



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DOS
DIFERENTES TECIDOS DE *Morinda citrifolia* Linn
RUBIACEAE**

Luís Eduardo Gomes de Holanda

Recife

Julho/2017

Luís Eduardo Gomes de Holanda*

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DOS
DIFERENTES TECIDOS DE *Morinda citrifolia* Linn
RUBIACEAE**

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química
como parte dos requisitos para
obtenção do Título de Mestre em
Química pela Universidade
Federal Rural de Pernambuco.

Orientador: Prof.Dr. Clécio Sousa Ramos

***Bolsista Capes**

Recife

Julho/2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

H722c

Holanda, Luís Eduardo Gomes de

Composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais dos diferentes tecidos de *Morinda citrifolia* Linn. (Rubiaceae) / Luís Eduardo Gomes de Holanda. – 2017. 79 f. : il.

Orientador: Clécio Souza Ramos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Química, Recife, BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Atividade antimicrobiana 2. Caracterização química
3. Hidrodestilação 4. Tecidos vegetais I. Ramos, Clécio Souza, orient. II. Título

CDD 540

Luís Eduardo Gomes de Holanda

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DOS
DIFERENTES TECIDOS DE *Morinda citrifolia* Linn
RUBIACEAE**

BANCA DO EXAME DE DEFESA

DEFESA AVALIADA EM: ___/___/2017

Prof. Dr. Clécio Souza Ramos
Orientador (DQ-UFRPE)

Dra. Fabiana da Silva Aquino
1ª Examinadora

Dr. Marcílio Martins de Moraes
2º Examinador

Profa. Dra. Lourinalda Luíza Dantas da Silva S. de Oliveira
Suplente (DQ/UFRPE)

Prof. Dr. João Rufino de Freitas Filho
Suplente (DQ-UFRPE)

DEDICO

Aos meus pais pelo imenso apoio, minha esposa e meu filho que sempre me acolheram com sorrisos nos momentos difíceis dessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado força para seguir nessa difícil caminhada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Clécio Souza Ramos, pela paciência e ensinamentos que contribuíram para minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Cláudio A. G. Câmara pela colaboração, instrução e pelo espaço concebido em seu laboratório.

Ao aluno de Pós Doc. Marcílio Martins pelos ensinamentos e dicas que ajudaram na elaboração deste trabalho.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao Centro de Apoio a Pesquisa (CENAPESC) e ao Programa de Pós-Graduação em Química e a CAPES pelo fomento.

Aos amigos do LEQSO em especial Gisele Barbosa, Marcílio Wagner e Leonardo Alexandre pelo apoio técnico e teórico.

Aos demais amigos que passaram pelo curso de Pós-Graduação em Química.

Quem nunca errou nunca experimentou nada novo.

“Albert Einstein”

RESUMO

Ao longo dos séculos as plantas vêm sendo utilizadas e estudadas por conterem diversas substâncias que são responsáveis por ações farmacológicas. A planta é amplamente usada na medicina popular devido às propriedades biológicas de seus frutos é a *Morinda citrifolia* L., conhecida popularmente como noni. A *Morinda citrifolia* pertencente à família Rubiaceae é uma planta nativa do sudeste Asiático tem recebido atenção no Brasil devido as suas atividades biológicas, sendo difundidas na população e em estudos relatados previamente. Inserido neste contexto, o presente trabalho foi direcionado para caracterização química dos óleos essenciais dos diferentes tecidos vegetais da planta e avaliação do seu potencial antimicrobiano. Os óleos essenciais da *Morinda citrifolia* foram obtidos por hidrodestilação e a identificação de seus constituintes químicos determinada por CG-EM. No óleo essencial dos caules foi identificado a *p*-Menta-1-(7),8-dieno como composto majoritário com percentagem relativa de 9,64%, seguido pelo composto decanoato de alila (7,50%). No óleo das folhas o fitol foi identificado como composto majoritário com 49,32%. No óleo essencial dos frutos foi identificado o ácido octanóico com 38,68%, o ácido hexanóico (20,00%) e o octanoato de metila (16,98%). Óleo essencial dos frutos, após reação de esterificação para confirmação dos ácidos carboxílicos, apresentou como compostos majoritários os ésteres hexanoato de metila (12,15%), octanoato de metila (83,38%) e o decanoato de metila (4,46%). O óleo essencial dos frutos mostrou atividade antimicrobiana de forte a moderada, sendo observada uma maior atividade frente aos fungos *Candida albicans* e *Candida utilis* com CMI de 39 µg/ml a 78,1 µg/ml, respectivamente. O óleo essencial dos frutos mostrou atividade frente a todas as bactérias testadas, com menor CMI de 156 µg/ml observada para a *Bacillus subtilis* e a maior de 625 µg/ml para a *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados obtidos contribuem para o conhecimento químico e biológico da *M. citrifolia*, que é amplamente divulgada na população como uma excelente planta para fins terapêuticos.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana, caracterização química, hidrodestilação, tecidos vegetais.

ABSTRACT

Throughout the centuries, plants have been used and studied because they contain several substances that are responsible for pharmacological actions. The plant are widely used in folk medicine due to the biological properties of its fruits, is the *Morinda citrifolia* L., popularly known as noni. The *Morinda citrifolia* is member of the family Rubiaceae. It is a plant native to Southeast Asia and has received good acceptance in Brazil due to its biological activities. *Morinda citrifolia* has exploded in population and use; and because of it, carefully studied. Inserted in this context, the present work has the objective to present the chemical characterization of the essential oils of the different plant tissues and the evaluation of its antimicrobial potential. The essential oils of the *Morinda citrifolia* were obtained by hydrodistillation and the identification of their chemical constituents is determined by GC-MS. In short, the stem oil *p*-Menta-1- (7), 8-diene was identified as the major compound with a relative percentage of 9.64%, followed by the compound allyl decanoate (7.50%). In the leaf oil, phytol was identified as the major compound with 49.32%. In the essential fruit oil, octanoic acid was identified with 38.68%, hexanoic acid (20,00%) and methyl octanoate (16.98%). After the esterification reaction used by the carboxylic acids, the essential oils were methyl hexanoate (12.15%), methyl octanoate (83.38%) and methyl decanoate (4.46%). The essential oil of the fruits showed moderate to strong antimicrobial activity, being observed a greater activity against the fungi *Candida albicans* and *Candida utilis* with MIC from 39 µg/ml to 78.1 µg/ml, respectively. The essential oil of the fruits showed activity against all the bacteria tested, with a lower MIC of 156 µg/ml observed for *Bacillus subtilis* and the highest of 625 µg/ml for *Pseudomonas aeruginosa*. The results obtained contribute to the chemical and biological knowledge of *Morinda citrifolia*, which is widely reported as an excellent plant for therapeutic purposes.

Key words: Antimicrobial activity, chemical characterization, hydrodistillation, plant tissues.

SUMÁRIO

Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Sumário.....	ix
Lista de Figuras.....	xi
Lista de Tabelas.....	xiii
Lista de Símbolo e abreviatura.....	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1 Óleos Essenciais	18
2.2 Análise química da composição dos óleos essenciais.....	19
2.3 A planta	20
2.4 Considerações botânicas	21
2.5 Estudos químicos realizados com a espécie <i>Morinda citrifolia</i> L.....	24
2.6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE <i>Morinda citrifolia</i> L.....	37
2.6.1 Efeitos antimicrobianos	37
2.6.2 Atividade antitumoral	38
2.6.3 Atividade antiinflamatória	40
2.6.4 Atividade analgésica	41
2.6.5 Atividade cardiovascular.....	41
2.7 BACTÉRIAS	42
2.7.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	42
2.7.2 <i>Bacillus subtilis</i>	43
2.7.3 <i>Escherichia coli</i>	44
2.7.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
2.8 FUNGOS	45

2.8.1 <i>Candida albicans</i>	46
2.9.1 <i>Candida utilis</i>	46
3 OBJETIVOS.....	47
3.1 Objetivo geral.....	47
3.2 Objetivos específicos.....	47
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
4.1 Obtenção do material vegetal.....	48
4.2 Extração dos óleos essenciais e cálculo de rendimento.....	48
4.3 Obtenção dos ésteres metílicos do fruto do noni.....	50
4.4 Análise da composição química dos óleos essenciais.....	50
4.5 Atividade biológica.....	51
4.6 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)	52
4.7 Leitura das microplacas	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1 Rendimentos dos óleos de <i>Morinda citrifolia</i> L.	55
5.2 Caracterização química dos óleos essenciais	55
5.3 Avaliação antibacteriana.....	64
5.4 Avaliação antifúngica.....	66
6 CONCLUSÕES.....	68
7 REFERÊNCIAS	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Árvore de Noni.....	21
Figura 2 – Árvore de Noni, entre rochas, Samoa.....	22
Figura 3 – Folhas de <i>Morinda citrifolia</i>	22
Figura 4 – Flores de <i>Morinda citrifolia</i>	23
Figura 5 – Sementes de <i>Morinda citrifolia</i>	23
Figura 6 – Frutos em diferentes estágios de maturação de <i>Morinda citrifolia</i>	23
Figura 7 – Escopoletina substância com atividade antimicrobiana.....	38
Figura 8 – Damnacantal substância com atividade anticâncer.....	39
Figura 9 – Estrutura química do 2-O-(<i>D</i> -glucopiranosil)-1-O-octanoil- <i>D</i> - Glucopiranoze.....	40
Figura 10 – Estrutura química do (+)-3,3'bisdimetiltanegool.....	42
Figura 11 – Aparelho de Clevenger modificado.....	48
Figura 12 – Esquema da extração do óleo essencial.....	49
Figura 13 – Padronização das multiplacas.....	52
Figura 14 – Cromatograma do óleo essencial do caule de <i>Morinda citrifolia</i> L. obtido por CG-EM.....	56
Figura 15 – Estruturas químicas da <i>p</i> -menta-1-(7),8-dieno, alil decanoato, hexadecanol e o <i>L</i> -eicoseno.....	57
Figura 16 – Compostos majoritários identificados no fruto de <i>Morinda citrifolia</i> ácido hexanóico (1), ácido octanóico (2).....	57
Figura 17 – Cromatograma do óleo essencial do fruto do noni.....	58
Figura 18 – Espectro de Massas do ácido hexanóico.....	58
Figura 19 – Espectro de Massas do ácido octanóico.....	59
Figura 20 – Rearranjo de McLafferty em ácidos carboxílicos.....	59

Figura 21 – Espectro de Massas do octanoato de metila de metila.....	60
Figura 22 – Rearranjo de McLafferty em ésteres.....	60
Figura 23 – Cromatograma do óleo essencial do fruto esterificado.....	61
Figura 24 – Espectro de Massas do hexanoato de metila identificado após esterificação do óleo essencial do fruto	61
Figura 25 – Espectro de Massas do octanoato de metila identificado após esterificação do óleo essencial do fruto.....	62
Figura 26 – Espectro de Massas do decanoato de metila identificado após esterificação do óleo essencial do fruto.....	62
Figura 27 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Morinda citrifolia</i>	63
Figura 28 – Espectro de Massas e estrutura química do fitol identificado no óleo das folhas de <i>Morinda citrifolia</i>	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Metabólitos secundários isolados de <i>Morinda citrifolia</i>	25
Tabela 2 – Metabólitos secundários isolados da <i>Morinda citrifolia</i> , separados por classes.....	29
Tabela 3 – Micro-organismos testes utilizados na atividade antimicrobiana.....	52
Tabela 4 – Rendimentos das extrações dos óleos essenciais.....	55
Tabela 5 – Compostos identificados no óleo essencial do caule de <i>Morinda citrifolia</i>	56
Tabela 6 – Composição química do óleo essencial do fruto	58
Tabela 7 – Compostos identificados no óleo essencial das folhas de <i>Morinda citrifolia</i>	64
Tabela 8 – Concentração Mínima Inibitória dos óleos essenciais de <i>M. citrifolia</i> frente às bactérias <i>S.aureus</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>E.coli</i> e <i>P.aeruginosa</i>	65
Tabela 9 – Concentração Mínima inibitória dos óleos essenciais de <i>M. citrifolia</i> frente aos fungos <i>C. albicans</i> e <i>C.utilis</i>	66

LISTA DE ABREVIATURAS

CG-EM – Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas

CMI – Concentração Mínima Inibitória

CPS – *Staphylococcuscoagulase* positivo

COX – Ciclo-oxigenase

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DTAs – Doenças transmitidas por alimentos

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LLC – Carcinoma de Pulmão Lewis

LOX – Lipoxigenase

K-ras-NRK – Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog

SE – Enterotoxinas estafilocócicas

TPA – 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato

1 INTRODUÇÃO

A fitoterapia tem sido utilizada desde a antiguidade, a utilização das plantas, como medicamento, é provável que seja tão antiga quanto o próprio homem, o primeiro relato escrito do uso de plantas como remédio foi encontrado na China 2800 a.C (ELDIN; DUNFORD 2001). As plantas medicinais são importantes fitoterápicos e fonte de novos medicamentos. Devido a essa importância há uma crescente revalorização do uso de preparações de fitoterápicos em alternativa aos medicamentos sintéticos, que em sua maioria, apresentam efeitos colaterais indesejáveis (SANTOS, 2015).

A investigação de plantas como fonte de substâncias capazes de inibir o crescimento e desenvolvimentos de micro-organismos associados a patologias humanas (como bactérias, fungos, vírus e parasitas) vem crescendo ao longo dos anos (KNAAK; FIUZA, 2010). Inserido neste contexto, os óleos essenciais têm se destacado como uma fonte alternativa no controle de micro-organismos patológicos. Os óleos essenciais são caracterizados como compostos voláteis oriundos do metabolismo secundário de diversos organismos, principalmente de plantas, sendo estes obtidos por diversos métodos de extração como: esmagamento do pericarpo de frutas cítricas, extração por solvente e hidrodestilação, sendo o método da hidrodestilação o mais utilizado. A biossíntese destes metabólitos presentes nos óleos essenciais, geralmente é associada à presença de estruturas especializadas, e influenciados por fatores bióticos e abióticos ao qual o organismo produtor é submetido. Os óleos essenciais possuem compostos responsáveis pelo aroma ou odor de muitos organismos e têm se mostrado promissores na busca por substâncias com diferentes atividades biológicas (SIMÕES, 2007).

Alguns micro-organismos como bactérias e fungos, são os principais agentes de doenças causadas pela ingestão de água e alimentos contaminados, conhecidas como Doenças Disseminadas por Alimentos (DTAs), que vem aumentando de modo significativo em nível mundial o que a torna questão de saúde pública acarretando problemas para os consumidores

e agências reguladoras (FORSYTHE, 2013). Devido à capacidade dos microorganismos desenvolverem resistência aos antibióticos convencionais, os óleos essenciais podem constituir uma alternativa no controle de microorganismos que causam a deterioração alimentar e toxinfecções em mamíferos, pois atuam de forma efetiva na inibição do seu crescimento (ANDRADE, 2013).

Apesar da ampla utilização dos óleos essenciais, alguns de seus constituintes apresentam propriedades citotóxicas, hepatotóxicas, genotóxicas e carcinogênicas, o que torna importante sua ampla caracterização, visando a uma melhor compreensão de sua ação em diferentes sistemas biológicos, possibilitando a indicação de aplicações seguras tanto na saúde quanto na alimentação humana (BAKKALI *et al.*, 2008).

Estudos prévios com a *Morinda citrifolia* L. (noni) revelaram que esta planta apresenta diversas propriedades terapêuticas, por exemplo, atividade antioxidante, antiinflamatória, analgésica, antibacteriana e antitumoral. Estes estudos aumentam a demanda e oferta da planta no mercado informal não só nos países produtores como Taiti, Polinésia e Malásia, mas também nos Estados Unidos, Japão, Europa e América Latina (ASSI, 2015).

A espécie *Morinda citrifolia* contém vários compostos químicos biologicamente ativos. O número de compostos relatado em *Morinda citrifolia* aumentou consideravelmente à medida que o seu uso na medicina popular tem sido altamente difundido (PAWLUS; KINGHORN, 2007). Os compostos produzidos por *Morinda citrifolia* podem ser explorados como medida alternativa no controle microbiano.

Apesar da importância dessa planta para usos terapêuticos tradicionais os relatos quanto à atividade biológica dos derivados de *Morinda citrifolia* remetem-se aos extratos de várias partes da planta, não existindo trabalhos que relatam a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais dos diferentes tecidos da planta cultivada em Pernambuco. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição química dos óleos essenciais nos caules,

folhas e frutos de *Morinda citrifolia*, assim como determinar a atividade antimicrobiana destes óleos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais podem ser definidos como uma mistura de compostos voláteis originados principalmente de metabolismos secundários de plantas (BASER; DEMIRCI, 2007; BURT, 2004). Estas substâncias são encontradas em diferentes partes do vegetal como casca, folhas, flores e frutos de aromas variáveis (BURT, 2004).

Na natureza os constituintes químicos de óleos essenciais exercem um papel importante para proteção das plantas, podendo atuar como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e contra ataque de herbívoros. Eles podem agir como sinônimo na interação entre insetos polinizadores e plantas, ou como alomônio contra herbívoros, além de agirem como inibidores de germinação (alelopatia), no controle de perda da água e de temperatura (PICHERSKY; GANG, 2000).

