocorre a etapa de separação do solvente e extrato, por meio de despressurização, assim tornando o solvente no estado de gás novamente (VEGGI, 2009).

3.4 MICRORGANISMOS

Microrganismos são seres vivos, bastante pequenos que só podem ser vistos individualmente utilizando de equipamentos como o microscópio. A nomenclatura de microrganismos refere-se às bactérias, fungos e vírus (GONÇALVES, P. M. M., 2012). Muitas doenças que o ser humano é acometido, são provenientes de microrganismos. Os microrganismos estão presentes em quase tudo ao nosso redor, desde alimentos, como frutas, iogurtes e resquícios de matéria orgânica, como no lixo e nas fezes (TORTORA; FUNKE; CASE, 2010).

Microrganismos podem ser patogênicos, ou seja, capazes de produzir em seu hospedeiro doenças, ou podem chegar até possuir valor comercial, científico e/ou tecnológico. Dentre os microrganismos com interesse tecnológico pode-se usar como exemplo alguns *Lactobacilos*, os quais são usados na produção de laticínios, como iogurtes e leite fermentado e alguns destes lactobacilos apresentam função probiótica, sendo muito saudável para nossa flora intestinal (ALBUQUERQUE; BRAGA; GOMES, 2012). Também é possível citar a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, a qual é um microrganismo de interesse alimentício usado na produção de pães e bebidas fermentadas, como cervejas (GONÇALVES, P. M. M., 2012).

Já se tratando de microrganismos patogênicos, dentre eles se encontram diversos. A *Salmonella* é uma bactéria presente principalmente em ovos e carnes de galinha, pode causar Salmonelose, uma doença muito grave que causa diarreia, vomito e em quadros mais agravados, podendo levar a pessoa contaminada a morte (GONÇALVES, P. M. M., 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

No presente trabalho foram utilizadas bactérias gram negativas e positivas, e leveduras do gênero *Candida*, A *Escherichia coli*, bactéria gram-negativa, que faz parte naturalmente da microbiota intestinal, sendo uma das principais causadoras de infecção urinária e infecções intestinais (SOUZA, J. B.; DANIEL, 2005). A *Staphylococcus aureus*, é uma bactéria gram-positiva presente normalmente na mucosa e na pele dos seres humanos, porém pode acarretar até a morte em pacientes com o sistema imunológico comprometido, por meio de infecção generalizada (SINARA *et al.*, 2017). A bactéria gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, baciliforme e aeróbia, é uma bactéria de alto riscos para pacientes acometidos de fibrose cística, podendo rapidamente levá-los a óbito (REIS; DAMACENO, 1998). Bactérias do gênero *Salmonella* são em maioria patogênicas, são apresentadas em

formas de bacilos, a sorovariante Typhi, pode causar a febre tifoide (HOFER *et al.*, 1974). As leveduras usadas no trabalho foram *Candida tropicalis* e *Candida albicans*, microrganismos desse gênero são responsáveis pela maioria das infecções de origem fúngica em ambiente hospitalar (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003). *Candida albicans* pode causar graves infecções em pacientes que estão com o sistema imunológico comprometido por doenças, por cirurgias ou por terapia imunossupressiva (ROSSI *et al.*, 2011).

Os medicamentos utilizados para tratar doenças de origem bacterianas, são os antibióticos. A importância do uso correto dos medicamentos é incontestável, uma vez, que quando o tratamento não é realizado corretamente, a infecção pode apenas melhorar, e em casos piores, pode acabar deixando os microrganismos resistentes ao tratamento (PAIVA, C. *et al.*, 2014). De acordo com Martins *et al.* (2015) a resistência bacteriana, refere-se à capacidade das bactérias de se multiplicarem na presença de medicamentos antibióticos, em doses maiores do que as usuais ministradas em pacientes. Outro fator de grande importância é o descarte correto de medicamentos, uma vez que diversas pessoas, jogam no sanitário, contaminando as águas, ou até descartando no lixo, o que pode levar à um aterro sanitário, que pode contaminar o solo e lençóis freáticos (REGITANO; LEAL, 2010).

Estes são alguns fatores que podem ter levado ao surgimento de microrganismos resistentes aos tratamentos convencionais, dando origem as “*Superbactérias*”, bactérias que atraem estudos devido ao seu grande impacto na área medicinal (MARTINS *et al.*, 2015).

No Brasil, casos de “superbactérias” já foram notificados, sendo microrganismos multirresistentes aos antibióticos existentes. As infecções causadas por esses microrganismos, acarreta um tratamento prolongado aos pacientes, comprometendo o mesmo e aumentando o contágio e risco de morte (COSTA, B. S., 2019).

Entre esses microrganismos estão citados *Escherichia coli*, *Proteus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* (SOUZA, Y. DE; COSTA; SANTIAGO, 2016).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Os frutos foram coletados manualmente da árvore de *Morinda citrifolia*, no município de Mirandópolis - SP (coordenadas geográficas: 21°07'42.4"S e 51°05'47.6"W). Passaram por uma etapa de lavagem e higienização, onde foram colocados de molho por 15 minutos em solução de NaClO (100 ppm) e depois enxaguados com água corrente.

Os frutos foram mantidos sob refrigeração em caixa térmica com gelo rígido reutilizável e transportados até a cidade de Pato Branco, para armazenamento no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UTFPR/PB em refrigerador até a preparação das amostras e realização das análises.

4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

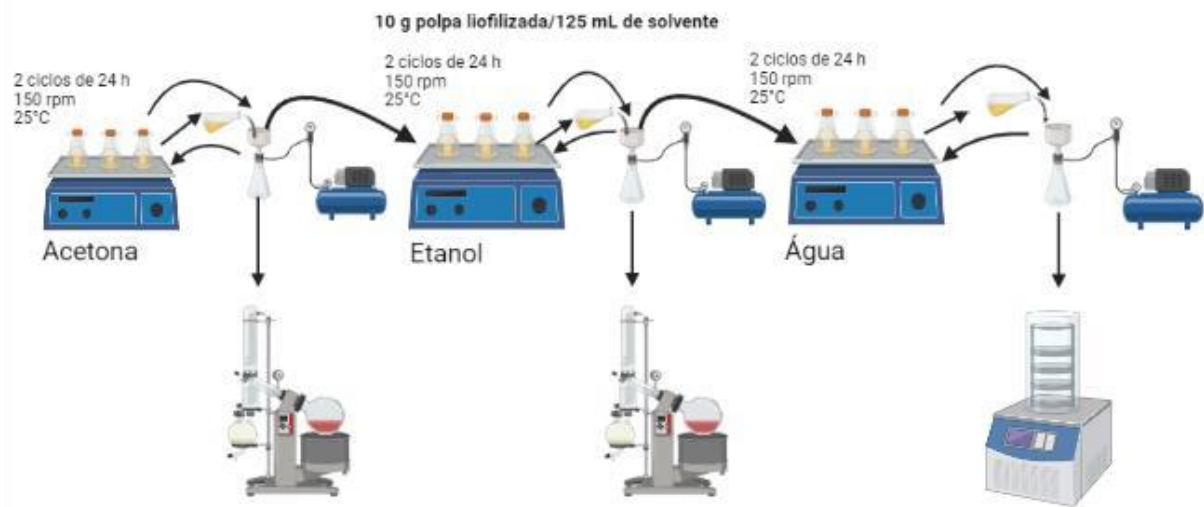
A polpa foi separada manualmente das sementes, usando colheres, facas e peneiras de uso doméstico, depois foi armazenada em sacos plásticos e congelada a -18 °C em freezer.

Uma parte da polpa foi destinada para caracterização e outra parte seguiu para ser desidratada em liofilizador (L101, LIOTOP). Após a retirada do equipamento, as amostras foram vedadas em embalagens e acondicionadas no freezer do laboratório, até seguirem para o processo de extração. A amostra liofilizada foi triturada em liquidificador industrial (AR 2 L, Colombo), até apresentar uma granulometria uniforme passando pela peneira doméstica, seguindo para a pesagem em triplicata de 10 g, e cada amostra foi colocada em Erlenmeyer de 250 mL.

A metodologia de extração seguiu a proposta de Favaretto et al. (2019) e Hernandez-Guerrero et al. (2020) com adaptações.

Foram adicionados 125 mL de solvente em cada Erlenmeyer. A extração ocorreu em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) em incubadora *shaker* (SL 222, SOLAB) à 150 rpm por 24 horas de acordo com **Figura 4**.

Figura 4 - Esquema do processo de extração



Fonte: Autoria própria (2021). Criado com Biorender (2021)

Após as 24 horas, as soluções foram filtradas para um kitassato com um funil de Büchner acoplado a uma bomba à vácuo (TE 0582, TECNAL). O resíduo sólido da filtragem foi recolocado no Erlenmeyer e procedimento repetido com a renovação do solvente.

Foram utilizados três solventes em gradiente de polaridade, sendo acetona, álcool etílico e água destilada. O procedimento foi iniciado com acetona, depois com etanol e por fim, água destilada. Sendo feita a renovação de cada solvente duas vezes.

As soluções filtradas de acetona e álcool, seguiram para o rotaevaporador, a temperatura de 45 °C (SUNDER, JAI *et al.*, 2011) até obter um volume pequeno e transferida para placas de Petri, cobertas com papel filme perfurado, para completa evaporação do solvente.

O solvente recuperado, coletado no balão de condensação do rotaevaporador (TE-211, Tecnal) foi armazenado em frascos para posterior uso em aulas práticas ou futuras extrações. Os extratos livres de solventes foram raspados, utilizando uma espátula e guardados em ampolas. O resíduo sólido da filtração foi guardado no congelador até o fim da fase experimental.

A solução resultante da extração com água foi submetida à liofilização. O extrato liofilizado foi transferido para ampola e levado juntamente as outras porções de extrato para o Centro Universitário de Pato Branco - UNIDEP para realização da atividade antimicrobiana.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA

Foram realizadas análises de caracterização na matéria-prima no Laboratório N008 - Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UTFPR/PB, na Central de Análises da UTFPR/PB e no LAQUA - Laboratório de Qualidade Agroindustrial da UTFPR/PB.

As análises foram: Umidade, Proteínas, Lipídeos, Acidez titulável, Valor Calórico, Sólidos Solúveis Totais, Carboidratos Totais, Resíduo Mineral Fixo e relação SST/ATT.

4.3.1 Umidade (Perda por dessecação)

Foram separados 3 cadinhos de porcelana limpos e submetidos a secagem em estufa à 105 °C. Em cada cadinho foram pesados cerca de 2 g da polpa. Os cadinhos seguiram para estufa à 105 °C por 4 horas, de acordo com a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz.

Após percorrido esse tempo, os cadinhos foram colocados no dessecador e pesados em balança analítica após atingirem temperatura ambiente. O procedimento foi repetido até a massa atingir peso constante.

4.3.2 Cinzas Totais (Resíduo Mineral Fixo)

A amostra seca foi colocada em cadinhos de porcelanas e em seguida, os cadinhos foram colocados em mufla à 550 °C até o resíduo perder a coloração preta e ficar cinza-esbranquiçado. Os cadinhos foram retirados da mufla e colocados em dessecador contendo sílica, até atingirem temperatura ambiente. Após estarem frios, as massas dos cadinhos contendo as cinzas foram aferidas em balanças analíticas, com o auxílio de pinça tenaz. As massas foram anotadas para cálculos posteriores.

4.3.3 Acidez Total Titulável

Foram pesados em balança analítica, cerca de 0,3 g da polpa liofilizada em Erlenmeyer de 250 mL. Foi adicionado com o auxílio de uma proveta, 100 mL de água destilada no Erlenmeyer, juntamente com 4 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína

0,1%. A solução foi titulada com NaOH 0,01 mol. L⁻¹ padronizado previamente com biftalato de potássio, até o aparecimento de uma coloração rósea. O procedimento foi realizado em triplicata e em branco. Os valores gastos, expressos em mL foram anotados para realizar os cálculos.

Para a análise de acidez, foi utilizado o método de determinação de acidez total titulável por volumetria com indicador, onde foi utilizado NaOH 0,01 M pré padronizado com biftalato de potássio. As análises foram feitas com amostras liofilizadas e o resultado dá-se em base seca e em equivalentes à grama de ácido cítrico, de acordo com metodologia descrita por Instituto Adolfo Lutz (2008) com adaptações.

Os cálculos da acidez total titulável (ATT) foram feitos de acordo com o descrito pela **Equação 1**:

$$ATT_{\left(\frac{g}{100g}\right)} = \frac{(Vg - Vb) \times M \times f \times Eq}{10 \times p} \quad (1)$$

Onde:

Vg = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL;

Vb = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação da amostra em branco em mL;

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio em mol/L;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio;

Eq = equivalente-grama do ácido;

p = massa da amostra em g.

4.3.4 Proteínas (Método de Kjeldahl modificado)

Foram pesados 0,2 g da polpa congelada, com 0,7 g da mistura catalítica e colocados em um tubo de digestão, juntamente com pérolas de ebulição, 2 mL de ácido sulfúrico P.A. e 1 mL de peróxido de hidrogênio. Foram levados para aquecimento em bloco digestor até temperatura de 360 °C por cerca de 4 horas, até a solução se tornar transparente com coloração azul-esverdeada, identificando que a digestão foi completa. O tubo, depois de frio, foi acoplado ao destilador de nitrogênio e na extremidade do equipamento, foi disposto um Erlenmeyer contendo 10 mL solução de ácido bórico 0,033 mol. L⁻¹ e indicador misto. Foi adicionado na amostra digerida cerca de 20 mL de NaOH 40% lentamente e foi destilado até um volume de cerca de 60 mL no Erlenmeyer.

