



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

RAFAELA FIGUEIREDO FONTES

**ELABORAÇÃO DE PÓ LIOFILIZADO DA POLPA DE NONI
(*Morinda citrifolia*) E DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS EM DIVERSOS COMPONENTES DA FRUTA E
NO PÓ LIOFILIZADO**

SÃO CRISTÓVÃO
2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

RAFAELA FIGUEIREDO FONTES

**ELABORAÇÃO DE PÓ LIOFILIZADO DA POLPA DE NONI
(*Morinda citrifolia*) E DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS EM DIVERSOS COMPONENTES DA FRUTA E
NO PÓ LIOFILIZADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos como requisito final à obtenção do título de Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Narendra Narain

São Cristóvão/SE

2018

RAFAELA FIGUEIREDO FONTES

**ELABORAÇÃO DE PÓ LIOFILIZADO DA POLPA DE NONI (*Morinda
citrifolia*) E DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM
DIVERSOS COMPONENTES DA FRUTA E NO PÓ LIOFILIZADO**

Dissertação de mestrado aprovada no
programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos 28 de fevereiro de
2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Narendra Narain

Orientador/ PROCTA – UFS

Prof. Dr^a. Alessandra Almeida Castro Pagani

1º. Examinador/ PROCTA – UFS

Dr^a. Maria Terezinha Santos Leite Neta

2º. Examinador/ UFS

São Cristóvão/SE

2018

Aos meus pais, Ana Gardenia e Edmilson, pelo amor incondicional, amor, apoio e dedicação. Vocês sempre serão meu maior exemplo.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por me guiar nessa jornada de grandes obstáculos e aprendizado.

À minha família, em especial, a meus pais pela ajuda infinita, total apoio e incentivo, sempre estando disponível em todos os momentos de dificuldade. A meu irmão, minha avó e meu marido que sempre se dispuseram a compreender meus momentos de aflições, garantindo embasamento e contribuiriam para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu orientador, Prof. Dr^o. Narendra Narain, pelo voto de confiança, tendo me aceitado como orientada, pelo seu exemplo de profissional. Agradeço a oportunidade que me proporcionou de trabalhar em um local de extrema qualidade e com excelentes profissionais.

Agradeço também, ao setor HPLC, em especial, a Marina, sempre me auxiliando em dúvida e sugestões de melhoria ao longo do percurso, Paula, Tamna, Taís, Juliana e Tacyana pela disponibilidade e cooperação.

Agradeço também, ao setor GC, pelas frequentes ajuda ao longo da caminhada, fizeram toda diferença.

Ao secretário Júnior, sempre disponível e acessível para retirada de dúvidas e resolução de problemas.

Ao programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aos membros da banca examinadora.

E muito obrigada a todos que torcem por mim e aos que mesmo não sendo citados aqui contribuíram e cooperaram de uma forma ou outra em meu aprendizado.

FONTES, R. R. Elaboração de pó liofilizado da polpa de noni (*Morinda citrifolia*) e determinação de compostos bioativos em diversos componentes da fruta e no pó liofilizado. [Dissertação]. São Cristóvão: Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe; 2018.

RESUMO

A *Morinda citrifolia*, popularmente conhecida como noni, é oriunda do Sudeste da Ásia. No Brasil, sua introdução começou de maneira gradativa e relativamente recente, por intermédio de pessoas que trouxeram sementes, provavelmente do Caribe ou Polinésia. A premissa de melhorias à saúde elevou o aumento do seu consumo entre brasileiros. A região nordeste tem um plantio apreciável da *Morinda citrifolia*, principalmente nas regiões situadas entre os estados de Sergipe e Ceará. Todavia, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), afirma que os efeitos farmacológicos e terapêuticos do fruto ainda não foram totalmente explicitados. O presente trabalho teve como objetivo elaborar pó liofilizado da polpa de noni (*Morinda citrifolia*) e determinar compostos bioativos em diversos componentes da fruta e no pó liofilizado. Os frutos foram adquiridos no mercado municipal da cidade de Aracaju-SE. Posteriormente, foram selecionados de acordo com seu grau de maturação (maduro) e desmembrados em semente, casca e polpa. Parte desta foi processada em liofilizador por período de 48h, temperatura de -54,9°C, pressão 6,11 mbar e, vácuo 0,42 mbar. O fruto foi caracterizado de maneira interina quanto à composição centesimal, tendo seu extrato liofilizado melhor atividade, em acetona, para o método antioxidante FRAP, assim como, para o radical ABTS⁺⁺. Para fenólicos, o pó liofilizado (7486.37 µg EAG/g) obteve melhor desempenho em meio aquoso, a polpa (464.44 µg EAG/g) no extrato etanólico, a semente e a casca em acetona com valores de 2329.99 µg EAG/g e 313.29 µg EAG/g, respectivamente. Dentre os constituintes do noni, os flavonoides (156.94 µg querc./g amostra) expressaram melhor resposta no extrato da semente em acetona, para os demais extratos, o pó liofilizado mostrou resultados mais expressivos. A explanação dos perfis cromatográficos para flavonoides e sua identificação foi possível através do HPLC/DAD, sendo identificados bioativos como rutina, canferol e artepillina C. O ácido ascórbico foi quantificado em maior concentração (336,62 mg/100g) no pó liofilizado do fruto. Os açúcares foram superiores no pó liofilizado da polpa, sacarose (4.69g/100g), frutose (6.37 g/100g), glicose (9.20 g/100g). Sendo assim, foi notório o efeito antioxidante presente nos diversos componentes do fruto, e a maior conservação deste potencial através da aplicação da liofilização.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*. Atividade antioxidante. HPLC. Flavonoides.

FONTES, R. R. Preparation of lyophilized powder of noni pulp (*Morinda citrifolia*) and determination of bioactive compounds in different components of the fruit and in lyophilized powder [Dissertation]. São Cristóvão: Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal University of Sergipe; 2018.

ABSTRACT

Morinda citrifolia, popularly known as noni, is native from Southeast Asia. In Brazil, its recent introduction began gradually, through people who brought seeds, probably from the Caribbean or Polynesia. The improvements in health, increased the consumption of this fruit among Brazilians. The northeast region has an appreciable planting of the *Morinda citrifolia*, mainly in the regions located between the states of Sergipe and Ceará. However, the National Health Surveillance Agency (ANVISA) states that the pharmacological and therapeutic effects of the fruit have not yet been fully explained. The objective of the present work was to elaborate lyophilized powder of noni pulp (*Morinda citrifolia*) and to determine bioactive compounds in several components of the fruit and of lyophilized powder. The fruits were purchased in the municipal market of the city of Aracaju-SE. These were selected according to their degree of ripening (mature) and dismembered in seed, peel and pulp. Part of which was processed in lyophilizer for 48h period, temperature of -54.9°C, pressure 6,11 mbar and vacuum of 0,42 mbar. The fruit was characterized for its centesimal composition, and its lyophilized extract had the best activity, in acetone, for the FRAP antioxidant method, as well as for the ABTS⁺⁺ radical. For phenolics, the lyophilized powder (7486.37 µg EAG/g) obtained better performance in aqueous medium, pulp (464.44 µg EAG/g) in ethanolic extract, seed and peel in acetone with values of 2329.99 µg EAG/g and 313.29 µg EAG/g, respectively. Among the noni constituents, flavonoids (156.94 µg querc./g sample) showed a better response in the acetone seed extract. For the other extracts, lyophilized powder showed more expressive results. The analysis of the chromatographic profiles for flavonoids and their identification was possible through HPLC/DAD, and bioactive compounds such as rutin, kaempferol and artemillin C were identified. Ascorbic acid was quantified in a higher concentration (336.62 mg / 100g) in the lyophilized powder of the fruit. The sugar contents were higher in the lyophilized pulp powder, sucrose (4.69g / 100g), fructose (6.37g / 100g), glucose (9.20g / 100g). Thus being the higher potential of antioxidant effect of the various components of the fruit was established, as well as the greater conservation of this potential through the application of lyophilization.

Keywords: *Morinda citrifolia*. Antioxidant activity. HPLC. Flavonoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Morinda citrifolia</i>	15
Figura 2 - Aspectos gerais da planta 1. Inflorescência, 2. Folha, 3. Caule.....	15
Figura 3 - Noni em diferentes estágios de maturação: 1: verde; 2: de “vez”; 3:maduro.	16
Figura 4 - Países com referências de estudo do fruto.	17
Figura 5 - Representação química dos principais flavonoides.	23
Figura 6 - Formação dos radicais livres.....	24
Figura 7 - Fluxograma para obtenção da polpa liofilizada.....	31
Figura 8 - Fluxograma para obtenção dos extratos.....	33
Figura 9 - Fluxograma extração flavonoides método 1.....	35
Figura 10 - Fluxograma extração flavonoides método 2.....	36
Figura 11 - Estrutura química da clorofila a e b.	46
Figura 12 - Comparação dos resultados para fenólicos totais obtidos a partir de quatro métodos de extração (solventes diferentes).	53
Figura 13 - Comparação dos resultados para flavonoides totais obtidos a partir de quatro métodos de extração (solventes diferentes).	53
Figura 14 - Correlação entre flavonoides e fenólicos totais.	54
Figura 15 - Comparação entre açúcares para cada componente do fruto.	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química do noni.....	19
Tabela 2 - Gradiente de injeção da fase móvel A e B.	37
Tabela 3 - Fragmentos monitorados para os compostos e seus tempos de retenção.....	40
Tabela 4 - Caracterização físico química da polpa, semente, casca e pó liofilizado do noni...	41
Tabela 5 - Quantificação de carotenoides, clorofila a e clorofila b nos diversos componentes do fruto por análise por espectrofotometria.....	44
Tabela 6 – Atividade Antioxidante TEAC (Capacidade antioxidante equivalente a trolox) e AAEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico) pela redução do ferro (FRAP) nos diferentes extratos.....	48
Tabela 7 – Atividade Antioxidante TEAC (Capacidade antioxidante equivalente a trolox) e AAEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico) pelo método ABTS ++ nos diferentes extratos.	49
Tabela 8 - Quantificação flavonoides e fenólicos totais.....	51
Tabela 9 - Matriz de correlação entre as atividades antioxidantes, fenólicos e flavonoides....	54
Tabela 10 - Quantificação de açúcares dos diversos componentes do fruto noni HPLC - DAD.	55
Tabela 11 – Quantificação Ácido Ascórbico.....	56
Tabela 12 - Áreas e tempo de retenção dos flavonoides identificados no fruto noni.....	58
Tabela 13 - Fragmentos selecionados para cada composto e seus respectivos tempos de retenção.....	59
Tabela 14 - Quantificação flavonoides LC- MS.....	60

LISTA DE SIGLAS

ABTS: 2,2- Azino – bis (ácido 3- etilbenzotiazolina – 6- sulfônico)

ATP: Trifosfato de adenosina

AAEAC: Capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico

CTF: Conteúdo total de fenólicos

DAD: Detector do Arranjos do Diodo

EAG: Equivalente em ácido gálico

FRAP: Poder redutor do ferro

HPLC: High performance liquid chromatography

LC: Liquid chromatography

MS: Espectrometria de massas

PA: Para análise

PH: Potencial hidrogeniônico

RDA: Recommended dietary allowances

SOD: Super oxido desmutase

TEAC: Capacidade antioxidante equivalente a trolox

TROLOX: Ácido 6- hidroxil- 2,5,7,8- tetrametilcromana-2- carboxílico

UV: Ultravioleta

g: grama

m: massa

mm: milimol

min: minuto

mg: miligrama

nm: Nanômetro

mL: mililitro

μ M: Micromolar

μ g: Micrograma

%: por cento

°C: Grau Celsius

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1. <i>MORINDA CITRIFOLIA</i> (NONI): CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS.....	14
2.2. ORIGEM E HISTÓRICO NO BRASIL.....	16
2.3. CONSTITUIÇÃO QUÍMICA.....	18
2.4. ATIVIDADE BIOLÓGICA E COMPOSTOS BIOATIVOS.....	21
2.4.1. <i>Ácido ascórbico</i>	21
2.4.2. <i>Carotenoides</i>	22
2.4.3. <i>Atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonoides</i>	22
2.4.4. <i>Mecanismos dos radicais livres</i>	24
2.5. OTIMIZAÇÃO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO.....	25
2.6. LIOFILIZAÇÃO.....	26
2.7. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS	27
3.OBJETIVO.....	27
3.1. OBJETIVO GERAL	27
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1. MATÉRIA-PRIMA.....	28
4.2. MÉTODOS DE ANÁLISE.....	28
4.2.1. <i>Caracterização físico-química do noni</i>	28
4.2.2. <i>Obtenção da polpa liofilizada</i>	30
4.3. PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO	32
4.3.1. <i>Extrato alcoólico, extrato cetônico e extrato aquoso</i>	32
4.4. <i>ÁCIDO ASCÓRBICO POR HPLC</i>	33
4.5. <i>AÇÚCARES POR HPLC</i>	34
4.6. <i>FLAVONOIDES POR HPLC</i>	34
4.6.1. <i>Equipamento</i>	34
4.6.2. <i>Extração Método 1</i>	35
4.6.3. <i>Extração Método 2</i>	35

4.6.4. Padrões analíticos e solventes.....	36
4.6.5. Condições Cromatográficas.....	37
4.7. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	37
4.7.1. FRAP.....	37
4.7.2. ABTS.....	38
4.8. CAROTENOIDES POR ESPECTROFOTOMETRIA.....	38
4.9. FENÓLICOS TOTAIS (ESPECTROFOTOMETRIA).....	39
4.10. CONTEÚDO TOTAL DE FLAVONOIDES (ESPECTROFOTOMETRIA).....	39
4.11. QUANTIFICAÇÃO LC-MS.....	39
4.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	41
5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA (POLPA, SEMENTE, CASCA, PÓ LIOFILIZADO DA POLPA) 41	
5.2. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	46
5.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	48
5.4. QUANTIFICAÇÃO AÇÚCARES.....	55
5.5. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA E COMPOSTOS BIOATIVOS.....	56
6. CONCLUSÃO.....	63
7. PESQUISAS FUTURAS.....	64
8. REFERÊNCIAS.....	65

1. INTRODUÇÃO

A fitoterapia faz parte de um dos mais antigos costumes da humanidade, baseada na extração dos princípios bioativos de plantas medicinais capazes de curar e prevenir patologias (Fonseca *et al.*, 2015; Brasil, 2015). Ao relacionarmos os compostos presentes em alimentos naturais, é notória a presença de um maior número de centros quirais, átomos com menor massa molecular, assim como, uma sistemática de anéis variados, assegurando uma maior possibilidade do seu potencial biológico (Pan *et al.*, 2013; Ortholand *et al.*, 2004).

Os frutos conferem ação sobre a produção excessiva de radicais livres pelo organismo, evitando efeitos maléficos, desequilíbrio da homeostasia, doenças crônicas não transmissíveis e neurodegenerativas (aterosclerose, infarto do miocárdio, artrite reumatoide, catarata, mal de Parkinson, envelhecimento precoce, câncer) (Kim *et al.*, 2008; Costa, 2011).

A *Morinda citrifolia*, popularmente conhecida como noni, é oriunda do Sudeste da Ásia. Foi difundida por intermédio da Índia e Oceano Pacífico, chegando posteriormente a Polinésia das Ilhas Francesas (Wang *et al.*, 2002). De acordo com Muller (2007), o fruto oferece ação antioxidante, antitumoral, analgésica, antibacteriana e anti-inflamatória, por conseguinte, há necessidade de melhor esclarecimento a respeito do seu potencial de ação. As propriedades fitoterápicas estendem-se ao fruto de maneira interina, visto que, a casca possui peculiarmente caráter adstringente, as sementes, ação laxativa, e a polpa do fruto dentre suas qualificações, ainda manifesta atividade imunoestimulante, anticongestivo e expectorante (Sousa *et al.*, 2010; Rodríguez, 2005).

As antraquinonas, os polissacarídeos e flavonoides (Pawlus *et al.*, 2005) fazem parte da composição fitoquímica do noni. Segundo Krishnaiah e seus colaboradores (2012), a escopoletina, rutina, ácido ursólico, asperulosida, damnacanthal são considerados os compostos preponderantes nas amostras da fruta.

O consumo do noni no Brasil aumentou consideravelmente, tornando-o ranking, o sexto país de maior consumo dos produtos a base deste fruto (ABEVD, 2011). A região nordeste tem um plantio apreciável da *Morinda citrifolia*, principalmente nas regiões situadas entre os estados de Sergipe e Ceará. Apesar do seu cultivo difundido, ainda se faz necessário, estudos que validem e demonstrem seu real potencial biológico (Correia *et al.*, 2011; Silva, 2015).

O interesse pelo estudo do fruto noni deu-se mediante melhor elucidação das questões terapêuticas e nutricionais, visto que seu uso é extensivamente difuso, porém baseado meramente em questões empíricas e crença popular. Sua fácil adaptação a solos atípicos,

áridos e regiões tropicais ocasionou seu extensivo consumo mundial (Matte *et al.*, 2016). Usualmente, utilizado como fonte alternativa na prevenção, tratamento ou cura de diversas patologias, propondo ação antimutagênica, anticarcinogênica, antioxidante, dentre outras, seus benefícios são creditadas à presença de metabólitos secundários oriundos de sua composição bioquímica. Todavia a sociedade acadêmico científica, necessita de embasamentos sólidos e melhor delineamento a cerca deste potencial de ação (Nualsanit *et al.*, 2012).

A maioria dos estudos detém atenção aos efeitos benéficos oferecidos estritamente pela polpa das frutas, entretanto o rejeitado de sementes e casca também podem proporcionar ações biológicas proveitosas.