A caracterização química total talvez seja umas das partes mais complexas nos trabalhos com óleos essenciais, devido à complexidade para a identificação dos compostos e existência de vários métodos para identificar cada volátil (CASTRO *et al.*, 2004). Os óleos essenciais apresentam diversidade variada em constituintes químicos. São comuns óleos nos quais são identificados mais de 60 compostos de diversas classes químicas (BURT, 2004; CASTELO *et al.*, 2010). As classes mais encontradas são os fenilpropanóides, terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos) e seus derivados oxigenados (ISMAN *et al.*, 2011; SANGWAN *et al.*, 2001). Uma característica comum entre essas moléculas é o baixo peso molecular e a pouca variedade de átomos em suas composições, basicamente hidrogênio, carbono e oxigênio. Também são encontrados alguns compostos contendo átomos de nitrogênio ou enxofre que conferem aos óleos odores característicos e geralmente desagradáveis (CARSON; HAMMER, 2011).

2.2 Análise química da composição dos óleos essenciais

Os óleos essenciais constituem uma mistura complexa. O conhecimento da composição desses óleos tem avançado muito nos últimos anos em virtude do desenvolvimento de diversas técnicas para a identificação de compostos orgânicos. Os principais métodos são: Espectroscopia no Ultravioleta, Espectroscopia no Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de massa (CG-EM) (PAVIA, 2009).

A Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas CG-EM é amplamente aceita e usada na caracterização química dos óleos essenciais, sendo considerada uma técnica robusta e seletiva para este fim (MARRIOTT *et al.*, 2001; BROCHINI; LAGO, 2007, JALALIHRAVI; PARASTAR, 2011).

A técnica de CG-EM é uma ferramenta valiosa, pois além de fornecer os tempos de retenção dos vários produtos da amostra, ainda fornece informações das estruturas através dos espectros de massas gerados em cada pico. Espectros obtidos por impacto de elétrons apresentam um grande número de picos e boa reprodutibilidade em razão de alta energia transferida pelos elétrons, da ordem de 70 eV, e em virtude a reduzida quantidade de variáveis envolvidas no processo (apenas temperatura e energia fornecida) (HÜBSCHMANN, 2009). A reprodutibilidade desses espectros permitiu a construção de bibliotecas comerciais de compostos como NIST/WPA/NIH/ADAMS (HÜBSCHMANN, 2009; SHELLIE *et al.*, 2002).

2.3 A planta

Noni é o nome popular havaiano para o fruto de *Morinda citrifolia* (Rubiácea). O noni possui vários nomes dentre eles podemos destacar “mulberry Indian”, nuna, ou “ach” no Subcontinente indiano, “mengkudu” na malásia, e “nhau” no Sudeste Asiático, (NELSON, 2001). O noni é uma planta nativa do sudeste asiático à Austrália e é cultivada na Polinésia, Índia, Caribe, América Central, Norte e Sul (DIXON *et al.*, 1999).

O povo polinésio utiliza o fruto do noni para a alimentação e fins medicinais por mais de 2000 anos, na farmacologia tradicional, o fruto é muito utilizado para prevenir e curar várias doenças, como hipertensão e diabetes (SINGH, 2012).

Estudos prévios com a *Morinda citrifolia* mostram que a planta apresenta propriedades terapêuticas, como: atividade antioxidante, antiinflamatória, analgésica, antibacteriana e antitumoral bem como potencialidade para pesticida (ASSI *et al.*, 2015).

Apesar da grande demanda internacional pelos produtos oriundos desta espécie, principalmente o suco da fruta, no Brasil é bastante recente a tentativa de cultivo do noni, realizado principalmente por pessoas que trouxeram algumas sementes do Caribe ou da Polinésia e se tornaram vendedores de sementes e mudas. No entanto, no Brasil, nos últimos 10 anos aumentou o interesse no seu cultivo (MATTE *et al.*, 2016). Devido a todas as características benéficas atribuídas ao fruto do noni, seus derivados já são comercializados no mundo todo, incluindo o Brasil. No entanto as informações científicas relacionadas à composição química e nutricional do fruto ainda são escassas, principalmente ao noni que está sendo cultivado no Brasil (CORREIA, 2012). Uma vez que a composição química dos frutos varia em geral de acordo com o local e condições edafoclimáticas como (clima, relevo e temperatura) sendo fundamental estudar a composição do fruto cultivado no Brasil.

Atualmente a ANVISA proíbe a comercialização de produtos do noni no Brasil. Segundo a agência, ainda não existem informações científicas suficientes que assegurem o consumo do noni. Independente da comercialização no Brasil, já existe um mercado externo para o uso de diversas partes do noni. No entanto, ao contrário da área farmacológica, são poucos os estudos sobre a composição química do óleo essencial dos diferentes tecidos de *Morinda citrifolia*, bem como o seu processamento.

2.4 Considerações Botânicas da *Morinda citrifolia*

O gênero *Morinda* (Rubiaceae), incluindo a espécie em estudo *Morinda citrifolia* L., é composta por 80 espécies catalogadas (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006). A *Morinda citrifolia*, pode ser encontrada a 400m ao nível do mar, porém a planta se adapta melhor em regiões costeiras (LUBERCK ;HANNES, 2001).



Figura 1 – Árvore de *Morinda citrifolia*.

A *Morinda citrifolia* é uma árvore de médio porte que pode variar entre 3-10 m de altura (Figuras 1-2), as folhas são largas e elípticas variando entre 5-17 cm de comprimento e 10-40 cm de largura (Figura 3). As pequenas flores são brancas (Figura 4) e inseridas no pendúculo (CARDON, 2003).

As frutas do Noni podem atingir até 10 cm de comprimento e 6 cm de largura, apresentam-se ovais, carnosas, ligeiramente enrugadas, semi-translúcidas, com uma coloração que varia entre verde ao amarelo e, após a colheita, os frutos apresentam-se com um odor forte desagradável e contem uma quantidade expressiva de sementes (Figura 5) (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006). As frutas apresentam, aproximadamente, 260 sementes por fruto e são necessários em torno de 10 kg de fruta para obter 250 g de sementes secas. Essas sementes apresentam com uma coloração marrom e medição entre 4 e 9 mm (NELSON, 2005). O período de florescência da planta compreende de novembro a fevereiro. As várias partes da planta são coletadas em diferentes épocas do ano, sendo as raízes coletadas no inverno e as folhas na primavera (WANG *et al.*, 2002). *Morinda citrifolia* é uma planta perene, sendo normal encontrar frutas em diferentes estágios de maturidade na mesma planta (Figura 6). Todas as partes da planta; frutos, folhas, cascas, tronco e raízes são usadas para fins terapêuticos (ASSI *et al.*, 2015).



Figura 2 – Árvore de Noni, entre rochas, Samoa.
Fonte: (NELSON, 2005)



Figura 3 – Folhas de *Morinda citrifolia*.

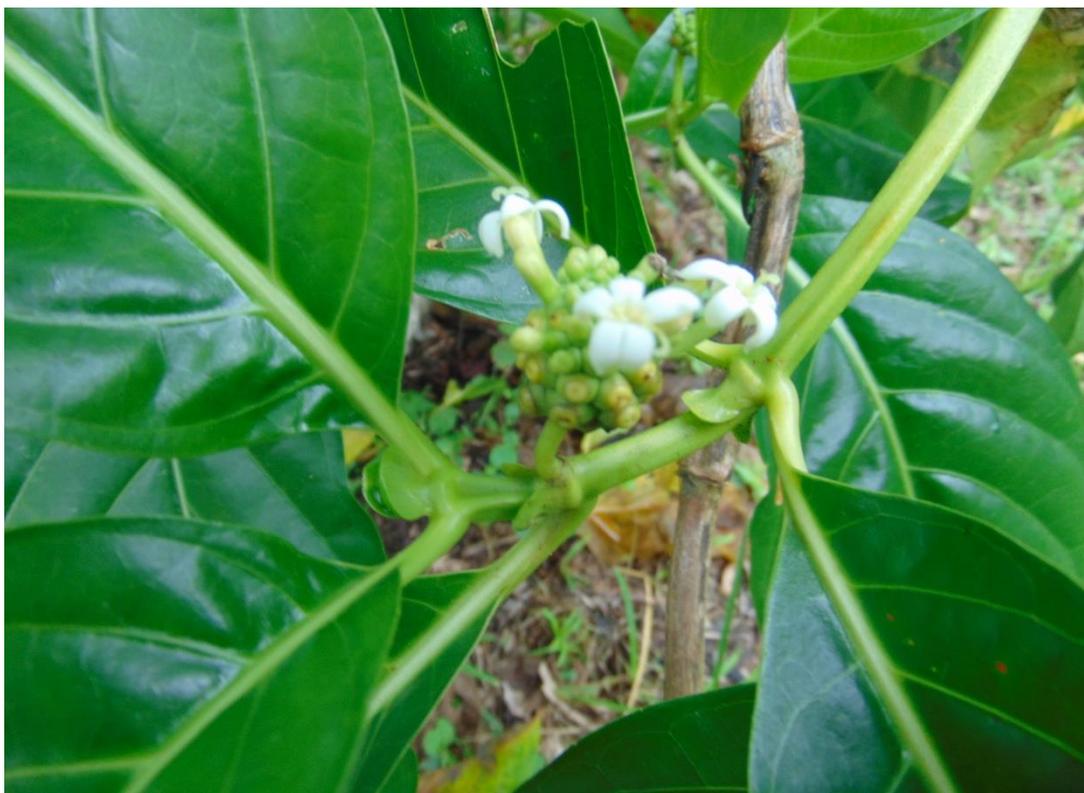


Figura 4 – Flores de *Morinda citrifolia*



Figura 5 – Semente de *Morinda citrifolia*
Fonte: (NELSON, 2005)



Figura 6 – Frutos em diferentes estados de maturação de *Morinda citrifolia*
Fonte: (NELSON, 2005)

No Brasil o noni é coletado de duas a três vezes por ano, no entanto, durante o inverno, a produção é reduzida (EMBRAPA, 2016), sendo considerada uma espécie resistente. Em condições de cultivos ideais, exposição ao sol e temperatura amena, não apresentam patologias ou danos causados por insetos.

2.5 Estudos químicos realizados com a espécie *Morinda citrifolia* L. (Noni)

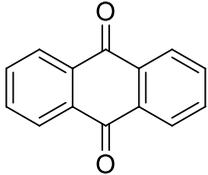
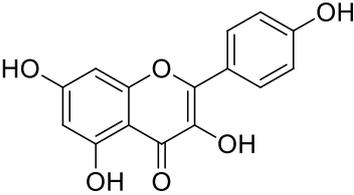
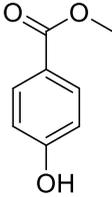
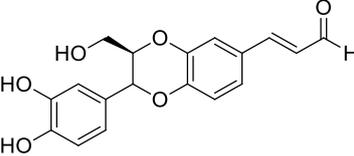
Cerca de 200 compostos já foram identificados em diferentes partes da planta a maioria desses são os compostos fenólicos, ácidos carboxílicos, iridóides, lignanas, entre outros (SINGH, 2012). Dos grupos fenólicos presentes, a sua grande maioria é antraquinonas e seus glicosídeos (damnacantal, morindona, morindina, escopoletina, alizarina, austrocortinina, rubiadina) (ASSI *et al.*, 2015). Estudos indicam que as antraquinonas estão presentes principalmente nas raízes (DENG *et al.*, 2007b) e caule (SRIVASTAVA; SINGH, 1993). No entanto, há relatos de traços de antraquinonas nas flores (TIWARI; SINGH, 1977), frutos (LIN *et al.*, 2013; KAMIYA *et al.*, 2005), e folhas (TAKASHIMA *et al.*, 2007).

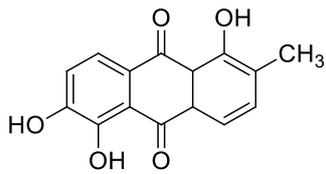
A composição química total do fruto do noni ainda não foi descrita por completo, porém foram identificados 51 compostos voláteis na fruta destacando-se os ácidos hexanóico e octanóico (ASSI *et al.*, 2015). O fruto apresenta 90,0% de água e rico em proteínas, que representa 11,3% da matéria seca do fruto, os principais aminoácidos encontrados foram o ácido aspártico, ácido glutâmico e isoleucina (ASSI *et al.*, 2015). Os minerais representam 8,4% da matéria seca do fruto, e os principais são o potássio, cálcio e fósforo. Traços de selênio têm sido descrito também no fruto da *Morinda citrifolia* (CHUNHIENG, 2003). As principais vitaminas encontradas no fruto são o ácido ascórbico (vitamina C), variando de 24 – 158 mg/100 g matéria seca (SHOVIC; WHISTHER, 2001) e pró-vitamina A (DIXON *et al.*, 1999).

Após levantamento bibliográfico utilizando as ferramentas de busca SciFinder®, Scholar™ e Scopus, foi listado trabalhos e apresentados na

(Tabela 1), contendo as estruturas químicas com as respectivas ações farmacológicas e o tecido da planta de onde foram isoladas.

Tabela 1 – Metabólitos secundários isolados de *M. citrifolia*.

Substâncias isoladas de <i>Morinda citrifolia</i> L. que apresentam atividades biológicas			
Substância	Atividade	Parte da Planta	Referência
 <p>9,10-antracenodiona</p>	Antiinflamatória	Fruta	(PRATAP, <i>et al.</i> , 2017)
 <p>Kaempferol</p>	Antiviral	Fruta	(PAUL <i>et al.</i> , 2015)
 <p><i>p</i>-hidroxibenzoato de metila</p>	Antibacteriano	Folha	(ZHANG <i>et al.</i> , 2016)
 <p>Americanina A</p>	Antioxidante	Folha ¹ Semente ² Fruta ³	(1MASUDA <i>et al.</i> , 2009) (2LIN <i>et al.</i> , 2007; SU <i>et al.</i> , 2005) (3KONVEDANA <i>et al.</i> , 2014)

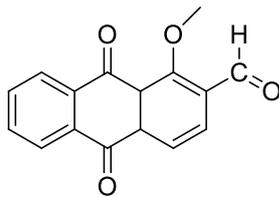


Morindona

Anticâncer

Raiz

(KAMIYA *et al.*, 2010)



Damnacantal

Anticâncer

Raiz

(KAMIYA *et al.*, 2010;

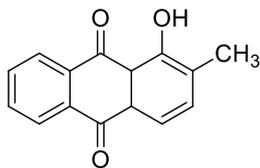
Larvicida

Caule

WITAYASINTHAN;

Fruto

; SHOTIPRUK, 2009; ABU, 2014)



1-hidro-2-metilntraquinona

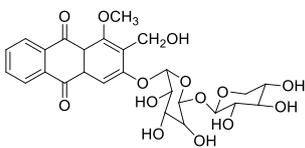
Larvicida

Raiz

(EE *et al.*, 2009; PING *et al.*, 2009)

Caule

(SIDDIQUI *et al.*, 2007)

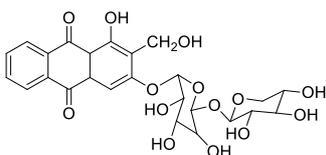


Damnacantol-3-O-b-D-primeverosídeo

Hipoglicemiante

Raiz

(KAMIYA *et al.*, 2008)

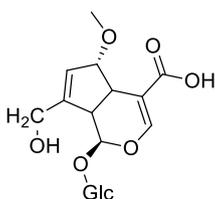


Lucidina-3-O-b-D-primeverosídeo

Hipoglicemiante

Raiz

(KAMIYA *et al.*, 2008)

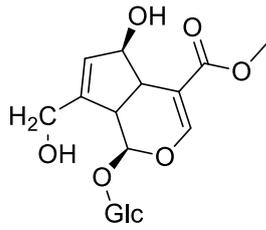


Ácido 9-epi-6-Metoxi geniposídico

Atividade inibitória de melanomas

Fruta

(AKIHISA *et al.*, 2007)

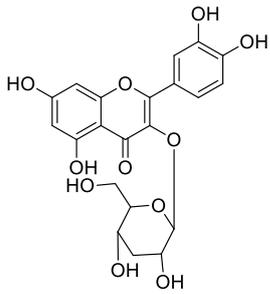


Éster metil scandosídeo

Atividade
inibitória de
melanomas

Fruta

(AKIHISA *et al.*,
2007)

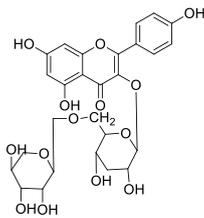


Quercetina-3-O-D- glucopiranosídeo

Antioxidante

Folha

(SANG *et al.*,
2001)

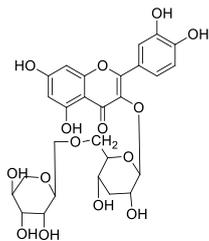


Kaempferol-3-O-R-L-ramnopiranosil-(1-6)-
D- glucopiranosídeo

Antioxidante

Folha

(SANG *et al.*,
2001)

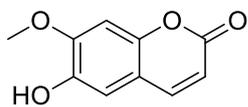


Quercetina-3-O-R-L-ramnopiranosil-(1-6)-
D- glucopiranosídeo

Antioxidante

Folha

(SANG *et al.*,
2001)

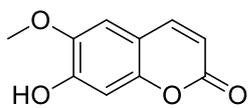


Isoscopoletina

Antioxidante

Raiz

(LIU *et al.*, 2007)