A solução contida no Erlenmeyer foi titulada com H₂SO₄ 0,05 mol. L⁻¹ até a mudança de coloração. Os valores da titulação foram anotados para realizar os cálculos. O procedimento foi realizado em triplicata e em branco.

4.3.5 Lipídios (Extração em Goldfish)

Foi pesado cerca de 2 g de amostra no tubo de Goldfish. O tubo contendo a amostra foi transferido para o extrator. Acoplou-se o extrator ao tubo previamente tarado a 105 °C. Adicionou-se éter de petróleo ao conjunto e foi ligado ao refrigerador de bolas. A amostra foi mantida sobre aquecimento em chapa elétrica, em extração contínua por 8 horas. Ao final da extração, retirou-se o tubo e destilou-se o solvente, e o tubo com os resíduos foi transferido para a estufa por 1 hora à 105 °C. O tubo foi esfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado em balança analítica. Os valores foram anotados para os resultados. O procedimento ocorreu em triplicata.

4.3.6 Sólidos solúveis totais por refratometria

A análise deu-se a partir da estimativa da medida do índice de refração. A leitura deu-se em refratômetro manual, pingando cerca de 3 a 4 gotas, do caldo da polpa sobre o prisma do equipamento, e olhando sobre o mesmo contra uma fonte

luminosa. O resultado foi descrito em graus Brix e a leitura foi realizada à 20 °C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.3.7 Carboidratos Totais por diferença

O teor de carboidratos totais (%CT) foi calculado pela diferença entre 100% e somas das porcentagens de água, lipídios, proteínas e cinzas totais, conforme a **Equação 2**:

$$\%CT = 100 - (U + Ct + P + L) \quad (2)$$

Onde:

U = umidade (%)

Ct = cinzas totais (%)

P = proteínas (%)

L = lipídios (%)

4.3.8 Valor calórico

A determinação do valor calórico (VC) foi realizada, a partir dos teores em grama (g), de carboidratos totais (CT), proteínas (P) e lipídios (L) das amostras. Foi levado em consideração os fatores de conversão 4, 9 e 4 Kcal.g⁻¹ para carboidratos, lipídios e proteínas respectivamente, de acordo com a **Equação 3** (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003).

$$VC = 4CT + 4P + 9L \quad (3)$$

4.3.9 Relação Sólidos Solúveis Totais/ Acidez Total Titulável

Para o cálculo da relação SST/ATT, foi dividido o valor encontrado no teste de refratometria pelo valor oriundo da análise de acidez.

4.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A análise microbiológica foi conduzida no Centro Universitário de Pato Branco – UNIDEP, no Laboratório de Microbiologia. Foi utilizado o método de disco difusão e concentração mínima inibitória (MIC), como descrito por National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2012; CLSI, 2003)

4.4.1 Disco difusão

Foram iniciadas as análises preparando os materiais para serem esterilizados em autoclave. Preparou-se Erlenmeyers contendo 250 mL de ágar e caldo Mueller Hinton (MH), tubos de ensaio vazios, tubos de ensaio com solução de água peptonada 0,1%, grade para tubos de ensaio, alças de platina, bicos de micropipetador de 10 µL e 100 µL, Erlenmeyer contendo água destilada, béquer, discos de papel filtro qualitativo, pinças.

As bancadas foram todas higienizadas com álcool 70% e foi ligado o bico de Bunsen para poder trabalhar na zona estéril.

Após os materiais serem autoclavados, o meio de cultura (ágar Mueller Hinton) foi disposto sobre as placas de Petri.

Depois de o meio esfriar e solidificar, as placas foram embaladas com plástico filme e foram acondicionadas em estufa bacteriológica por 24 horas à 37 °C. Depois

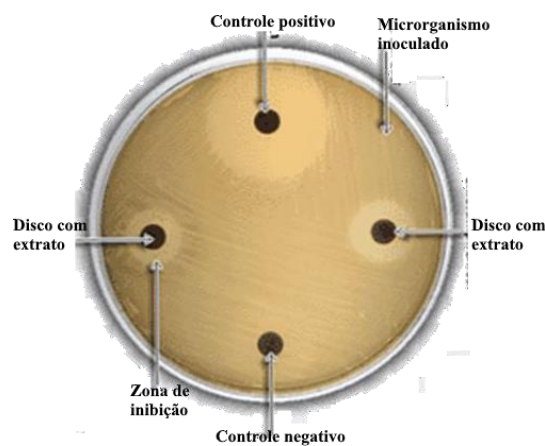
de 24 horas, as placas foram observadas para certificar de que não havia nenhum tipo de contaminação.

Foram preparadas as diluições dos microrganismos, utilizando como referência a escala de 0,5 McFarland ($\cong 1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹), utilizando alças de platina nas placas contendo os microrganismos e tubos de ensaio previamente esterilizados contendo água peptonada 0,1%.

Os microrganismos usados foram: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica typhimurium* (ATCC 700720), *Candida albicans* (ATCC 10261) e *Candida tropicalis* (ATCC 14246).

As placas foram dispostas na zona estéril, perto do bico de Bunsen, e foram inoculadas com os 100 μ L da suspensão celular previamente padronizada e foram dispostos os discos de papel esterilizados, conforme **Figura 5**.

Figura 5 - Esquema representativo do ensaio de difusão em disco.



Fonte: Autoria própria (2021)

Foram colocados 10 μ L de controle positivo em cada disco (para bactérias, o antibiótico Tetraciclina e para fungos Fluconazol, ambos em concentração de 1 g.L⁻¹), 10 μ L de controle negativo (água peptonada 0,1%) e 10 μ L do extrato em cada disco, seguindo o esquema representado na **Figura 5**.

Logo após foi colocado o controle positivo para inibição (para bactérias, o antibiótico Tetraciclina e para fungos Fluconazol, 10 μL de solução, ambas em concentração de 1 g.L^{-1}), controle negativo (água peptonada 0,1%) e o extrato em duplicata.

Os extratos tiveram que ser diluídos, por conta de sua alta viscosidade, o que impedia que pudessem ser pipetados.

As diluições foram: Extrato acetona \rightarrow 1:1; Extrato etanol \rightarrow 1:1; Extrato aquoso \rightarrow 1:13.

Os extratos foram diluídos, assumindo uma razão massa de extrato/volume de água. Dessa maneira sendo pesados em balança analítica a quantidade correspondente e completando com o mesmo volume correspondente de água.

A análise foi realizada em triplicata, e as placas foram dispostas em estufa bacteriológica por 24 horas à 37 °C. Em cada placa haviam 2 discos de papel que continham extrato. Foram feitas 3 placas para cada amostra de extrato para as bactérias e para os fungos (*Candida albicans* e *Candida tropicalis*) foram realizadas apenas 2 placas para cada extrato.

Após esperado o tempo de crescimento das bactérias, os halos de inibição foram medidos com o auxílio de uma régua e os valores anotados em milímetros.

4.4.2 Concentração Mínima Inibitória

A análise de concentração mínima inibitória, do inglês, *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*, é a análise que serve para conhecer se o material de estudo tem potencial de matar os microrganismos (microbicida) ou apenas de inibir seu crescimento (microbiostático) e em quais concentrações isso ocorre.

A análise consiste em colocar em uma placa ELISA de 96 poços, um meio nutriente (Caldo Mueller Hinton) para que o microrganismo tenha a capacidade de crescer e se reproduzir, diferentes diluições do material com potencial antimicrobiano estudado, para ser analisado o limite de concentração que o material ainda surte efeito frente aos microrganismos e uma solução da cultura microbiana prestes a ser estudada (OSTROSKY *et al.*, 2008).

Essa análise é desenvolvida a partir de diluições seriadas da amostra, testando frente à microrganismos de interesse. É definida como sendo a menor concentração necessária para inibir completamente o crescimento microbiano após incubação (ALVES, E. G. *et al.*, 2008).

Para os extratos que apresentaram alguma inibição no teste de disco difusão, foi realizado o método da concentração inibitória mínima.

Em tubos de ensaio contendo, solução de água peptonada 0,1%, foram incorporados os microrganismos de interesse, sob agitação, até a verificação da turbidez da solução microbiana estar igual à solução padrão da escala 0,5 McFarland.

Para o teste de microdiluição, foram utilizadas placas Elisa, contendo 96 poços, dispostos em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Todos os poços, com exceção da coluna 4 e 8, receberam 100 µL de caldo Mueller Hinton. As linhas G e H, receberam o controle negativo (água peptonada 0,1%) e controle positivo (tetraciclina para bactérias e terbinafina para fungos).

Foram utilizados 3 poços para cada amostra em um total de duas placas, deixando as linhas fixas, mudando apenas o conteúdo de cada coluna como demonstrado na **Figura 6**.

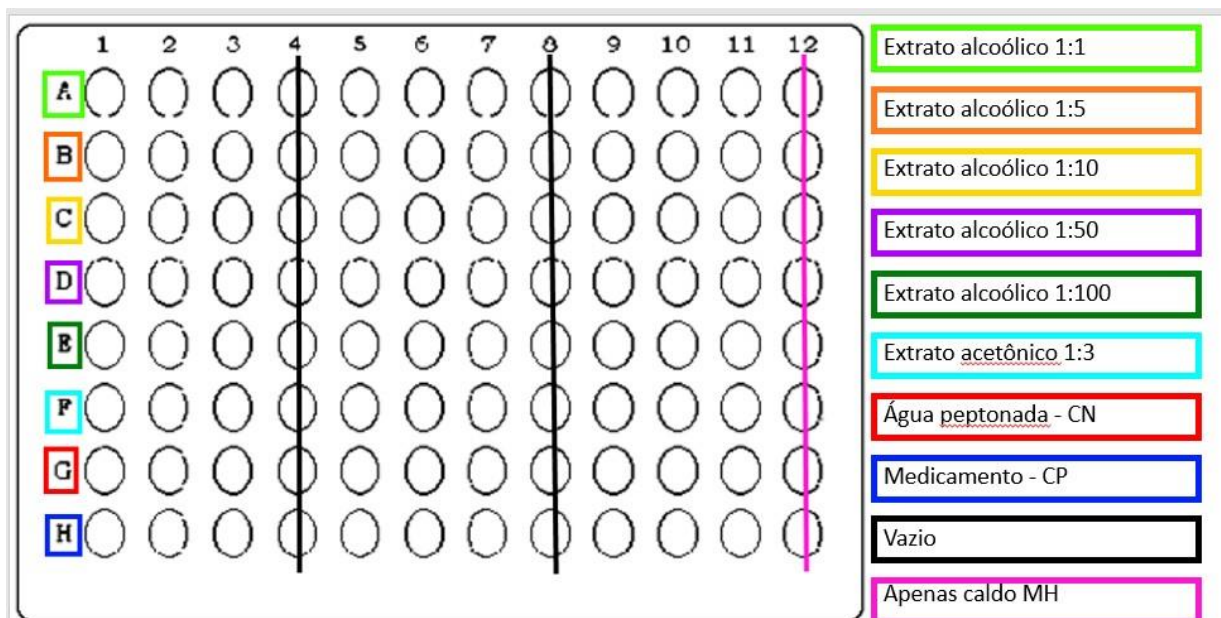


Figura 6 - Esquema da placa de microtitulação para ensaio de MIC

Na placa um, nas colunas 1, 2 e 3, foram utilizados a bactéria *Salmonella enterica typhimurium*. Coluna 5, 6 e 7 *Staphylococcus aureus*; e coluna 9, 10 e 11 *Pseudomonas aeruginosa*. Na placa dois, nas colunas 1, 2 e 3 *Escherichia coli*; colunas 5, 6 e 7 *Candida albicans*; e nas colunas 9, 10 e 11 *Candida tropicalis*. As linhas foram usadas de A a E para as diluições do extrato alcoólico, sendo: 1:1, 1:5, 1:10, 1:50 e 1:100, respectivamente. Na linha F foi usado o extrato em acetona na diluição de 1:3, de acordo com a **Figura 6**. Devido a quantidade de extrato acetônico disponível, não foram feitas mais diluições. A coluna 12 não recebeu extrato nem microrganismo, sendo utilizada como controle de esterilidade da placa. As colunas 4 e 8 não receberam caldo, nem extrato para facilitar a visualização e também evitar contaminação.

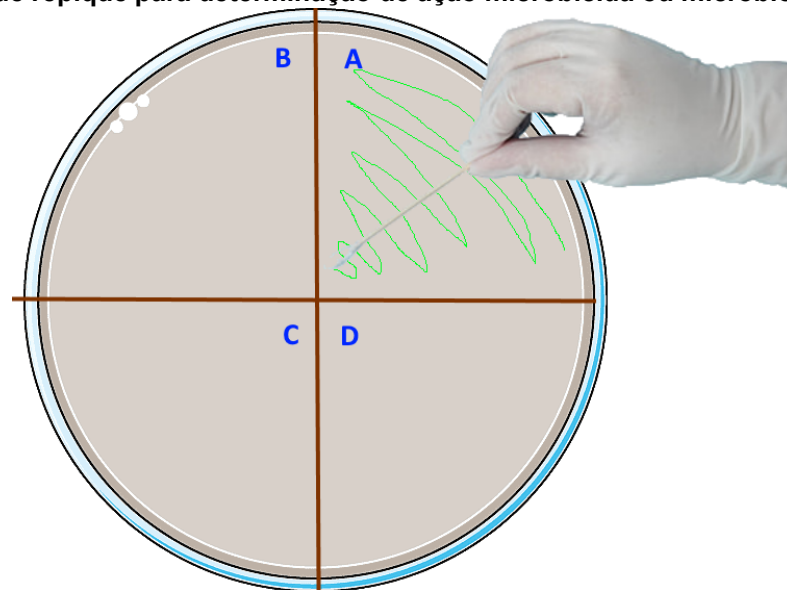
Depois de esquematizado como seriam feitas as diluições, foram pipetados 5 µL de cada microrganismo em cada poço marcado, e 100 µL de cada diluição de extrato.