A pesquisa busca novas fontes e esclarecimentos sob o potencial bioativo do noni e seus possíveis benefícios e novas aplicações, a partir da polpa e outras partes do fruto. Aproximadamente 150 toneladas de semente do noni são geradas durante a fabricação do seu suco. Desta maneira um estudo mais aprofundado no intuito de descobrir a presença de compostos bioativos e definir um fim diferenciado a estes resíduos, é de enorme interesse (West *et al.*, 2008).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Morinda citrifolia* (noni): características botânicas

A *Morinda citrifolia* pertence à família da Rubiaceae, Rubia L. originária do latim Rubim, referente à coloração avermelhada produzida pela raiz. O gênero *Morinda* tem derivação de duas palavras latinas *morus* (amora) e *indicus* (Índia), pela semelhança da fruta noni com a verdadeira amora (*Morus alba*). (Pereira, 2007; Correia *et al.*, 2011).

Classificação taxonômica, segundo APG III:

- Reino: Plantae
- Divisão: Magnoliophyta
- Classe: Magnoliopsida
- Ordem: Gentianales
- Família: Rubiaceae Juss
- Gênero: *Morinda* L.
- Nome Botânico: *Morinda citrifolia* L

Possui caule ereto da base até o topo (ápice), com reduzido crescimento secundário (lateralmente), resultando em um caule proeminente. Arbusto que cresce em regiões costeiras

e florestais com variação de tamanho entre 1 a 500 m acima do nível do mar. Suas folhas são de tamanho médio, elípticas, opostas e margens onduladas, cor verde brilhante na face superior e opaca na porção inferior (Sousa, 2015; Wang et al., 2002). Seu desenvolvimento é mais eficiente em solos ricos em minerais, porém possui aptidão versátil, sendo capaz de germinar em solos ácidos ou alcalinos, úmidos e até mesmo inférteis (Nelson, 2006).

A estrutura ovoide varia de 3 – 10 cm de comprimento e 3 – 6 cm de largura, apresentam área superficial com grumos e recoberta por estruturas poligonais castanho, sua coloração depende do seu estado de maturação, podendo ser verde, amarelo ou branco (Correia *et al.*, 2011).

Figura 1 - *Morinda citrifolia*.



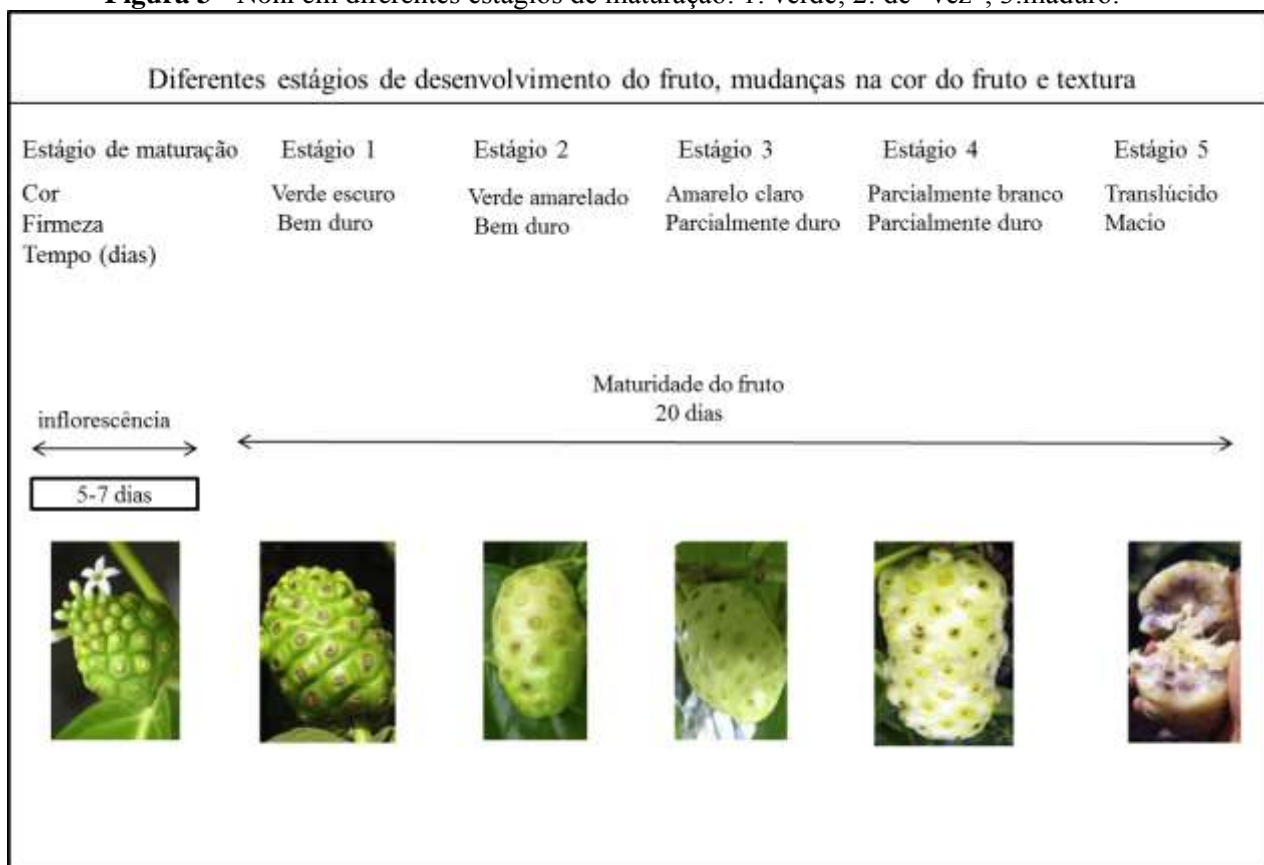
Fonte: Silva (2015)

Figura 2 - Aspectos gerais da planta 1. Inflorescência, 2. Folha, 3. Caule.



Fonte: Sousa (2015)

A etapa da inflorescência é constituída por pequenas flores com corola branca que se torna amarelada com formato tubular. Os frutos são carnosos e ovoides, quando estão amadurecidos brancos translúcidos e exalam cheiro forte e característico, proveniente do ácido butírico (Chan Blanco, 2006).

Figura 3 - Noni em diferentes estágios de maturação: 1: verde; 2: de “vez”; 3:maduro.

Fontes: Assi (2015); Rethinam *et al.*, (2007)

Nos primeiros 12 meses, o fruto geralmente apresenta um tamanho menor. Durante o inverno sua produção é reduzida, porém a árvore não deixa de dar frutos. Quando cultivada em regiões propícias ao sol e com ventos amenos, é raro sofrer ataques de insetos ou ser infectada por doenças. Após iniciada a fase frutífera, a produção se torna constante durante todo ano (Chan-blanco *et al.*, 2006; Sampaio *et al.*, 2010).

2.2. Origem e histórico no Brasil

Segundo a OMS (2011), aproximadamente 80% das pessoas com baixa renda utilizam os fitoterápicos como fonte alternativa, devido a falta de acessibilidade à saúde. O Noni, planta originária da Ásia tropical, foi descoberta pelos polinésios, sendo amplamente reportada por suas propriedades fitoterápicas e nutricionais há mais de 2.000 anos (Sousa *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2001). A planta da família da Rubiaceae adapta-se facilmente a regiões costeiras e intercontinentais, com boa tolerância a solos salinos e ressequidos, encontrada em regiões como África, Austrália, Malásia, Caribe, Índia e Indonésia (Lubeck e Hannes, 2001). Foi difundida comercialmente através do suco extraído do sumo da fruta, tendo

subsequentemente seu consumo em cápsulas sob a forma de extrato seco (Chan-Blanco *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2011).

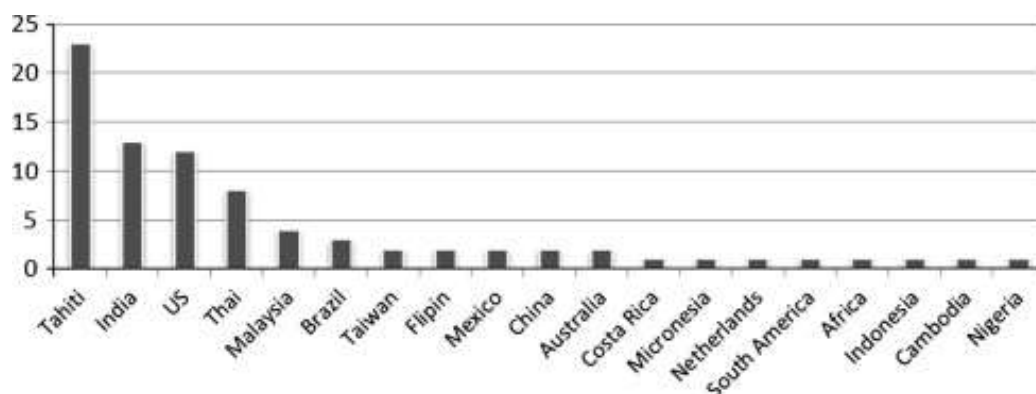
No Brasil, sua introdução começou de maneira gradativa e relativamente recente, por intermédio de pessoas que trouxeram sementes provavelmente do Caribe ou Polinésia. Seu consumo teve aumento na premissa de melhorias à saúde, despertando interesse comercial e sua consequente difusão (Sousa *et al.*, 2009; Matoso *et al.*, 2013).

Estudos científicos têm apontado a *Morinda citrifolia* como uma fruta com boa capacidade antioxidante, hepatoprotetora e imunomoduladora (Deng *et al.*, 2008). A comercialização mundial foi facilitada pelo seu poder medicinal e dietético, desde a comercialização do suco Tahitian Noni, lançado em 1996. O suco do noni é tradicionalmente feito em tambores fechados, por intermédio de sua fermentação. O tempo de produção gira em torno de dez dias a dois meses, o líquido que escorre do fruto pode ou não passar pelo processo de pasteurização e posterior engarrafamento (Nelson & Elevitch, 2006; Uant *et al.*, 2010).

Fatores como processamento, acondicionamento, oxigenação, luz e oscilação de temperatura podem afetar a biofuncionalidade do suco (Ram, 2002). Conforme Yang *et al.* (2010), a produção do suco sob temperatura de 24°C, 4°C e 18°C, após armazenamento de um mês, reduziram em 80%, 30% e 10% respectivamente, o potencial dos fenólicos totais no produto.

O aspecto geográfico é outra variável que afeta diretamente a composição do fruto, já que as divergentes condições geográficas (solo, luz solar, ar e precipitação) e o pós-colheita (armazenamento, transporte e cultivo) acabam levando a prevalência de diferentes funcionalidades (Deng *et al.*, 2010).

Figura 4 - Países com referências de estudo do fruto.



Fonte: Assi (2015).

O gráfico acima explicita os países nos quais o noni é mais bem explorado e estudado cientificamente. No âmbito brasileiro, são necessários maiores estudos para que de fato o fruto seja aprovado pela Agência Nacional de Vigilância sanitária (ANVISA), segundo esta, os efeitos farmacológicos e terapêuticos ainda não foram totalmente explicitados. Embasado neste questionamento, um informativo técnico foi publicado através da Resolução nº. 16/1999 e a Resolução 16 RDC nº. 278/2005 sob a sua segurança terapêutica. Desta maneira, por intermédio da resolução nº 7/2014, nº9/2004 foi decretada suspensão de programas do suco Tahitian Noni[®], já que haviam diversas alegações vinculadas a diversos meios de comunicação.

2.3. Constituição química

Cerca de 200 fitoquímicos foram identificados de diferentes regiões da *Morinda citrifolia*, apesar de não totalmente relatados (Singh, 2012). Sua composição está diretamente relacionada ao seu país de origem e época de colheita; dentre estes, estão os terpenos, xeronina, damnacanthal, norepinefrina, escopoletina, antraquinonas, aminoácidos, fitonutrientes, morindona, morindina, acubina, alzarina, ácido caproico e ácido caprílico (MATOSO *et al.*, 2013; Deng, 2010).

Nas espécies brasileiras, a polpa fresca apresenta em sua constituição açúcar redutor, dentre eles a glicose e frutose, sendo também sugerida uma grande quantidade de minerais (Assi *et al.*, 2015). Pratap *et al.*, (2017). Após realização de análises fitoquímicas em suco comercial do noni corroboraram a ideia da existência de altos níveis de fenóis, alcaloides, terpenoides e açúcares redutores, quantidades moderadas de saponina e vestígios de flavonoides, taninos e proteínas. Em análises de extratos aquoso, da *Morinda citrifolia*, foram reportados além dos compostos citados anteriormente, a presença de cumarinas, saponinas, esteroides, lipídios e triterpenoides. (Serafini (2011); Nagalingam *et al.*, (2012))

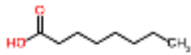


O suco concentrado Tailandês, reportou teor de ácidos graxos de $149 \pm 8,735\text{mg}/100\text{g}$, com proporção de glutamato, alanina, arginina (20 - 26mg/ 100g); glicina, cisteína, metionina, tirosina, fenilalanina, lisina (9,0 – 14,5mg/ 100g); treonina, serina, valina, isoleucina, leucina (3 – 6,5mg/ 100g) (Rawangban *et al.*, 2011).

Segundo Lavaut (2003), o fruto contém 52% de água em sua composição, além de substâncias como damnacathal, xeronina e norepinefrina, sendo esta precursora da adrenalina, estimuladora do sistema nervoso simpático. O damnacanthal, substância natural auxiliadora no combate ao câncer, e a xeronina que promove reações alcaloides, acionando enzimas catalisadoras do metabolismo celular, otimizando condições ao combate de diabetes, câncer,

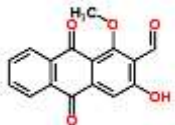
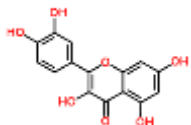
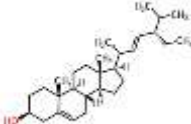
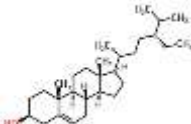

asma, artrite e ao combinar-se a proteínas fornece energia e sinais bioquímicos intracelular (Palioto *et al.*, 2015; Quintana, 2002; Costa, 2016).

Já Motshakeri (2015) afirma que a fruta contém 90% de água e 10% de matéria seca. A matéria seca consiste em sólidos solúveis (8 - 10 Brix), dos quais 5% são açúcares redutores (glicose e frutose) e 1,3% é sacarose, com o restante composto de fibras e proteínas (Chunhieng, 2003). Aproximadamente 10% a 12% do peso seco são compostos por minerais, principalmente potássio, cálcio, enxofre, magnésio, sódio, fósforo, com vestígios de selênio e aminoácidos como o ácido aspártico (Chunhieng, 2003).

Tabela 1 - Composição química do noni.

Composto	Atividade	Referência
 Ácido caprílico	Antifúngico	Elkins, 1998; Dittmar, 1993; Wang <i>et al.</i> , 1995.
 Ácido hexanoico	Antifúngico e antioxidante	Wang <i>et al.</i> , 2002; Liu <i>et al.</i> , 2005
 Vitamina C	Antioxidante	Yang <i>et al.</i> , 2007
 Vitamina E	Antioxidante	West <i>et al.</i> , 2008
Magnésio, selênio	Valor nutricional	Yang <i>et al.</i> , 2007; West <i>et al.</i> , 2011
2,6-di-O-(β-D-glicopiranosil 1-O-octanol-β-D glicopiranosose	Antioxidante	Nelson, 2003; Lin <i>et al.</i> , 2008.

(continua)

Composto	Atividade	Referência
	Anti câncer	Chan Blanco <i>et al.</i> , 2006
Damnacanthol	Antiflamatório Atividade imunomoduladora Anti alérgico Antioxidante	Semente (MASUDA <i>et al.</i> , 2009) Fruta (YU <i>et al.</i> , 2008; DENG <i>et al.</i> , 2007b); Elkins, 1998; Liu <i>et al.</i> , 2001; Yu, 2004; Deng <i>et al.</i> , 2007
	Escopelina	Fruta (YU <i>et al.</i> , 2008; LIN <i>et al.</i> , 2007; SIDDIQUI <i>et al.</i> , 2007b)
Escopelina	Antitubercular	Semente (WEST <i>et al.</i> , 2008)
	Antinflamatório Antinefropático Antifúngico	Semente (MASUDA <i>et al.</i> , 2009; YANG <i>et al.</i> , 2009);
Estigmasterol	Antitubercular	Semente (WEST <i>et al.</i> , 2008)
	Antitubercular	Semente (WEST <i>et al.</i> , 2008)
Ácido ursólico	Atividade inibitória de melanoma Atividade inibitória de células tumorais	Fruta (AKIHISA <i>et al.</i> , 2010; AKIHISA <i>et al.</i> , 2007; KAMIYA <i>et al.</i> , 2005; LIU <i>et al.</i> , 2001) Raiz (KAMIYA <i>et al.</i> , 2008)
	Atividade inibitória de melanoma Atividade inibitória de células tumorais	Fruta (AKIHISA <i>et al.</i> , 2010; AKIHISA <i>et al.</i> , 2007; KAMIYA <i>et al.</i> , 2005; LIU <i>et al.</i> , 2001) Raiz (KAMIYA <i>et al.</i> , 2008)
Ácido Asperulosídico		

(continuando)

Composto	Atividade	Referência
Éster metil scandosídeo	Atividade inibitória de melanoma	Fruta (AKIHISA <i>et al.</i> , 2010)
Americanina A	Antioxidante	Semente (MASUDA <i>et al.</i> , 2009) Fruta (LIN <i>et al.</i> , 2007; SU <i>et al.</i> , 2005)

(conclusão)

2.4. Atividade biológica e compostos bioativos

2.4.1. Ácido ascórbico

Uma dieta qualitativamente balanceada entre antioxidantes e pró-oxidantes está diretamente relacionada ao desencadear do processo oxidativo, causado pelo desbalanço nutricional, relacionada ao excesso deste ou deficiência daquele (Vannucchi, *et al.*, 1998; Boni *et al.*, 2010).