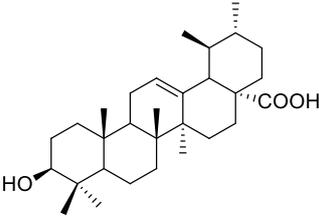
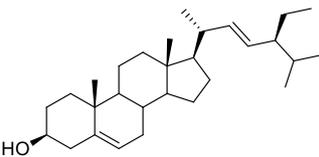
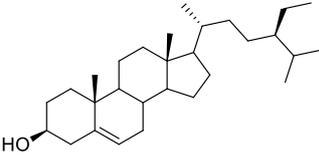
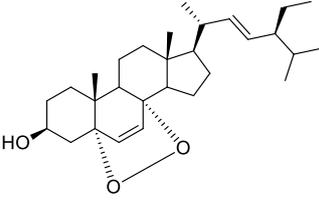
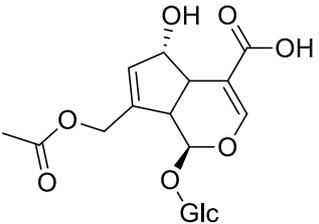


Escopoletina

Antiinflamatório

Fruta

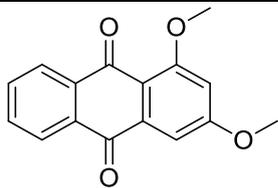
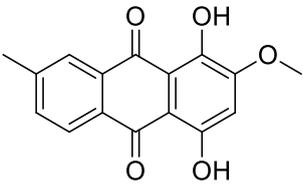
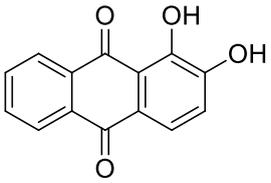
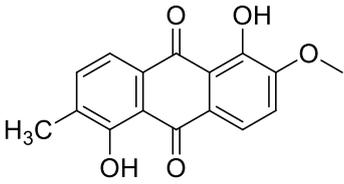
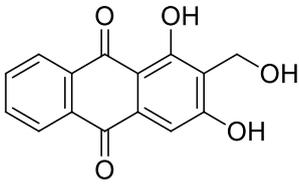
(YU *et al.*, 2008;
MAHANTHESH *et al.*, 2013)

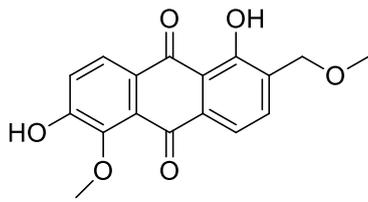
	<p>Antiinflamatório</p> <p>Antinefropático</p> <p>Antifúngico</p> <p>Antileishmanial</p> <p>Antiplasmódial</p>	Semente	(MASUDA <i>et al.</i> , 2009)
<p>Ácido ursólico</p>		Folha	(TAKASHIMA <i>et al.</i> , 2007) (KUREK <i>et al.</i> , 2010) (SILVA FILHO <i>et al.</i> , 2009);
	Antitubercular	Semente	(SALUDES <i>et al.</i> , 2002)
<p>Estigmasterol</p>		Folha	(SALUDES <i>et al.</i> , 2002)
	Antitubercular	Semente	(WEST <i>et al.</i> , 2008)
<p>B-sitosterol</p>		Folha	(SALUDES <i>et al.</i> , 2002)
	Antitubercular	Folha	(SALUDES <i>et al.</i> , 2002)
<p>Epidioxisterol</p>			
	<p>Atividade inibitória de melanomas</p> <p>Atividade inibitória de células tumorais</p>	Fruta	(AKIHISA <i>et al.</i> , 2010)
<p>Ácido asperulosídico</p>		Raiz	(LIU <i>et al.</i> , 2001)

(ASSI, 2015; PRATAP, 2017)

Na (Tabela 2) estão listados as estruturas dos metabólitos secundários isolados da planta de acordo com a classe a que pertencem.

Tabela 2 – Outros metabólitos secundários isolados da *Morinda citrifolia*, separados por grupos.

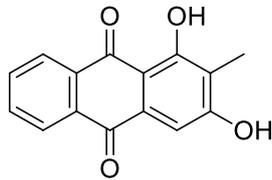
ANTRAQUINONAS		
Substância	Parte da Planta	Referência
 <p>1,3-dimetoxiantraquinona</p>	Fruta	(SIDDIQI <i>et al.</i> , 2007b)
 <p>Austrocortinina</p>	Fruta	(KIM <i>et al.</i> , 2006)
 <p>Alizarina</p>	¹ Folha ² Fruta ³ Raiz	(¹ DENG <i>et al.</i> , 2009) (² SIDDIQI <i>et al.</i> , 2007b) (³ DENG <i>et al.</i> , 2007a)
 <p>Morindona-6-metiléter</p>	Raiz	(EE <i>et al.</i> , 2009)
 <p>Lucidina</p>	Folha e fruta	(DENG <i>et al.</i> , 2009)



5,15-dimetilmorindol

Fruta¹
Semente²
Folha³

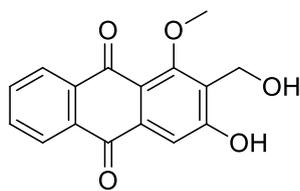
(¹DENG *et al.*, 2009)
(²YANG *et al.*, 2009)
(³ZHANG, *et al.*, 2016)



Rubiadina

Raiz

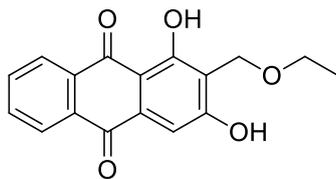
(SANG E HO, 2006)



Damnacantol

Raiz

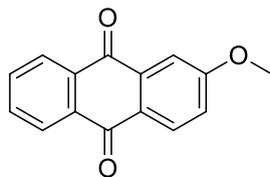
(SANG E HO, 2006)



Ibericina

Raiz

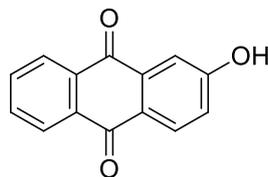
(SANG E HO, 2006)



2 - metoxiantraquinona

Caule

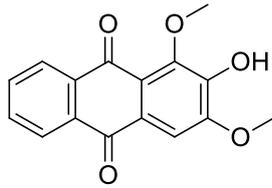
(SIDDIQUI *et al.*, 2006)



2-hidroxiantraquinona

Caule

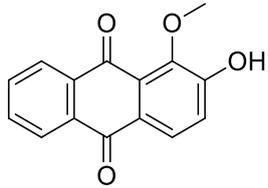
(SIDDIQUI *et al.*, 2006)



Antragalol-1,3-dimethyleter

Fruta

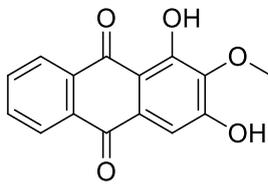
(KAMIYA *et al.*, 2005)



Alizarina -1 methyleter

Fruta

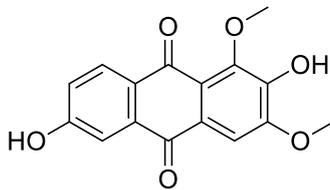
(KAMIYA *et al.*, 2005)



Antragalol-2-methyleter

Fruta

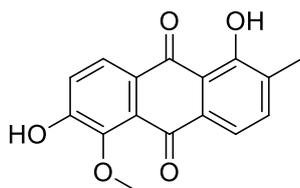
(KAMIYA *et al.*, 2005)



6-hidroxi-antragalol-1,3-dimethyleter

Fruta

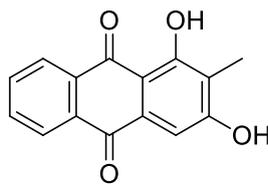
(KAMIYA *et al.*, 2005)



Morindona-5-methyleter

Fruta

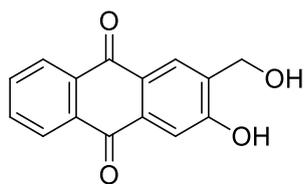
(KAMIYA *et al.*, 2005)



1,3-dihidroxi-2-metilantraqinona

Folha

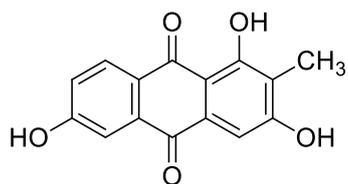
(DENG *et al.*, 2007a)



3-hidroxi-2-hidroxi-metil-antraquinona

Folha

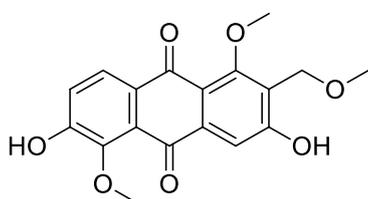
(DENG *et al.*, 2007a)



1,3,6-triidroxi-2-metil-antraquinona

Folha

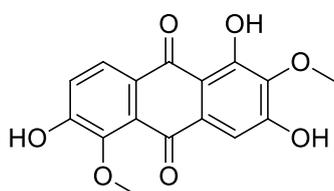
(DENG *et al.*, 2007a)



1,5,15-trimetil morindol

Folha¹
Semente²

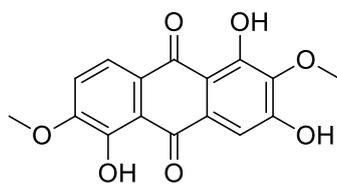
(¹YANG *et al.*, 2009)
(²TAKASHIMA *et al.*, 2007)



1,6-diidroxi-5-metoxi-2-metoximetil-antraquinona

Fruta

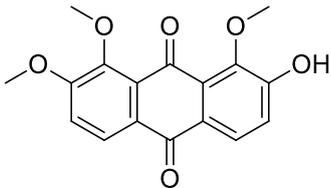
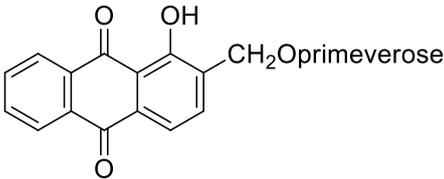
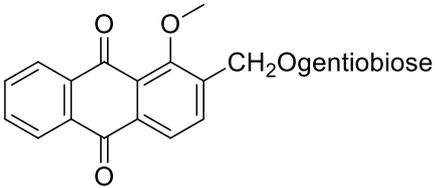
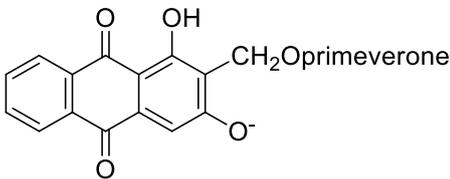
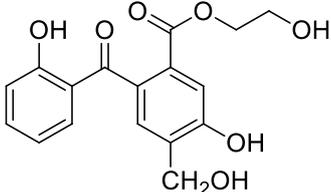
(LIN *et al.*, 2007)

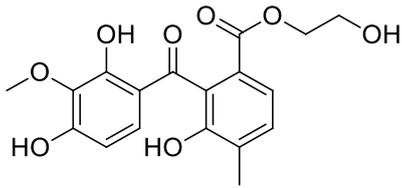


1,3,5-triidroxi-2-metoxi-6-metoximetil-antraquinona

Fruta

(LIN *et al.*, 2007)

 <p>Morindicinona</p>	Caule	(SIDDIQUI <i>et al.</i> , 2006)
 <p>Digiferruginol-11-O-B-primeveroside</p>	Raiz	(KAMIYA <i>et al.</i> , 2009)
 <p>Digiferruginol-1-metileter-11-O-B-gentiobioside</p>	Raiz	(KAMIYA <i>et al.</i> , 2009)
 <p>1-hidroxi-2-primeverosiloximetil-antraquinona-3-olato</p>	Raiz	(KAMIYA <i>et al.</i> , 2009)
BENZOFENONAS		
 <p>Morintrifolina A</p>	Raiz	(DENG <i>et al.</i> , 2007 a)

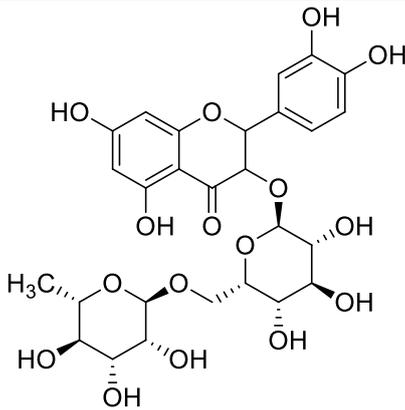


Morinrifolina B

Raiz

(DENG *et al.*, 2007 a)

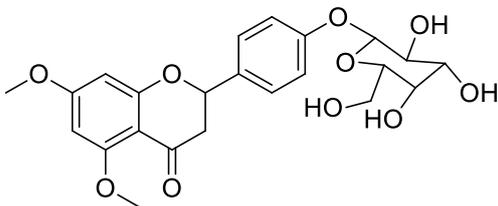
FLAVONÓIDES



Quercetina-3-O-L-ramnopiranosil-(1-6)-
D-glucopiranosídeo

Semente

(YANG *et al.*, 2009)

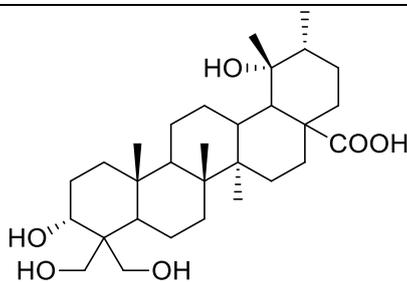


5,7-dimetil apigenin-4'-O-
D-galactopiranosida

Flor

(SINGH E TIWARI, 1993)

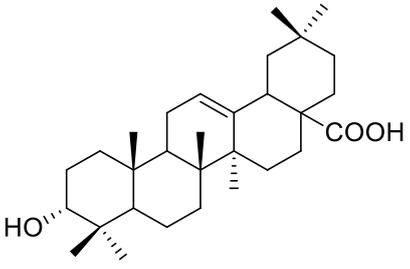
TRITERPENOS



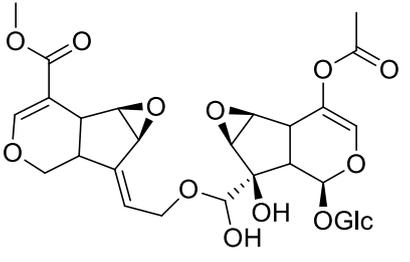
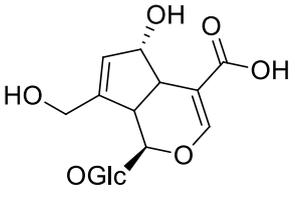
Ácido clétrico

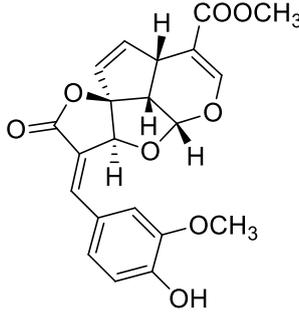
Folha

(TAKASHIMA *et al.*, 2007)

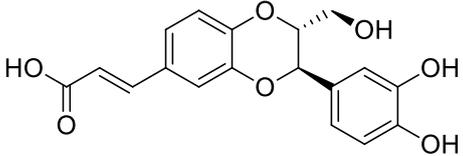
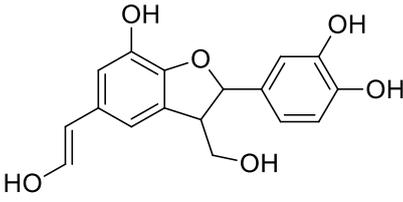
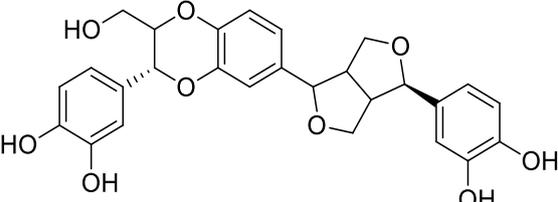
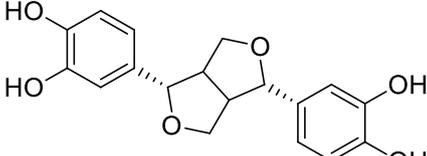
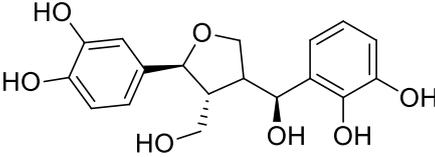
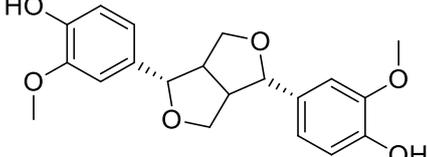
 <p data-bbox="403 488 603 521">Ácido oleanólico</p>	Folha	(TAKASHIMA <i>et al.</i> , 2007)
---	-------	----------------------------------

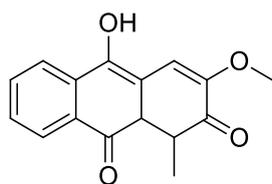
IRIDÓIDES

 <p data-bbox="403 929 563 963">Citrifolinina A</p>  <p data-bbox="331 1232 670 1265">Ácido deacetilasperulósido</p>	Folha	(SANG <i>et al.</i> , 2001)
	Fruta ^{1,4} Semente ² Raiz ³	<p>(¹AKIHISA <i>et al.</i>, 2010)</p> <p>(²YANG <i>et al.</i>, 2009)</p> <p>(³KAMIYA <i>et al.</i>, 2008)</p> <p>(⁴AKIHISA <i>et al.</i>, 2007)</p>

 <p data-bbox="427 1713 563 1747">Molucidina</p>	Folha	(SUZUKI, 2015)
---	-------	----------------

LIGNANAS

 <p style="text-align: center;">Ácido isoamericanóico A</p>	Folha	(LIN <i>et al.</i> , 2007)
 <p style="text-align: center;">Americanina D</p>	Semente ¹ Fruta ²	(¹ YANG <i>et al.</i> , 2009) (² LIN <i>et al.</i> , 2007)
 <p style="text-align: center;">Isoprincepino</p>	Semente ¹ Fruta ²	(¹ YANG <i>et al.</i> , 2009) (² KAMIYA <i>et al.</i> , 2004)
 <p style="text-align: center;">3,3' - bisdimetilpinoresinol</p>	Fruta	(DENG <i>et al.</i> , 2007b) (KAMIYA <i>et al.</i> , 2004)
 <p style="text-align: center;">3,3' - bisdimetiltanegool</p>	Fruta	(DENG <i>et al.</i> , 2007b)
 <p style="text-align: center;">Pinoresinol</p>	Fruta	(DENG <i>et al.</i> , 2007b)



Morindiconone

Caule

(SIDDIQI *et al.*, 2007 a)

(ASSI, 2015; ZHANG, 2016).