As placas foram embaladas com papel filme e levadas para estufa bacteriológica por 24 horas à 37 °C.

Após corrido o período de incubação, as amostras foram tingidas com resazorina (1 g.L⁻¹), usando 20 µL em cada poço, e aguardado cerca de 2 horas em repouso, para verificar a coloração.

Após esse período, foram preparadas placas de Petri com ágar Mueller Hinton. Foram coletadas uma coluna inteira de cada microrganismo, sendo, uma placadividida para 4 linhas, na primeira placa de A à D, e na segunda de E à H, como representado na **Figura 7**, o qual foi replicado por esgotamento com *swab* descartável.

Figura 7 - Esquema de repique para determinação de ação microbicida ou microbiostática.



Fonte: Autoria própria (2021)

As placas foram dispostas em estufa bacteriológica por 24 horas à 37 °C e depois foi lido o resultado, de acordo com a coloração e a placa para avaliar efeito microbicida ou microbiostático para o extrato.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 MÉTODO DE EXTRAÇÃO:

A extração ocorreu de forma contínua, sendo o mesmo material de partida, a polpa liofilizada, foi submetida à extração com acetona, depois álcool, e subsequentemente água.

Essa ordem dos solventes foi escolhida por conta da polaridade dos mesmos. Todos os solventes utilizados eram polares, sendo a acetona a de polaridade mais baixa, por conta de não apresentar ligações de hidrogênio, apenas forças intermoleculares do tipo dipolo-dipolo. Já o álcool tem polaridade maior, uma vez que apresenta ligações de hidrogênio. A água também apresenta ligações de hidrogênio, porém sua polaridade é maior que a do álcool devido à sua estrutura não apresentar uma parte apolar, como acontece nos carbonos presentes na estrutura do etanol (ATKINS; JONES, 2001).

É possível que devido a todos os solventes serem polares, ao final do processo de extração, muitas das substâncias com potencial antimicrobiana de caráter polar que haviam na amostra, já tivessem sido solubilizadas pelos solventes anteriores. Porém, as extrações sucessivas também ajudam a separar melhor os compostos presentes em uma amostra, uma vez que amostra possui inúmeros componentes químicos de polaridades variadas, sendo muito provável que várias substâncias diferentes saiam em cada porção do processo extrativo.

Um fator com grande influência na eficácia da extração é o tempo de extração, tamanho da amostra e o ponto de saturação dos solventes (PRINS; LEMOS; FREITAS, 2006).

A amostra depois de submetida ao solvente, ficou cerca de 24 horas em contato com o mesmo, além de permanecer em agitação constante em um *shaker*, o que aumenta a superfície de contato da amostra com o solvente. A amostra passou por um processo de trituração que foi desenvolvido usando um Liquidificador industrial e depois passou por uma tamisação manual com peneira. Assim, separando a amostra por tamanho de partícula, o que também aumenta a superfície efetiva de contato.

Cada amostra passou duas vezes por cada solvente para evitar que ocorresse a saturação do solvente, desta maneira, os compostos de interesse que estivessem em maior quantidade, pudessem ser extraídos na primeira “lavagem” e o resto dos compostos que tivessem afinidade com os solventes, pudessem ser retirados em uma segunda etapa.

Durante o processo de extração, a solução da polpa com água, obteve um aspecto viscoso, quase como uma gelatina (**Figura 8**). Essa alta viscosidade da solução dificultou a filtração, mesmo sendo submetida ao processo de filtração à vácuo. De acordo com os estudos de Barros (2009), a polpa de noni possui cerca de 4,75 g de pectina a cada 100 g de polpa, isso pode acarretar nesse aumento de viscosidade, uma vez que, a pectina também é utilizada para adquirir firmeza em doces e geleias, além de possuir papel como hidrocoloide na dispersão e estabilização de emulsões. Além desse fator, como a fração aquosa do extrato foi realizada após a polpa entrar em contato direto com etanol, é possível que grande parte dessa pectina tenha sido precipitada, assim, depois que a água foi adicionada, e permaneceu em agitação por 24 horas, acabou acontecendo o processo de gelificação (PAIVA, E. P.; LIMA; PAIXÃO, 2009).

Por conta desta dificuldade na filtração foi necessário, filtrar aos poucos a soluções, o que demorou um tempo muito maior em comparação às extrações com acetona e álcool, mesmo considerando o baixo volume de amostra (cerca de 150 mL), além disso, foi necessário auxiliar o processo “raspando” o papel filtro com bastões de vidro.

Figura 8- Consistência gelatinosa da solução de extração aquosa.

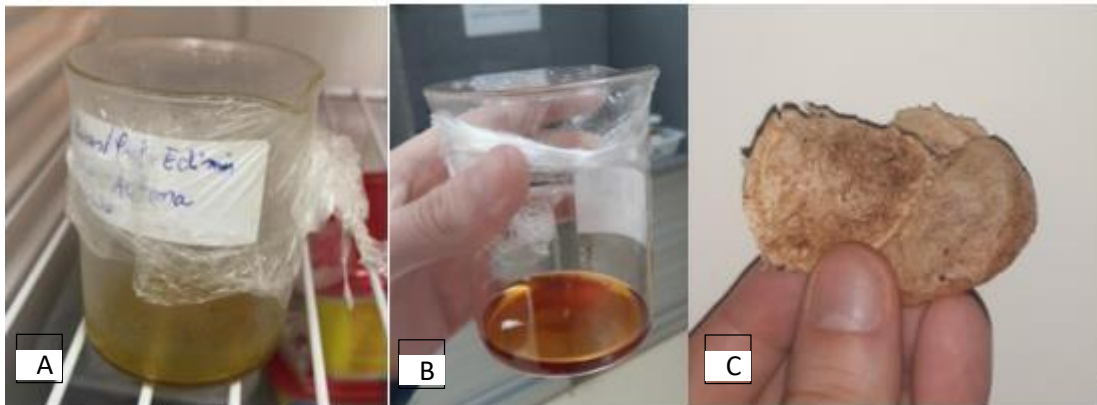


Fonte: Autoria própria (2021)

As frações acetônicas e etanólicas do extrato apresentaram-se como um líquido viscoso, como mel. Já a fração aquosa do extrato apresentou-se como um líquido viscoso, como um suco grosso, parecido com de manga, porém depois do processo de secagem por liofilização, atingiu a forma de um sólido poroso de densidade baixa, como uma esponja.

Os extratos podiam ser diferenciados também por sua coloração (**Figura 9**). A fração de acetona do extrato, apresentou coloração amarela-brilhante, já a fração etanólica, apresentou uma cor alaranjada. O extrato aquoso se tornou um bege, que manteve sua cor também depois de seco e reidratado.

Figura 9 - Extrato de acetona (A), extrato de álcool (B) e extrato de água depois do processo de secagem do solvente (C).



Fonte: Autoria própria (2021)

As quantidades de extratos foram bem diferentes para cada porção. O extrato de acetona gerou no total, depois das 2 vezes que foi submetido ao contato com o solvente, cerca de 5 mL de amostra. Já a fração do etanol gerou mais de 15 mL. O extrato aquoso depois de seco, obteve-se mais de 7 g do mesmo.

5.2 CARACTERIZAÇÃO:

Foi realizada a caracterização da matéria-prima antes de submeter a mesma ao processo de secagem seguinte do processo de extração.

Foram realizadas análises físico-químicas de caracterização, seguindo os procedimentos pré-estabelecidos pelo Instituto Adolf Lutz.

As análises foram Umidade, Cinzas Totais, Proteínas, Lipídios, Carboidratos por diferença, Acidez total titulável e sólidos solúveis totais e a Relação SST/ATT.

Os resultados da caracterização estão condensados na **Tabela 1**:

Tabela 1 - Resultados análises de caracterização da polpa

Análise	Valores
Umidade (%)	86,07 ± 0,25
Cinzas totais (%)	0,64 ± 0,03
Proteínas (%)	0,7863 ± 0,58
Lipídios (%)	0,8809 ± 0,06
Carboidratos totais (%)	11,39 ± 0,18
Acidez total titulável (g/100 g)	0,614 0 ± 0,006
Relação SST/ATT	21,17
Sólidos solúveis totais (°Brix)	13,0 ± 0,2
Valor calórico (kcal/ 100 g)	56,63 ± 0,34

Fonte: Aatoria própria (2021)

5.2.1 Umidade e Cinzas Totais

As análises de umidade e cinzas totais foram feitas sucessivamente. De acordo com a **Tabela 2** podemos observar os valores de massa das análises.

Tabela 2 - Resultados análises de Umidade e Cinzas Totais

M_c (g)	M_a (g)	M_{c+a} 105 °C (g)	M_{c+a} 550 °C (g)	% Água	% Cinzas
42,1878	2,2721	42,4841	42,2017	86,959	0,611
39,0834	2,2579	39,3813	39,0977	86,806	0,632
42,4982	2,4798	42,8366	42,5154	86,354	0,694

Fonte: Aatoria própria (2021)

Onde: M_c = massa do cadinho limpo e tarado

M_a = massa da amostra

M_{c+a} 105 °C = massa do conjunto após tempo na estufa à 105 °C

M_{c+a} 550 °C = massa do conjunto após tempo na mufla à 550 °C

A partir dos valores obtidos foi possível calcular o valor médio e desvio padrão de cada parâmetro. A análise retornou valores de: Umidade = $86,07 \pm 0,25$ e Cinzas totais = $0,64 \pm 0,03$. Os valores obtidos de cinzas e umidade são condizentes com os da literatura estudada (BARROS, 2009; CORREIA *et al.*, 2012).

5.2.2 Proteínas

Para a análise de quantificação de proteínas foi utilizado o método de Kjeldahl modificado. Este método leva em consideração para a quantificação de proteínas todo o nitrogênio presente na amostra.

Foi utilizado o fator de conversão 6,25 de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008), fator usado para outros alimentos não mencionados na tabela.

Os resultados para a análise de proteínas estão dispostos na **Tabela 3**:

Tabela 3 - Resultados análises de proteína

Amostra	M amostra (g)	V titulação (mL)	% Proteínas
A	0,4896	1,00	1,519
B	0,5108	0,20	0,085
C	0,4056	0,50	0,755
Branco	0	0,15	0

Fonte: Autoria própria (2021)

O valor médio de proteínas foi de 0,7863% valor próximos são encontrados em estudos de Bezerra (2017), a qual encontrou 0,55 g de proteína bruta a cada 100 g de polpa. Essa proteína é devida a presença de aminoácidos, como glutamina, isoleucina e ácido aspártico (PALIOTO *et al.*, 2015).

5.2.3 Acidez Total Titulável

Os cálculos da acidez total titulável (ATT) foram feitos de acordo com o descrito pela **Equação 1**:

Foi utilizado o ácido cítrico como ácido equivalente (CORREIA *et al.*, 2012), usando o valor de 64,02 como equivalente-grama.

Os valores da titulação estão dispostos na **Tabela 4**:

Tabela 4 - Resultados análises de acidez total titulável

AMOSTRA	Massa (g)	Vg (mL)	ATT (g/100g)
A	0,3380	22,6	4,455
B	0,3631	24,0	4,418
C	0,3611	23,5	4,345
BRANCO	0	1,2 (Vb)	0

Fonte: Autoria própria (2021)

Os resultados da tabela estão dispostos em base seca. Realizando a conversão dos valores de ATT base úmida, obtemos a média de 0,614 g/100 g de polpa.

Esses valores estão próximos dos descritos em trabalhos de Correia *et al.* (2012), Bezerra (2017) e Nascimento (2012), sendo 0,63, 0,75 e 0,54 respectivamente.

5.2.4 Lipídios.

Os resultados foram expressos em base seca e convertidos para base úmida, de acordo com a **Tabela 5**:

Tabela 5 - Resultados análises lipídios

Amostra	Base seca (g/ 100 g de polpa)	Média (%)	Base úmida (g/ 100 g de polpa)	Média (%)
A	6,5030		0,9058	
B	6,7390	6,3239	0,9387	0,8809
C	5,7297		0,7981	

Fonte: Autoria própria (2021)

Os valores de lipídios encontrados na literatura variam muito da parte da planta estudada, como sementes, polpa e casca, além de sofrer variação também com o local de origem do fruto (NASCIMENTO, 2012). Os valores encontrados em

trabalhos com polpa de noni variam de 0,1 a 0,3% (PALIOTO *et al.*, 2015), podendo encontrar valores maiores (2,4%) e menores (0,08%) do que os descritos (CORREIA *et al.*, 2012). No trabalho de Costa *et al.* (2013) foram alcançados valores de 0,37% de teor de lipídios, sendo um dos mais próximos encontrados na literatura.