A presença de compostos bioativos, que atuam exercendo atividade antioxidante, auxiliam protetivamente à evolução de efeitos deletérios, inibindo o princípio da peroxidação lipídica, sequestrando os radicais livres. Dentre os fitoquímicos atuantes, incluem-se as vitaminas C, E, flavonoides e os carotenoides, sendo estes indispensáveis ao controle de processos oxidativos e formação de radicais livres (Barcia *et al.*, 2010; Kitts 1997; Rodrigues *et al.*, 2003).

As frutas e hortaliças proporcionam 85% da fonte de vitamina C, a qual trata-se de um composto hidrossolúvel, essencial ao melhor funcionamento do organismo. Atuando sob o superóxido e hidroxil, reduzindo os radicais tocoferóis em sua forma ativa nas membranas celulares, mantendo a integridade celular dos organismos aeróbios (Oliveira, *et al.*, 2011). Segundo Lutsenko *et al.* (2002), o ácido ascórbico atua na prevenção de mutação genética causada pelo estresse oxidativo em estudo *in vitro*.

A vitamina C, não sintetizada pelo organismo, é de relevante importância, tendo como principal fonte, as frutas em sua forma *in natura* (CHITARRA, 2005). No plasma, age como agente redutor, doando elétrons para várias espécies reativas, eliminando-as antes que estas interajam com as membranas e as lipoproteínas. De maneira indireta, ela regenera a forma ativa da vitamina E, e de outros antioxidantes como o β -caroteno, flavonoides e glutatona para que exerçam seu papel antioxidante (Batlouni *et al.*, 1997; Rique *et al.*, 2002). Sua

disponibilidade em frutos é essencial no tocante à prevenção ou manifestação de doenças, garantindo a este valor nutricional relevante (Nery *et al.*, 2013).

2.4.2. Carotenoides

Os carotenoides são compostos tetraterpenoides abundantes no reino vegetal, responsável pela coloração amarela, vermelha e laranja. São funcionalmente é constituída pela ação quimioprotetora, diretamente correlacionada a anticarcinogênese e potencial fitoquímico (Gomes, 2007; Silva *et al.*, 2014). Esta ação está diretamente correlacionada à existência de um extenso cromóforo constituído por ligações duplas conjugadas, formando um sistema de elétrons π que se desloca por toda cadeia poliênica, proporcionando alta reatividade química (Britton, 1995a). Conseqüentemente, o cromóforo, é responsável pela cor e propriedades fotoprotetoras dos carotenoides.

Existem aproximadamente 600 carotenoides na natureza, sendo subdivididos em (1) carotenos, hidrocarbonetos puros; (2) xantofilas, hidrocarbonetos com grupamentos oxigenados (Haeghele *et al.*, 2000). Os seres humanos não sintetizam estes nutrientes e assim depende diretamente da ingestão de alimentos ricos em fontes deste fitoquímico. Além da capacidade antioxidante, alguns deles são precursores da vitamina A nutriente responsável pela manutenção da visão, formação de tecido epitelial, resposta imunológica, reprodução, desenvolvimento e crescimento embrionário (Olson, 1994). Dentre outras funcionalidades, está diferenciação celular, metabolismo ósseo, atividade anti-inflamatória e retardo da oxidação lipídica, aumentando o tempo de vida de prateleira de produtos (Saini *et al.*, 2015).

Apenas 14 carotenoides apresentam boa disponibilidade de absorção, dentre eles, existem o β -caroteno, o α -caroteno, a luteína, a zeaxantina e o licopeno. Em contrapartida, apesar da existência da beta-criptoxantina, a fucoxantina, a astaxantina, a crocetina, a capsantina e o fitoeno, estes se encontram pouco estudados (Khachik *et al.*, 1991; Parker *et al.*, 1999).

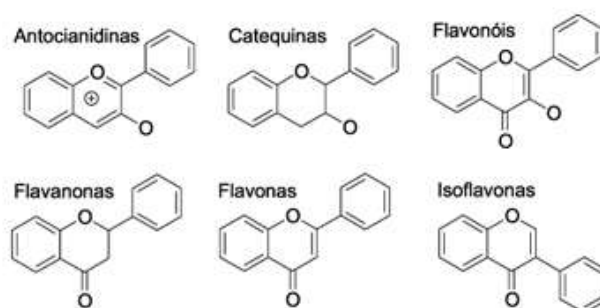
2.4.3. Atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonoides

Os flavonoides encontram-se entre os compostos fenólicos de maior interesse científico; sua estrutura química é formada por dois anéis aromáticos unidos por um heterociclo oxigenado. O grau de hidrogenação e a substituição do heterociclo classificam os flavonoides em diferentes grupos: flavonas, flavonóis, flavononas, antocianinas e isoflavanóides. (Arts & Hollman, 2005; Karakaya, 2004; Costa 2011).

Segundo Siriwardhana *et al.*, (2013), dentre os fitoquímicos bioativos, os polifenóis tem sido o mais extensivamente estudados pela sua capacidade de captura dos radicais livres. A descoberta de mais de 8000 moléculas compreendidas entre flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos e lignanas foi evidenciada. Estes compostos apresentam uma ampla atividade biológica, como poder antioxidante e anti-inflamatório. São gerados pelo metabolismo secundário das plantas, podendo estar livres ou agregados a açúcares e proteínas. Em estudos *in vivo*, é apontado que os fenólicos tem a ação de bloquear radicais livres danosos ao organismo humano, devido a sua estrutura química, constituída por anel aromático e grupamentos hidroxilas (Bravo, 1998; Liu, 2007).

A presença do anel aromático com substituintes hidroxílicos atua possibilitando a eliminação ou atenuação dos radicais livres, reduzindo o oxigênio singlete, promovendo a oxidação lipídica e quelação de metais (Malacrida *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2011).

Figura 5 - Representação química dos principais flavonoides.



Fonte: Oliveira (2011).

O tipo de flavonoide é baseado pela relação da solubilidade e reações de coloração, podem ser separados por procedimentos cromatográficos e os componentes individuais identificados, quando possível, por comparação com padrões (Março *et al.*, 2009).

Diversas frutas vêm ganhando maior reconhecimento pelo seu potencial de bioativos, dentre elas, o noni passou a ser estudado como uma iminente fonte destes compostos. Segundo Canuto *et al.*, (2010), o noni apresentou $1,2 \text{ mmol.L}^{-1}$, de ácido gálico, ultrapassando os valores obtidos pelo tamarindo ($0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$), cajá ($0,6 \text{ mmol.L}^{-1}$), araçá boi ($0,6 \text{ mmol.L}^{-1}$), bacaba ($0,3 \text{ mmol.L}^{-1}$), cajarana ($0,4 \text{ mmol.L}^{-1}$), cupuaçu ($0,4 \text{ mmol.L}^{-1}$) e caju ($0,6 \text{ mmol.L}^{-1}$).

Conforme estudo descrito por Malaterre *et al.* (2016), os flavonoides em frutas tropicais como abacaxi foi de $2 \text{ mg}/100\text{g}$; manga, $6,4 \text{ mg}/100\text{g}$; $1,7 \text{ mg}/100\text{g}$ para mamão; $9,1 \text{ mg}/100\text{g}$ para banana nanica. Valores inferiores ao encontrado para o noni já que, de acordo

Palioto *et al.*,(2015) foi quantificado 13,01mg/100g de flavonoides amarelos para o fruto noni.

De acordo com Ruhomally *et al.*, (2016), o teor fenólico total do noni foi de $748,40 \pm 8,85$ mg/EAGg⁻¹ e $770,34 \pm 2,27$ mg EAG g⁻¹ com maior quantidade no fruto não maduro. Porém nenhuma diferença significativa foi observada. O nível mais alto de flavonóides foi medido na fruta não madura ($228,02 \pm 0,37$ mg/QE g⁻¹) com uma quantidade consideravelmente menor ($67,67 \pm 1,55$ mg/QE g⁻¹) no fruto maduro. Já as frutas maduras eram mais ricas em vitamina C ($76,24 \pm 1,13$ mg / 100 g) do que as amostras não maduras ($53,19 \pm 0,79$ mg / 100 g).

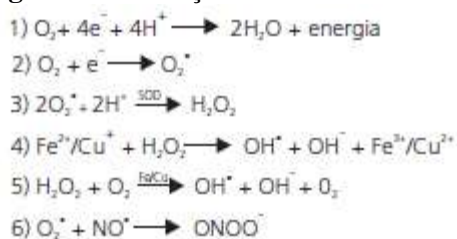
Segundo Sampaio (2010), as sementes também apresentam valor biológico, tendo como uma das maneiras de evitar rejeito destas, a avaliação para estudo e produção de óleo essencial. De acordo com Nelson (2005), cerca de 260 sementes são encontradas por fruto, sendo de cor amarronzada e espessura de 4 a 9 mm.

2.4.4. Mecanismos dos radicais livres

O mecanismo de formação dos radicais livres é constituído de um processo fisiológico contínuo, realizando funções biologicamente significativas. Os radicais livres funcionam como mediadores para condução e transferência de elétrons entre as reações bioquímicas. Quando produzidos de maneira compensada, eles geram ATP por intermédio da cadeia transportadora de elétrons e facilitam processos biológicos como fertilidade, melhora da imunidade, assim como, ativação genética. Entretanto, sua formação excessiva torna-se prejudicial à saúde humana (Shami *et al.*, 2004).

De acordo com Green *et al.*, (2004), o estresse oxidativo é gerado pela descompensação entre a produção de oxidantes e antioxidantes. Quando este processo torna-se crônico há maior suscetibilidade ao desenvolvimento de patologias não transmissíveis, dentre elas, diabetes, hipertensão arterial, aterosclerose, adversidades neurodegenerativas e carcinogênese.

Figura 6 - Formação dos radicais livres.



Fonte: Barbosa (2010)

A Figura 6 demonstra a formação dos radicais livres, na qual ocorre a redução tetravalente do oxigênio; este recebe quatro elétrons (e^-) e quatro íons de hidrogênio (H^+), levando a formação de energia e duas moléculas de água. Na fase dois o superóxido é formado (O_2^-) pelo acréscimo de elétron, na etapa 3 O_2^- recebe íons de hidrogênio, gerando os peróxidos de hidrogênio pelo processo de dismutação; esta reação é auxiliada pelo SOD (superóxido desmutase). Em sucessão o H_2O_2 reage com o ferro (Fe^{2+}) ou cobre (Cu^+), originando a hidroxila (OH^\cdot), reação de Fenton. Na fase 5, acontece a reação de Haber-Weiss, nela os íons citados possibilitam a reação entre H_2O_2 e O_2^- gerando OH^\cdot . Na última etapa, o radical O_2^- reage junto ao óxido nítrico, formando como produto o peroxinitrito ($ONOO^-$) (Barbosa *et al.*, 2010).

2.5. Otimização dos processos de extração

A elaboração de extratos sob diferentes condições surgiu para identificar e isolar de maneira mais eficiente os compostos bioativos em fontes naturais, dentre elas, frutas, sementes e especiarias. A polaridade dos solventes é essencial e diretamente correlacionada com a natureza do composto que deseja ser extraído (Andreo *et al.*, 2006). As pesquisas correntes buscam comparações sobre o método que propõe melhores resultados, buscando uma alternativa para sua aplicabilidade em alimentos. Preliminarmente, alguns testes devem ser feitos e aspectos ligados à manutenção da atividade dos compostos bioativos são de fundamental relevância, dentre eles, calor, presença de oxigênio e luz (Pompeu *et al.*, 2009; Shaidi e Naczki, 1995).

No estudo realizado por Azizah, Ruslawatti e Tee (1999), a atividade antioxidante máxima de subprodutos de cacau (pó, grãos e cascas), utilizaram metanol, misturas de clorofórmio, éter e dicloroetano ou clorofórmio, metanol e dicloroetano para a extração. O metanol apresentou melhor resultado na extração dos compostos bioativos.

Extrações submetidas a temperaturas brandas são significativamente mais adequadas para compostos termosensíveis como o ácido carnósico presente no alecrim. Para casos como este, o mais indicado é a extração por fluido supercrítico, que atua sobre a preservação do composto (IBÁÑEZ *et al.*, 1999).

Lapornik *et al.*, (2005) verificaram em resíduos de polpa vermelha, os extratos metanólicos, etanólicos e aquosos após submetidos a extração por período de 1, 12 e 24 horas, repotaram teor de polifenóis reduzidos quando submetidos a maior tempo de extração.

2.6. Liofilização

A técnica de liofilização consiste na conservação do produto através da sublimação, partindo do princípio de reduzir a perda nutricional, propriedades sensoriais e voláteis no alimento. Este sistema constitui importante funcionalidade na preservação de enzimas, vírus, leveduras, assim como, frutas e carnes, em geral. (Navas, 2006).

Este processo torna-se proveitoso e conveniente devido à redução à desnaturação oxidativa e reações degenerativas. O produto pode ser reconstituído facilmente, preserva características químicas e físicas, não propiciam desnaturação proteica e mantém os compostos voláteis presentes no alimento, atuam dificultando o desenvolvimento de microrganismos. Além destes, não há formação de “case-hardening”, sem migração de sólidos solúveis para superfície durante a secagem (Cohen *et al.*, 1995; Mujumdar, 1995; Marques, 2008).

A princípio, o processamento inicia através do congelamento, sublimação e posterior dessecamento sob pressão reduzida do alimento. A nucleação dos cristais de gelo é um interferente direto que pode impactar na qualidade do produto final. Alimentos com maior porosidade apresentam maior capacidade de reidratação, tornando-se relevante para indústria alimentícia (Petzold e Aguilera, 2009). A reidratação consiste em um processo de umidificação do material seco, para que desta maneira ocorra adsorção da água e lixiviação do soluto (Marques *et al.*, 2009; Witrowa-Rajchert *et al.*, 2006).

Há direta correlação entre a temperatura de congelamento e a melhor reidratação do produto. Amostras com congelamento lento demonstram proporções de reidratação superior quando comparadas ao rápido congelamento, devido a maior porosidade no conteúdo e melhor reconstituição do produto liofilizado (Babi *et al.*, 2009; Rhim *et al.*, 2011).

Segundo Harnkarnsujarit *et al.* (2016), no estudo realizado com reidratação de coalhada de soja seca, a reidratação foi mais eficiente após rápido congelamento, podendo a matriz alimentar ser o interferente principal.

De acordo com Menezes *et al.*, (2008), o açaí (*Euterpe oleracea*, Mart.) liofilizado manteve suas propriedades sensoriais e físico química similar a sua forma *in natura*. Os minerais de maior concentração foram ferro (4,5 mg em 100g de pó liofilizada), magnésio (124,4 mg em 100 g de pó liofilizada) e cálcio (330 mg/100 g de pó de açaí liofilizada). Os autores concluíram que o método é eficiente para manutenção das características do fruto, sendo uma excelente alternativa para melhor conservação da polpa (Menezes *et al.*, 2008).

De fato, estudos que reportam a aplicação da liofilização ao noni *in natura* são escassos, Rybak *et al.* (2013) aplicaram o método ao suco do noni Tahitian e quantificaram elementos como manganês (6,11g/L); cobre (2,22g/L); molibdênio (0,60g/L) e cobalto (0,047g/L). Ruhomally *et al.* (2016) fizeram um comparativo entre o liofilizado da fruta madura e não madura para averiguar o efeito do extrato da *Morinda citrifolia* na modulação do estresse oxidativo em lipossarcoma humano SW872 e constataram significativa restauração das células.

2.7. Cromatografia Líquida e Espectrometria de Massas

O botânico russo Mikhail S. Tswett deu início a aplicação da cromatografia líquida surgindo na primeira década do século passado, seu princípio era baseado na separação de pigmentos em uma coluna empacotada com partículas, sendo estes extraídos de plantas por intermédio de solventes. A simbologia HPLC inicialmente era determinada pelo termo High Pressure Liquid Chromatography com posterior evolução para High Performance Liquid Chromatography (Collins, 2009).

A cromatografia acoplada a espectrometria de massas trata-se de uma aplicabilidade analítica que combina a capacidade de separação de diferentes compostos da cromatografia líquida com capacidade de analisar suas respectivas massas. Seu fundamento baseia-se na medida de massa de íons provenientes de analitos em fase gasosa e determinados com relação a massa/carga (m/z). Os espectrômetros de massas propiciam identificação de compostos em estudos por intermédio da massa molecular, composição elementar e composição isotópica e fragmentação do composto (Hage *et al.*, 2006).

Esta técnica propicia a identificação e quantificação de compostos presentes em concentrações mínimas, devido à alta sensibilidade deste equipamento. As análises desenvolvidas em LC-MS propiciam maior agilidade e possibilidade de identificar compostos com similar ou idêntico tempo de retenção, demonstrando resultados com clareza e pureza das bandas cromatográficas (Hage *et al.*, 2006; Schiel *et al.*, 2006).

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

Elaborar pó liofilizado da polpa de noni (*Morinda citrifolia*) e determinar compostos bioativos em diversos componentes (polpa, casca e sementes) da fruta e no pó liofilizado.