2.6 Atividades biológicas de *Morinda citrifolia* L. (Noni)

2.6.1 Atividade antimicrobiana

Estudos apontaram resultados para atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído do fruto frente à *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* (BROPHY *et al.*, 2008).

A atividade antimicrobiana do noni foi uma das primeiras atividades a ser relatada. Em relato prévio, o extrato etanólico dos frutos do noni inibiu o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomas aeruginosa*, *Proteus morganü*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella sp.* e *Shigella sp.* (ATKINSON, 1956). O efeito antimicrobiano do noni foi associado à presença de alguns compostos fenólicos destacando-se acubina, L-asparulose, alizarina, escopoletina (Figura 7) e algumas antraquinonas (AKIHISA, 2007). Em outro estudo um extrato de acetonitrilo do fruto seco inibiu o crescimento de *Pseudomas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Streptococcus pyogene* (LOCHER *et al.*, 1995).

O extrato metanólico do fruto de *Morinda citrifolia* coletado no Taiti inibiu “*in vitro*” o crescimento da *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus* (WEST *et al.*, 2012).

Extratos de etanol e hexano do fruto do noni mostraram atividade contra a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* com inibição de 89-95% do seu crescimento que está associado à tuberculose (SALUDES *et al.*, 2002). Os

principais componentes identificados no extrato de hexano foram o *E*-fitol, cicloartenol, estigmasterol, β -sitosterol, campesta-5,7,22-trien-3- β -ol, e os cetoesteróides, estigmata-4-en-3-ona e estigmata-4-22-dien-3-ona (SALUDES *et al.*, 2002).

Outros estudos com o noni oriundo de Samoa têm relatado um efeito antimicrobiano significativo do extrato metanólico do fruto em diferentes estirpes de *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* e *E. coli* (DITMMAR, 1993). Estudos mostraram que o efeito antimicrobiano está diretamente ligado ao estágio de maturação do fruto, logo a atividade é mais pronunciada em fruto maduro e fresco (DITMMAR, 1993).

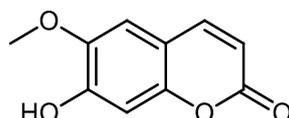


Figura 7 – Escopoletina substância com atividade antimicrobiana.

Pesquisas demonstraram que o extrato clorofórmico das folhas de *Morinda citrifolia* interfere na conversão morfológica da *C. albicans* e podem ter potencial terapêutico frente à candidíase (USHA *et al.*, 2010).

Foi relatado que ensaios “*in vitro*” com o extrato metanólico da fruta de *Morinda citrifolia* coletada na Índia inibiu o crescimento do fungo de pele *Trichophyton mentagrophytes* (JAYARAMAN *et al.*, 2008)

2.6.2 Atividade antitumoral

Em uma triagem na busca de compostos naturais que induzem a morfologia normal das células precursoras do Cancro Tumoral K-ras-NRK, a antroquinona damnacantal (Figura 8) isolada do extrato de clorofórmio da raiz de *Morinda citrifolia* apresentou atividade inibidora da função *ras*, induzindo a

morfologia normal e estrutura do citoesqueleto nas células K-ras-NRK (HIRAMATSU *et al.*, 1993). O ácido ursólico composto isolado das raízes inibiu o crescimento de células causadoras de câncer pulmonar induzindo à apoptose (morte celular programada) dessas células (LV, 2011).

Em outro estudo foi relatado que doses diárias do suco de noni comercial (Tahitian Noni Juice) inibiram a formação de adutos carcinogênicos – DNA em ratos com diversos órgãos com tratamento de indução de câncer. As taxas de redução foram em fêmeas: coração 30%, fígado 42%, pulmões 41% e rins 80%; em machos: coração 60%, fígado 70%, pulmões 50% e rins 90% (WANG E SU, 2001).

Uma fração rica em polissacarídeos compostas por ácido glucurônico, galactose, arabinose e ramnose obtida do precipitado em etanol do suco de noni apresentou efeitos imunomoduladores e antitumorais contra carcinoma de pulmão Lewis (LLC), em modelos celulares. O precipitado também mostrou propriedade estimuladora na produção de células T, tímócitos e macrófagos que são responsáveis pela produção de citocinas, que são mediadores importantes da citostase tumoral e da citotoxicidade (HIRAZUMI *et al.*, 1996, HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999).

Em testes “*in vivo*” em ratos com leucemia linfóide crônica, e dieta diária de 15 mg de suco de noni apresentaram uma sobrevida de 119% quando comparados com os animais doentes sem dieta a base de noni. Além disso, a ingestão de noni combinada com quimioterapia convencional no tratamento em camundongos com Câncer resultou no aumento de sobre vida dos animais (HIRAZUMI *et al.*, 1994).

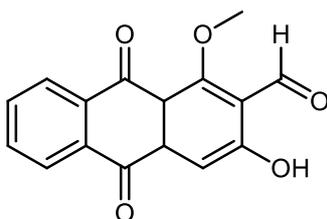


Figura 8 – Damnacantal substância com atividade anticâncer.

2.6.3 Atividade anti-inflamatória

A atividade anti-inflamatória do extrato aquoso do suco de noni foi observada em edema inflamatório local agudo, induzido por um agente inflamatório (bradicinina). Foi demonstrado que a administração oral de extrato aquoso do suco de noni (200 mg) inibiu rapidamente a formação de edema de pata de rato. Este efeito pode está relacionado com a interferência do mecanismo mediado, pelo receptor B2, pelo qual a bradicinina induz o edema da pata de rato (MCKOY *et al.*, 2002).

O 2-O-(D-glucopiranosil)-1-O-octanoil-D-Glucopiranose (Figura 9) encontrado no extrato metanólico dos frutos de *Morinda citrifolia*, apresentou-se como potente anti-inflamatório sobre a inflamação induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) em ratos (AKIHISA *et al.*, 2007).

Estudos com o óleo fixo das sementes de *Morinda citrifolia* coletadas no Thaiti mostraram efeitos inibitórios no mecanismo de ação das enzimas COX-2 e LOX-5, enzimas que possuem papel fundamental na inflamação e na percepção da dor (PALU, 2012).

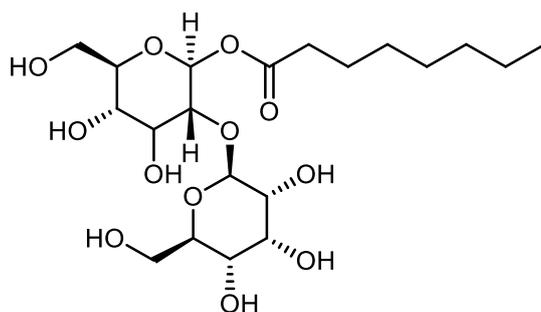


Figura 9 – Estrutura química do 2-O-(D-glucopiranosil)-1-O-octanoil-D-Glucopiranose.

2.6.4 Atividade analgésica

As propriedades analgésicas do suco do noni foram testadas em ratos e os resultados mostraram que os ratos alimentados com 10% e 20% de suco de noni apresentaram maior tolerância a dor (162% e 212%, respectivamente) em comparação com o grupo placebo (WANG *et al.*, 2002). Os efeitos analgésicos e sedativos em camundongos através dos testes de contorção (contagem de contorções da parede abdominal) e de placa quente (avalia o tempo em que o animal permanece sobre uma chapa metálica aquecida) mostrou que extrato etanólico da raiz de noni (1600 mg/kg) possui atividade analgésica significativa nos animais, semelhante ao efeito da morfina (75% e 81% de proteção com extrato de noni e morfina, respectivamente), sem apresentar toxicidade (YOUNOS *Et al.*, 1990).

2.6.5 Atividade cardiovascular

Pesquisas demonstraram os efeitos do noni na prevenção da arteriosclerose, uma doença relacionada à oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Os extratos metanólico e acetato de etila mostraram inibição da oxidação de LDL induzida pelo cobre com 88% e 96% de inibição, respectivamente, através do método da substância reativa do ácido tiobarbitúrico. Este efeito benéfico foi associado à presença de lignanas e dímeros de fenilpropanóides (KAMIYA *et al.*, 2004).

Foi isolado do fruto a lactona (+)-3,3'-bisdimetiltanegool (Figura 10) responsável pela inibição da 5- ou 15-lipoxigenase (DENG *et al.*, 2007).

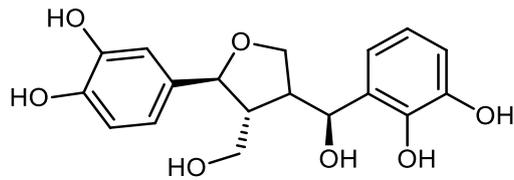


Figura 10 – Estrutura química do (+)-3,3'bisdimetiltanegool

2.7 Bactérias

São os principais micro-organismos responsáveis pelos processos de contaminação dos alimentos, devido a sua abundância e patogênese. Atuam sob numerosos tipos de substratos, sob várias faixas de temperatura e *pH*, assim como diversas condições do meio ambiente. Estes micro-organismos são agentes importantes na etiologia das DTAs de origem microbiana, sendo responsáveis pelo maior número de doenças e de mortes, sejam causadoras de infecções, toxinoses ou toxiinfecções (SOUSA, 2003; JAY, 2005).

Dentre as bactérias que causam patologias em humanos destacaremos nesse trabalho: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, e *Pseudomonas aeruginosa*, por se tratarem das bactérias utilizadas nos experimentos.

2.7.1 *Staphylococcus aureus*

As enterotoxinas estafilocócicas (SE) excretadas nos alimentos por estirpes enterotoxigênicas de *Staphylococcus coagulase* positivo (CPS), e *Staphylococcus aureus*, são responsáveis por um grande número de doenças por ingestão de alimentos contaminados em todo o mundo (PIRES, 2011).

S.aureus é uma das bactérias mais importantes entre os estafilococos. O transporte nasal é considerado uma fonte primária de contaminação de alimentos manipulados manualmente, bem como uma fonte de transmissão de

S. aureus entre humanos. Cerca de 20% de seres humanos saudáveis são estimados como colonizados persistentemente por *S. aureus*, enquanto que 60% podem ser colonizados intermitentemente (KLUYTMANS *et al.*, 1997).

A ingestão de toxinas produzidas e liberadas pelas bactérias durante sua multiplicação pode causar intoxicação alimentar, ocasionando risco à saúde humana. As enterotoxinas produzidas por algumas cepas de *S. aureus* foram reconhecidas como agentes causadores da intoxicação alimentar por estafilococos (SFP). A sua termoestabilidade e resistência relativamente elevada à proteólise sugerem que podem suportar tanto o tratamento térmico dos alimentos como a digestão no estômago. O consumo de produtos contendo enterotoxina provoca vômitos em seres humanos, freqüentemente acompanhados de gastroenterite (BALABAN; RASOOLY, 2000; LE LOIR *et al.*, 2003).

O tempo de incubação da doença pode variar de 30 minutos até 8 horas, todavia, na maioria dos casos, os sintomas aparecem entre 2 e 4 horas logo após a ingestão do alimento contendo este patógeno (FISHER *et al.*, 2007). Os sintomas típicos variam de náuseas a dor abdominal, vômitos, mialgia, diarreia, tontura, febre, prostração e cefaléia (HENNEKINE *et al.*, 2012).

2.7.2 *Bacillus subtilis*

O *Bacillus subtilis* é pertencente à família *Bacillaceae*, é um bastonete Gram-positivo, aeróbio facultativo, não patogênico, produtor de ácido acético, formados de esporos, podendo ser constantemente encontrado no solo (MAZZA, 1994). É uma das muitas bactérias encontradas no corpo humano, podendo também ser encontrada em plantas e no solo. Este tipo de bacilo só é prejudicial ao ser humano quando as colônias crescem de modo desordenado causando infecções, infecções essas que são chamadas de infecções alimentares, a pessoa contaminada pode sentir os efeitos em torno de 10 minutos, podendo durar até dois dias (LANNA *et al.*, 2010).

O *B. subtilis* é uma bactéria utilizada para estudar características de colônias. Ela cresce rapidamente sobre Agar em praticamente qualquer condição, possuindo características próprias (LANNA *et al.*, 2010). Esta bactéria largamente encontrada no solo, pelo fato de crescer em uma vasta gama de temperaturas e alta velocidade de crescimento, ainda apresenta capacidade de deslocar-se. Além disso, podem produzir endósporos (estruturas não reprodutivas, com função de garantir a sua sobrevivência a períodos de estresse ambiental), enzimas hidrolíticas e antibióticos (SLEPECKY; HEMPHILL, 2006).

2.7.3 *Escherichia coli*

A bactéria *Escherichia coli* é um micro-organismo patógeno do trato digestório do homem e dos animais de sangue quente. Apresentam-se na forma de bacilos Gram-negativos, pertencentes à família Enterobacteriaceae, não esporulados, aeróbicos ou não anaeróbicos facultativos, capazes de fermentar a glicose, produzindo ácido e gás (CROXEN, 2013).

E. coli possui cepas não patogênicas que tem como habitat o trato entérico de humanos e animais sadios, e cepas altamente patogênicas, responsáveis por provocarem surtos de doenças em humanos e animais com considerável taxa de mortalidade. Na ocorrência de cepas não patogênicas em alimentos e água indica contaminação direta ou indireta de origem fecal, sendo considerado o indicador clássico da possível presença de micro-organismos patogênicos (JAY, 2005).

Dentre as cepas de *E.coli*, existe um grupo capaz de provocar doenças em indivíduos humanos, dentre elas: a *E. coli* enteropatogênica (EPEC); a *E. coli* enteroinvasora (EIEC), a *E. coli* enterotoxigenica (ETEC) e a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) (CVE, 2010).

2.7.4 *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* pode causar infecção nosocomial grave (doença adquirida pela estadia em estabelecimentos de saúde), com alta taxa de mortalidade (OSMON, 2004). Esta espécie é uma bactéria Gram-negativa sendo causadora das principais infecções hospitalares, existem vários estudos publicados de diminuição da susceptibilidade de *P. aeruginosa* aos antimicrobianos no Brasil e demais países (ANDRADE, 2003; VAN, 2003). Podemos destacar a diminuição da sensibilidade aos antibióticos de maior espectro como os carbapenêmicos e as cefalosporinas anti-pseudomonas (NICOLETTI *et al.*, 2006).

P. aeruginosa pode ser encontrada no solo, água, plantas e mesmo animais, incluindo seres humanos (GALES *et al.*, 2001). Em ambientes hospitalares torna-se um agente infeccioso importante, principalmente em pacientes predispostos, que apresentam quebra de barreiras físicas e imunossupressão (PAVIANI *et al.*, 2004).

2.8 Fungos

São micro-organismos que convivem conosco, estes organismos são encontrados praticamente em qualquer local do ambiente que nos cerca, podendo causar doenças de origem alimentar, todavia são bem menores que as doenças causadas por bactérias (MURRAY, 2015).

Alguns fungos possuem a capacidade de produzir toxinas, chamadas de micotoxinas. Grande parte dessas micotoxinas afeta órgãos e tecidos, ocasionando diversas patologias crônicas. Os principais efeitos registrados são indução a neoplasias, lesão renal e depressão do sistema imune (MURRAY, 2015). Estão descritas as leveduras *Candida albicans* e *Candida utilis*, por serem utilizadas nos experimentos desse trabalho.

2.8.1 *Candida albicans*

É a espécie mais isolada de infecções superficiais e invasivas em diferentes sítios anatômicos de todas as partes do mundo. É uma levedura com potencial patogênico muito conhecido. Apresenta como principais fatores de patogenicidade e virulência a capacidade de aderência a diferentes mucosas e epitélios. O dimorfismo com produção de estruturas filamentosas, que auxiliam a invasão tissular, a termotolerância significativa, e a produção de enzimas como proteinases e fosfolipases. *C. albicans* é sensível a todas as drogas antifúngicas de uso sistêmico (DIGNANI *et al.*, 2003).

2.8.2 *Candida utilis*

Levedura geralmente empregada na indústria, principalmente em reações de fermentação não alcoólica, resultando assim em diversos compostos orgânicos (aminoácidos e enzimas), como por exemplo, o acetaldeído. Este microorganismo é capaz de utilizar alcoóis como fonte de carbono. Como patógeno é extremamente rara em fungemias (de baixa virulência, não acomete indivíduos com imunidade alta, podendo ser encontrada no trato digestivo de pacientes hospitalizados). Em cultura gera um distinto aroma que se assemelha ao de pêra (BOUGNOUX, 1993).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

- Determinar a composição química e avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Morinda citrifolia*.