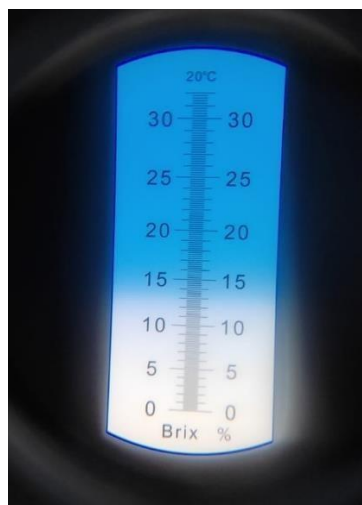
De acordo com estudos feitos por Costa *et al.* (2013) a casca e as sementes da fruta têm maiores teores lipídicos quando comparados com a polpa sozinha. O método de despulpamento foi feito com a fruta no estágio mais alto de maturação, onde a casca se torna quase impossível de separar da polpa, dessa maneira, a polpa utilizada na pesquisa, também continha partes da casca do fruto, assim, esse fator podendo aumentar o teor de lipídios presentes na amostra (RIBEIRO *et al.*, 2018). Outro fator que pode acarretar no aumento da porção lipídica extraída, é o método de secagem empregado, uma vez, que a polpa liofilizada acaba ficando em pó, fazendo com que a percolação do solvente na amostra fosse mais eficaz (BEZERRA, 2017).

5.2.5 Sólidos Solúveis Totais

As análises foram feitas realizadas em triplicata, espremendo o suco da polpa diretamente no prisma do refratômetro (RM T32, LORBEN) e lendo o resultado pelo visor, virando para uma fonte luminosa.

Os valores deram bem próximos uns dos outros, dando cerca de 13 °Brix as três repetições.

Figura 10 - Resultado de sólidos solúveis totais



Fonte: Autoria própria (2021)

Pela pesquisa de Nascimento (2012), foram encontrados teores de torno de 9 °Brix, valores próximos ao reportado pelo presente trabalho. O teor de sólidos solúveis é utilizado como uma medida indireta do teor de açúcares, porém não representa com exatidão esse valor, uma vez que a amostra pode conter outras substâncias dissolvidas, como Vitamina C, pectina e polifenóis, (CORREIA *et al.*, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2018; SCARAMUSSA; SANTANA, 2020).

5.2.6 Carboidratos Totais

Os carboidratos foram calculados por diferença, obtendo valores de 11,39 g de carboidratos totais a cada 100 g de polpa. Valores coincidem com os estudos de Bezerra (2017) que encontrou 11,82% de teor de carboidratos totais, o qual também não realizou análises de fibra alimentar, assim, sendo contabilizado no teor de carboidratos, um valor não muito preciso.

5.2.7 Valor calórico

O Valor calórico total foi calculado a partir da **Equação 3**, obtendo valores de 56,63 kcal a cada 100 g de polpa, esse valor é próximo do encontrado por Costa, A. B. *et al.* (2013) o qual encontrou valores 45,77 e 52,40 kcal/100 g para a polpa e casca, respectivamente.

5.2.8 Relação Sólidos Solúveis Totais/ Acidez Total Titulável (SST/ATT)

Pode ser considerado um índice representativo, onde quanto maior o valor encontrado, melhor o sabor da maioria dos frutos, devido a relação do equilíbrio entre os açúcares e ácidos presentes (SOARES, 2018). Foi encontrado o valor de 21,17, esse valor contribui para sua aceitação sensorial quanto ao sabor, onde está relacionada diretamente com o estágio de maturação do fruto.

5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA:

5.3.1 Disco-difusão:

A atividade antimicrobiana pode ser detectada pela observação da resposta de inibição de crescimento de microrganismos colocados em contato com extratos de tecidos vegetais. Foram realizadas análises da capacidade antimicrobiana de extratos de *Morinda citrifolia* frente à bactérias gram-negativas e positiva e leveduras do gênero *Candida*. Após o tempo de incubação de 24 horas, foram medidos os halos presentes nas placas de Petri com régua. As imagens do teste de disco difusão, encontram-se no **Apêndice A**.

Os resultados para o teste de disco de difusão para os microrganismos testados estão apresentados na **Tabela 6**.

Tabela 6 - Resultados testes de difusão em ágar

MICROGANISMOS	A ₁	B ₁	A ₂	B ₂	A ₃	B ₃
	EXTRATO ACETÔNICO					
<i>P. aeruginosa</i>	12	8	10	11	12	11
<i>E. coli</i>	9	11	10	9	9	-
<i>S. enterica</i>	9	9	15	11	9	10
<i>S. aureus</i>	8	11	11	11	12	14
<i>C. albicans</i>	8	7	0	0	-	-
<i>C. tropicalis</i>	11	0	10	0	-	-
	EXTRATO ETANÓLICO					
<i>P. aeruginosa</i>	13	16	14	15	8	9
<i>E. coli</i>	19	20	9	7	7	9
<i>S. enterica</i>	11	10	22	17	10	11
<i>S. aureus</i>	9	11	10	13	9	0
<i>C. albicans</i>	9	8	14	7	-	-
<i>C. tropicalis</i>	8	0	0	0	-	-
	EXTRATO AQUOSO					
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0
<i>S. enterica</i>	0	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	0	0	0	0	-	-
<i>C. tropicalis</i>	0	0	0	0	-	-

Fonte: Aatoria própria (2021)

Sendo: A₁= Disco A da placa 1;

B₁= Disco B da placa 1;

11 (vermelho) = 11 milímetros de inibição parcial.

- = teste não realizado

As amostras do extrato aquoso testadas não apresentaram nenhum efeito de inibição aos microrganismos. Estes resultados discordam dos resultados obtidos por Kumarasamy *et al.* (2014), onde encontrou atividade inibitória frente a *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mitis*, porém o extrato aquoso do estudo foi o único extrato realizado no referido trabalho, além do método de extração utilizado, que foi diferente. O trabalho de Barani *et al.* (2014) evidenciou que o extrato aquoso obteve ação inibitória in vitro frente a cepas de *Candida albicans*, entretanto, o método de extração empregado, foi a secagem da mistura de polpa com água por liofilização, e a diluição deste.

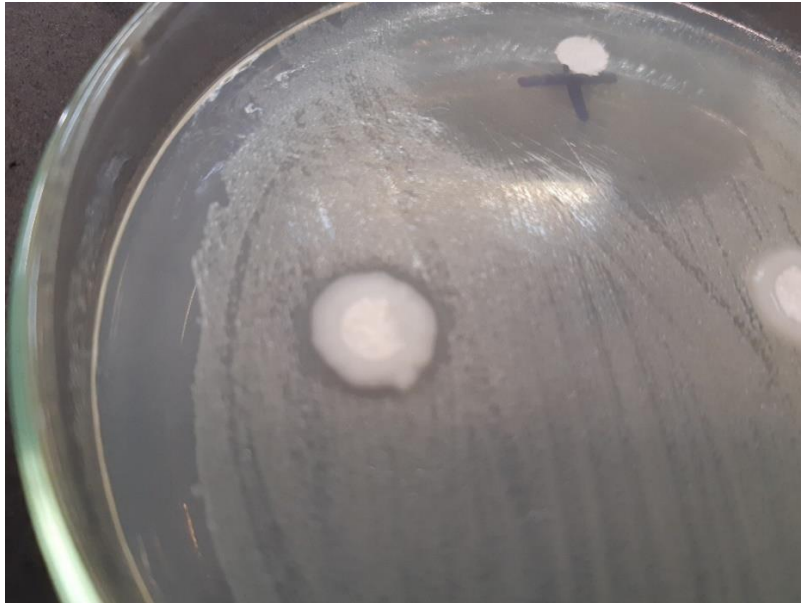
Para o extrato aquoso liofilizado foi necessário diluir 1 g de extrato seco em 13 mL de água destilada para realizar o teste de disco-difusão, já nos extratos de álcool e acetona foi utilizado 1 mL. Devido a esse fator diluição ser grande, em comparação aos outros extratos pode ter ocorrido também o a passagem do ponto de limiar de concentração de compostos com atividade antimicrobiana, dessa maneira, trazendo um possível resultado falso-negativo de inibição para o teste com extrato aquoso.

Os fungos utilizados se mostraram resistentes ao medicamento fluconazol. Desta maneira não tendo um halo de inibição no controle positivo nas amostras testadas com esse medicamento.

O extrato alcoólico não demonstrou resultado frente a cepa utilizada de *Candida tropicalis*, onde apenas um disco teve uma inibição parcial de 8 mm. Todos os outros microrganismos apresentaram inibição positiva no teste. A cepa de *S. aureus* utilizada, foi a que se demonstrou mais resistente ao extrato usado, apresentando uma média de 8,6 mm de diâmetro. A cepa mais sensível ao extrato alcoólico foi a de *Salmonella enterica* que obteve uma inibição média de 13,5 mm de diâmetro.

O extrato aquoso nas amostras de *Candida tropicalis* surtiram um efeito de “enriquecimento”, quase como nutrindo os microrganismos, dessa maneira, eles crescendo de maneira diferente perto de onde havia extrato, como mostrado na **Figura 11**.

Figura 11 - Efeito nutritivo do extrato aquoso frente a cepa de *Candida tropicalis*.



Fonte: Autoria própria (2021)

A inibição parcial pode ocorrer por problemas na sementeação, formação não homogênea da circunferência e por uma possível atuação parcial do antimicrobiano, acarretando em crescimento de microrganismos no meio da região de inibição, causando problemas na leitura dos halos (COSTA, L. F. R., 2014).

O extrato acetônico conseguiu inibir melhor a *Candida tropicalis*, em dois discos positivos, dos quatro que foram testados. A inibição da amostra de *C. tropicalis* também foi parcial. A bactéria que apresentou a maior média de halos de inibição foi a *Staphylococcus aureus*, a qual teve uma média de 11,2 mm de inibição.

O trabalho de Cruz (2013), demonstrou que cepas de *Candida albicans* são susceptíveis a inibição por extratos de *Morinda citrifolia*, testes realizados por análises de difusão em disco e efeito sobre formação de tubo germinativo. Esse resultado é evidenciado neste trabalho, pela formação de halos de inibição na análise realizada.

Pode-se obter diferentes resultados de inibição contra microrganismos ao se comparar com a literatura. Estudos comparativos de atividade antimicrobiana de extratos vegetais apresentam diversas variáveis que influenciam no resultado, desde

os aspectos climáticos e solo da onde a planta foi retirada tem influência na composição química do vegetal, o estágio de maturação e a parte estudada do mesmo (folhas, frutos...), e o método de extração empregado influenciam diretamente no resultado do experimento (AURICCHIO; BACCHI, 2003).

5.3.2 Concentração Mínima Inibitória (MIC)

Foi utilizado apenas os extratos de álcool em 5 diluições e o extrato de acetona em 1 diluição. O extrato aquoso não foi utilizado na análise de MIC, uma vez que o mesmo não obteve resultado positivo no teste de disco-difusão. O extrato de acetona não pode ser diluído mais vezes por falta de amostra.

A placa depois de recebido as titulações corretas, é levada para uma estufa por pelo menos 24 horas, para que os microrganismos possam se reproduzir e crescer. Depois desse período de incubação, é utilizado um corante revelador para observar se houve inibição ou não do microrganismo estudado.

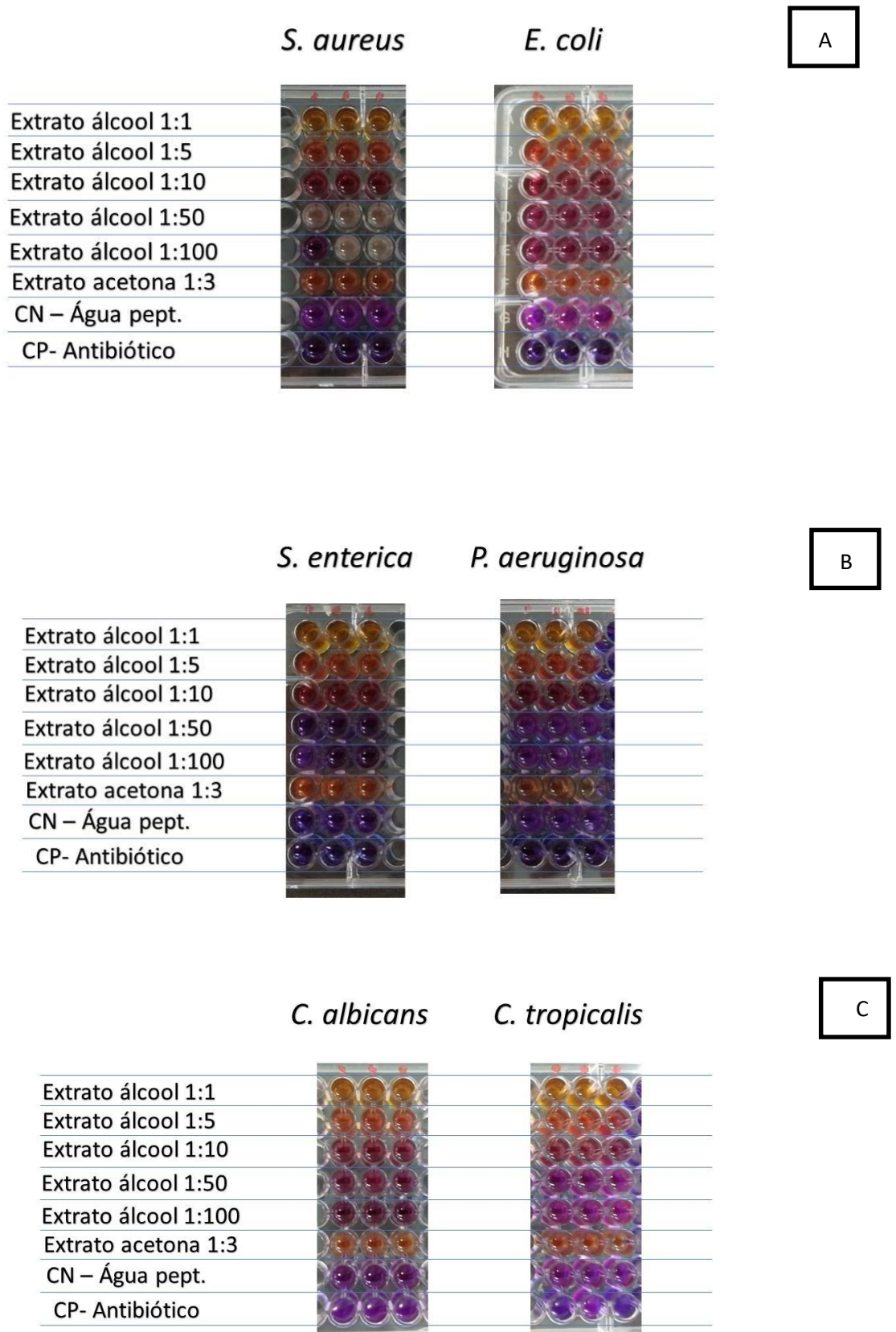
Para essas análises, foi utilizado o corante revelador Resazurina (7-hidróxi-3H-fenoxazina-3-ona 10-óxido), o qual após a aplicação sobre a amostra e aguardado cerca de 2 horas, desenvolve uma coloração avermelhada ao meio de cultivo, indicando que o microrganismo não foi inibido pela amostra testada, e se a coloração permanecer em um tom azulado, indica inibição do microrganismo frente à amostra teste.