3.2. Objetivos Específicos

- Aplicar método de liofilização na polpa do fruto;

- Caracterizar físico quimicamente a semente, casca, polpa *in natura* e pó liofilizado, quanto a umidade, atividade de água, extrato etéreo, cinzas, acidez, sólidos solúveis, pH e proteína;
- Padronizar extração dos compostos bioativos analisando a influência da aplicação de diferentes solventes;
- Quantificar fenólicos totais, flavonoides totais e carotenoides nas diversas partes e no pó liofilizado;
- Identificar, quantificar e determinar os flavonoides por diferentes técnicas de extração;
- Determinar atividade antioxidante da casca, semente, polpa *in natura* e pó liofilizado pelos métodos FRAP e ABTS;
- Identificar e quantificar açúcares presente na polpa e diversos componentes do fruto e no pó liofilizado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Matéria-prima

A fruta noni foi adquirida no mercado municipal da cidade de Aracaju, localizada no estado de Sergipe. Os frutos foram selecionados e seu estágio de maturação para realização da pesquisa foi considerado “maduro”.

Após colheita, o fruto foi higienizado com hipoclorito de sódio, despulpado e desmembrado em casca, polpa e semente para posterior elaboração de extratos e análises. Cada componente do fruto foi acondicionado em vasilhas separadas de polietileno e guardado sob congelamento a -18°C. As análises em triplicatas foram feitas no Laboratório de Flavor e Análises Cromatográficas - LAF.

4.2. Métodos de análise

4.2.1. Caracterização físico-química do noni

4.2.1.1. Umidade

A umidade foi determinada pelo método de gravimetria, onde foi usada balança analítica com precisão de 0,0001g, utilizado cadinho de porcelana e estufa de circulação de ar (Marconi MA 035/2) sob temperatura de 105°C até obter o peso constante. O teor de umidade foi expresso em gramas de água para 100g de amostra.

Todas as análises foram realizadas em triplicata (IAL, 2008).

4.2.1.2. *Resíduo por incineração (cinzas)*

Foram utilizados cadinhos de porcelana previamente tarados a 500°C em mufla (Marconi MA 385), nos quais foram pesados 5g da amostra. Inicialmente, a amostra foi incinerada em placa aquecedora e posteriormente colocadas na mufla. A pesagem foi feita até a obtenção do peso constante (IAL, 2008).

4.2.1.3. *Atividade de água*

A atividade de água foi determinada através do equipamento Aqualab (Dew Point 4TEV), com metodologia prevista pela AOAC (2007).

4.2.1.4. *Determinação de proteínas*

A determinação foi dada através da pesagem de 2g da amostra, na qual a matéria orgânica foi decomposta pelo ácido sulfúrico e mistura catalítica. A amostra foi digerida em tubos digestor e a titulação foi feita com hidróxido de sódio (0,1M). O fator de correção utilizado para transformação do nitrogênio em proteína foi de 6,25 (IAL, 2008).

4.2.1.5. *Acidez*

A determinação da acidez foi realizada através da titulação potenciométrica com NaOH 0,1M, tendo o ponto de equivalência pela medida do pH da solução na faixa entre 8,2-8,4. Método 311/IV, descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.2.1.6. *Extrato etéreo*

Foram pesados 2g da amostra em cartuchos para Soxhlet e deixado em refluxo por período de 6 horas em balões de fundo chato previamente tarados em estufa a 105°C. O solvente utilizado foi hexano. O balão com o extrato foi transferido para estufa a 105° C até o peso constante (IAL, 2008).

4.2.1.7. *Sólidos solúveis (°Brix)*

Uma amostra homogeneizada foi colocada sobre o refratômetro portátil (MOD TR-30 ATC), previamente calibrado com água destilada. Foi feita leitura e observada temperatura da amostra para adicionar fator de correção, de acordo com o método descrito no item 315/IV (Brasil, 1986; IAL, 2008).

4.2.1.8. *pH*

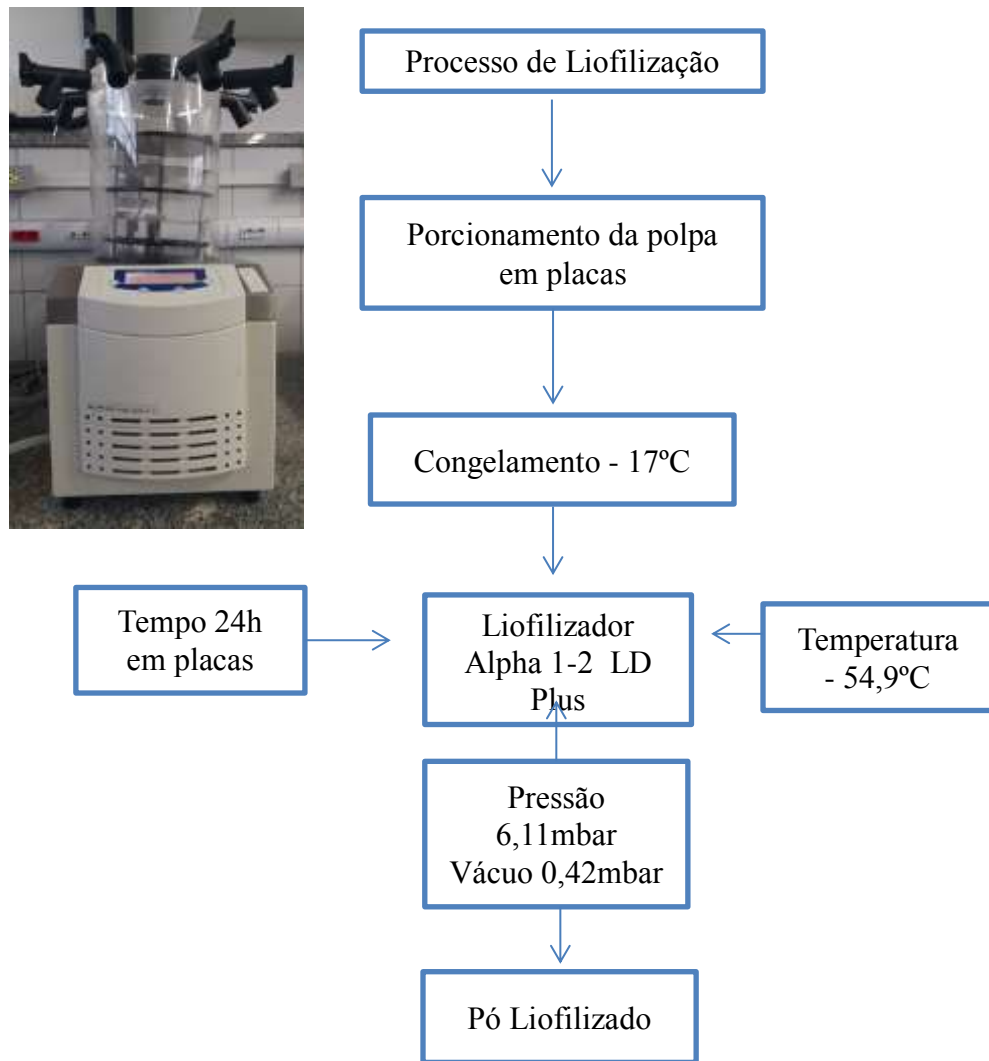
Foi utilizado a medição pelo potenciômetro diretamente na amostra. Foram pesados 10g da amostra diluída em 100 mL de água destilada, a mistura foi homogeneizada e colocada diretamente em contato com o bulbo do pHmetro (Hanna), previamente calibrado com soluções tampão 4, 7 e 10 (IAL, 2008).

4.2.2. *Obtenção da polpa liofilizada*

Foram realizados pré-testes para definição dos parâmetros de otimização da liofilização da polpa do fruto de acordo com metodologia aplicada por Prado, (2009).

A polpa foi processada em liofilizador (Modelo Alpha 1-2 LD Plus) pertencente ao laboratório, LAF da Universidade Federal de Sergipe. A princípio, a polpa foi colocada em bandejas de polietileno para congelamento em freezer vertical a -17°C. Em seguida, o material previamente congelado foi levado ao liofilizador utilizando os seguintes parâmetros de processamento: temperatura de -54,9°C, pressão de 6,11 mbar, vácuo 0,42 mbar por período de 48 horas.

Figura 7 - Fluxograma para obtenção da polpa liofilizada.



Fonte: Próprio autor

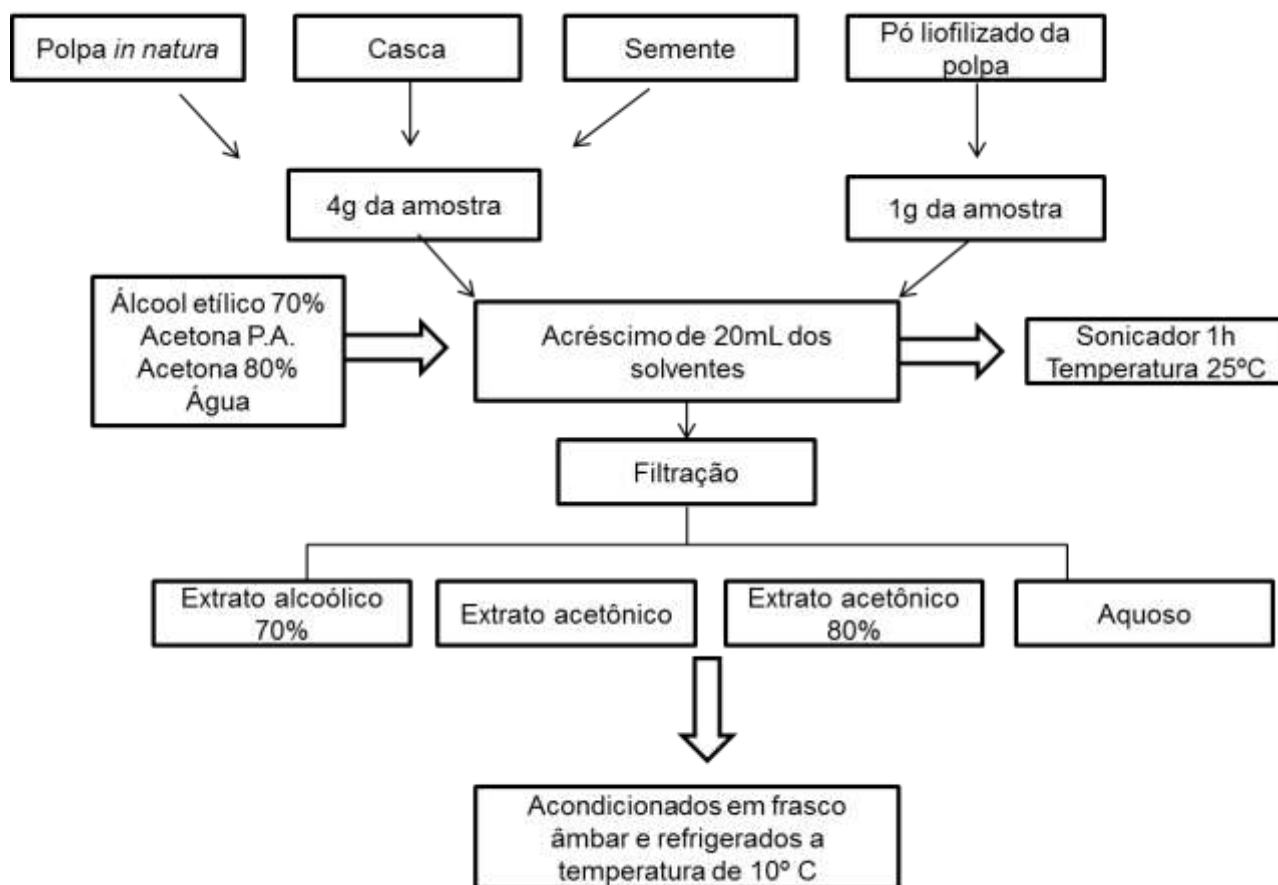
O pó liofilizado foi mantido acondicionado em embalagens plásticas em voltas por folhas de papel alumínio para proteção contra umidade e luz e armazenadas em dessecador.

4.3. Procedimentos de extração

4.3.1. Extrato alcoólico, extrato cetônico e extrato aquoso

A metodologia segue de acordo com Jardini *et al.*, (2007), Costa *et al.*, 2013, com modificações.

Os extratos foram obtidos através de uma amostra de 4g da casca, semente e polpa *in natura* e para o pó liofilizado, foi pesado 1g da amostra, sendo estas previamente trituradas e homogeneizadas. Para extração foram utilizados diferentes solventes: álcool etílico 70%, acetona P.A., acetona 80% e água. Uma alíquota de 20mL do solvente foi direcionada a cada amostra previamente pesada. Posteriormente, foram colocadas em sonificador por 1h, temperatura 25°C. Os extratos foram filtrados em papel qualitativo (Unifil - gramatura 80g/m²).

Figura 8 - Fluxograma para obtenção dos extratos.

Fonte: Próprio autor

4.4. Ácido Ascórbico por HPLC

O teor do ácido ascórbico foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Vinci, Botre e Ruggieri (1995), e por Barcia *et al.* (2010), com modificações. Foram pesadas 5g da amostra triturada e homogeneizada, adicionados 15 mL de solução de ácido metafosfórico (4,5%), e deixado em repouso por 1 hora em frasco vedado.

As amostras foram transferidas para tubos e centrifugadas (Eppendorf 5810R) a 7000 rpm, temperatura de 20°C por 10 minutos e o sobrenadante foi filtrado em filtro de seringa PVDF (diâmetro 25 mm, poro 0,45µm) e transferido para vial.

Condições analíticas:

- Sistema → UFLC
- Fase móvel → Água ultrapura acidificada com 0,1% de ácido fórmico
- Detector → DAD/UV VIS
- Coluna → C18 Titan (5cm x 3mm, 1,9 µm) (Supelco)
- Modo → Isocrático

- $\lambda \longrightarrow 243 \text{ nm}$
- Volume de injeção $\longrightarrow 10\mu\text{L}$
- Fluxo $\longrightarrow 0,8\text{mL}/\text{min}$
- Tempo de corrida $\longrightarrow 20 \text{ minutos}$

Os picos foram identificados de acordo com o tempo de retenção do padrão de ácido L- ascorbic acid. Foi feita curva de calibração do padrão, com resultado expresso em mg/g.

4.5. Açúcares por HPLC

A metodologia empregada para determinação dos açúcares foi aplicada segundo Macrae (1998), com modificações. Foram pesados 5g da amostra e misturados a 15mL de água milliQ. As amostras foram direcionadas ao ultrassom por 30 minutos e sequencialmente centrifugada; o sobrenadante foi filtrado em filtro de seringa PVDF (diâmetro 25 mm, poro 0,45 μm). Para amostra liofilizada foi necessário ajustar inicialmente o grau brix.

Os padrões para identificação e quantificação foram obtidos através da compra do kit de carboidratos da Sigma Chemical Company. Para quantificação foram feitas curvas de calibração da sacarose, glicose e frutose, e a partir da área das bandas os resultados foram expressos em g/100g.

Condições analíticas:

- Sistema \longrightarrow UFLC
- Fase móvel \longrightarrow Água ultrapura
- Detector \longrightarrow Rid 10A Shimadzu
- Coluna \longrightarrow Ca supelco
- Modo \longrightarrow Isocrático
- Bomba \longrightarrow LC- 20 AD
- Temperatura $\longrightarrow 80^\circ\text{C}$
- Volume de injeção $\longrightarrow 5\mu\text{L}$
- Fluxo $\longrightarrow 0,5\text{mL}/\text{minuto}$
- Tempo de corrida $\longrightarrow 40 \text{ minutos}$

4.6. Flavonoides por HPLC

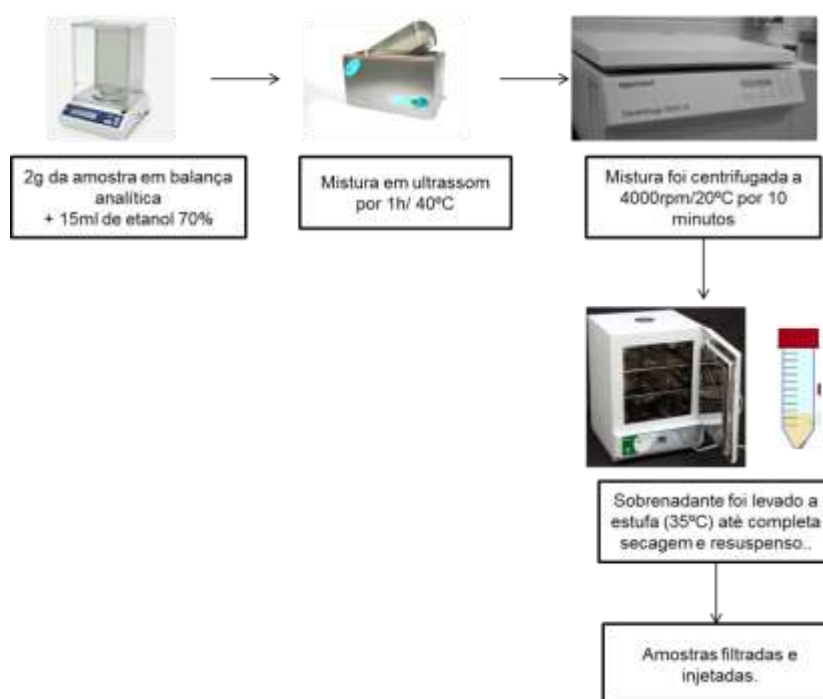
4.6.1. Equipamento

Foi utilizado sistema cromatógrafo líquido UFLC Prominence (Shimadzu Inc., Japan), composto por duas bombas LC-20D, degaseificador (DGU-20 A3), auto injetor (SIL-20A HT), detector de arranjos de diodos (SPD-M20A) e controladora de dados (CBM-20A).