3.2 Objetivos específicos:

- Obter por hidrodestilação os óleos essenciais das diferentes partes do noni;
- Identificar por CG-EM a composição química dos óleos essenciais extraídos dos diferentes tecidos de *Morinda citrifolia*;
- Determinar via CMI a ação antibacteriana do óleo essencial do fruto frente às bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonasaeruginosas*;
- Determinar via CMI a ação antifúngica do óleo essencial do fruto frente aos fungos: *Candida albicans* e *Candida utilis*;
- Obter o óleo essencial esterificado dos frutos do noni.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção do material vegetal

O material vegetal foi coletado em agosto de 2016 às 8h da manhã Campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (8°00'54.5"S; 34°57'05.2"O). Uma amostra vegetal da espécie foi identificada e prensada para montagem de exsicata que foi incorporada ao acervo do Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho da UFRPE com o número de registro 53466.

4.2 Extração dos óleos essenciais e cálculo do rendimento

Os óleos foram obtidos por hidrodestilação usando um aparelho de Clevenger modificado (Figura 11) (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2000).



Figura 11 – Aparelho de Clevenger modificado

Foram utilizados folhas, caules e frutos frescos. Utilizando-se 500g de cada material vegetal. As folhas foram trituradas, e o material vegetal foi colocado em um balão de 5 L e preenchido com 3,5 L com água destilada e submetidas à hidrodestilação por 2h, a fim de calcular os rendimentos. O mesmo procedimento aplicou-se para os caules e frutos.

Após 2h o hidrolato foi recolhido e os óleos essenciais foram extraídos três vezes com diclorometano (25 mL, 15 mL e 5 mL). As soluções contendo diclorometano foram tratadas com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) com o intuito de remover toda a água da solução, em seguida foram filtradas e concentradas em rotaevaporador. Os óleos foram pesados em balança analítica.

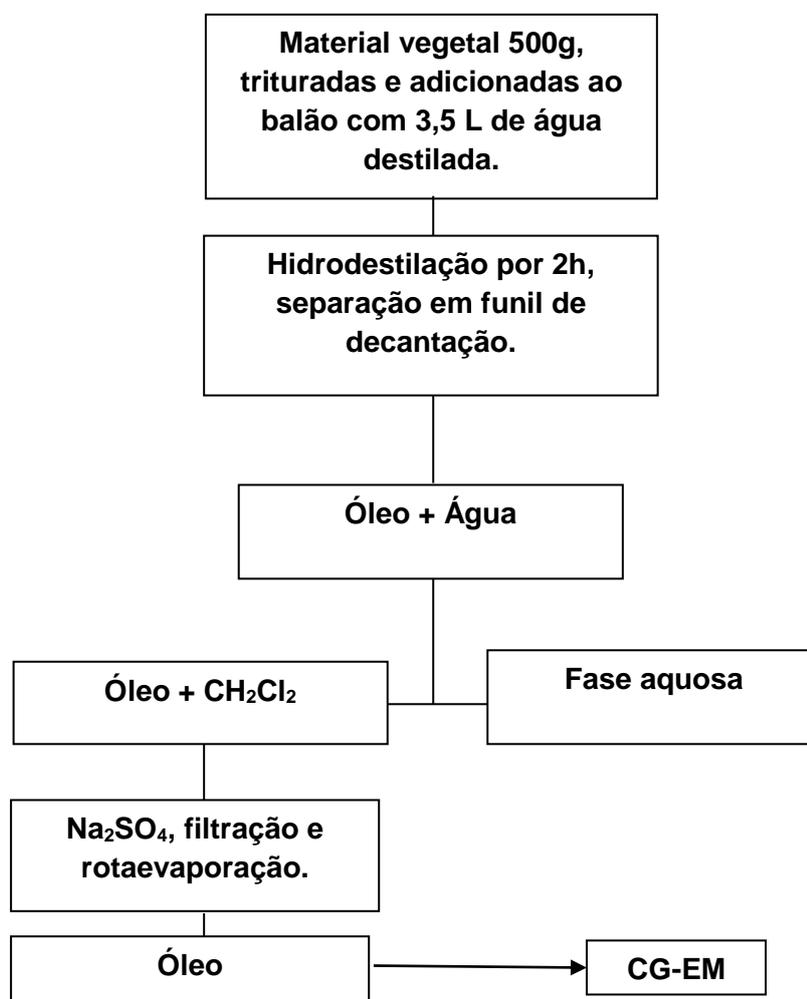


Figura 12 – Esquema da extração do óleo essencial

O rendimento dos óleos foi calculado utilizando a equação:

$$R(\%) = \frac{M_{\text{óleo}}}{M_{\text{planta}}} \times 100$$

Onde:

R(%) = rendimento da produção de óleo essencial.

$M_{\text{óleo}}$ = massa de óleo obtida (em g).

M_{planta} = massa das partes aéreas folhas, caule e frutos (em g).

Depois da pesagem, as amostras foram mantidas em refrigerador e ao abrigo da luz, para futuras análises cromatográficas e testes biológicos.

4.3 Obtenção dos ésteres metílicos do fruto do noni

Uma alíquota de 350 mg do óleo essencial do fruto foi dissolvida em 30 mL de metanol. Em seguida adicionou-se 1 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄), em seguida a reação refluxada por um período de 2h. Após o resfriamento foram adicionados 20 mL de solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) em seguida a mistura foi extraída três vezes (25 mL, 15 mL, 5 mL) com hexano (CAVALCANTE, 2015). A solução hexânica obtida foi tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada em rotaevaporador e forneceu 315 mg (90%) de uma mistura oleosa marrom escuro denominada de ésteres metílicos, os quais foram identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas CG-EM.

4.4 Análise da composição química dos óleos essenciais

A identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais foi feita por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas CG-EM, na

qual utilizou-se um Autosystem equipado com uma coluna de sílica fundida DB-5 (30m x 0,25 mm x 0,25 µm) ligado a um Perkin-Elmer turbomass. A temperatura do forno foi programada de 60°C a 246°C, com aumento de 3°C/min. Os compostos foram identificados por comparação dos índices de retenção, em relação aos dos n-alcanos C₆-C₂₆ e comparação com banco de dados da literatura (ADAMS, 2007).

4.5 Atividade biológica

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Agroindústria da Universidade Federal Rural de Pernambuco – Lotado no Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) – Dois irmãos/Recife-PE.

Para a atividade antimicrobiana do óleo essencial do fruto foram utilizados 06 (seis) micro-organismos provenientes da Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (Tabela 3). A suspensão dos micro-organismos foi padronizada pela turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mcfarland em água destilada, correspondente a uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL para bactérias e $1,5 \times 10^7$ UFC/mL para fungos. A solução estoque foi preparada utilizando 20 mg do óleo, diluído em 1 mL de de etanol, em seguida foi retirada uma alíquota de 25 µL e realizada a diluição para obter uma solução com concentração de 2500 µg/mL.

Tabela 3 – Micro-organismos testes utilizados na atividade antimicrobiana

Bactérias Gram-Positivas	Bactérias Gram-Negativas	Fungos Leveduriformes
<i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA 02	<i>Escheria coli</i> UFPEDA 224	<i>Candida albicans</i> UFPEDA 1007
<i>Bacillus subtilis</i> UFPEDA 86	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA 416	<i>Candida utilis</i> UFPEDA 1009

4.6 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)

O teste de CMI foi realizado através da técnica de microdiluição, em multiplacas com 96 poços, conforme o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010). Cada multiplaca foi padronizada conforme mostrado na (Figura 13) abaixo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	µg/mL
A	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	2500
B	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	1250
C	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	625
D	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	312.5
E	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	156.2
F	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	78.1
G	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	39.0
H	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	19.5
	M	S	MI	P		A1				A2			

M= Meio, S= Solvente+Meio, MI= Microrganismo+Meio, P= Padrão+Meio, Amostra 1, Amostra 2.
 Fonte: (AQUINO, 2016).

Figura 13 – Padronização das multiplacas

As multiplacas foram preparadas de acordo com o micro-organismo a ser testado. Foram utilizados meios de cultura líquidos Saubouraud (Sab) para Fungos Leveduriformes; e meio líquido Mueller Hinton (MH) para Bactérias Gram-Positivas e Gram-Negativas. Nos poços da solução teste, (Linha A, Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), foram distribuídos 175 μL de meio líquido e adicionado 25 μL da solução estoque (Amostra), totalizando nesta primeira linha 200 μL . Nas demais linhas (B, C, D, E, F, G e H, Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), adicionou-se 100 μL de meio. Na coluna 2 - Solvente (S), além dos 75 μL de meio, sendo acrescentado 25 μL de solvente. Na coluna 3 - Microrganismo (MI) foi distribuído 100 μL de meio e acrescentado 10 μL dos inóculos microbianos padronizados. Por final, na coluna 4 – Padrão (P) foram colocados 97,5 μL de meio e acrescentados 2,5 μL da solução Padrão de Metronidazol 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para as Bactérias e Fluconazol 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para os Fungos.

Terminado a etapa anterior iniciou-se o processo de microdiluição seriada, que foram retiradas com uma micropipeta 100 μL da Linha A - Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12, e depositados na Linha B (Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), sendo misturados e retirados novamente 100 μL , seguindo este processo sucessivamente até a Linha H, obtendo-se concentrações decrescentes que variam de 2500 até 19.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Após a diluição das amostras, adicionou-se 10 μL dos inóculos microbianos padronizados, exceto nos poços da Coluna 1 - Meio (M), Coluna 2 - Solvente (S) e Coluna 4 – Padrão (P). As microplacas foram cultivadas em estufas distintas: a 37°C por 18 a 24 horas para as bactérias, e 30°C por 48 a 72 horas para Fungos Leveduriformes.

4.7 Leitura das Microplacas

Após o período de cultivo, as microplacas foram reveladas com uma solução indicadora de Resazurina sódica, em água destilada estéril, na concentração de 0,01% (p/V), do qual 10 μL foi adicionado em cada poço das microplacas aos testes antimicrobianos. No decorrer de 2 horas foram incubadas ao abrigo da luz para que ocorra a mudança de coloração nos

poços. O teste de CMI define como a menor concentração de um produto testado é capaz de inibir o crescimento de micro-organismos, evidenciado pela cor azul inalterada. Também será utilizado o método de turbidez para a determinação do crescimento ou inibição das linhagens fúngicas. Tais resultados são mostrados, quando apresenta turvação dos poços em decorrência ao crescimento dos fungos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimentos dos óleos essenciais de *Morinda citrifolia*

Como apresentado na tabela 4 os rendimentos dos óleos essenciais dos caules e folhas foram baixos, quando comparado ao rendimento do óleo essencial dos frutos.

Tabela 4 – Rendimentos das extrações dos óleos essenciais

Local	Massa do material vegetal (g)	Massa do óleo essencial (g)	Rendimento (%)
Caules	500	0,002	0,0004
Folhas	500	0,005	0,001
Frutos	500	0,570	0,114

5.2 Caracterização química dos óleos essenciais

Os constituintes químicos identificados nos óleos essenciais dos caules, folhas e frutos estão listados nas tabelas 4, 5 e 6, na ordem de eluição em coluna DB-5. .

O perfil químico do óleo essencial do caule mostrou um pico majoritário em 7,75 min. (Figura 14) e identificado como *p*-menta-1-(7),8-dieno com percentagem relativa de 9,64%, seguido pelo composto, alil decanoato (7,50%), também foram identificados hexadecanol (2,10%) e o *L*-eicoseno (2,37%) (Figura 15), compostos identificados anteriormente no óleo essencial das folhas. No total foram identificados 23 compostos com percentual de (78,81%) como apresentado na tabela com (Tabela 5).

Tabela 5 – compostos identificados no óleo essencial do caule de *Morinda citrifolia*.

SUBSTÂNCIA	IR	AI	(%)
Hexanoato de metila	917	918	3,88
Triciclono	926	921	1,56
<i>p</i> -Mentha-1(7),8-dieno	1004	1003	9,65
<i>p</i> -Cimeno	1022	1020	5,05
<i>o</i> -Tolualdeído	1040	104	2,79
Dihidrotagetona	1046	1046	1,34
γ -terpineno	1051	1054	1,76
Dehidro sabina cetona	1100	1117	1,69
<i>trans</i> -Hidrato depineno	1122	1119	2,63
Virideno	1156	1163	2,01
<i>p</i> -metil acetofenona	1179	1179	1,31
Decanol	1254	1266	1,21
2-etil mentona	1266	1269	3,92
Cipereno	1388	1398	7,17
Alil decanoato	1477	1476	7,51
Liguloxido	1523	1534	1,55
<i>Epi</i> -longipinanol	1564	1562	1,25
γ -asarona	1593	1572	4,76
<i>Z</i> -asarona	1619	1616	4,98
Mustakona	1673	1676	6,56
2-pentadecanona	1688	1697	1,75
Hexadecanol	1857	1874	2,10
<i>L</i> -eicoseno	1951	1987	2,37
Total =			78,81%

*(IR) – índices de retenção calculados nos tempos de retenção em comparação com uma série de n-alcans em coluna de capilaridade DB-5. (AI) Índices de retenção da literatura. IR = Índice de retenção. AI = Arithmetic Idex.

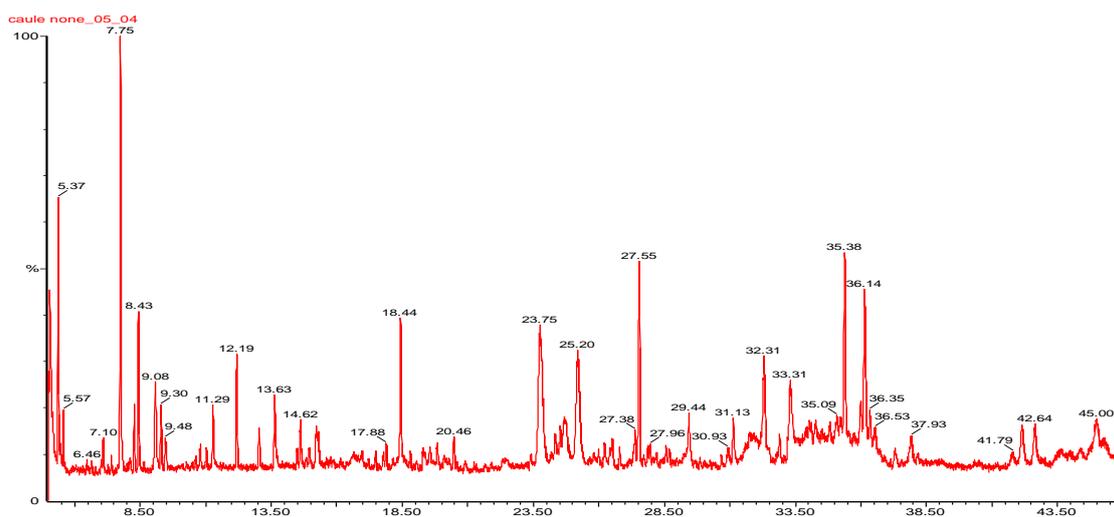


Figura 14 – Cromatograma do óleo essencial do caule de *Morinda citrifolia* obtido por CG-EM.

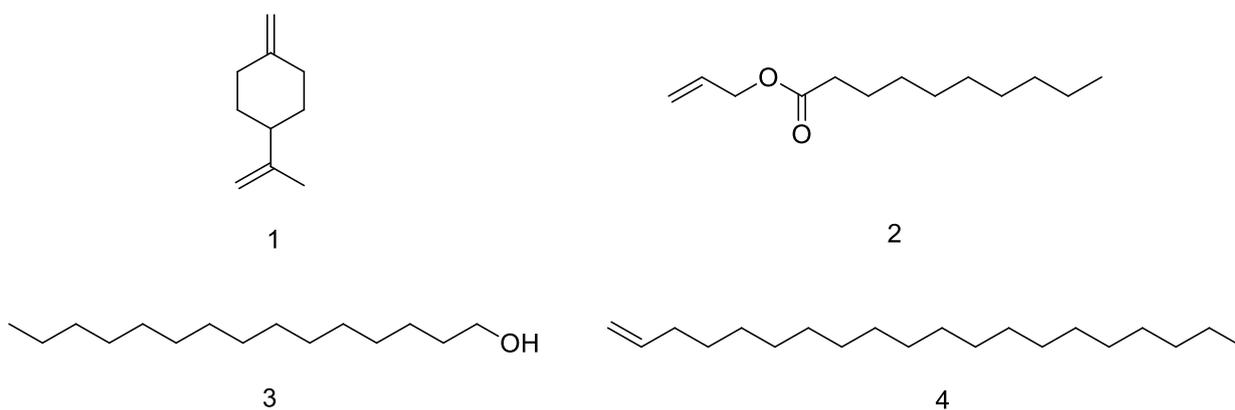


Figura 15 – Estruturas químicas da *p*-menta-1-(7),8-dieno (1), alil decanoato (2), hexadecanol (3) e o *L*-eicoseno (4).