Esse teste do corante é frequentemente utilizado, pois permite a visualização sem necessidade de equipamentos, se houve ou não inibição. Porém quando a amostra é colorida, as cores não ficam muito bem visíveis, sendo necessário uma replicação, para comprovar o efeito microbicida/microbiostático da amostra.

Como os extratos testados do noni possuíam colorações bem definidas, o teste com a resazurina não foi muito específico, não sendo possível afirmar se houve ou não inibição da microbiota apenas pela coloração.

Na **Figura 12** é possível observar a coloração do teste MIC após a aplicação do corante revelador.

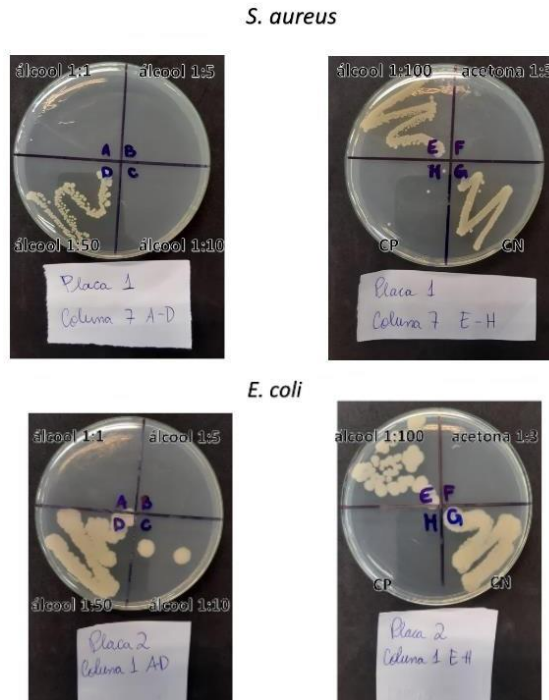
Figura 12 - Coloração do teste MIC após aplicação do corante revelador (A) *S. aureus* e *E. Coli*; (B) *S. enterica* e *P. aeruginosa* e (C) *C. albicans* e *C. tropicalis*



Fonte: Autoria própria (2021)

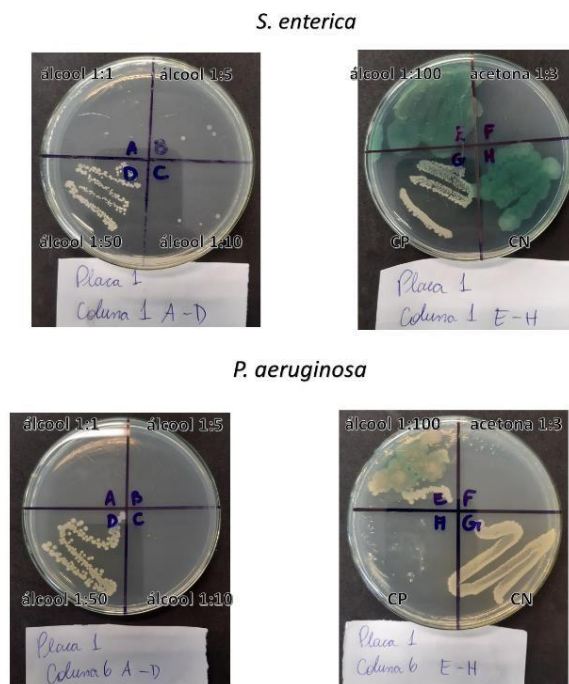
Após o teste do corante revelador, foi feito um repique de cada microrganismo, para poder observar se os extratos obtiveram efeito de inibição, como observado na Figura 13, 14 e 15.

Figura 13 - Resultado do repique pós-MIC de *E. coli* e *S. aureus*

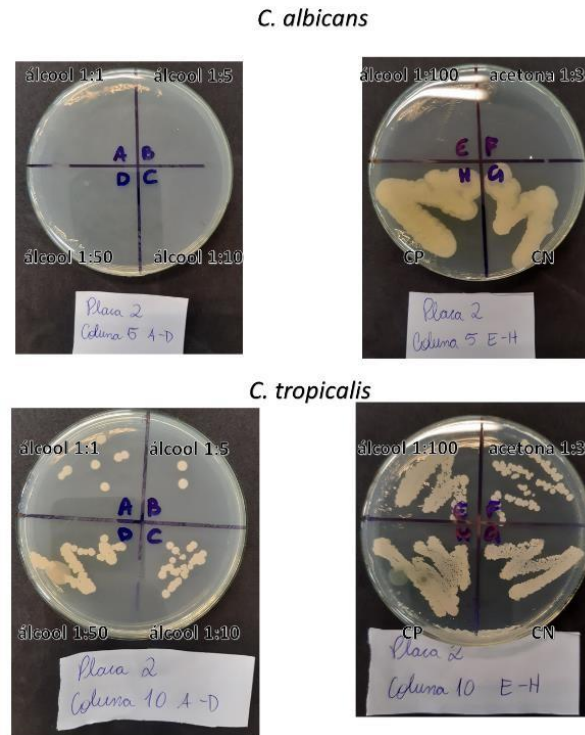


Fonte: Autoria própria (2021)

Figura 14 - Resultado do repique pós-MIC de *S. enterica* e *P. aeruginosa*



Fonte: Autoria própria (2021)

Figura 15 - Resultado do repique pós-MIC de *C. albicans* e *C. tropicalis*

Fonte: Autoria própria (2021)

Como é possível observar os extratos alcoólicos apresentaram uma capacidade microbicida na maioria das amostras. A cepa utilizada de *Candida tropicalis* se mostrou muito resistente, sendo resistente à dois medicamentos antifúngicos (terbinafina e fluconazol) e todas as porções de extratos testadas.

Na **Tabela 7**, podemos observar melhor quais microrganismos foram inibidos e em quais concentrações de extrato.

Tabela 7- Resultados de inibição MIC

Microrganismo	Inibição álcool	Inibição acetona	Inibição controle
<i>Candida albicans</i>	1:1, 1:5, 1:10, 1:50 e 1:100	1:3	Negativa
<i>Candida tropicalis</i>	Negativa	Negativa	Negativa
<i>Salmonella enterica</i>	1:1	1:3	Negativa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1:1, 1:5 e 1:10	1:3	Positiva
<i>Escherichia coli</i>	1:1 e 1:5	1:3	Positiva
<i>Staphylococcus aureus</i>	1:1, 1:5 e 1:10	1:3	Positiva

Fonte: Autoria própria (2021)

Observando os valores da análise, é possível evidenciar que todas as frações de extratos se mostraram com resultados superiores ao medicamento de controle, frente ao microrganismo *C. albicans*. Um efeito similar é evidenciado ao analisar as amostras com *S. enterica*, onde o extrato de acetona e álcool apresentaram efeitos microbicidas em concentrações de 1:3 e 1:1, respectivamente, já o medicamento de controle, obteve apenas um efeito parcial microbiostático. As bactérias *S. aureus* e *P. aeruginosa* apresentaram inibição nas concentrações de 1:1 e 1:5 no extrato alcoólico e na diluição de 1:3 do extrato acetônico, essas inibições mostram um efeito microbicida nessas concentrações. A bactéria *E. coli* apresentou efeito microbicida nas concentrações de 1:1 e 1:5 do extrato etanólico e 1:3 do extrato acetônico.

De acordo com os trabalhos de Sunder *et al.* (2012) extratos de *Morinda citrifolia* usando acetona, clorofórmio, metanol e etanol apresentaram inibição moderada no teste de disco difusão, contra *E. coli*, *Proteus vulgaris* e *S. aureus*.

O trabalho de Candida *et al.* (2014), evidenciaram que o extrato etanólico de *Morinda citrifolia* foi capaz de inibir tanto as cepas de *E. coli* quanto *S. aureus*. O estudo mostrou que a cepa de *S. aureus* foi menos resistente do que *E. coli*, sendo inibida em diluições de 1 e 10 mg. mL⁻¹ respectivamente.

A pesquisa realizada por Tintino *et al.* (2015), mostrou que extratos de noni são capazes de inibir linhagens de bactérias *P. aeruginosa* e *E. coli*, e que o extrato possui efeito modulador, quando misturado com antibióticos padrão, dessa maneira, aumentando o efeito antimicrobiano.

6 CONCLUSÃO

A partir do presente trabalho foi possível caracterizar a polpa de noni e foi possível concluir que esta é constituída principalmente por água, baixo teor proteico e pequeno índice de lipídios. A polpa também apresenta uma quantidade relativamente significativa de calorías, onde os valores são descritos semelhantemente aos estudos da literatura, para melhor entendimento seria necessário análises complementares de fibras alimentares e açúcares.

A capacidade de extração dependeu da afinidade do soluto pelo solvente utilizado e do número de extrações, e forneceu extratos de interesse relativamente livres de interferentes, devido ao processo de extração exaustiva, onde cada parcela do extrato sai mais purificada, devido as interações dos compostos ativos com o solvente da extração. Os extratos alcoólicos apresentaram atividade antimicrobiana in vitro, ao passo que os extratos aquosos não apresentaram atividade inibitória de crescimento bacteriano e fúngico.

Outrossim, foi possível evidenciar que extratos obtidos a partir do fruto de *Morinda citrifolia*, apresentaram ação inibitória frente a microrganismos de interesse médico e alimentício. O processo de extração se mostrou eficaz ao extrair compostos com atividade antimicrobiana. As análises com os microrganismos foram capazes de identificar quais porções dos extratos obtiveram maior desempenho frente às cepas.

Mais estudos poderiam ser realizados a fim de identificar os compostos presentes nas frações dos extratos, desta maneira enriquecendo mais ainda os conhecimentos sobre o noni. Poderiam ser realizadas análises de quantificação por técnicas analíticas instrumentais de compostos já descritos pela literatura. O método de extração também poderia ser variado, afim de se encontrar o método com maior rendimento, e nesta metodologia, poderia ser adicionada uma etapa de centrifugação da amostra de extrato de água, antes da filtração, para tentar uma melhora na qualidade do extrato final.

REFERÊNCIAS

- ABOU ASSI, R. *et al.* Morinda citrifolia (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 10, n. 5, p. 691-707, 1 jul. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878535215001902>>. Acesso em: 19 ago. 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003*. . Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos: [s.n.], 29 maio 2003. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html>. Acesso em: 2 nov. 2021.
- ALBUQUERQUE, G. G.; BRAGA, R. P. DA S.; GOMES, V. Conhecimento dos alunos sobre microrganismos e seu uso no cotidiano. *Revista de Educação, Ciências e Matemática*, v. 2, n. 1, p. 58-68, 2012.
- ALVES, E. G. *et al.* Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade anti-bacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1224-1229, 2008.
- ALVES, M. M. *et al.* Caracterização química qualitativa de tinturas e extratos secos de plantas medicinais do Cerrado por cromatografia em camada delgada comparativa. *Scientia Plena*, v. 7, n. 12, p. 8, 2011. Disponível em: <<https://scientiaplenu.emnuvens.com.br/sp/article/view/159/389>>. Acesso em: 4 nov. 2021.
- ANDRADE, R. J. *et al.* EASL Clinical Practice Guidelines: Drug-induced liver injury. *Journal of Hepatology*, v. 70, n. 6, p. 1222-1261, 1 jun. 2019.
- ANEKPANKUL, T. *et al.* Extraction of anti-cancer damnacanthal from roots of Morinda citrifolia by subcritical water. *Separation and Purification Technology*, v. 55, n. 3, p. 343-349, 1 jul. 2007.
- ATKINS, P.; JONES, L. Forças intermoleculares. *Princípios de Química: Questionando a vida moderna e o meio ambiente*. Porto Alegre: Bookman, 2001. p. 297-304.
- AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de Eugenia uniflora L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas Eugenia uniflora L. “brazilian cherry” leaves: pharmacobotanical, chemical and pharmacological properties. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 62, n. 1, p. 55-61, 2003.