4.6.2. Extração Método 1

Para a extração dos compostos bioativos, foi utilizada metodologia segundo Andrade *et al.*, (2017) no qual foram pesados 2g de amostra e acrescentados 15 mL de etanol 70%. A mistura permaneceu em ultrassom (UNIQUE – USC 1400A) por 1 hora a 40°C e seguida de centrifugação (Eppendorf 5810R) a 4000 rpm, a 20°C por 10 minutos. O sobrenadante resultante foi levado à estufa (SOLAB - SL - 100) a 35°C até completa secagem. O extrato seco foi ressuscitado na concentração de 50 mg/ml com etanol 70%. As amostras foram filtradas utilizando filtro de membrana de celulose de 0,45 µM.

Figura 9 - Fluxograma extração flavonoides método 1.



Fonte: Próprio autor

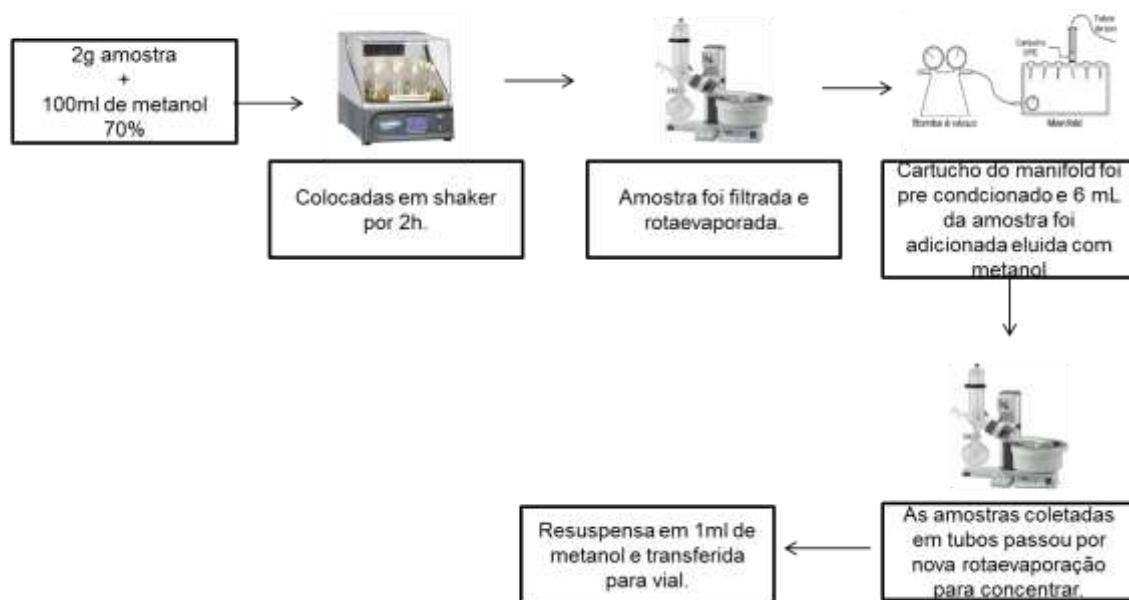
4.6.3. Extração Método 2

A extração foi realizada segundo o método proposto por Arribi *et al.*, (2004) com adaptações. As amostras foram extraídas com metanol 70% em incubadora Shaker (SPLabor) na proporção de 2:100 (m/v), por duas horas a 25°C. Os extratos obtidos foram filtrados em papel filtro (Unifil - gramatura 80 g/m²).

Para concentração dos extratos foi utilizado rotaevaporador (Fisatom) em temperatura de banho de 35°C (até volume de aproximadamente 20 mL). O cartucho do manifold (Visiprep 24TM DL) foi pré-condicionado com 20 mL de metanol e 20 mL de água e em

seguida 6mL da amostra foi transferida para o cartucho. A posterior eluição ocorreu pela passagem de 10 mL de metanol (Tedia HF LC/ Spectro). A amostra passou por novo processo de rotaevaporação e foi resuspendida em 1 mL de metanol, posto em sonicador (UNIQUE – USC 1400A) por 5 minutos e transferido para vial.

Figura 10 - Fluxograma extração flavonoides método 2.



Fonte: Próprio autor

4.6.4. Padrões analíticos e solventes

As análises foram realizados pelo uso dos seguintes padrões (todos da marca Sigma Aldrich, grau de pureza 95% ou mais): apigenina ($C_{15}H_{10}O_5$), artepillina C ($C_{19}H_{24}O_3$), ácido cinâmico ($C_9H_8O_2$), ácido cafeico ($C_9H_8O_4$), ácido ferúlico ($C_{10}H_{10}O_4$), ácido cafeico fenil ester - CAPE ($C_{17}H_{16}O_4$), ácido gálico ($C_7H_6O_5$), biochanina A ($C_{16}H_{12}O_5$), catequina ($C_{15}H_{14}O_6$), epicatequina ($C_{15}H_{14}O_6$), galato de etila ($C_9H_{10}O_5$), canferide ($C_{16}H_{12}O_6$), isoramnetina ($C_{16}H_{12}O_7$), acacetina ($C_{16}H_{12}O_5$), pinocembrina ($C_{15}H_{12}O_4$), narigenina ($C_{15}H_{12}O_5$), ácido *p*-cumárico ($C_9H_8O_3$), canferol ($C_{15}H_{10}O_6$), quercetina-3-glicosilada ($C_{21}H_{20}O_{12}$), ácido protocatequínico ($C_7H_6O_4$), ácido clorogênico ($C_{16}H_{18}O_9$), rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$), vanilina ($C_8H_8O_3$) e ácido vanílico ($C_8H_8O_4$). Metanol e acetonitrila grau HPLC foram obtidos da empresa Tedia.

4.6.5. Condições Cromatográficas

Uma análise exploratória do perfil cromatográfico da separação dos compostos bioativos foi realizada inicialmente utilizando método já desenvolvido e validado no presente grupo de pesquisa. Os padrões de flavonoides e ácidos fenólicos foram separados e analisados em uma coluna Ascentis Express F5 (150 x 2,1 mm, 2,7 μ m de partícula; Sigma Aldrich). A fase móvel foi constituída: A (água deionizada com 0.1 % de ácido fórmico) e B (acetonitrila com 0,1 % de ácido fórmico). A vazão foi de 0,2 mL/min, sob temperatura de 40 °C e volume de injeção de 2 μ L.

Tabela 2 - Gradiente de injeção da fase móvel A e B.

Tempo (min)	Solvente A (água deionizada acidificada)	Solvente B (acetonitrila acidificada)
0-1	85%	15%
1-9	75%	25%
9-16	70%	30%
16-23	60%	40%
23 – 25	55%	45%
25-28	50%	50%
28-33	40%	60%
33-37	25%	75%
37-38	85%	15%

4.7. Atividade Antioxidante

4.7.1. FRAP

O poder antioxidante de redução férrica (FRAP) foi determinado de acordo com o procedimento descrito por Benzie e Strain (1996). O reagente FRAP foi preparado com 25mL de solução tampão de acetato 0,3M (pH 3,6), 2,5 mL de TPTZ 10 μ M em HCl 40 mM e 2,5mL FeCl₃ 20 mM na proporção de 10: 1: 1 (v / v / v), respectivamente. Uma alíquota de 90 μ L foi misturada a 2,7 μ L de solução FRAP seguido de homogeneização em Vortex (GOMixer MX-F). As amostras foram mantidas em repouso por 30 minutos no escuro, a redução do radical para o complexo ferroso foi gerar uma intensa cor azul. As leituras foram feitas a 593 nm em espectrofotômetro (SpectraMax M2). Duas curvas de calibração foram feitas utilizando Trolox (0 – 160 ppm) e Ácido Ascórbico (0 – 160 ppm) como padrões. Os

resultados foram expressos em termos de mmol Equiv. Trolox / g amostra e mmol Equiv. Ácido Ascórbico/g de amostra (AAEAC). O FRAP foi utilizado como branco.

4.7.2. ABTS

O método ABTS (2,2 – azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina- 6- sulfônico) seguiu a metodologia de Re *et al.* (1999). Para preparar a solução e obtenção do radical ABTS⁺⁺ foi pesado 0,384g em balão de 100 mL misturados a 1,760 mL de persulfato de potássio, sendo este último previamente pesado (0,0756g) e dissolvido em 2 mL de água. A obtenção do radical ABST⁺⁺ foi dada pela reação do radical com o persulfato de potássio por intermédio de incubação no escuro por período de 16 h a temperatura ambiente.

Foi feita diluição de 1 mL de ABTS⁺ para 35 mL em etanol até obtenção de uma absorbância de $700 \pm 0,02$ a 734 nm em espectrofotômetro (SpectraMax M2). Após ajuste da absorbância, 30µL do extrato foi misturado com 3 mL do ABTS⁺⁺ homogeneizado em vórtex (GOMixer MX-F) e repouso por 6 minutos no escuro para posterior leitura. A absorbância foi medida a 734 nm no espectrofotômetro. Duas curvas de calibração foram feitas utilizando trolox (0 – 450 ppm) e ácido ascórbico (25 – 350 ppm) como padrões e os resultados foram expressos como µM Equiv. Trolox/100 g amostra (TEAC) e µM Equiv. Ácido Ascórbico / 100g amostra (AAEAC). O etanol P.A. foi considerado o branco.

4.8. Carotenoides por Espectrofotometria

A metodologia adotada para determinação do conteúdo de carotenoides foi segundo método descrito por Lichtenthaler (1987). Foram pesados 2 g da amostra, maceradas e adicionadas a 0,2g de carbonato de cálcio. Posteriormente, foi acrescido 7 mL de acetona 80%, este material foi lavado com acetona 80% (2x) e filtrado para balão de 25mL, seu volume foi completado com o próprio solvente. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (SpectraMax M2) nos comprimentos de onda de 470 nm para carotenoides totais, 647 nm e 663 nm para clorofila. O branco utilizado foi acetona 80%.

As concentrações dos teores de carotenoides totais e clorofila foram estimados de acordo com as equações 1, 2, 3.

$$\text{Clorofila a (Ca)} = [12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8}] \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{Clorofila b (Cb)} = [21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}] \quad (\text{Equação 2})$$

$$\text{Carotenóides} = [100 A_{470} - (1,82Ca - 104,96 Cb) / 198] \quad (\text{Equação 3})$$

4.9. Fenólicos Totais (Espectrofotometria)

Os fenólicos totais foram determinados de acordo com o método proposto por Shetty *et al.* (1995) adaptado por Correia (2004). Alíquotas de 1 mL do extrato foram transferidas para tubos de ensaio, aos quais foi adicionado sequencialmente: 1 mL de solução etanol 95%, 5 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu 1N. De imediato, foi homogeneizado em vortex (GOMixer MX-F). Após cinco minutos, foi adicionado 1 mL de solução carbonato de sódio 5% (p/v), seguida de nova homogeneização. Os tubos de ensaio foram mantidos em câmara escura por 60 minutos sob temperatura ambiente; transcorrido este, mais uma vez, foi homogeneizado os tubos. As amostras tiveram suas absorbâncias medidas no comprimento de onda 725 nm contra branco em espectrofotômetro (SpectraMax M2).

A curva de calibração foi construída, a partir de diferentes concentrações de ácido gálico (0,1 - 0,00078125 mg/ml), com o propósito de converter as absorbâncias e expressar os resultados em µg Equiv. ácido gálico (GAE) /g da amostra.

4.10. Conteúdo Total de Flavonoides (Espectrofotometria)

A metodologia empregou a técnica descrita por Meda *et al.*, 2005, na qual foram utilizados 0,5mL de cada um dos extratos e adicionou-se 0,5mL de uma solução metanólica de cloreto de alumínio (ALCL₃) a 20mg/mL. Aguardou-se 30 min e sua absorbância foi medida a 427nm em espectrofotômetro (SpectraMax M2). O teor de flavonoides totais foi determinado por meio de curva padrão construída de quercetina (0,1 - 0,00078125 mg/mL) expresso em µg de Equiv. Quercetina/ g amostra.

4.11. Quantificação LC-MS

As análises foram conduzidas em LC-MS com analisador de massa triplo quadrupolo, Agilent 6490Triple Quadr LC/MS com ionização por eletrospray . A temperatura do gás foi de 200°C, vazão do gás: 12 L/min, nebulizer: 20 psi, sheath gas temp: 400°C, sheath gas flow: 11 L/min, voltagem do capilar: 3500 V, nozzle: 500 V, dwell time: 9.8 ms, voltagem da cela de aceleração: 5 V.

A identificação foi realizada através do tempo de retenção dos padrões (item 4.6.4), extração em etanol 70% (item 4.6.2) e os fragmentos específicos para cada um (tabela 3).

Tabela 3 – Fragmentos monitorados para os compostos e seus tempos de retenção

COMPOSTO	FÓRMULA MOLECULAR	ION PRECURSOR [M+H]	FRAGMENTOS M/Z	TEMPO DE RETENÇÃO (MIN)
ARTEPELINA C	C ₁₉ H ₂₄ O ₃	301	301 → 245* 301 → 189	29,3
BIOCHANINA A	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285	285 → 253 285 → 152*	24,44
ÁCIDO CAFEICO	C ₉ H ₈ O ₄	181	181 → 135* 181 → 163	4,4
ERIODICTIOL	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	289	289 → 153* 289 → 145	13,1
ISORAMNETINA	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	317	317 → 302* 317 → 229	18,6
CANFERIDE	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301	301 → 258* 301 → 286	24,4
CANFEROL	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287	287 → 153* 287 → 121	17,8
NARIGENINA	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273	273 → 153* 273 → 119	16,04
PINOCEMBRINA	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	257	257 → 153* 257 → 131	22,9
ÁCIDO FERÚLICO	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	195	195 → 177* 195 → 134	7,47
RUTINA	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611	611 → 303* 611 → 465	6,46
QUERCETINA-3-GLICOSILADA	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465	465 → 303* 465 → 85	7,24
VANILINA	C ₈ H ₈ O ₃	153	153 → 93* 153 → 65	6,51
ÁCIDO VANÍLICO	C ₈ H ₈ O ₄	169	169 → 93* 169 → 65	4,57

A quantificação foi realizada a partir de curvas de calibração construídas para cada um dos padrões de flavonóides analisados, e as respectivas concentrações foram determinadas através das áreas das bandas dos compostos alvo em função da curva de calibração. A faixa de concentração da curva foi de 20 – 1000 ng/mL. As concentrações obtidas foram extrapoladas para a quantidade de composto bioativo por grama de polpa/casca/semente de fruta (µg/g).

4.12. Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada utilizando Software Assistat 7.7. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para determinar diferenças significativas ($p < 0,05$) para os métodos de extração.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Caracterização físico-química (polpa, semente, casca, pó liofilizado da polpa)

Polpa *in natura* e o pó liofilizado, a casca e semente do noni utilizadas para obtenção dos extratos, apresentaram as características descritas na Tabela 3.

Tabela 4 - Caracterização físico química da polpa, semente, casca e pó liofilizado do noni.

Caracterização	Pó Liofilizado	Polpa <i>in natura</i>	Semente	Casca
Cinzas (%)	5.73 ^A ± 0,09	0.60 ^C ± 0,02	1.09 ^B ± 0,01	0.76 ^C ± 0,05
Umidade (%)	14.94 ^C ± 0,21	88.98 ^A ± 0,38	6.16 ^D ± 0,08	88.22 ^B ± 0,20
Proteína (%)	9.21 ^A ± 0,18	0.93 ^C ± 0,04	5.80 ^B ± 0,37	0.86 ^C ± 0,08
Lipídios (%)	0.29 ^B ± 0,07	0.14 ^B ± 0,03	7.18 ^A ± 0,23	0.20 ^B ± 0,01
ph	3.90 ^C ± 0,01	5.04 ^B ± 0,03	6.16 ^A ± 0,02	5.11 ^B ± 0,03
Acidez (g Equiv. Ácido Cítrico/100g)	0.35 ^A ± 0,02	0.44 ^A ± 0,01	0.44 ^A ± 0,02	0.44 ^A ± 0,03
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	--	9.06 ^A ± 0,05	--	8.50 ^B ± 0,00
A_w	0.35 ^B ± 0,00	0.92 ^A ± 0,00	0.36 ^B ± 0,00	0.91 ^A ± 0,00

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.
Letras maiúsculas para linhas

De acordo com a ANVISA (1978), a polpa do fruto é conceituada como produto não fermentado, não concentrado e não diluído, resultado do esmagamento das partes comestíveis de frutos polposos. Na presente pesquisa, após despulpamento, parte do fruto foi liofilizada para realização das extrações, a fim de estabelecer grau comparativo entre o fruto *in natura* e sua viabilização após aplicação do método de conservação. A liofilização é uma técnica na qual ocorre remoção da água de uma matriz congelada pela sublimação do gelo, proporcionando produtos de alta qualidade, devido à baixa temperatura utilizada no processo (RATTI, 2001).

Após aplicação do método de conservação, foi calculado o rendimento da polpa do fruto noni, apresentando o valor de 10,57%, esse rendimento está diretamente correlacionado a elevada umidade presente no fruto. Valor superior ao rendimento reportado para limão (7,5%) e inferior ao avaliado na laranja (13,4%) na pesquisa realizada por Trovato *et al.*, 1996. Prado (2009) reportou valores de rendimento para polpa liofilizada de acerola (6,74%), melão (9,08%) e goiaba (9,94%), constando como rendimentos inferiores ao do noni.