A porcentagem de identificação dos componentes voláteis do óleo extraído do fruto foi de 85,55% do total, referente a nove compostos identificados (Tabela 5). Os principais compostos identificados foram o ácido octanóico (38,68%) o ácido hexanóico (20%) e o octanoato de metila (17,17%), os dois primeiros componentes foram relatados anteriormente por (SARDJONO *et al.*, 2016), apresentando proporções diferentes (61,91% e 21,17%). De acordo com Arctander (1969), os ácidos hexanóico e octanóico (Figura 16) são os responsáveis pelo odor pronunciado dos frutos maduros do nonie semelhante à de “queijo putrefato”. Podemos destacar também a presença de outros ésteres no óleo essencial dos frutos, como o hexanoato de metila (6,11%) e isobutanoato de pentila (1,48%), sendo que estes ésteres foram relatados previamente no óleo essencial dos frutos por (PINO *et al.*, 2010).

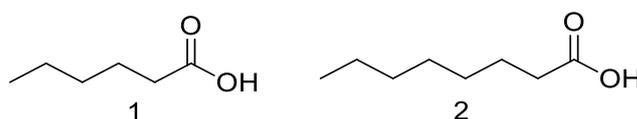


Figura 16 – ácidos carboxílicos identificados no fruto de *Morinda citrifolia* ácido hexanóico (1), ácido octanóico(2).

Tabela 6 – Composição química do óleo essencial do fruto

SUBSTÂNCIA	IR	AI	(%)
Hexanoato de metila	916	927	6,11
Ácido hexanóico	980	967	20,00
Hexanoato de etila	993	997	0,15
Isobutanoato de pentila	1058	1049	1,48
Nonan-2-ona	1086	1087	0,27
Octanoato de metila	1119	1123	17,17
Ácido octanóico	1191	1175	38,68
Ácido decanóico	1350	1363	0,98
Octanoato de isoamilo	1446	1442	0,69
Total=			85,55 %

*(IR) – Índices de retenção calculados nos tempos de retenção em comparação com uma série de n-alcanos em coluna de capilaridade DB-5. (AI) Índices de retenção da literatura. IR = Índice de retenção. AI = Arithmetic Index.

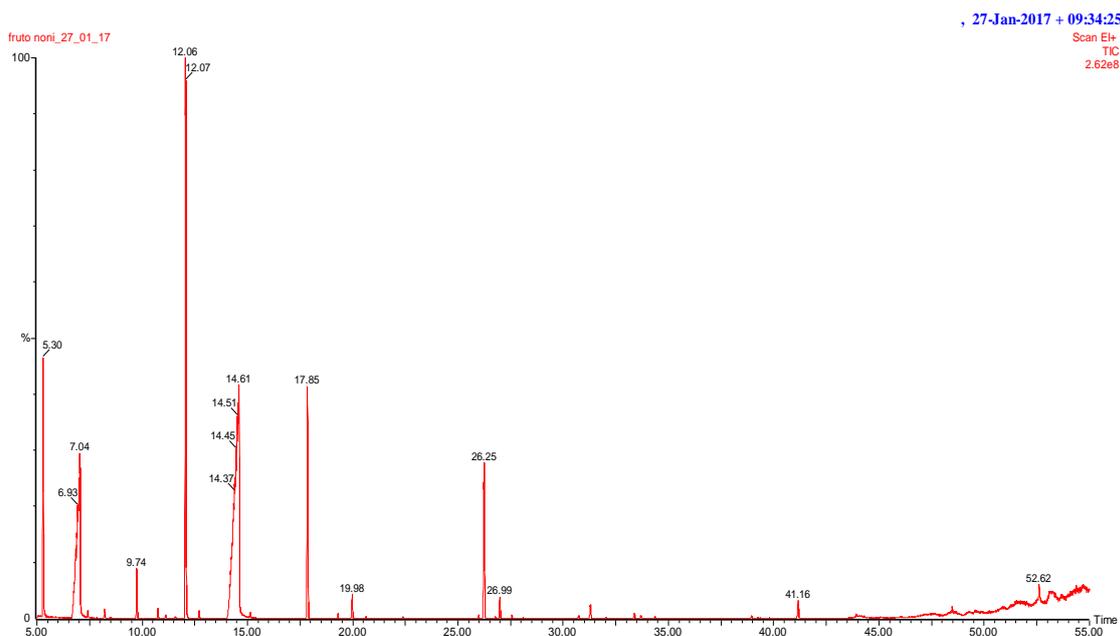


Figura 17 - Cromatograma do óleo essencial do fruto do noni obtido por CG-EM.

Os espectros de massas dos compostos majoritários do óleo essencial dos frutos apresentaram um padrão de fragmentação característico de ácidos carboxílicos, que confirma a identificação dos ácidos no óleo essencial nos frutos (Figuras 18-19).

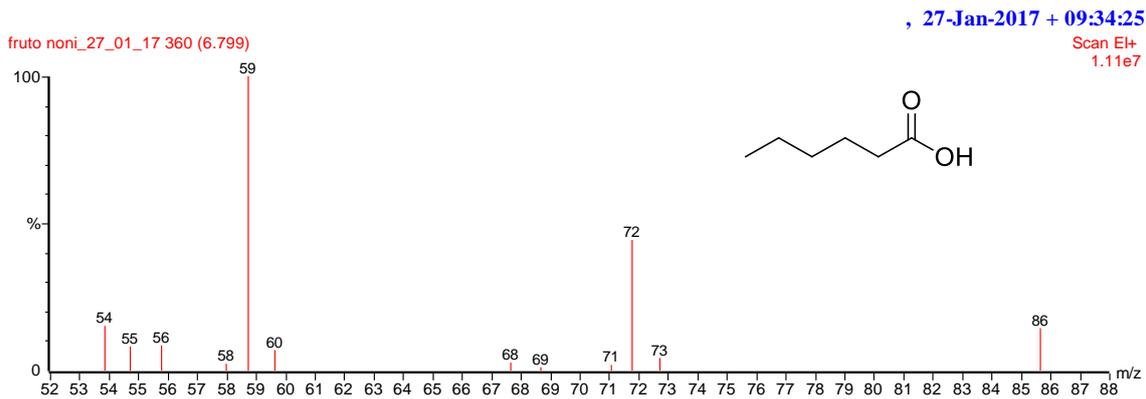


Figura 18 – Espectro de massas do ácido hexanóico

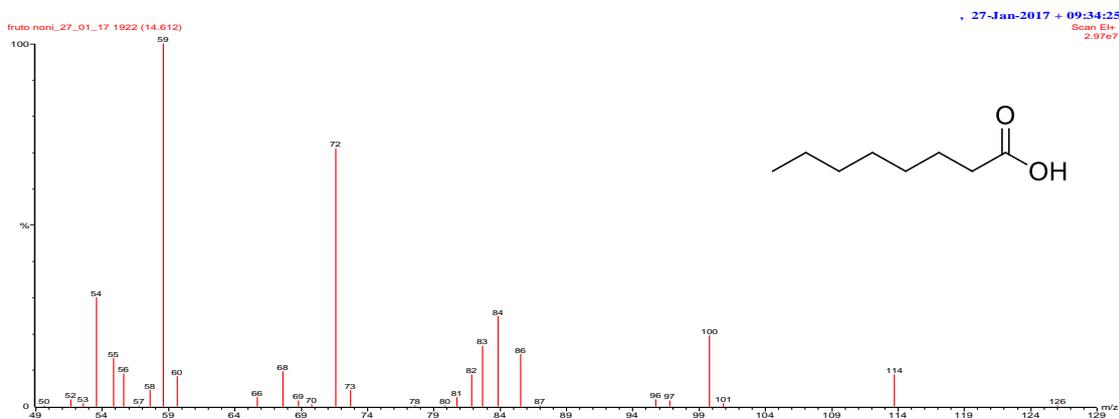


Figura 19 – Espectro de massas do ácido octanóico

Os ácidos carboxílicos que possuem hidrogênio- γ sofrem fragmentação pelo rearranjo McLafferty (Figura 20) representado pelo * íon m/z 60. A ramificação do carbono α aumenta a massa desse fragmento.

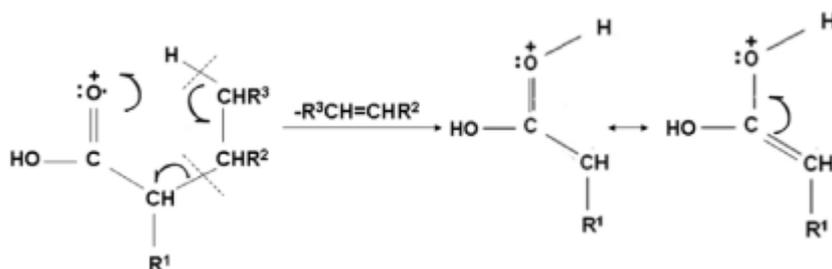


Figura 20 – Rearranjo de McLafferty em ácidos carboxílicos

O espectro de massas do éster identificado como um dos compostos majoritários apresenta um padrão de fragmentação característico dos ésteres, que confirma a identificação do éster no óleo (Figura 21).

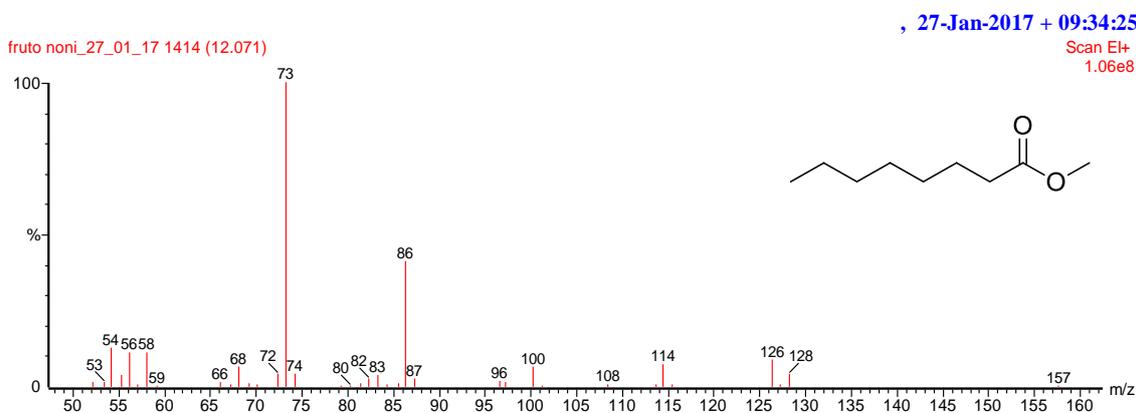


Figura 21 – Espectro de massas do octanoato de metila

O íon 74 m/z é característico de ésteres metílicos e geralmente é íon mais intenso (pico base) de ésteres carboxílicos de cadeia linear na faixa de C₆ a C₂₆. Este íon é devido ao rearranjo de McLafferty, devido à quebra da ligação β em relação ao grupo C=O e migração do hidrogênio (Figura 22).

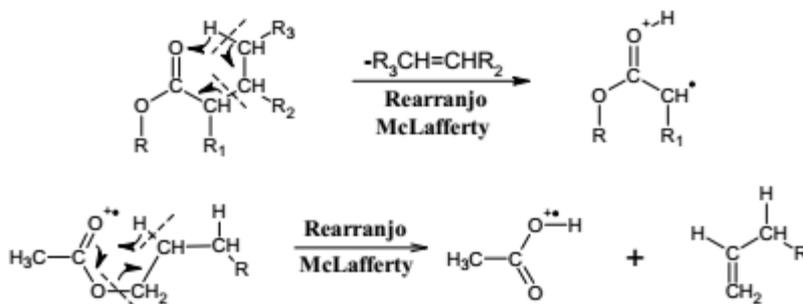


Figura 22 – Rearranjo de McLafferty em ésteres

O óleo essencial dos frutos foi submetido à reação de esterificação com metanol e foram obtidos os ésteres hexanoato de metila (12,15%), octanoato de metila (83,38%) e o decanoato de metila (4,46%). O perfil químico do óleo essencial dos frutos esterificado (Figura 23) mostrou picos majoritários em 5,35

min. (hexanoato de metila), 12,33 min. (octanoato de metila) e 20,7 min. (decanoato de metila).

Os espectros de massas dos ésteres identificados após reação de esterificação estão apresentados abaixo (Figuras 24, 25 e 26).

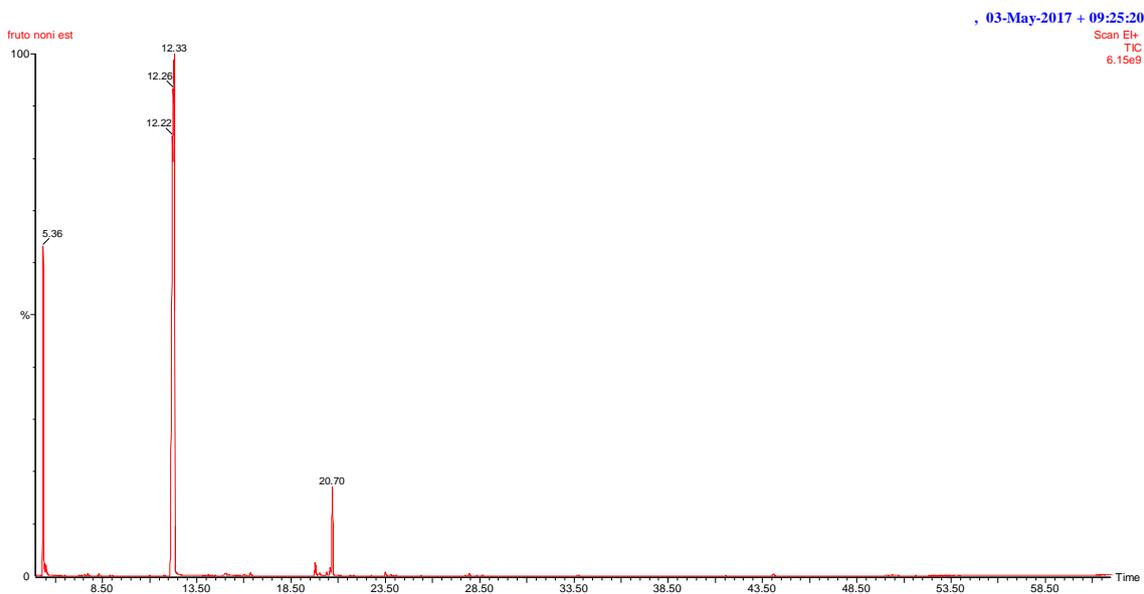


Figura 23 – Cromatograma do óleo essencial do fruto esterificado

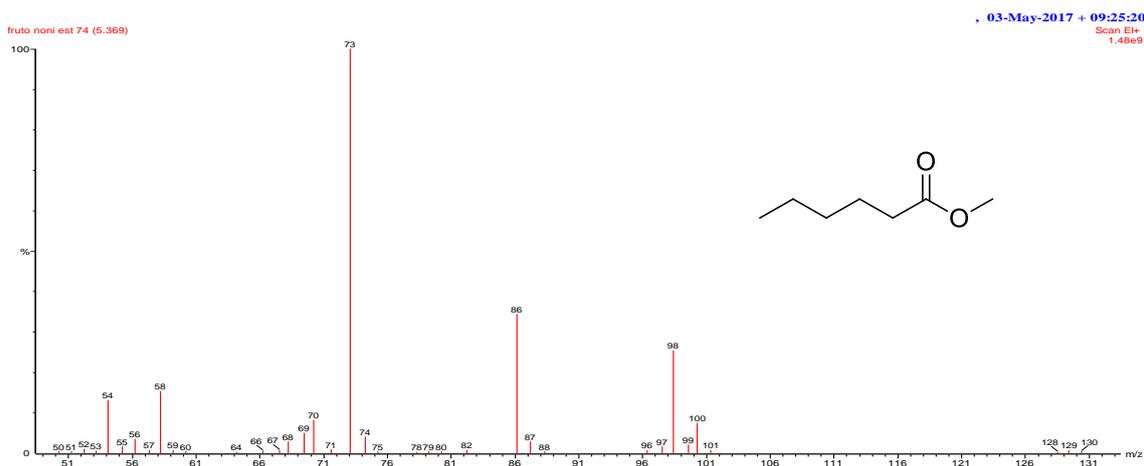


Figura 24 – Espectro de massas do hexanoato de metila ($C_7H_{14}O_2$) identificado após esterificação do óleo essencial do fruto.

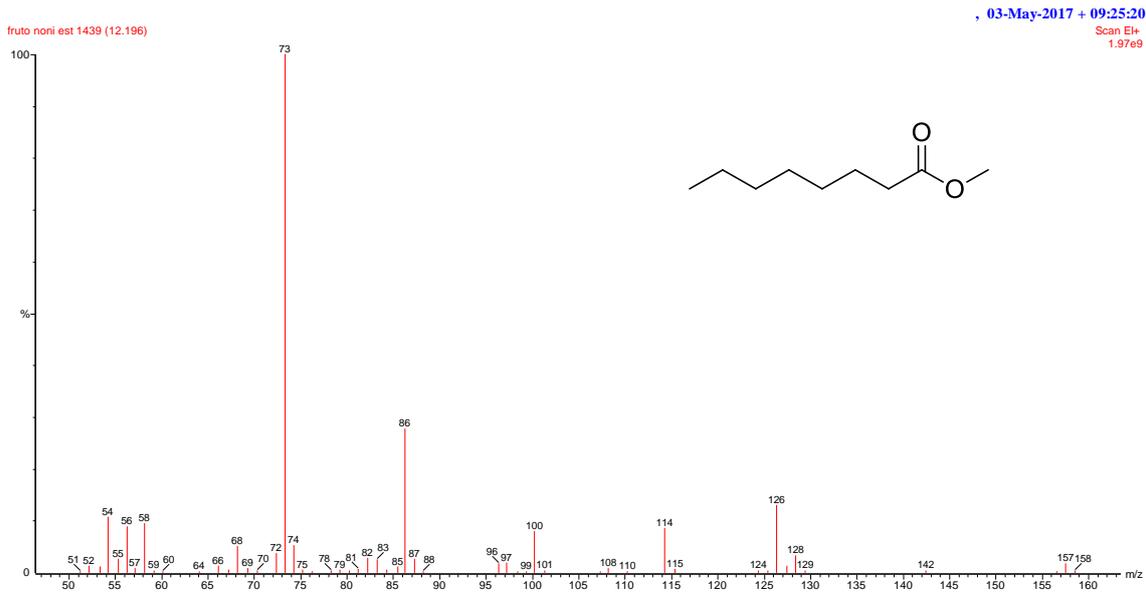


Figura 25 – Espectro de massas do octanoato de metila ($C_9H_{18}O_2$) identificado após esterificação do óleo essencial do fruto.