- BARANI, K. *et al.* Anti-fungal activity of *Morinda citrifolia* (noni) extracts against *Candida albicans*: An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*, v. 25, n. 2, p. 188, 2014. Disponível em: <<http://www.ijdr.in/text.asp?2014/25/2/188/135918>>.
- BARBOSA, A. *et al.* *Morinda citrifolia*: fatos e riscos sobre o uso do noni. *Revista Fitos*, v. 11, n. 2, p. 189-215, 2017. Disponível em: <www.revistafitos.far.fiocruz.br>.
- BARROS, S. P. N. *Caracterização química e bioquímica da polpa e produtos de noni (Morinda citrifolia L.)*. 2009. 87 f. Universidade Federal do Ceará, 2009.
- BEZERRA, K. M. M. *Estudo dos parâmetros físico-químicos da polpa da Morinda citrifolia Linn (noni)*. 2017. 47 f. Universidade Federal do Ceará, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/35707/1/2017_tcc_kmmbezerra.pdf>. Acesso em: 3 jul. 2021.
- BIORENDER. *BioRender*. Disponível em: <<https://biorender.com/>>. Acesso em: 7 dez. 2021.
- CANDIDA, T. *et al.* Evaluation of antitumoral and antimicrobial activity of *Morinda citrifolia* L. grown in Southeast Brazil. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 29, n. 2, p. 10-14, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/acb/a/7Fp7Qb5KGhQGZ9scdGFVYgK/?lang=en&format=html>>. Acesso em: 17 out. 2021.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard - Eleventh edition*. 11. ed. Wayne, PA, USA: CLSI, 2012. v. 32.
- CLSI. *Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade de Leveduras à Terapia Antifúngica: Norma Aprovada – Segunda Edição*. Estados Unidos: [s.n.], 2003. Disponível em: <https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/metodo_ref_testes_diluicao_modulo4.pdf>. Acesso em: 3 dez. 2021.
- COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rsbmt/a/dWxvwzZvp9qdkHyQvBgDWMh/?lang=pt&format=html>>. Acesso em: 6 dez. 2021.
- CORREIA, A. . A. S. *et al.* Caracterização química e físico-química da polpa do noni (*Morinda citrifolia*) cultivado no estado do Ceará. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 22, n. 4, p. 609-615, 2012. Disponível em: <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/1749>>.

COSTA, A. B. *et al.* Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do noni (*Morinda citrifolia* Linn). *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal-SP*, v. 35, n. 2, p. 345-354, out. 2013.

COSTA, B. S. *Superbactérias e o desenvolvimento de mecanismos de resistência aos antimicrobianos*. 2019. Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2019.

COSTA, L. F. R. *Método automático para identificação de região de inibição e de rótulos alfanuméricos de antibióticos posicionados em antibiogramas por disco-difusão*. 2014. 62 f. Universidade de Brasília, 2014. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUK EwjyvtGNtf_zAhXcTTABHRAZBlcQFnoECAQQAQ&url=https%3A%2F%2Frepositorio.unb.br%2Fbitstream%2F10482%2F22126%2F1%2F2016_LuanFelipeRodriguesCosta.pdf&usg=AOvVaw2ZTmGOvzZhqhMgbmaxnthC>.

CRUZ, M. A. G. DA. *Atividade inibitória de Morinda Citrifolia sobre Streptococcus mutans e Candida albicans*. 2013. 62 f. Universidade de Uberaba, 2013.

DE SOUSA, J. S. B. *O uso de Morinda citrifolia L. (noni) como terapia alternativa na saúde humana: uma revisão de literatura*. 2015. 84 f. Universidade Federal de Campina Grande, 2015.

FIGUEIREDO, A. C.; PEDRO, L. G.; BARROSO, J. G. Plantas aromáticas e medicinais - Óleos essenciais e voláteis. *Revista da APH*, v. 114, p. 29-34, jan. 2014.

FONSECA, F. N. DA. *Desenvolvimento tecnológico de fitoproduto a partir de Justicia pectoralis - chambá: Obtenção do extrato seco padronizado (CLAE-DAD) e avaliação farmacológica*. 2009. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

GONÇALVES, A. L.; FILHO, A. A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arq. Inst. Biol*, v. 72, n. 3, p.353-358, 2005.

GONÇALVES, P. M. M. *Os Microrganismos no 1.º e 2.º Ciclos do Ensino Básico : Abordagem Curricular , Conceções Alternativas e Propostas de Atividades Experimentais* . 2012. 461 f. Universidade do Minho, 2012.

HEINICKE, R. M. The Pharmacologically Active Ingredient of Noni. *Excerpts from Pacific Tropical Botanical Garden Bulletin*, v. 15, n. 1, 1985. Disponível em: <www.simplynaturalproducts.com>. Acesso em: 4 nov. 2021.

HERNÁNDEZ-GUERRERO, S. E. *et al.* Identification of Fungal Pathogens of Mango

and Soursop Fruits Using Morphological and Molecular Tools and Their Control Using Papaya and Soursop Leaf and Seed Extracts. *International Journal of Agronomy*, v. 2020, 2020.

HOFER, E. *et al.* Considerações sobre o estudo bacteriológico de amostras de *Salmonella typhi* isoladas em um surto epidêmico de febre tifóide ocorrido no Município de São Paulo, Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 34, n. 1-2, p. 53-67, 30 dez. 1974. Disponível em: <<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/37058>>. Acesso em: 6 dez. 2021.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KRISHNAIAH, D. *et al.* Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated *Morinda citrifolia* L. methanolic extract from Poly-ethersulphone (PES) membrane separator. *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*, v. 27, n. 1, p. 63-67, 1 jan. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1018363913000056>>. Acesso em: 19 ago. 2020.

KUMARASAMY, B. *et al.* Role of aqueous extract of morinda citrifolia (Indian noni) ripe fruits in inhibiting dental caries-causing streptococcus mutans and streptococcus mitis. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*, v. 11, n. 6, p. 703-10, nov. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25628701>>. Acesso em: 28 out. 2020.

LEMES, I. A.; AMAIS, L. B.; MOURA, F. J. D. DE. Atualização das evidências da morinda citrifolia (NONI) na prática clínica. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 4, p. 9991-10003, 2020. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/14664/12146>>.

LIMA, I. A. S. I. *et al.* Extração de compostos fenólicos do noni (*Morinda citrifolia* Linn) empregando energia ultrassônica. v. 14, n. 4, p. 14, 2018. Disponível em: <<https://scientiaplena.org.br/sp/article/view/4037/1937>>. Acesso em: 3 jul. 2021.

MARQUES, L. C. Preparação de extratos vegetais. *Jornal Brasileiro de Fitomedicina*, v. 3, n. 2, p. 76-74, 2005. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/254860/1/Veggi_PriscillaCarvalho_M.pdf>. Acesso em: 18 out. 2021.

MARTINS, G. D. S. *et al.* Uso Indiscriminado De Antibióticos Pela População De São José Do Calçado (Es) E O Perigo Das Superbactérias. *Acta Biomédica Brasiliensia*, v. 6, n. 2, p. 84, 2015.

MATHIVANAN, N. *et al.* Review on the current scenario of Noni research: Taxonomy, distribution, chemistry, medicinal and therapeutic values of *Morinda citrifolia*. *International Journal of Noni research*, v. 1, n. 1, p. 1-17, 2005. Disponível em: <http://www.nonifamily.net/journal/in_vol_1.pdf#page=4>.

MELO, M. O. P. *et al.* Modelagem matemática da cinética de liofilização do extrato ou “leite” de gergelim. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 2, p. e40110212752, 21 fev. 2021. Disponível em: <<https://www.rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/12752>>. Acesso em: 19 jul. 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Salmonella (Salmonelose): o que é, causas, tratamento, diagnóstico e prevenção*. Disponível em: <<https://antigo.saude.gov.br/saude-de-a-z/Salmonella>>. Acesso em: 3 nov. 2021.

MORORÓ, A. V. T. P. *et al.* *Morinda citrifolia* (noni): uma revisão dos seus efeitos biológicos. *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. 10, n. 2, 12 jun. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.22280/revintervol10ed2.268>>.

MOTTA, T. C. A. DA. *Vigilância Sanitária Estadual alerta sobre riscos do consumo da planta Noni*. Disponível em: <<https://www.saude.ms.gov.br/vigilancia-sanitaria-estadual-alerta-sobre-os-riscos-do-consumo-da-planta-noni/>>. Acesso em: 10 nov. 2021.

MÜLLER, J. C. *Toxicidade reprodutiva da Morinda citrifolia Linn.* 2007. 88 f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

NASCIMENTO, L. C. S. *Caracterização Centesimal, Composição Química e Atividade Antioxidante do Noni (Morinda Citrifolia L.) Cultivado no Município de Zé Doca-MA.* . Seropédica, RJ, Brazil: [s.n.], 2012.

OLIVEIRA, L. A. *Caracterização estrutural e atividade antitumoral de polissacarídeo extraído do fruto de Morinda citrifolia Linn (NONI)*. 2014. 86 f. Universidade federal do Ceará, 2014. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/20125/1/2014_dis_laoliveira.pdf>. Acesso em: 3 jul. 2021.

OSTROSKY, E. A. *et al.* *Methods for evaluation of the antimicrobial activity and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of plant extracts*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. [S.l.]: Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2008000200026&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 3 set. 2020. , 2008

PACHÚ, C. O. *Processamento de plantas medicinais para a obtenção de extratos*

secos e líquidos. 2007. 117 f. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

PAIVA, C. *et al.* Uso indiscriminado de antibióticos e superbactérias KPC: Tema CTS controverso no ensino de biologia. *Revista Eletrônica Debates em Educação Científica e Tecnológica*, v. 3, n. 01, 4 out. 2014. Disponível em: <<https://ojs2.ifes.edu.br/index.php/dect/article/view/16>>. Acesso em: 21 out. 2021.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A. Pectina: Propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, v. 10, n. 4, p. 196-211, 2009.

PALIOTO, G. F. *et al.* Composição centesimal, compostos bioativos e atividade antioxidante de frutos de *Morinda citrifolia* Linn (noni) cultivados no Paraná. *Revista Brasileira de Plantas Medicináveis*, v. 17, n. 1, p. 59-66, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000100059&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 23 set. 2020.

PAWLUS, A. D.; KINGHORN, A. D. Review of the 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, 1 dez. 2007a. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1211/jpp.59.12.0001>>. Acesso em: 18 set. 2020.

PAWLUS, A. D.; KINGHORN, A. D. Review of the 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, 1 dez. 2007b. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1211/jpp.59.12.0001>>. Acesso em: 18 set. 2020.

POTTERAT, O.; HAMBURGER, M. *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit - Phytochemistry, Pharmacology, Safety. *Planta Medica*, v. 73, n. 03, p. 191-199, 7 fev. 2007. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-2007-967115>>. Acesso em: 7 dez. 2021.

PRINS, C. L.; LEMOS, C. S. L.; FREITAS, S. P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). *Rev. Bras. Pl. Med.*, v. 8, n. 4, p. 92-95, 2006.

REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 34, n. 3, p. 601-616, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rbcs/a/dDjDvwX4QkSpBJVdrv6WrkN/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 2 nov. 2021.

REIS, F. J. C.; DAMACENO, N. Fibrose cística. *Jornal de Pediatria*, v. 74, n. 1, p.76-91, 1998.

RIBEIRO, Í. A. *et al.* Avaliação Da Atividade Antioxidante E De Compostos Fenólicos Totais Na Biomassa Do Noni (*Morinda Citrifolia* Linn) Em Cinco Estádios De Maturação. *E-Xacta*, v. 11, n. 2, p. 1-8, 2018.

ROSSI, T. DE *et al.* Interações entre *Candida albicans* e hospedeiro. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 32, n. 1, p. 15-28, 17 jun. 2011. Disponível em: <<https://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/3379>>. Acesso em: 6 dez. 2021.

SANNI, D. M. *et al.* Xeronine structure and function: computational comparative mastery of its mystery. *In Silico Pharmacology*, v. 5, n. 1, p. 8, 2 dez. 2017. Disponível em: <<https://in-silico-pharmacology.springeropen.com/articles/10.1007/s40203-017-0028-y>>.

SANTOS, A. S. *et al.* Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. *Comunicado técnico 99 - EMBRAPA*, v. 1, nov. 2004.

SANTOS, P. L. *et al.* Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. *Enciclopédia Biosfera*, v. 9, n. 17, p. 2562-2577, 2013.

SCARAMUSSA, S. A. DE L.; SANTANA, L. C. L. DE A. Quantificação de fenólicos totais e flavonoides em extratos obtidos a partir da junção das farinhas de casca e semente de noni. *Revista Ingi*, v. 4, n. 3, p. 802-811, 2020.

SINARA, M. *et al.* *Staphylococcus aureus*. *Mostra Científica em Biomedicina*, v. 1, n. 1, 21 mar. 2017. Disponível em: <<http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/mostrabiomedicina/article/view/842>>. Acesso em: 6 dez. 2021.

SOARES, C. T. *Secagem da polpa de pequi por liofilização*. 2018. 96 f. Universidade Estadual de Campinas, 2018. Disponível em: <<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/332599>>. Acesso em: 19 jul. 2021.

SOUZA, Y. DE; COSTA, K. R. A. DA; SANTIAGO, S. B. Superbactérias: Um problema emergente. *4º Seminário Pesquisar*, v. 4, p. 5, 2016. Disponível em: <http://www.faculdadealfredonasser.edu.br/files/Pesquisar_4/05-12-2016-21.28.50.pdf>. Acesso em: 21 out. 2021.

SOUZA, J. B.; DANIEL, L. A. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 10, n. 2, p. 111-117, abr. 2005.

SUNDER, JA *et al.* Antimicrobial activity of morinda citrifolia solvent extracts. *Indian Veterinary Journal*, v. 89, n. 4, p. 9-11, 2012.

SUNDER, JAI *et al.* Antibacterial Activity in Solvent Extract of Different Parts of Morinda citrifolia Plant. *Journal of pharmaceutical sciences research*, v. 3, p. 1404-1407, 2011.