Ao compararmos a caracterização física química entre os diversos componentes do fruto, foi observado que o percentual de cinzas (5,73g/100g) com maior valor foi o presente no pó liofilizado do fruto, assim como, teor de proteína (9.21g/100g), sendo que o pó liofilizado continha 14,94% da umidade. As baixas concentrações do teor de cinzas para a polpa (0.60%) e casca (0.76 %) podem estar associadas ao menor teor de minerais, visto que há maior predominância de água, diferentemente do encontrado na semente e pó liofilizado do fruto.

A umidade presente na polpa (88.98g/100g) e casca (88.22g/100g) foram em maior proporção. O emprego da liofilização como método de secagem para polpa reduziu em 83,21% a umidade do fruto, ainda assim, a semente (6.16g/100g) apresentou comportamento com menor teor de umidade, porém não houve diferença significativa para atividade de água entre ambos, os valores sendo 0,35 e 0,36, respectivamente.

Duarte *et al.*, (2017) ao realizarem estudo com frutos do cerrado liofilizado encontraram para atividade de água em marolo e cagaita 0,25 e 0,30, respectivamente. Estes valores não diferem e foram semelhantes ao encontrado no presente estudo.

A semente demonstrou quantificação superior para lipídios (7.18g/100g) e pH de 6,16, ou seja, próximo da neutralidade. Valor diferenciado para pH foi constatado por Sampaio *et al.*, (2010) para semente sendo este, variável entre 4,26 – 4,97.

Houve diferença significativa quando comparados os sólidos solúveis presentes na polpa (9.06°Brix) e casca do fruto (8.50 °Brix). O teor de sólidos solúveis totais são utilizados

como parâmetro para determinação aproximada de teores de açúcar, não representando o exato teor de acordo com Manica *et al.* (1998), pois outras substâncias podem estar dissolvidas no meio. É importante ressaltar, que o noni apresenta baixo teor de sólidos solúveis, com média de 7,38% dependendo diretamente do seu estágio de maturação. Aqueles mais maduros apresentam maior acúmulo destes, devido à degradação do amido. Silva *et al.* (2012) através de análise comparativa averiguaram que o fruto noni quando “de vez” portava 10,33°Brix. No estudo realizado por Cavalcanti *et al.* (2006), foram encontrados os seguintes valores para os sucos de frutas como de uva (11,56°Brix), laranja (13,53 °Brix) e morango (11,93 °Brix), sendo superior ao encontrado na presente pesquisa.

Faria *et al.* (2014) obtiveram para caracterização físico química da polpa sem semente do fruto coletada na cidade de Cuiabá umidade de 90,66%, sólidos solúveis 9,2°Brix, cinzas 0,66% e para acidez titulável em ácido cítrico 0,44g/100g, valores semelhantes ao mensurados no presente estudo.

Na pesquisa realizada por West *et al.* (2011) em noni cultivado na Polinésia Francesa e Shovic *et al.* (2001) a partir do noni coletado na ilha de Pohnpei, situada nos Estados Federados da Micronésia, reportaram o teor da proteína de 0,55% e 0,4%, respectivamente, sendo similar ao encontrado na polpa e casca do fruto da cidade de Aracaju. Entretanto, inferior aos 2,5% relatado por Chunhieng (2003) com frutos de Cambodge.

O pH da polpa (5,04) não teve diferença significativa do encontrado na casca (5,11). Valores superiores foram reportados por Correia *et al.*, (2011), Chan Blanco *et al.* (2007) e Canuto *et al.* (2010) sendo 4,25; 4 e 4,1, respectivamente. Já Chunhieng (2003), obteve entre seus resultados valor inferior (3,72), constatando maior acidez em suas amostras. Desta maneira, ao relacionarmos questões como a composição química do noni, é necessário levar em consideração aspectos como condições ambientais, dentre elas solo, locação geográfica, estágio de maturação e condições climáticas.

Tabela 5 - Quantificação de carotenoides, clorofila a e clorofila b nos diversos componentes do Noni.

Caracterização	Pó Liofilizado	Polpa	Semente	Casca
Clorofila a (mg/g)	6,82 cA ± 0,013	5,21 cA± 0,004	4,96 cA± 0,008	5,13 cA± 0,001
Clorofila b (mg/g)	143,01 bA± 0,292	9,26 bB± 0,019	8,41 bB± 0,010	8,45 bB± 0,012
Carotenoides (µg equiv. β-caroteno/g)	354,08 aA± 0,097	83,19 aB± 0,155	71,42 aC± 0,053	81,10 aB± 0,061

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Os carotenoides pertencem ao grupo de pigmentos naturais, lipossolúveis, são biosintetizados por plantas, algas e alguns microrganismos. Sua coloração possui variáveis entre o amarelo, laranja e vermelho (Britton, 1995b). Ao analisarmos comparativamente os diversos componentes do fruto noni, a amostra que apresentou maior quantificação de carotenoides foi o pó liofilizado da polpa do fruto (354,08 µg Equiv. β-caroteno/g); as demais apresentaram valores inferiores, não diferindo significativamente na polpa (83,19 µg Equiv. β-caroteno/g) e casca (81,10 µg Equiv. β-caroteno/g) do fruto entre si. A semente dentre todos foi a que teve menor conteúdo (71,42 µg Equiv. β-caroteno/g) do composto.

No estudo realizado por Palioto e colaboradores (2015), a polpa do noni era representada por 0,45 mg/100g em carotenoides, quantificação inferior ao encontrado nos diversos componentes do fruto. Costa *et al.*, (2013) reportaram quantidade considerável de carotenoides em suas amostras, já que quantificaram valor de 3,90 mg/100g para este bioativo. Malaterre *et al.*, (2016) obtiveram para lichia uma quantificação de 0,51 mg/100 g, abacaxi, 0,052 mg/100g; mamão colombo, 1,92 mg/100g. Desta forma, quando comparado a outros frutos, o noni, é constituído por considerável quantidade de carotenoides.

Silva *et al.* (2016) ao avaliar a estabilidade da capacidade antioxidante e de parâmetros físico-químicos de néctares de frutas obtiveram para carotenoides totais valores inferiores para manga Tommy Atkins (*Mangifera indica* L.) (1,51µg/mL), maracujá “amarelo” (*Passiflora edulis*) com semente (1,87µg/mL) e maracujá sem semente (1,86µg/mL).

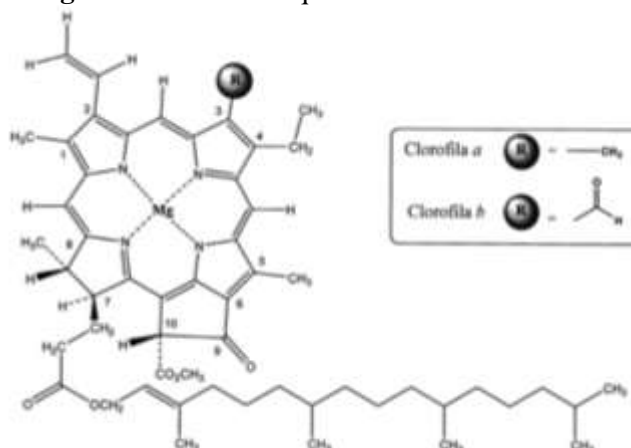
A liofilização, método de secagem a frio garante manutenção das características físico-químicas e boa qualidade nutricional e sensorial do produto, devido a este fator a concentração de carotenoides na polpa do fruto liofilizada foi quatro vezes maior quando

comparada a polpa *in natura*. Todavia, comportamento diferenciado foi avaliado no estudo realizado por Duarte *et al.* (2017); neste detectaram valores para marolo *in natura* e liofilizado 15,61 e 10,32 μ g de carotenoides/g de amostra seca, respectivamente. Esse fator pode ter ocorrido devido à falta de estabilidade estrutural do produto em questão, além de fatores interdependentes como, exposição à luz, presença de metais, estocagem, atividade de água e acidez (Rodriguez Amaya, 2001).

A liofilização do fruto noni foi realizada em duas condições, período de 48 horas e 24 horas, sendo constatado que este último foi o suficiente para secagem da matriz alimentar. Isto se tornou um fator de relevância, já que o método de liofilização é dispendioso e se faz necessária análise custo benefício a respeito do tempo necessário para secagem do produto e sua viabilidade econômica. Segundo Rodriguez Amaya (1993), a redução no tempo de processamento e a temperatura, o tempo entre o descascamento, o tipo do corte ou a desintegração e o processamento, são coeficientes que melhoram a retenção dos carotenoides significativamente. Sendo assim, processamento com baixa temperatura e menor tempo é considerado uma boa alternativa.

A DRI (*Dietary Reference Intakes*) ainda não estabeleceu critérios para uma quantidade específica e suficiente de carotenoides que deva ser ingerida diariamente; isto porque não há dados consignados na literatura, ainda não foi emitido uma DRI ou AI para β -caroteno, β -criptoxantina e α -caroteno. O que ocorre é estabelecimento de uma EAR para vitamina A, sendo específico para mulheres adultas de 500 μ g e para homens adultos de 625 μ g (Padovani *et al.*, 2006).

A Tabela 4 apresenta a quantificação de clorofila a e b existente nos diversos componentes da *Morinda citrifolia*. Constatou-se no pó liofilizado maior concentração de clorofila b (11,4408 mg/g), nos demais componentes o valor foi inferior e não houve diferença significativa. A clorofila a é um componente presente nos organismos que realizam fotossíntese oxigênica, sendo utilizados para realizar a fotoquímica, primeiro estágio do processo fotossintético. Já a clorofila b é encontrada em vegetais superiores, algas verdes e algumas bactérias; é classificada como um pigmento acessório, oriunda da oxidação do grupo metil da clorofila a em grupo aldeído (Streit *et al.*, 2005). O noni contém em sua composição o canferol, um derivado da clorofila, talvez isso possa explicar a presença deste composto nos resultados em questão (Assi *et al.*, 2017).

Figura 11 - Estrutura química da clorofila a e b.

Fonte: Streit *et al.*, (2005)

5.2. Obtenção dos extratos

A utilização do ultrassom como método de extração vem aumentando gradativamente por ser considerado um bom e alternativo procedimento quando comparado aos métodos clássicos de extração; isto porque proporciona alta eficiência, baixa demanda de energia e baixo custo com água (Chemat *et al.*, 2011). A melhoria do processo de extração gerada pelo ultrassom é atribuída à ruptura da parede celular, redução do tamanho da partícula e aumento da transferência de massa do conteúdo celular ao solvente causado pelo colapso das bolhas produzidas durante o procedimento (Soria *et al.*, 2010).

Desta maneira, a utilização deste método proporciona maior rendimento da extração, aumento da taxa de extração, assim como, tempo de extração reduzido e maior processamento, em conjunto com a utilização da temperatura reduzida e volume de solvente, tornando-o vantajoso para extração de compostos termo sensíveis (Venatoru, 2001; Malinovska *et al.*, 2015).

A aplicação do ultrassom é interessante pelo fato de aumentar a extração de componentes de materiais vegetais e animais, dentre eles, compostos fenólicos, antocianinas, compostos aromáticos, polissacarídeos, óleos e compostos funcionais, considerado viável e economicamente rentável sua aplicação na indústria alimentícia (Pan *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013; Tian *et al.*, 2013; Porto *et al.*, 2013).

No presente estudo todas as amostras passaram pelo ultrassom e os resultados tiveram variados comportamentos para as análises antioxidantes de bancada de acordo com o solvente utilizado. Para o método FRAP foi obtido melhor resultado na amostra liofilizada em acetona, seguido do extrato aquoso do pó liofilizado. Ao analisarmos ABTS⁺⁺, o extrato que obteve melhor resposta foi o liofilizado para todos os solventes em questão, subsequentemente a

semente demonstrou significativa atividade quando utilizados acetona 80%, álcool 70% e água como solução extratora.

Para fenólicos, o pó liofilizado obteve melhor desempenho em meio aquoso (7486.37 $\mu\text{g EAG/g}$), a polpa no extrato etanólico (464.44 $\mu\text{g EAG/g}$), a semente e a casca em acetona com valores de 2329.99 $\mu\text{g EAG/g}$ e 313.29 $\mu\text{g EAG/g}$, respectivamente. Porém para casca acetona e acetona 80% não apresentaram diferença significativa entre si.

Corroborando com os resultados dos fenólicos, a amostra liofilizada apresentou melhores resultados por intermédio da extração aquosa (385.57 $\mu\text{g querc./g}$), a polpa em etanol 70% (35.87 $\mu\text{g querc./g}$), semente em acetona (156.94 $\mu\text{g querc./g}$), divergindo apenas a casca (72.07 $\mu\text{g querc./g}$), já que esta última procedeu melhor quantificação apenas em acetona 80% para flavonoides totais.

Dados semelhantes foram encontrados por Palioto *et al.*, (2015) quando comparados diferentes solventes para extração de bioativos do fruto noni. Foi avaliado maior eficiência no extrato aquoso e posteriormente etanólico, garantindo que seus resultados para fenólicos totais fossem 1143,56 mgEAG.100g^{-1} e 966,96 mgEAG.100g^{-1} , respectivamente, podendo assim, constatar que o extrato aquoso apresentou maior valor para compostos fenólicos da polpa de noni.

Por conseguinte, é notório observar que a escolha e o comportamento do solvente extrator dependem dos compostos que se pretende obter. Além disto, a eficácia depende do tempo, temperatura, assim como, de outras variáveis como pH, relação sólido/líquido, composição da solução e tamanho da partícula. A polaridade do solvente desempenha um papel fundamental no aumento da solubilidade dos compostos fenólicos. A solubilidade de cada componente em um solvente específico é característica peculiar e individual. Sendo assim, não há um processo universal, necessitando de uma seleção minuciosa para cada método de extração e obtenção dos antioxidantes na matriz seja de caráter animal ou vegetal (Naczak e Shahidi, 2006). Geralmente, durante o procedimento de extração de bioativos, o rotaevaporador à vácuo é utilizado para concentrar os extratos, nestes as temperaturas utilizadas, usualmente são inferiores a 40°C, afim de não degradá-lo.

5.3. Atividade antioxidante

Tabela 6 – Atividade Antioxidante TEAC (Capacidade antioxidante equivalente a trolox) e AAEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico) pela redução do ferro (FRAP) nos diferentes extratos.

EXTRATOS								
ENSAIOS	ACETONA	ACETONA	ALCOOL	AQUOSO	ACETONA	ACETONA	ALCOOL	AQUOSO
		80%	70%		P.A.	80%	70%	
	Trolox (Mmol Trolox/100g)				Ácido Ascórbico (mmol. Equiv. Aa/100g)			
PÓ	86537.46 ^{aF} ±0,0	10360.39 ^{bH} ±0,	123384.60 ^{bE} ±700,	312014.20 ^{aB} ±2397,	129785.30 ^{aD} ±0,	15539.58 ^{bG} ±0,	185055.80 ^{bC} ±1051,	467970.40 ^{aA} ±5085,
LIOFILIZADO	0	00	77	19	00	00	15	25
POLPA	9881.29 ^{bB} ±34,8	10676.30 ^{bB} ±20	6323.12 ^{cC} ±0,00	11434.31 ^{bB} ±8,08	14821.69 ^{bA} ±52,	16014.18 ^{bA} ±31	9484.43 ^{cB} ±0,00	17151.22 ^{bA} ±12,13
	4	,74			26	,16		
SEMENTE	9657.53 ^{bF} ±54,0	25973.12 ^{aD} ±87	144490.80 ^{aB} ±262,	5535.31 ^{cG} ±37,48	14486.05 ^{bE} ±81,	38954.44 ^{aC} ±13	216731.00 ^{aA} ±393,31	8302.72 ^{cFG} ±56,22
	4	,41	21		06	1,15		
CASCA	8894.37 ^{bBC} ±11,	9266.06 ^{bBC} ±54	5835.02 ^{cD} ±61,76	6925.24 ^{cD} ±24,32	13341.31 ^{bA} ±16,	14184.87 ^{bA} ±81	8752.28 ^{cBC} ±92,64	10387.62 ^{cB} ±36,49
	23	,17			85	,25		

Os valores são expressos como média ± desvio padrão;

Médias seguidas de mesma letra nas linhas e colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Ao relacionarmos os diversos componentes do noni e seus respectivos extratos foi notório observar na Tabela 5, que a atividade antioxidante destacou-se para polpa liofilizada em acetona (129785.30 mmol. Equiv. AA/100g) e aquoso (467970.40 mmol. Equiv. AA/100g)

para o método FRAP. A semente expressou melhores resultados para acetona 80% (38954.44 mmol. Equiv. AA/100g) e álcool 70% (216731.00 mmol. Equiv. AA/100g).

Ruhomally *et al.*, (2016) determinaram o potencial de redução do cloreto férrico para o fruto verde e maduro, sendo os valores de 11,90 e 11,26 mmol/g, respectivamente. Vilaplana *et al.*, (2014) encontraram valores diferenciados 6,92 mmol/100g para polpa do noni. Valores superiores foram encontrados no presente estudo, corroborando a ideia do alto potencial antioxidante que o fruto noni possui, destacando principalmente o efeito positivo causado pelo processo de liofilização frente à técnica FRAP.

Tabela 7 – Atividade Antioxidante TEAC (Capacidade antioxidante equivalente a trolox) e AAEAC (Capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico) pelo método ABTS ++ nos diferentes extratos.