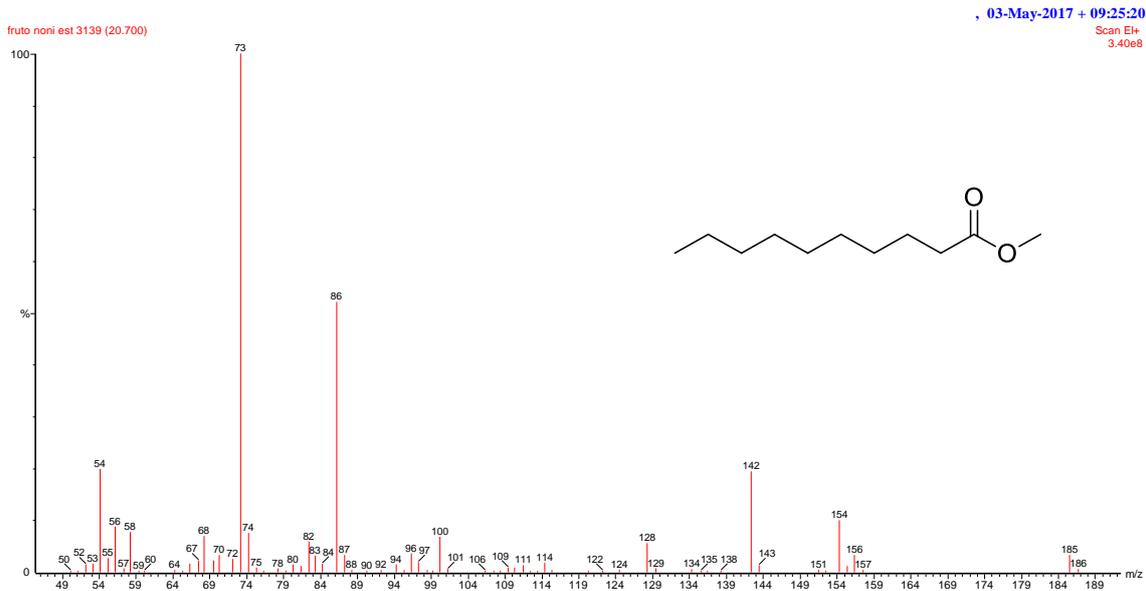


Figura 26 – Espectro de massas do decanoato de metila ($C_{11}H_{22}O_2$) identificado após esterificação do óleo essencial do fruto.

A percentagem de constituintes químicos identificados das folhas de *M. citrifolia* foi de 93,22%, referente a 20 compostos listados na Tabela 6. O óleo essencial das folhas apresentou pico majoritário em 49,32 min. (Figura 27), que

foi identificado como o diterpeno *trans*-fitol (49,32%) (Figura 28), composto relatado por (KOUAME *et al.*, 2010) apresentando proporção diferente (28,4%). Os demais compostos majoritários foram *n*-tetradecanol (6,76%) e 3-metoxiacetofenona (4,1%).

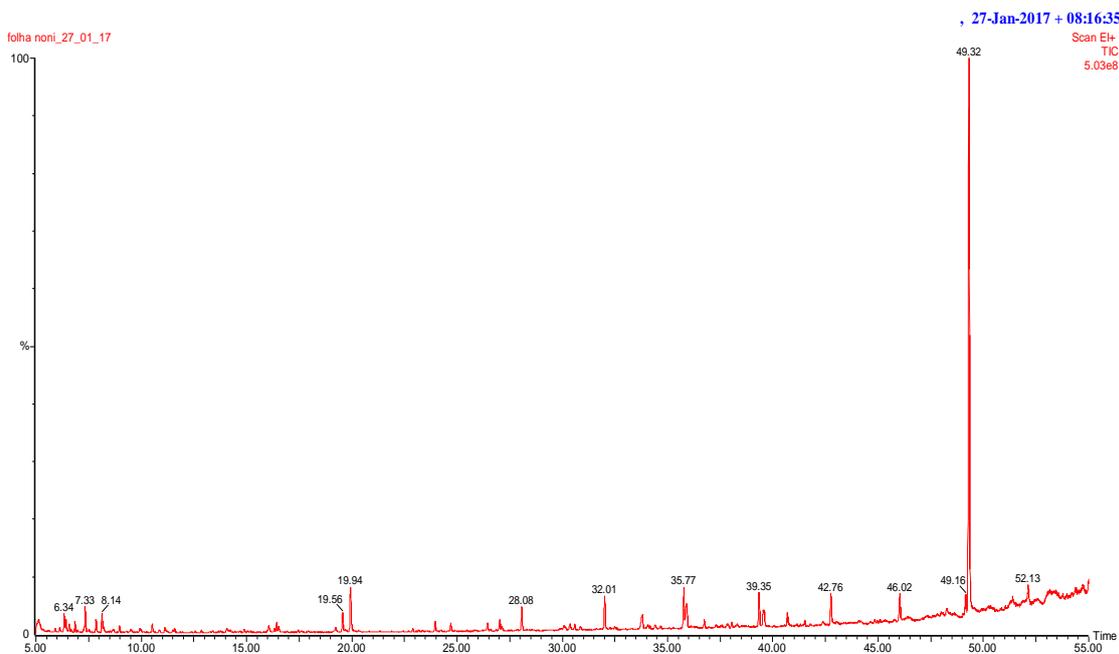


Figura 27 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Morinda citrifolia*.

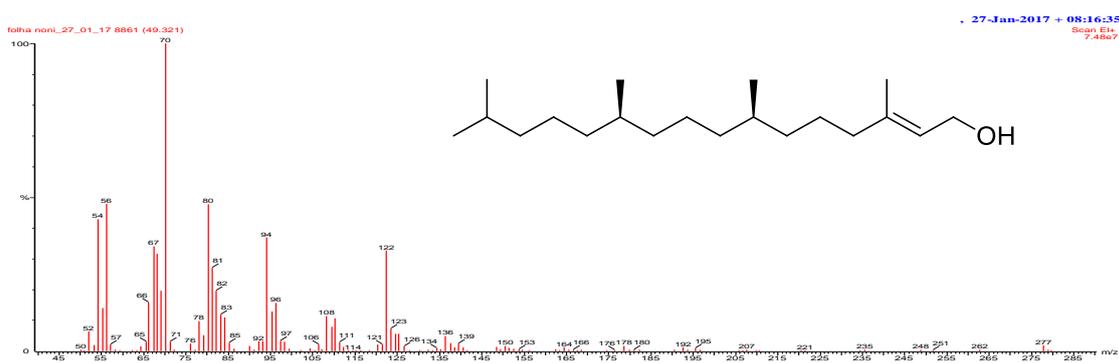


Figura 28 – Espectro de massas e estrutura química do *trans*-fitol identificado no óleo das folhas de *Morinda citrifolia*.

Tabela 7 – Compostos identificados no óleo essencial das folhas de *Morinda citrifolia*.

SUBSTÂNCIA	IR	AI	(%)
β -citroneleno	954	950	1,28
Cumeno	957	-	0,80
Mesitileno	990	994	1,48
2E,4E- heptadienal	1007	1005	0,80
Limonemo	1015	1024	1,30
1,2,4 - trimetilbenzeno	1016	1021	0,38
Nerol	1212	-	0,82
Citronelol	1221	1223	0,65
Timol	1292	1289	1,50
3 -metoxiacetofenona	1300	1298	4,10
Tetradecano	1392	1400	0,86
Italiceno	1409	1405	0,76
n-dodecanol	1451	1469	0,73
Jasmolactona	1489	1487	1,87
2E-Tridecen-1-al	1551	1568	1,90
L-hexadeceno	1584	1588	2,94
n-tetradecanol	1683	1671	6,76
Pentadecanol	1780	1773	2,81
Octadec-1-eno	1785	1789	2,53
Ciclopentadecanolide	1815	1833	1,11
Hexadecanol	1875	1874	2,51
L-eicoseno	1971	1987	2,40
Geranyl linalol	2039	2026	1,13
Trans-fitol	2073	-	49,32
n-octadecanol	2139	2077	0,50
n-docosano	2163	2200	1,98
Total =			93,22%

*(IR) – Índices de retenção calculados nos tempos de retenção em comparação com uma série de n-alcenos em coluna de capilaridade DB-5. (AI) Índices de retenção da literatura. IR = Índice de retenção. AI = Arithmetic Index.

5.3 Atividade antibacteriana

Os valores das Concentrações Mínimas Inibitórias (CMI) dos óleos essenciais obtidos para as bactérias em estudo estão mostrados na (Tabela 8).

O óleo essencial do fruto apresentou atividade inibitória para todos os microorganismos testados, o óleo essencial do fruto apresentou CMI que variou

de 156 µg/mL a 625 µg/mL, com a menor CMI para o *B. subtilis* e a maior CMI para *P. aeruginosa*, respectivamente. De acordo com trabalho realizado por Aligiannis *et al.*, (2001) com óleo essencial, valores de concentrações ≤ 500 µg/ml são considerados ativos para a inibição de microorganismos, e moderada nas concentrações entre 600 e 1200 µg/mL.

Em levantamento bibliográfico, não foi encontrado trabalhos que pudessem colaborar com o estudo realizado, mostrando assim relevante importância na utilização do óleo essencial dos frutos de *Morinda citrifolia*.

Tabela 8 - Concentração Mínima inibitória dos óleos essenciais de *Morinda citrifolia* frente às bactérias *S. aureus*, *B. subtilis*, *E.coli* e *P. aeruginosa*.

Bactérias	Gram	CMI (µg/mL)		
		FRUTO	FOLHA	CAULE
<i>S. aureus</i>	+	312,5	NT	NT
<i>B.subtilis</i>	+	156,2	NT	NT
<i>E.coli</i>	-	312,5	NT	NT
<i>P.aeruginosa</i>	-	625	NT	NT

*NT: não testado

Em uma análise comparativa entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, associando a sensibilidade a antimicrobianos, Burt (2004) confirma que na maior parte dos estudos envolvendo a ação dos óleos essenciais frente a microorganismos patogênicos concorda que, no geral, os óleos são levemente mais ativos nas bactérias Gram-positivas do que as bactérias Gram-negativas, isso se deve ao fato das espécies Gram-negativas serem menos sensíveis a ação dos óleos essenciais devido à existência de uma membrana exterior que cerca a parede celular, o qual restringe a difusão dos compostos hidrofóbicos através da parede externa.

5.4 Atividade antifúngica

Os valores das Concentrações Mínimas Inibitórias (CMIs) dos óleos essenciais obtidos para os fungos em estudo estão expressos na (Tabela 9).

O óleo essencial do fruto apresentou atividade inibitória para os fungos testados, com CMI que variou de 39 µg/mL a 78,1 µg/mL, com a menor CMI para *C. albicans* e maior para *C. utilis*.

Tabela 9 - Concentração Mínima inibitória dos óleos essenciais de *Morinda citrifolia* frente aos fungos *C. albicans* e *C. utilis*.

Fungos	CMI (µg/mL)		
	FRUTO	FOLHA	CAULE
<i>Candida albicans</i>	39,0	NT	NT
<i>Candida utilis</i>	78,1	NT	NT

*NT: não testado

O mecanismo de ação Interferência/Inibição nos fungos pode ser explicado devido aos seguintes fatores:

- Interferência na transferência de elétrons nas células;
- Inibição do metabolismo e divisão celular;
- Inibição das enzimas de síntese da parede celular;
- Alteração da permeabilidade da membrana celular;
- Formação de poros e perda de pequenas moléculas.

Saad *et al.*, (2013) descreveram que a ação dos óleos essenciais resulta na modificação do gradiente de íons e consideram tal efeito à capacidade dos compostos quando desprotonado, de se ligar a cátions e transportá-los através da membrana. O mecanismo de ação tóxica dos ácidos graxos contra fungos não envolve quelação de cátions, mas sim um aumento

da permeabilidade da célula por meio de alterações na sua parede (SAAD, *et al.*, 2013). Segundo Andrews *et al.*, (1980) os ácidos graxos destroem a integridade da parede celular dos fungos, inibindo a respiração e os processos de transporte dos íons, ocasionado assim a morte celular.

6 CONCLUSÕES

Foram identificados no óleo essencial dos frutos nove compostos que apresentou como majoritários: o ácido hexanóico (20,00%), ácido octanóico (38,68%) e o octanoato de metila (17,17%). Após, reação de esterificação do óleo essencial dos frutos foi obtido três ésteres metílicos o hexanoato de metila (12,15%), octanoato de metila (83,38%) e o decanoato de metila (4,46%)

No óleo essencial das folhas foram identificados 26 compostos, apresentando como composto majoritário o *trans-fitol* 49,32%. No óleo essencial do caule foram identificados 23 compostos apresentando como compostos majoritários com percentagem relativa de 9,64% para o composto *p*-menta-1-(7),8-dieno, seguido pelo composto o alil decanoato (7,5%), além dos compostos hexadecanol (2,1%) e o *L*-eicoseno (2,37%) ambos identificados no óleo essencial das folhas.

O óleo essencial do fruto de *Morinda citrifolia* apresentou atividade inibitória para todos os microorganismos testados, com CMI que variou de 156 µg/mL a 625 µg/mL, para bactérias, com a menor CMI para o *B. subtilis* e a maior CMI para *P. aeruginosa*, respectivamente, sendo que para nosso conhecimento não há dados na literatura referentes aos valores de CMI para o óleo essencial de *Morinda Citrifolia*. Para os fungos testados, o óleo essencial do fruto apresentou forte atividade inibitória, com CMI que variou de 39 µg/mL a 78,1 µg/mL, com a menor CMI para *C. albicans* e maior para *C. utilis*, respectivamente.

7 REFERÊNCIAS

ABU, N.; MOHD ALI, N.; YONG HO, W.; KEONG Y. S.; AZIZ, A.; YUSRAN, M.; BANU ALITHEEN, N. Damnacanthal: a promising compound as a medicinal anthraquinone. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 14, n. 5, p. 750-755, 2014.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. **Allured Publishing Corporation**, 468p. 2007.

ALIGIANNIS, N.; KALPOTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal Agricola Food Chemistry**, v.40, n. 9, p.4168-4170, 2001

ANDREWS, R. E.; PARKS, L. W.; SPENCE, K. D. Some effects of Douglas fir terpenes on certain microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 301-304, 1980.

AKIHISA, T.; MATSUMOTO, K.; TOKUDA, H.; YASUKAWA, K.; SEINO, K. I.; NAKAMOTO, K.; KIMURA, Y. Anti-inflammatory and potential cancer chemopreventive constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of natural products**, v. 70, n. 5, p. 754-757, 2007.

ANDRADE, S. S.; JONES, R. N.; GALES, A. C.; SADER, H. S. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Latin American medical centres: 5 year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2001). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, n. 1, p. 140-141, 2003.

ARCTANDER, S. **Perfume and flavor chemicals**, Copenhagen: Det Hoffensbergske Etablissement, 1969

ASSI, R. A.; DARWIS, Y.; ABDULBAQI, I. M.; VUANGHAO, L.; LAGHARI, M. H. *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials . **Arabian Journal of Chemistry**, 2015.

ATKINSON, N. Antibacterial substances from flowering plants. **Australian Journal of Experimental Biology & Medical Science**, v. 34, n. 1, 1956.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils-a review. **Food and Chemical Toxicology**, Ankeny v. 46, n. 2, p.446-475, 2008.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. *Staphylococcal enterotoxins*. **International journal of food microbiology**, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2000.

BASER, K. H. C.; DEMIRCI, F. Chemistry of essential oils. In: BERGER, R. G. **Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability**. Hannover: Springer, Cap. 4, p. 43-86, 2007.

BITU, V. Phytochemical screening and antimicrobial activity of essential oil from *Lippia gracillia*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 1, p. 69-75, 2012.

BOUGNOUX, M. E.; GUEHO, E.; POTOCKA, A.-Ch. Resolutive *Candida utilis* fungemia in a nonneutropenic patient. **Journal of clinical microbiology**, v. 31, n. 6, p. 1644-1645, 1993.

BROCHINI, C. B.; LAGO, J. H. G. Aplicação de técnicas cromatográficas e espectrométricas como ferramentas de auxílio na identificação de componentes de óleos voláteis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 266-270, 2007.