TINTINO, S. R. *et al.* Actividad antimicrobiana y efecto combinado sobre medicamentos antifúngicos y antibacterianos del fruto de Morinda citrifolia L. *Acta Biológica Colombiana*, v. 20, n. 3, p. 193-200, 24 jul. 2015. Disponível em: <<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/index>>. Acesso em: 17 out. 2021.

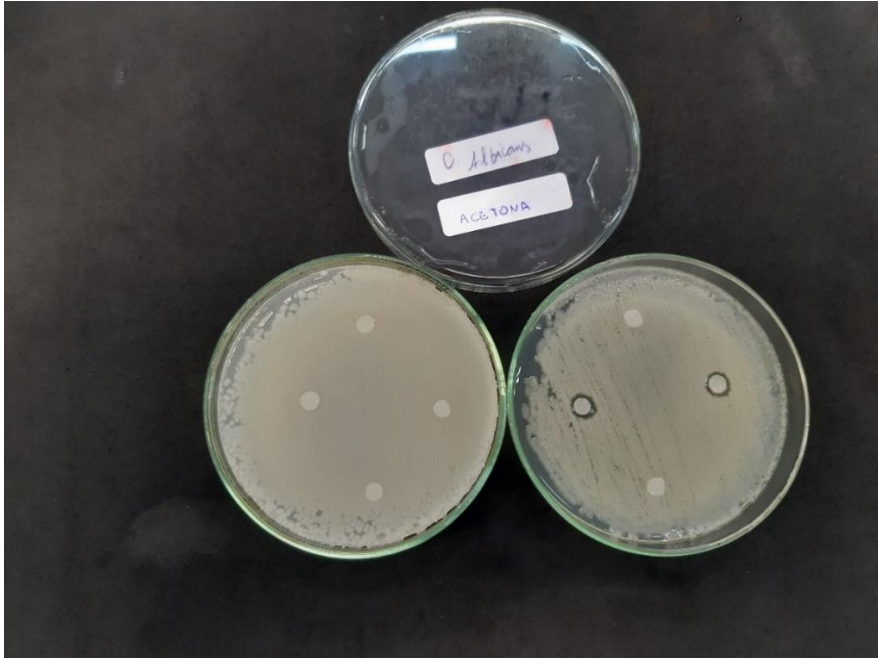
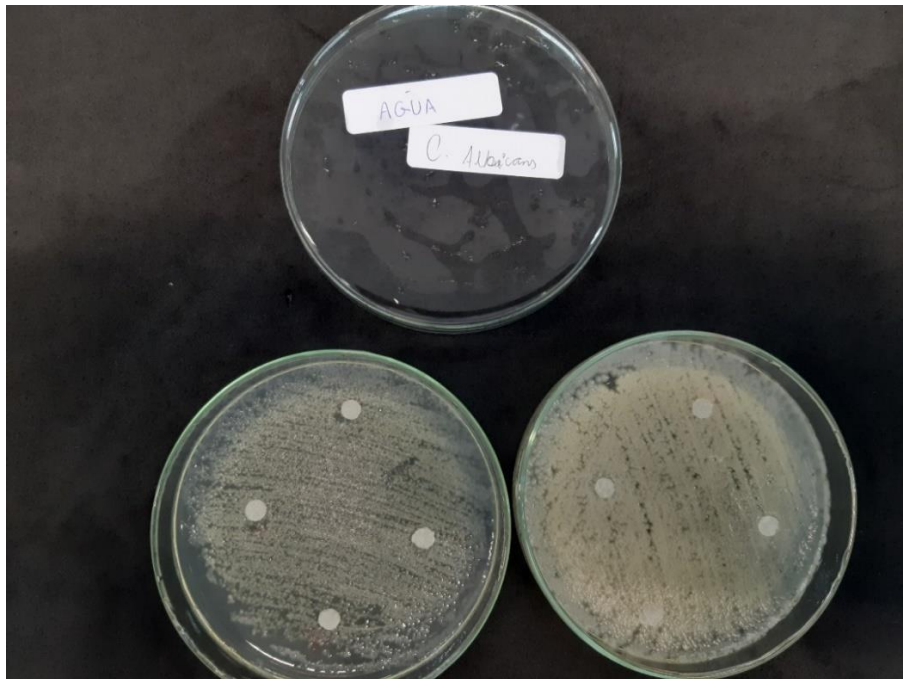
TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 10. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2010.

VEGGI, P. C. *Obtenção de extratos vegetais por diferente métodos de extração: estudo experimental e simulação dos processos*. 2009. 165 f. UNICAMP, 2009. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/254860/1/Veggi_PriscillaCarvalho_M.pdf>. Acesso em: 18 out. 2021.

WANG, M. Y.; SU, C. Cancer Preventive Effect of Morinda citrifolia (Noni). *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 952, n. 1, p. 161-168, dez. 2001. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.2001.tb02737.x>>.

YANG, J. *et al.* Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (Morinda citrifolia L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chemistry*, v. 102, n. 1, p. 302-308, 1 jan. 2007.

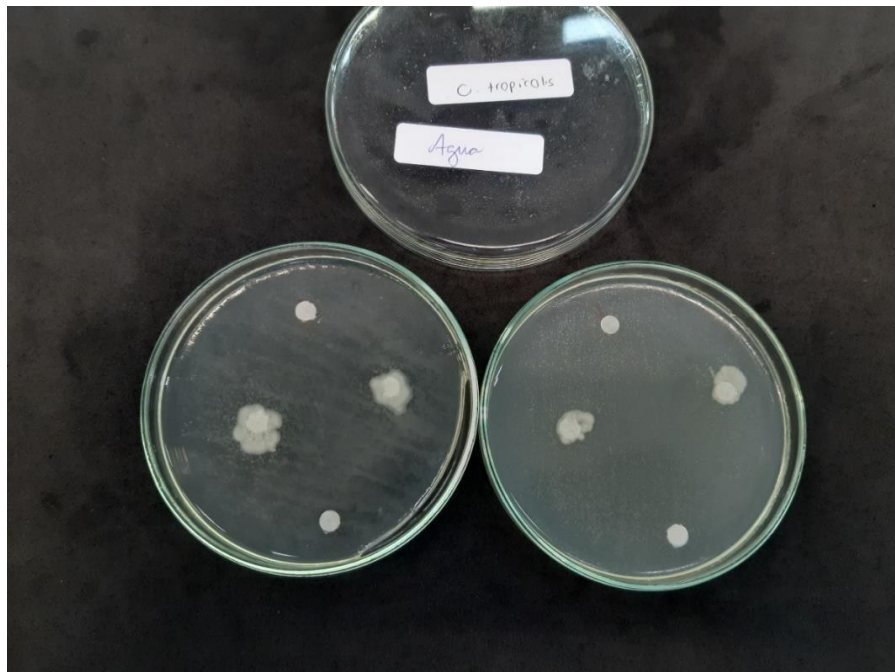
ZHANG, C. *et al.* Exploring the drying behaviors of microencapsulated noni juice using reaction engineering approach (REA) mathematical modelling. *Journal of Food Engineering*, v. 248, p. 53-61, 1 maio 2019.

APÊNDICE A – IMAGENS DO TESTE DE DIFUSÃO EM DISCO*C. albicans* - acetona*C. albicans* - água