ENSAIOS	EXTRATOS							
	Acetona pa	Acetona80%	Álcool 70%	Aquoso	Acetona pa	Acetona80%	Álcool 70%	Aquoso
	Trolox (μM Equiv. TEAC/100g)				Ácido Ascórbico (μM Equiv. AA/100g)			
PÓ	725.3400 ^{aF}	3093.6400 ^{aC}	3381.1500 ^{aA} ± 1	2626.1230 ^{aE} ± 23	759.5267 ^{aF} ± 3	2862.4700 ^{aD}	3284.7600 ^{aB}	3339.5930 ^{aA} \pm
LIOFILIZADO	$\pm 35,83$	$\pm 55,44$	5,96	90	1,82	$\pm 49,24$	$\pm 7,02$	35,38
POLPA	144.2700 ^{bE}	114.7000 ^{cE} \pm	64.7600 ^{cF} $\pm 0,60$	53.7700 ^{bF} $\pm 0,40$	649.7700 ^{bA} \pm	536.0700 ^{cB} \pm	315.5867 ^{cC} $\pm 2,65$	259.8000 ^{bD} $\pm 1,72$
	$\pm 0,20$	0,60			0,86	2,65		
SEMENTE	42.1867 ^{cF} \pm	172.0367 ^{bDE}	136.0800 ^{bE} $\pm 0,0$	45.5833 ^{bF} $\pm 4,19$	215.7933 ^{dCD}	833.8000 ^{bA} \pm	632.5700 ^{bB} $\pm 0,00$	231.2567 ^{bC} $\pm 18,6$
	2,39	$\pm 1,99$	0		$\pm 10,62$	2,66		2
CASCA	72.1500 ^{cDE}	90.5300 ^{cd} ± 0	24.8100 ^{dF} $\pm 0,20$	26.6000 ^{bEF} $\pm 0,00$	336.3997 ^{cB} ± 6	424.9100 ^{dA} \pm	137.4633 ^{dC} $\pm 0,87$	143.1200 ^{cC} $\pm 0,00$
	$\pm 1,6$,00			,83	0,00		

Os valores são expressos como média \pm desvio padrão;

Médias seguidas de mesma letra nas linhas e colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Ao correlacionarmos todas as amostras, foi notório que o pó liofilizado obteve resultado mais expressivo quando aplicado o método de captura do radical $ABTS^{++}$ com resultados entre 725,34 a 3381.1500 μM Equiv. TEAC/100g. O extrato alcoólico obteve resposta mais satisfatória na polpa liofilizada. A semente e casca exprimiram melhor capacidade antioxidante ao utilizar a acetona 80% como solvente enquanto para polpa *in natura* houve melhor adequação ao utilizar acetona.

Vilaplana *et al.*, (2014) reportaram sobre avaliação de frutos ricos em fitoquímicos com efeitos biológico, na América Latina, o valor para o fruto noni (9,04 mmol trolox/100g), papaya (7,09 mmol trolox/100g), groselha (3,11 mmol trolox/100g). Todavia Canuto *et al.*, (2010) relataram valores inferiores para noni, abiu, bacuri, tamarindo, cajarana, caju, 3,9; 0,8; 0,6; 2,9; 1,4; 1,5 $\mu mol.L^{-1}$, respectivamente, na caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com atividade anti radical livre.

A Tabela 8 explicita a ocorrência de maior e melhor interação de resposta para o noni pelo método antioxidante FRAP. Isto porque a correlação entre fenólicos (0,8160) e flavonoides (0,8630) foi significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 01$). O radical $ABTS^{++}$ apresentou resultados não significativos quando os dois métodos antioxidantes foram comparados entre si.

Provavelmente, os compostos antioxidantes presentes nos extratos não apresentaram interação eficiente com o radical $ABTS^{++}$ por possuir baixa reatividade entre eles. De acordo com Villano *et al.*, (2006) padrões de ácidos fenólicos puros, dentre eles, ácidos siríngico, vanílico, cumárico e a procianidina B3 não apresentam atividade antioxidante frente ao radical $ABTS^{++}$.

Tabela 8 - Quantificação flavonoides e fenólicos totais.

	PÓ				PÓ			
	LIOFILIZADO				LIOFILIZADO			
	Fenólicos Totais				Flavonoides			
	(µg EAG/g amostra)				(µg querc./g amostra)			
	PÓ	POLPA	SEMENTE	CASCA	PÓ	POLPA	SEMENTE	CASCA
ACETONA	199.6408 ^{dB}	393.1442 ^{BB}	2329.9920 ^{aA}	313.2938 ^{aC}	75.8944 ^{dB}	23.6655 ^{BD}	156.9446 ^{aA}	67.4470 ^{bC}
P.A.	± 3,77	±0,00	±0,00	±0,00	± 1,83	± 0,17	± 5,00	± 0,27
ACETONA	435.8147 ^{CB}	369.6896 ^{BC}	1539.1470 ^{bA}	353.4267 ^{aC} ±	318.218 ^{bA}	26.5947 ^{BD}	34.3946 ^{cC}	72.0735 ^{aB}
80%	± 0,93	±5,65	±2,83	3,73	±3,05	±0,40	±0,05	± 2,49
ALCOOL	4906.2250 ^{bA}	464.4450 ^{aB} ±	431.5563 ^{cB} ±	334.3827 ^{aC} ±	263.7609 ^{cA}	35.8774 ^{aB}	23.1084 ^{dC}	32.9412 ^{cB}
70%	±58,66	11,78	8,26	29,68	± 2,07	±0,34	±0,05	± 0,22
AQUOSO	7486.3770 ^{aA}	352.4350 ^{BB}	223.0934 ^{dC}	263.2068 ^{bC}	385.5755 ^{aA}	25.9147 ^{bC}	100.2542 ^{bB}	29.9120 ^{cC}
	± 5,65	±27,53	±17,01	±4,14	± 2,52	± 0,27	± 0,11	± 0,50

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação aos fenólicos totais, a semente exibiu respostas significativamente maiores em acetona e acetona 80%, sendo os valores de 2329.9920 e 1539.1470 µg EAG/g amostra, respectivamente. O extrato alcoólico (4906.2250 µg EAG/g amostra) e aquoso (7486.3770 µg EAG/g amostra) para pó liofilizado determinaram valores maiores quando comparados aos outros componentes do fruto.

Ruhoally *et al.* (2016) quantificaram fenólicos totais em extratos de *Morinda citrifolia* e reportaram os valores de 748,40 µg e 770,34 µg para frutos maduros e não maduros, respectivamente. Yang *et al.* (2011) encontraram para o fruto em estágio de maturação mais elevado o valor de 225,3 mg EAG/100g e no fruto verde o valor de 284,8 mg EAG/100g. Bramorski *et al.* (2010) analisaram o suco de noni comercial e obtiveram valores de 91,90 mg/100mL de suco.

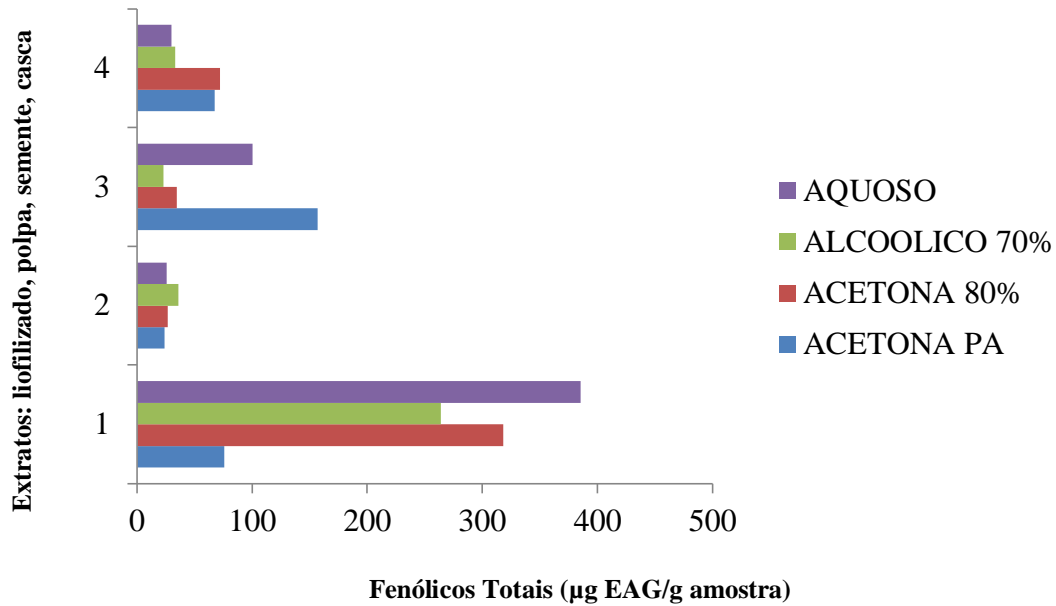
Krishnaiah *et al.* (2015) em extrato metanólico da semente utilizando reator de alta pressão encontraram para fenólicos totais o valor de 43,18 mg EAG/10g de amostra, corroborando a ideia que o tipo de solvente, assim como, o método de extração utilizado potencializa o resultado final dos bioativos presente na amostra. Wu *et al.* (2004) e Vieira *et al.* (2011) ao avaliarem polifenóis em frutas consumidas nos Estados Unidos e no Brasil, respectivamente, observaram que a fração hidrofílica possuía uma quantidade bem superior desses constituintes que a porção lipofílica.

Para flavonoides totais, o extrato da semente em acetona teve o valor de 156.9446 µg querc./g amostra o qual caracterizou-se mais eficientemente, para os demais extratos enquanto o pó liofilizado mostrou melhor resultado. Conforme Lin *et al.* (2017) no estudo realizado com o suco do noni naturalmente fermentado contra ratos com fibrose hepática foi quantificado 11,55 mg Eq. Catequina/100 mL da amostra e 80,68 mg EAG/100mL para fenólicos totais.

De acordo com Gironés *et al.* (2014) o noni apresenta boa capacidade antioxidante devido à presença considerável de flavonoides, mais especificamente, o canferol. Os extratos mostram que as frutas não maduras apresentam perfil com maior potencial de redução e ferro quelante; em contrapartida a fruta madura funciona como eliminador de radicais de óxido nítrico e radical superóxido.

Apesar das controvérsias sobre a toxicidade presente no fruto, Ruhoally *et al.* (2016) definiram que doses de 0,81g/mL através do estudo utilizando células de lipossarcoma SW87 são seguras.

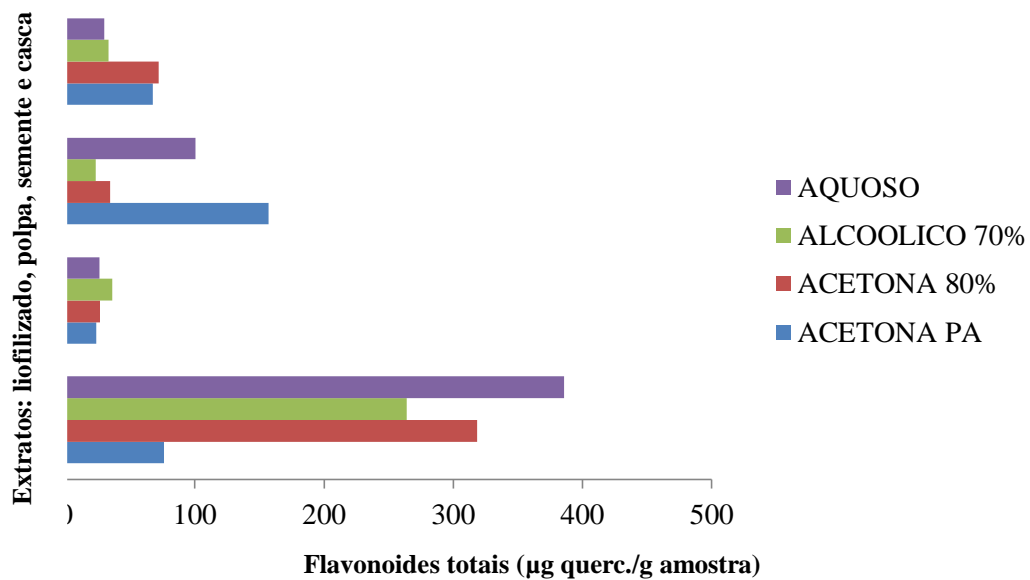
Figura 12 - Comparação dos resultados para fenólicos totais obtidos a partir de quatro métodos de extração utilizando os diferentes solventes.



Fonte: Próprio autor.

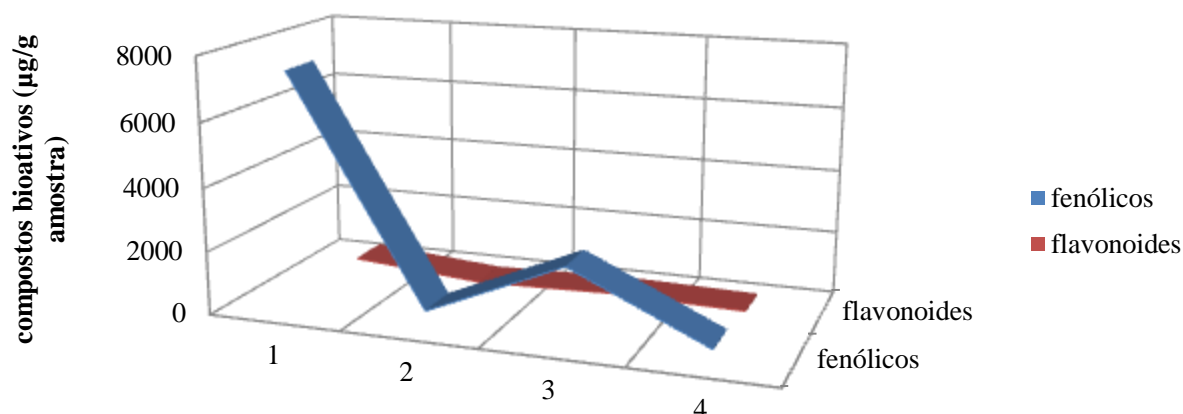
– 1-Pó liofilizado; 2 – Extrato da polpa *in natura*; 3 – Extrato da semente; 4 – Extrato da Casca.

Figura 13 - Comparação dos resultados para flavonoides totais obtidos a partir de quatro métodos de extração utilizando os diferentes solventes.



Fonte: próprio autor.

Figura 14 - Correlação entre os teores de flavonoides e fenólicos totais obtidos pelo uso de diferentes solventes.



Fonte: próprio autor.

A Figura 14 demonstra a intercorrelação entre o conteúdo total de fenólicos (CTF) e flavonoides, sendo justificada a maior expressão no gráfico do CTF, pelo fato deste ser o grupo que engloba além dos flavonoides, compostos como, benzoquinonas, ácidos hidroxibenzoicos, acetofenol, ácidos fenil acéticos, ácidos hidroxinâmicos, fenilpropanoides, nafitoquinonas, xantonas, estilbenos, antraquinonas, lignanas, neolignanas, ligninas e taninos condensados que podem estar presentes nesse grande grupo de biocompostos (Angelo *et al.*, 2007).

Tabela 9 - Matriz de correlação entre as atividades antioxidantes, fenólicos e flavonoides.

	Fenólicos	Flavonoides	FRAP	ABTS⁺⁺
Fenólicos	1	0.9584 **	0.8160**	-0.2581
Flavonoides	0,9584**	1	0.8630	-0.2304
FRAP	0,8160 **	0,8630**	1	-0.1022
ABTS⁺⁺	NS	NS	NS	1

NS= não significativo ($p > 5\%$)

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($01 \leq p < 05$)

Aplicado Teste *t* aos níveis de 5% e 1%.

5.4. Quantificação Açúcares

Os carboidratos são os primeiros compostos produzidos nas células das plantas por intermédio da fotossíntese, os encontrados mais frequentemente nos frutos são glicose, frutose e sacarose, tendo importante papel em sua doçura. Ao longo da maturação até seu completo amadurecimento, ocorre elevação em suas concentrações. São de total relevância para definição dos parâmetros de avaliação da qualidade das frutas através justamente da averiguação dos açúcares totais, redutores e não redutores (CHITARRA et al, 2005).

Tabela 10 - Quantificação de açúcares dos diversos componentes do fruto noni.

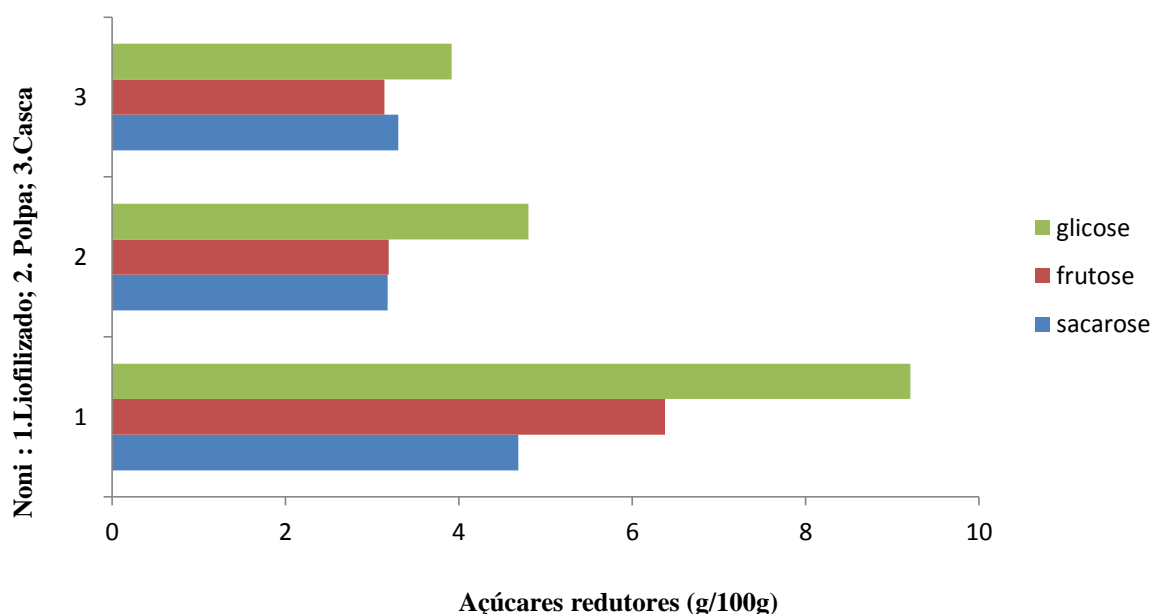
	Pó Liofilizado (g/100g)	Polpa <i>in natura</i> (g/100g)	Casca (g/100g)	Semente (g/100g)
Sacarose	4.6906 ^{cA} ±0,32	3.1810 ^{bB} ±0,29	3.3027 ^{aB} ±0,24	ND
Frutose	6.3790 ^{bA} ±0,37	3.1908 ^{bB} ±0,23	3.1462 ^{aB} ±0,88	ND
Glicose	9.2088 ^{aA} ±0,69	4.8066 ^{aB} ±0,48	3.9173 ^{aB} ±0,43	ND

Os valores são expressos como média ± desvio padrão;

Médias seguidas de mesma letra nas linhas e colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

ND = não detectado

Figura 15 - Comparação entre valores de açúcares para cada componente do fruto.