BROPHY, J.; DEVI, R., ALI, S.; RAO, D.; SOTHEESWARAN, S. Chemistry and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Ripe and Unripe fruits of the Fijian *Morinda citrifolia* (noni/kura) Rubiaceae. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 11, n. 6, p. 598-602, 2008.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – are view. **International Journal Food Microbiol**, v. 94, p. 223-253, 2004.

CARDON, Dominique. **Le monde des teintures naturelles**. Paris: Belin, 2003.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A. Chemistry and bioactivity of essential oils. In: THORMAR, H. **Lipids and essential oils as antimicrobial agents**, West Sussex: John Wiley & Sons, Cap. 9, p. 203-238, 2011.

CASTELO, A. V. M.; DEL MENEZZI, C. H. S.; RESCK, I. S. Rendimento e análises espectroscópicas (RMN ¹H, ¹³C, IV) da composição química dos óleos essenciais de quatro plantas do Cerrado. **CERNE**, v. 16, n. 4, p. 573-584, 2010.

CASTRO, H. G.; OLIVEIRA, L. O.; ABARBOSA, L. C.; FERREIRA, F. A.; DA SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e Composição do Óleo Essencial de Cinco Acessos de Mentrasto. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 55-57, 2004.

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PEREZ, A. M.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.M.; BRAT, P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): a review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal Food Composition Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 645-654, 2006.

CALVALCANTE, P. M. M.; SILVA, R. L.; FREITAS, J. J. R.; FREITAS, J. C. R.; FREITAS FILHO, J. R. Proposta de preparação e caracterização de ésteres: um experimento de análise orgânica na graduação. **Educación química**, v. 26, n. 4, p. 319-329, 2015.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th Informational Supplement (June 2010, Update). CLSI document M100-S20-U. CLSI, Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standard Institute**, 2010.

CORREIA, A. A. S. Chemical and physical-chemical pulp noni (*Morinda citrifolia*) grown in the state of Ceará. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 22, n. 4, p. 609-615, 2012.

CROXEN, M. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical microbiology reviews**, v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013.

CVE. CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Manual de Doenças Transmitidas por Alimentos 2009-2010. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/IFN_BACT.HTM>. Acesso em: 20 ago. 2016.

DENG, S.; WEST, B.J.; JENSEN, C.J.; BASAR, S.; WESTENDORF, J. Development and validation of an RP-HPLC method for the analysis of anthraquinones in noni fruits and leaves. **Food chemistry**, p. 1-4, 2009.

DENG, S.; PALU, A.K.; WEST, B.J.; SU, C.X.; ZHOU, B.N.; JENSEN, J.C. Lipxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 859-862, 2007b.

DENG, Y.; CHIN, Y.; CHAI, H.; KELLER, W.J.; KINGHORN, A.D. Anthraquinones with Quinone Reductase-Inducing Activity and Benzophenones from *Morinda citrifolia* (Noni) Roots. **Journal of Natural Products**, v. 70, 2049–2052, 2007a.

DIGNANI M. C.; SOLOMKIN J. S.; ANAISSIE E. C.; ANAISSIE E.; MCGINNIS M. R.; PFALLER M. A. **Medical Mycology**, 1ª Edição, Churchill Livingstone, Filadélfia, p. 195-239, 2003.

DITTMAR, A. *Morinda citrifolia* L. Use in Indigenous Samoan Medicine. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 1, n. 3, p. 77-92, 1993.

DIXON, A.R.; McMILLEN, H.; ETKIN, N.L. Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). **Ecological Botany**, v.53, p. 51–68, 1999.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia: na atenção primária à saúde**. Editora Manole Ltda, 2001.

FARINE, J.P.; LEGAL, L.; MORETEAU, B.; LE QUERE, J.L. Volatile components of ripe fruits of *Morinda citrifolia* and their effects on *Drosophila*. **Phytochemistry**, v. 41, p. 433–438, 1996.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Ateneu, p. 2-7, Parte I, 2000.

GALES, A. C.; JONES, R. N.; TURNIDGE, J.; RENNIE, R.; RAMPHAL, R. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global sentry antimicrobial surveillance program, 1997-1999. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 32, n. 2, p. 146-155, 2001.

HENNEKINNE, J.; DE BUYSER, M.; DRAGACCI, S. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS microbiology reviews**, v. 36, n. 4, p. 815-836, 2012.

HIRAMATSU, T.; IMOTO, M.; KOYANO, T.; UMEZAWA, K. Induction of normal phenotypes in ras-transformed cells by damnacanthol from *Morinda citrifolia*. **Cancer letters**, v. 73, n. 2-3, p. 161-166, 1993.

HIRAZUMI, A., FURUSAWA, E. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (Noni) with antitumor activity. **Phytotherapeutic Research**, v.13, p.380–387, 1999.

HIRAZUMI, A., FURUSAWA, E., CHOU, S.C., HOKAMA, Y. Anti cancer activity of *Morinda citrifolia* on intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma in syngenic mice. **Proceedings of the Western Pharmacological Society**, v.37, p.145–146, 1994.

HIRAZUMI, A., FURUSAWA, E., CHOU, S.C., HOKAMA, Y. Immunomodulation contributes to the anticancer activity of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit juice. Proceedings of the Western **Pharmacological Society**, v.39, p.7–9, 1996.

HONG-CAI, Z.; WANG, Y.; CHUN-MIAO, Y.; DONG-HUA, Y.; PING-PING, C.; SHU-MIN, L. Two new saccharide fatty acid esters from the fruit of *Morinda citrifolia* L. and their ABTS radical scavenging activities. **Records of Natural Products**, v. 8, n. 1, p. 25, 2014.

HÜBSCHMANN, H.J. **Handbook of GC/MS: Fundamentals and Applications**. 2^a. ed. Bremen: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009.

ISMAN, M. B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Comercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry**, v. 10, p. 197-204, 2011.

JALALI-HERAVI, M.; PARASTAR, H. Recent trends in application of multivariate curve resolution approaches for improving gas chromatography-mass spectrometry analysis of essential oils. **Talanta**, v. 85, p. 835-849, 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, p.771, 2005.

JAYARAMAN, S. K.; MANOHARAN, M. SARAVANAN; ILLANCHEZIAN, SEETHALAKSHMI. Antibacterial, antifungal and tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. **International journal of integrative biology**, v. 3, n. 1, p. 44-49, 2008.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; HARADA, S.; MURAKAMI, R.; TOKUYAMA, S.; SATAKE, T. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* roots exhibit hypoglycemic effects in streptozotocin-induced diabetic mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, p. 935–938, 2008.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; TOKUYAMA, S.; SATAKE, T. New anthraquinone glycosides from the roots of *Morinda citrifolia*. **Fitoterapia**, v. 80, p. 196–199, 2009.

KAMIYA, K.; TANAKA, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T. New anthraquinone and iridoid from the fruits of *Morinda citrifolia*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.53, p. 1597-1599, 2005.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; TOKUYAMA, S.; HIRANO, K.; SATAKE, T.; YONEZAWA, Y.K.; YOSHIDA, H.; MIZUSHINA, Y. Inhibitory effect of anthraquinones isolated from the Noni (*Morinda citrifolia*) root on animal A-, B- and Y-families of DNA polymerases and human cancer cell proliferation. **Food Chemistry**, v. 118, p. 725–730, 2010.

KAMIYA, K.; TANAKA, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* fruits inhibit copper-induced low-density lipoprotein oxidation. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 19, p. 5843-5848, 2004

KLUYTMANS, J.; VAN B. A.; VERBRUGH, H.; Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. **Clinical Microbiology Review**, v.10, p.505–520, 1997.

KOUAME, F. B.; BEDI, G.; KOFFI, A. M.; CHALCHAT, J. C.; N'GUESSAN, T. Y. Volatiles constituents from leaves of *Morinda morindoïdes* (Rubiaceae): a medicinal plant from the Ivory Coast. **Open Natural Products Journal**, v. 3, p. 6-9, 2010.

KOVENDANA, K.; SHANTHAKUMAR, S. P.; PRASEEJA, C.; KUMAR, P. M.; MURUGAN, K.; VINCENT, S. Mosquitocidal properties of *Morinda citrifolia* L.(Noni)(Family: Rubiaceae) leaf extract and *Metarhizium anisopliae* against malaria vector, *Anopheles stephensi* Liston.(Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. S173-S180, 2014.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; DE PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, 2010.

LE LOIR, Y.; BARON, F; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genet Mol Res**, v.31, p.63–76, 2003.

LIN, Yi-Li. Beneficial effects of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice on livers of high-fat dietary hamsters. **Food chemistry**, v. 140, n. 1, p. 31-38, 2013.

LOCHER, C.P., BURCH, M.T., MOWER, H.F., BERESTECKY, H., DAVIS, H., VAN POLEL, B., LASURE, A., VANDER BERGHE, D.A., VLIETI-NICK, A.J., Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.49, p. 23–32, 1995.

LÜBECK, W.; HANNES, H. **Noni: el valioso tesoro curativo de los Mares del Sur**. Edaf, 2001.

LV, L.; CHEN, H.; HO, C. T.; SANG, S. Chemical components of the roots of Noni (*Morinda citrifolia*) and their cytotoxic effects. **Fitoterapia**, v. 82, n. 4, p. 704-708, 2011.

MAHANTHESH, M. C.; MANJAPPA, A. S.; SHINDHE, M. V.; JAMKHANDI, C. M.; JALAPURE, S. S.; PATIL, S. S. *Morinda citrifolia* Linn; A medicinal plant with diverse phytochemicals and its medicinal relevance. **World Journal of Pharmaceutical research**, v. 3, n. 1, p. 215, 2013.

MARRIOTT, P. J.; SHELLIE, R.; CORNWELL, C. Gas chromatography technologies for the analysis of essential oils. **Jounal Chromatography A**, v. 936, p. 1-22, 2001.

MATTE, W. D.; QUEIROZ, L. F.; CORASSA, J. N. First report of *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) damaging noni (*Morinda citrifolia* L.) in Colorado do Oeste (RO), Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.

MAZZA P. The use of *Bacillus subtilis* as an antidiarrhoeal microorganism. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, n.133, p.3–18, 1994.

MCKOY, M. G.; THOMAS, E. A.; SIMON, O. R. Preliminary investigation of the anti-inflammatory properties of an aqueous extract from *Morinda citrifolia* (Noni). In: **Proceedings of the Western Pharmacology Society**. Seattle, Wash.: The Society, p. 76-78, 2002.

MÜLLER, J.C. Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn. **Dissertação de mestrado da Universidade Federal do Paraná**, Curitiba – Paraná. 87p. 2007.

NELSON, S. Noni seeds handling and seedling production. **Fruits and nuts**. Cooperative extension service/CTAHR, University of Hawaii at Mānoa. Documento da internet: <http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/downloads/FN10.pdf>. (Acessado em: 01/08/2016), 2005.

NELSON, S.C., Noni cultivation in Hawaii. **Fruit and Nuts**, v.4, p.1–4, 2001.

NELSON, S. C. Noni cultivation and production in Hawaii. In: **Proceedings of the 2002 Hawaii Noni Conference**. University of Hawaii at Nanao. College of Tropical Agriculture and Human Resources. Hawaii. 2003.

NICOLETTI, G.; SCHITO, G.; FADDA, G. I.; BOROS, S.; NICOLOSI, D.; MARCHESE, A.; CASSONE, A. Bacterial isolates from severe infections and their antibiotic susceptibility patterns in Italy: a nationwide study in the hospital setting. **Journal of chemotherapy**, v. 18, n. 6, p. 589-602, 2006.

MURRAY, Patrick; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. **Microbiologia médica**. Elsevier Brasil, 2015.

OSMON, S.; WARD, S.; FRASER, V. J.; KOLLEF, M. H. Hospital mortality for patients with bacteremia due to *Staphylococcus aureus* or *Pseudomonas aeruginosa*. **CHEST Journal**, v. 125, n. 2, p. 607-616, 2004.

PALU, A. K.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J. Noni seed oil topical safety, efficacy, and potential mechanisms of action. **Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications**, v. 2, n. 02, p. 74, 2012.

PAULA, J. A.; FERRI, P. H.; BARA, M. T. F.; TRESVENZOL, L. M.; SÁ, F. A.; PAULA, J. R. Intraspecific chemical variability in the essential oils of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum (Myrtaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.39, p. 643-650, 2011.

PAUL, P. T.; SELVAM, P.; RAMA, M. G. V. LC-MS/MS studies on the fruit extracts of *Morinda citrifolia* L. (Noni) **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 9, p. 2281-2298, 2015.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; ENGEL, R. G. Química Orgânica Experimental: Técnicas de escala pequena. 2ª. Ed., Porto Alegre, **Bookman**, 2009.

PAVIANI, E. R.; STADNIK, C. B.; HEINEK, I. Estudo da epidemiologia e perfil de sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*. **Infarma**, v. 15, n. 11-12, p. 66-70, jan. 2004.

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

PICHERSKY, E.; GANG, D. R. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 5, n. 10, p. 439-45, 2000.

PINO, J. A.; MÁRQUEZ, E.; QUIJANO, C. E.; CASTRO, D. Volatile compounds in noni (*Morinda citrifolia* L.) at two ripening stages. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, n. 1, p. 183-187, 2010.

PIRES, C. E. T. Principais bactérias presentes em doenças transmitidas por alimentos (DTAs). 2011.

PRATAP, U. P.; HIMA, L.; PRIYANKA, H. P.; THYAGARAJAN, S. Noni (*Morinda citrifolia* L.) fruit juice reverses age-related decline in neural-immune interactions in the spleens of old F344 rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 198, p. 363-371, 2017.

SAAD, N. Y.; MULLER, C. D.; LOBSTEIN, A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 28, p. 269-279, 2013.

SALUDES, J.P., GARSON, M.J., FRANZBLAU, S.G., AGUINALDO, A.M., 2002. Antitubercular constituents from the hexane fraction of *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae). **Phytotherapeutic Research**, v. 16, p. 683–685, 2002.

SANG, S. Chemical components in noni fruits and leaves (*Morinda citrifolia* L.), p. 134-150, 2001.

SANGWAN, N. S., FAROOQI, A. H. A., SHABIH, F., & SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 3-21, 2001.

SANTOS, H. V.; PEREIRA, J. M.; FREITAS, R. F.; ANDRADE ROYO, V. Caracterização laboratorial das dislipidemias e o uso de fitoterápicos. **Revista Multitexto**, v. 3, n. 1, p. 21-28, 2015.

SARDJONO, R. E.; ATHIANA, A. F.; GUMILAR, G. G.; RACHMAWATI, R. Extraction of Essential Aroma Compounds from Several Malodorous Indonesian Plants Using Simultaneous Steam Distillation-Extraction. **Asian Journal of Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 679, 2017.

SHOVIC, A.C.; WHISTLER, W.A. Food sources of provitamin A and vitamin C in the American Pacific. **Tropical Science**, v. 41, p. 199-202, 2001.

SIMOES, C. M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre. Editora da UFRGS, p. 1104, 2007.

SINGH, D. R. *Morinda citrifolia* L.(Noni): A review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties. **Journal of Diabetes and Endocrinology**, v. 3, n. 6, p. 77-91, 2012.

SLEPECKY, R. A.; HEMPHILL, H. E. **The Genus Bacillus**Nonmedical. **Prokaryotes**, v.4, p. 530-562, 2006.

SOUSA, C. P. Pathogenicity mechanisms of prokaryotic cells: an evolutionary view. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 7, n. 1, p. 23-31, 2003.

SRIVASTAVA, M.; SINGH, J. A new anthraquinone glycoside form *Morinda citrifolia*. **Journal of Pharmacology**, v. 31, p. 182–184, 1993.

USHA R.; SANGEETHA S.; PALANISWAMY M. Antimicrobial activity of a rarely known species, *Morinda citrifolia* L. **Ethnobotanical Leaflets**, v. 14, p. 306-311, 2010.

USPTO, 2005. Patent Full-Text and Image Database. Patents (*Morinda citrifolia*). Acessado: janeiro de 2017

VAN E. J. Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, p. 347-352, 2003.

ZHANG, W. M.; WANG, W., ZHANG, J. J.; WANG, Z. R., WANG, Y.; HAO, W. J.; HUANG, W. Y. Antibacterial constituents of Hainan *Morinda citrifolia* (noni) leaves. **Journal of food science**, v. 81, n. 5, 2016.

WANG, M. Y.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J.; NOWICKI, D. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. Review. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 23, p. 1127–1141, 2002.

WANG, M. Y.; SU, Chen. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 952, n. 1, p. 161-168, 2001.

WANG, M.; KIKUZAKI, H.; CSISZAR, K.; BOYD, C. D.; MAUNAKEA, A.; FONG, S. F.; HO, C. T. Novel trisaccharide fatty acid ester identified from the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 12, p. 4880-4882, 1999.

WANG, M. Y.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J.; NOWICKI, D.; SU, C.; PALU, A. K.; ANDERSON, G. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 23, n. 12, p. 1127-1141, 2002.

YU, H. Anti-inflammatory constituents in Noni (*Morinda citrifolia*) fruits. In: **IFT Annual Meeting**, Las Vegas, NV, p. 12-16, 2004..

YOUNOS, C.; ROLLAND, A.; FLEURENTIN, J.; LANHERS, M.C.; MISLIN, R.; MORTIER, F. Analgesic and behavioral effects of *Morinda citrifolia*. **Planta Medicine**, v. 56, n. 05, p. 430–434. 1990.