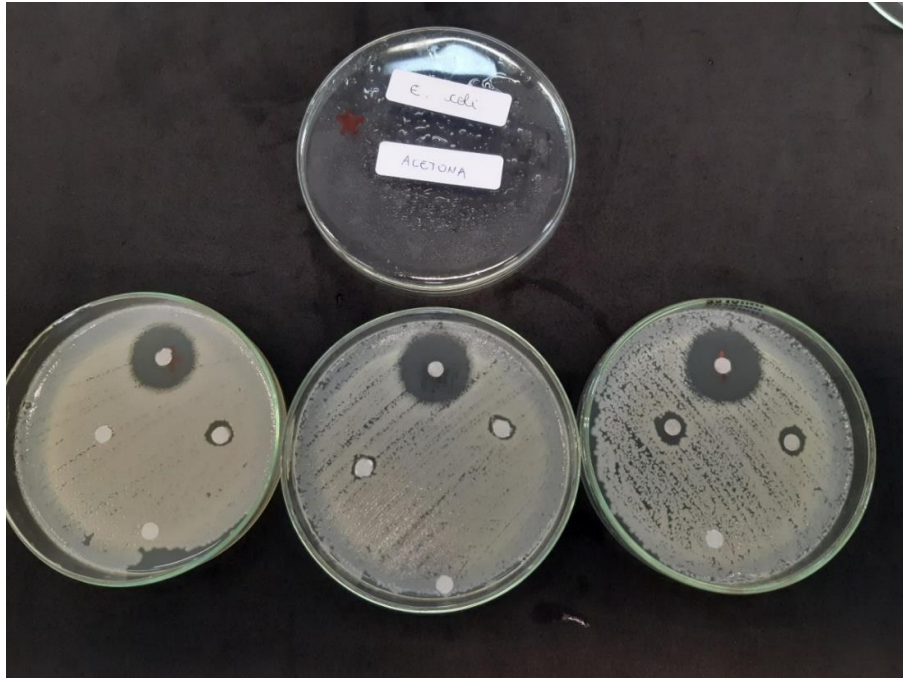
C. albicans - álcool



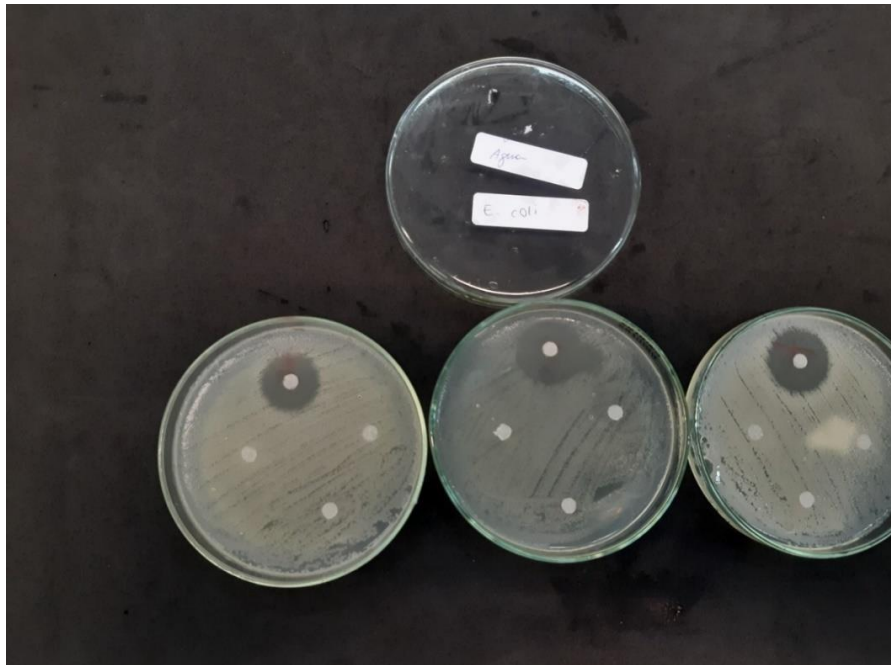
C. tropicalis - água



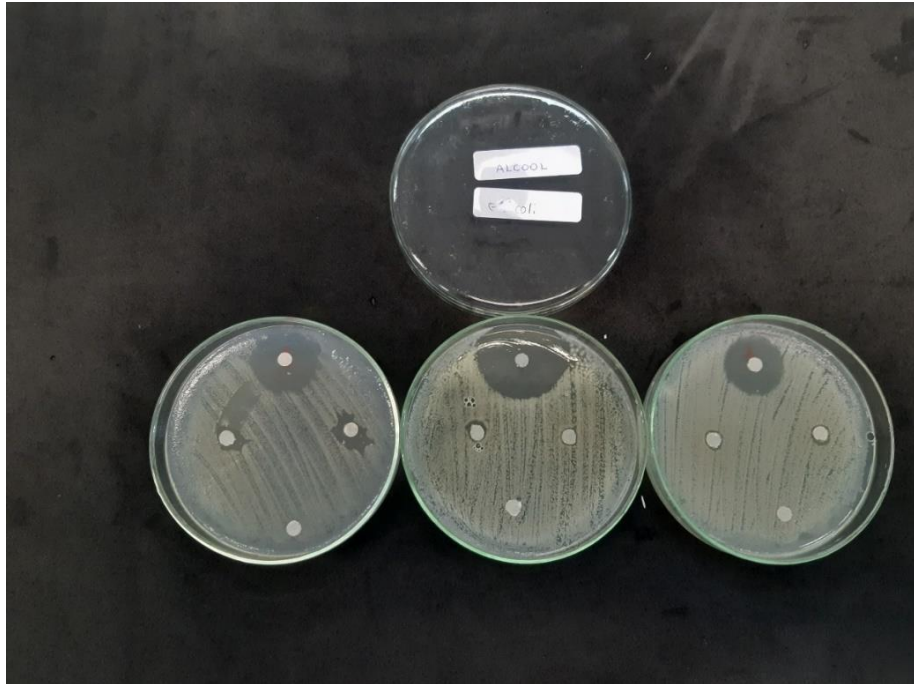
E. coli - acetona



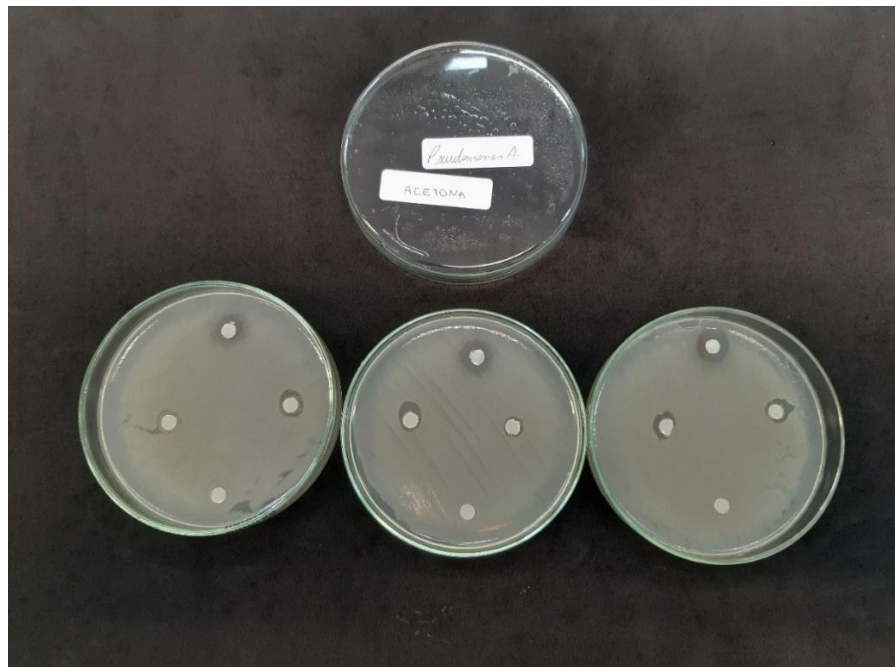
E. coli - água



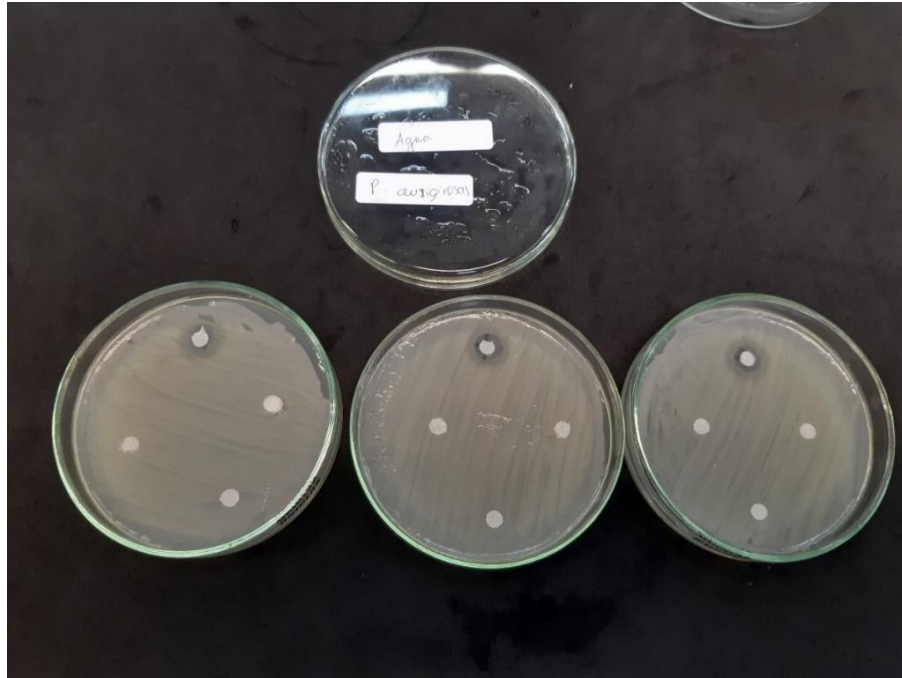
E. coli - álcool



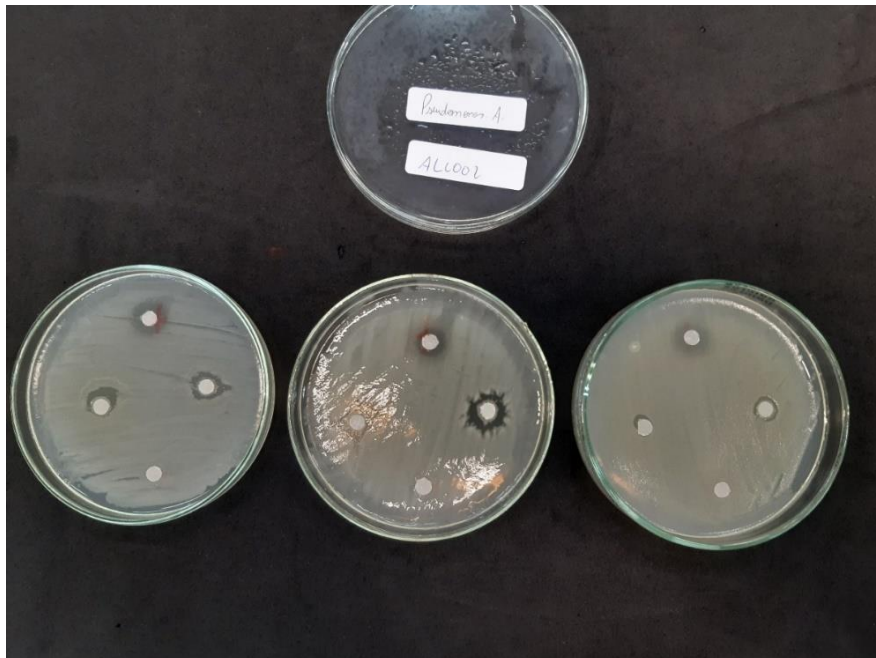
P. aeruginosa - acetona



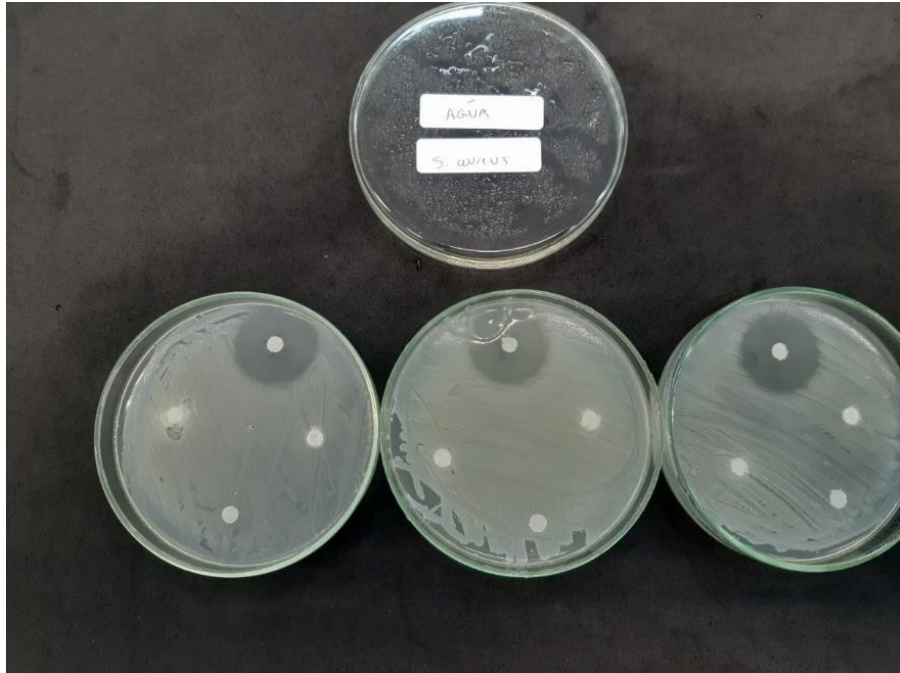
P. aeruginosa - água



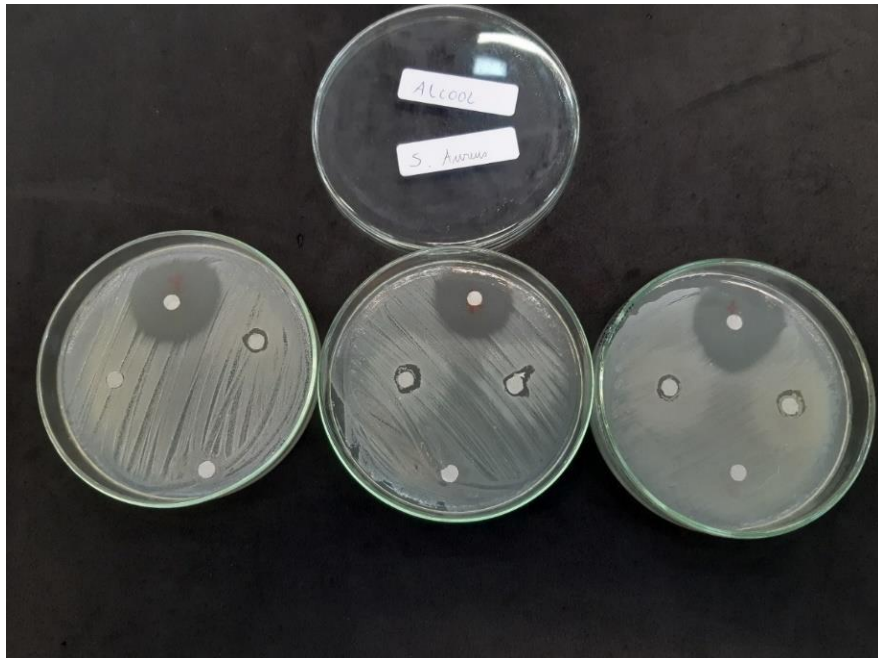
P. aeruginosa - álcool



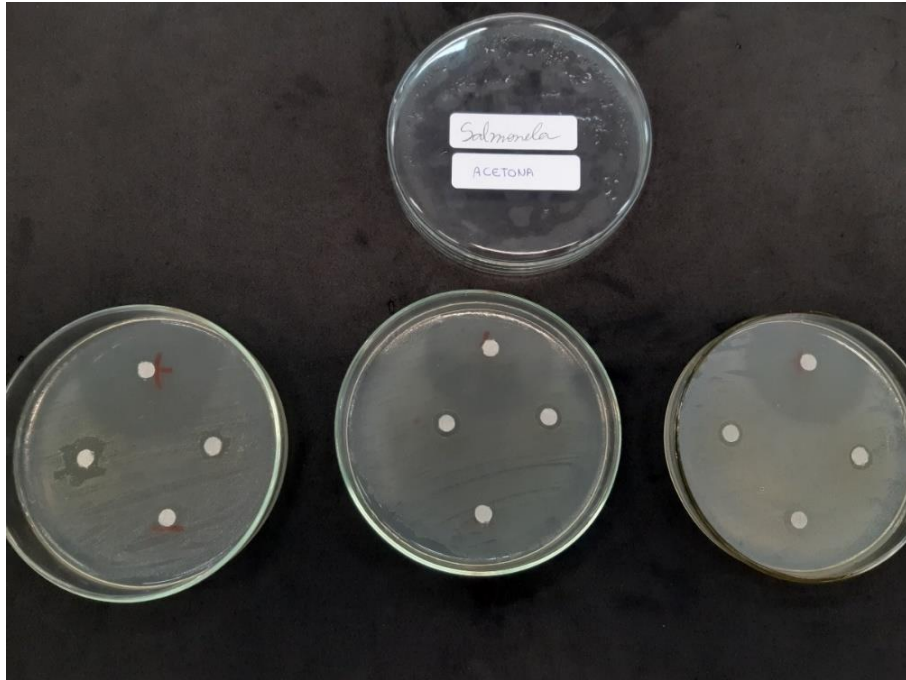
S. aureus - água



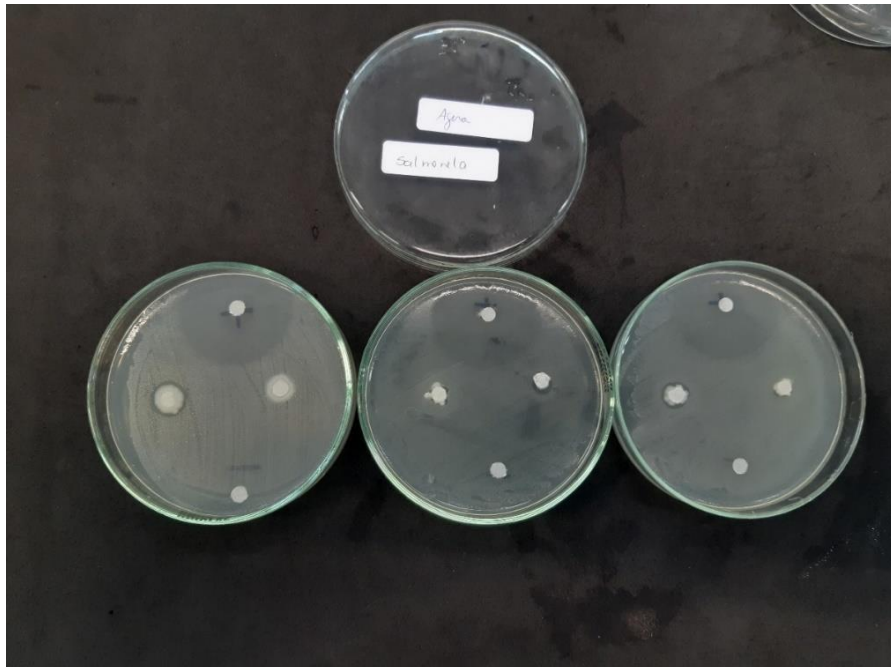
S. aureus - álcool



S. enterica - acetona



S. enterica – água



S. enterica – álcool