Fonte: próprio autor

Os açúcares identificados pela técnica cromatográfica foram glicose, frutose e sacarose, sendo em maior quantidade no pó liofilizado como demonstrado na Figura 15, tendo como constituinte majoritário a glicose (9.2088 mg/100g). Os resultados deste diferiram significativamente dos presentes na casa e polpa, já que para glicose e frutose foi obtido o valor dobro em sua quantificação. Ao realizar a comparação entre a casca e a polpa foi possível notar que não houve diferença estatística entre eles, tendo como composto prevaiente glicose, 3.9173 g/100g; 4.8066 g/100g, respectivamente.

Poucos estudos relatam a quantificação específica dos açúcares presentes na *Morinda citrifolia* evidenciando apenas a presença de açúcares redutores e seus possíveis percentuais. Motshakeri *et al.* (2015) afirmaram que os sólidos solúveis no fruto variam entre 8 a 10° Brix, dos quais 5% são açúcares redutores (glicose e frutose) e 1,3% de sacarose. Beltrão *et al.* (2014) discriminaram ao caracterizar o noni valores de 5,88g/100g para açúcares totais sendo 4,88g/100g representados por açúcares redutor.

Dussossoy *et al.* (2016) através da análise cromatográfica em noni identificaram e quantificaram glicose (2,07g/100g) e frutose (2,44g/100g) garantindo resultados inferiores, dado corroborado através do percentual de sólidos solúveis (5,8 °Brix) dos frutos por eles utilizado, os quais apresentavam valor inferior ao reportado na literatura. Wojdylo *et al.* (2016) quantificaram açúcares por cromatografia líquida em figos (*Ficus carica*) explanando valores de 74,3g/100g, sendo estes integrados por maior valor para glicose e frutose.

5.5. Cromatografia líquida e compostos bioativos

Ao analisarmos a quantificação do ácido ascórbico por cromatografia líquida, o pó liofilizado garantiu melhores resultados para conservação do bioativo, com valor 2,5 vezes acima do obtido para polpa *in natura* (130,04mg/100g), assim como, a casca sobrepôs o valor desta (Tabela 10). Por tratar-se de um método mais refinado e sensível, no estudo foi

Tabela 11 – Quantificação de Ácido Ascórbico em diversos componentes da fruta noni.

	Pó Liofilizado	Polpa <i>in natura</i>	Casca	Semente
	(mg/100g)	(mg/100g)	(mg/100g)	(mg/100g)
Ácido Ascórbico	336,62	130,04	142,44	ND

ND= não detectado

preferenciado avaliar o teor de vitamina C pela técnica HPLC, já que a titulometria, ocasionalmente pode levar a uma incerteza na confiabilidade do valor real do teor do bioativo,

devido a interferentes como, vidrarias descalibradas e variabilidade do executor durante a titulação, tornando o processo subjetivo e dependente da experiência e bom senso do analista.

A vitamina C possui propriedade bastante clara e elucidada em benefício à saúde humana (FAO/WHO, 2001). Para Motshakeri *et al.* (2015), o teor de ácido ascórbico no fruto noni foi 250mg/100g de matéria fresca, sendo superior ao encontrado para polpa *in natura* e casca como demonstrado na Tabela 10. Barros *et al.* (2008) e Canuto *et al.* (2010) quantificaram na polpa do noni os valores de 105,3 e 51,2 mg/100g, respectivamente. Dussossoy *et al.* (2011) reportaram valor semelhante no suco do fruto com 97,1mg/100g de vitamina C. Em contrapartida, Costa *et al.* (2013) reportaram quantidade inferior de 23,1mg/100g. Silva *et al.* (2012) definiram uma média de 243,16 mg/100 g para vitamina C presente no fruto considerado “de vez”, o qual ultrapassa frutas como melão com 30 mg/100 g (Souza, 2006); caju 162 a 182 mg/100 g (Hafle, 2000); abacaxi pérola, 50,6 mg/100 g (Santana, 2000), cajá (0,3 mg/100 g) e cupuaçu, 3,3mg/100g (Canuto *et al.*, 2010).

As variações dos valores quanto à vitamina C está diretamente correlacionada ao grau de maturação do fruto, já que no período de maturação ocorre um decréscimo deste composto, além da metodologia empregada para quantificação. A RDA indica que a ingestão da vitamina C para homens e mulheres necessita 90mg/dia e 45mg/dia, respectivamente. Desta forma, o noni é considerado um fruto com relevante quantidade de vitamina C, como também, o processo de liofilização tornou-se um método viável para melhor conservação desta no fruto.

O padrão de L-ácido ascorbico foi utilizado para identificação e quantificação deste bioativo, com espectro máximo de absorção no comprimento de onda de 243 nm. O padrão por ser uma amostra pura foi detectado em seu espectro máximo, porém as amostras por se tratarem de matrizes complexas apresentaram sua absorção no espectro de 236 nm e 241 nm para polpa *in natura* e casca, respectivamente, comportamento diferenciado, provavelmente pela presença de interferentes na amostra.

Tabela 12 - Conteúdo dos flavonoides identificados no fruto noni.

Composto Bioativo	Amostra	Tempo de retenção (min)	Área (mAU)
Artepillina C	SEMENTE	0,930	375860
Rutina		1,284	174060
Canferol		2,898	567808
Rutina	CASCA	1,018	339856
Canferol		3,670	527085
Rutina	PÓ LIOFILIZADO	1,253	3275931
Canferol		2,428	3225145
Artepelina c	POLPA <i>in natura</i>	1,018	98683
Rutina		1,253	138125
Canferol		2,350	190050

A Tabela 11 apresenta os compostos detectados a partir da análise no sistema do LC-DAD, como também os seus tempos de retenção e áreas dos compostos. Não foi possível realizar quantificação dos vários picos encontrados no cromatograma através deste método, pois alguns padrões não se encontravam mais disponíveis em quantidades suficientes para preparo das curvas de calibração. Porém, é visível que os tempos de retenção variaram de acordo com a matriz utilizada, assim como, destaque o valor das áreas para o pó liofilizado, os quais foram superiores quando comparados com as amostras *in natura*, ratificando a ideia de que a liofilização foi favorável à manutenção e concentração dos flavonoides na amostra.

As Figuras 16, 17,18 e 19 demonstram os perfis cromatográficos no sistema do LC-DAD utilizando dois diferentes métodos de extração. Foi notório que os perfis cromatográficos apresentaram melhor separação dos compostos ao utilizar o solvente metanol 70% como solução extratora. A técnica cromatográfica proporciona análise de substâncias nas matrizes complexas, desde fluidos biológicos, produtos naturais, sedimentos de rios, dentre outros. Todavia, mesmo utilizando colunas de diferentes polaridades, a análise qualitativa ainda assim, apresenta interferentes que podem comprometer a qualidade, como por exemplo, o tempo de retenção ser característico de um composto, existe a possibilidade de ele não ser o único (NIESSEN, 2006).

Outra questão interferente pode ser a coeluição de dois compostos, limitando a identificação do composto, gerando um falso positivo para um outro em questão (MCMMASTER, 2005). A Tabela 13 representa os compostos bioativos identificados para polpa *in natura*, semente e casca do fruto. As análises foram conduzidas em LC-MS com analisador de massas triplo quadrupolo, modelo Agilent 6490, com ionização por *eletrospray*. A identificação dos bioativos, nos extratos do noni, foi realizada analisando o tempo de retenção dos padrões e sua consequente fragmentação, dentre eles os selecionados para monitoramento dos compostos, como demonstrado na Tabela 12.

Tabela 13 – Identificação de compostos bioativos pelo rastreamento de fragmentos selecionados para cada composto e seus respectivos tempos de retenção

Composto	Fórmula molecular	Ion precursor [M+H]	Fragmentos m/z	Tempo de retenção (min)
Artepelina C	C ₁₉ H ₂₄ O ₃	301	301 → 245* 301 → 189	29,3
Biochanina A	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285	285 → 253 285 → 152*	24,44
Ácido cafeico	C ₉ H ₈ O ₄	181	181 → 135* 181 → 163	4,4
Eriodictiol	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	289	289 → 153* 289 → 145	13,1
Isoramnetina	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	317	317 → 302* 317 → 229	18,6
Canferide	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301	301 → 258* 301 → 286	24,4
Canferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287	287 → 153* 287 → 121	17,8
Narigenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273	273 → 153* 273 → 119	16,04
Pinocembrina	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	257	257 → 153* 257 → 131	22,9
Ácido ferúlico	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	195	195 → 177* 195 → 134	7,47
Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611	611 → 303* 611 → 465	6,46
Quercetina-3-glicosilada	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465	465 → 303* 465 → 85	7,24
Vanilina	C ₈ H ₈ O ₃	153	153 → 93* 153 → 65	6,51
Ácido vanílico	C ₈ H ₈ O ₄	169	169 → 93* 169 → 65	4,57

Tabela 14 - Quantificação dos flavonoides por LC-MS em diversos componentes do noni.

COMPOSTOS	CASCA	SEMENTE	POLPA
	Concentração ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		
Artepillina C	45,00	3,00	18,00
Biochanina A	7,00	0,40	ND
Ácido Cafeico	1,00	496,00	ND
Eriodictiol	1,00	2,00	ND
Isoramnetina	6,00	ND	ND
Canferide	11,00	5,00	6,00
Canferol	28,00	2,00	3,00
Narigenina	0,3	1,00	ND
Pinocembrina	2,00	ND	ND
Ácido Ferúlico	3,00	2,00	1,00
Quercetina-3-Glicosilada	93,00	3,00	1,00
Rutina	4060,00	18,00	1290,00
Vanillina	1,00	36,00	0,1
Ácido Vanílico	24,00	21,00	0,9

ND = não detectado.

Ao compararmos e correlacionarmos o método HPLC com detector de arranjo diodo e o LC-MS, é notório que há maior sensibilidade e exatidão neste último, já que ele mede átomos e moléculas determinando suas massas moleculares, assim determinando a identidade da espécie na matriz a ser analisada. No presente trabalho, quatorze compostos foram identificados na casca do fruto noni, doze na semente e oito na polpa *in natura* através do LC-MS (Tabela 13). Entretanto, não foi possível averiguar tais valores no pó liofilizado, pois o aparelho passou por um processo de manutenção por tempo indeterminado.

Dentre os resultados no LC-MS, o flavonoide que obteve maior quantificação foi a rutina, sendo esta predominantemente encontrada na casca e polpa do fruto com valores de 4060 $\mu\text{g}/100\text{g}$ e 1290 $\mu\text{g}/100\text{g}$, respectivamente. Tal valor, para polpa, foi semelhante ao encontrado por Dussosoy *et al.* (2013) (4,63mg/100g) quando analisado o suco do noni, dentre outros compostos, eles também reportaram quercetina (0,29 mg/100g); escopelina

(1,32 mg/100g); vanilina (0,35mg/100g); ácido asperulosídico (71,6mg/100g) pelo método HPLC, sobressaltando e corroborando o potencial biológico do noni. De acordo com Ahmad *et al.* (2016), a redução da atividade de glicose no sangue tem efeito por causa da existência de propriedades antioxidantes, sendo estes, os flavonoides, triterpenoides, triterpenos e saponinas. Desta forma, a rutina atua como substância que estimula a secreção da insulina por intermédio de um mecanismo relacionado a sacarose.

Para semente, os flavonoides de componentes majoritários foram o ácido cafeico (496 µg/100g); vanilina (36 µg/100g) e ácido vanílico (21 µg/100g). Entretanto, na literatura não foram reportados estudos referentes à quantificação deste ácido na semente da *Morinda citrifolia*.

Ainda sobre a polpa foram reportadas quantidades mais elevadas para artepilina C (18 µg/100g) e canferide (6 µg/100g), pelo método LC-MS, sendo conclusivo a partir dos resultados menor detecção de bioativos na polpa do fruto, quando comparado aos demais componentes.

West *et al.* (2011) em seu estudo para quantificação de fitoquímicos no purê da polpa do noni, reportaram fitoquímicos como rutina, quercetina, escopelitina, ácido asperulosídico, sendo os valores de 1,42; 1,59; 5,68; 38,78 mg/100g, respectivamente. Deng *et al.* (2008) identificaram e quantificaram flavonoides em folhas de noni pelo método HPLC–UV/MS, e reportaram quatro bioativos, dentre eles, rutina (94,3 mg/100g), kaempferol-3-*O*- α -l-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -d-glucopyranoside (371,6 mg/100g), quercetina (1,16 mg/100g) e canferol (1,71 mg/00g) em extrato etanólico. Lin *et al.*, (2014) avaliaram o fruto noni em diferentes estações do ano e quantificaram para rutina 3 mg/100g do fruto, com valor 2,5 vezes maior para o fruto no inverno. Ao correlacionarmos as pesquisas, é notório observar a presença de bioativos em comum entre as referências citadas pela literatura, porém um número maior deles foram identificados e quantificados no presente estudo, como mostra a Tabela 12.

Os fenólicos são os compostos mais comuns em frutas e folhas de vegetais. Eles são interessantes pelo fato de apresentar atividade antioxidante e possuir a capacidade de doar átomos de hidrogênio para radicais livres. O alto consumo de vegetais e frutas contendo fenóis inibe a oxidação do LDL, tornando, por exemplo, o processo de aterosclerose mais lento, assim como, reduz o risco de câncer e outras doenças crônicas degenerativas (Zin *et al.*, 2006).

De acordo com Hong *et al.* (2007), os primeiros compostos a serem isolados do suco do noni foram isoscopeletina e quercetina. Compostos bioativos como rutina, ácido

asperulosídico e americanina A foram obtidos a partir de extratos etanólicos do fruto (Su *et al.*, 2005). Todavia, o mecanismo de cada composto antioxidante pode ser diferente, como também, existe possibilidade de haver efeito complementar entre eles; isto porque, a maioria dos antioxidantes naturais trabalha sinergicamente entre si contra ataque de radicais livres.

Estudos científicos vêm explanando o potencial da artepillina C e o ácido ferúlico, sendo eles capazes de reduzir edema e possibilitarem a migração de neutrófilos para o local de inflamação contribuindo para efeito anti-inflamatório (Rinhel, 2015). De acordo com Guo *et al.* (2008), a rutina, trata-se de um flavonol com inúmeras propriedades farmacêuticas, oferece potencial anti-hipertensivo, anti-hemorrágico e também anti-inflamatório. A quercetina também se enquadra beneficemente oferecendo melhorias ao organismo do ser humano, constando como composto lipofílico e características funcionais, conhecido como o mais abundante dos flavonoides em fontes alimentares, garantindo efeito contra obesidade mediado pelas vias de sinalização AMPK e MAPK (Bigliardi *et al.*, 2013; Orgaard *et al.*, 2008; Peterson *et al.*, 2016).

Bonechi *et al.* (2018) garantiram efeito positivo ao avaliar a capacidade protetora da quercetina e lipossomos encapsulados com rutina sobre o estresse oxidativo induzido. Ainda existem poucos estudos que relatam a quantificação dos flavonoides explicitados na Tabela 12 para o fruto noni, constando na literatura poucos dados para possíveis comparações entre o fruto adquirido na cidade de Aracaju, e os oriundos de outras regiões. Wojdylo *et al.* (2016) identificaram em extratos de figos por UPLC–DAD compostos como quercetina 3-O-rutiosídeo (45,0 mg/100g), canferol (21,3 mg/100g) cultivados em Colar Brevas, já para figos oriundos do Tiberio, houve variação, sendo quantificados quercetina 3-O-rutiosídeo (69, 2 mg/100g) e canferol (5 mg/100g), corroborando com a ideia de que o local no qual o produto é cultivado está diretamente correlacionado aos compostos bioativos que os mesmos podem conter em sua composição.

Por fim, ainda há muitos compostos que estão presentes no fruto e necessitam ser mais bem explorados e analisados, pois o potencial do noni pode ser uma boa solução para problemas como a saúde pública, basta averiguar questões como dosagens e qual dos componentes do fruto, apresenta uma fonte de pesquisa mais promissora.

6. CONCLUSÃO

- ✓ O processo de extração realizada com o ultrassom foi eficiente na extração de compostos bioativos, porém houve variação no tipo de solvente utilizado e os resultados expressos nos diversos constituintes (semente, casca, polpa *in natura* e pó liofilizado) do fruto noni.
- ✓ A quantificação de carotenoides ocorreu de forma mais expressiva no pó liofilizado da polpa do fruto, não diferindo significativamente nos demais constituintes.
- ✓ De acordo com a caracterização das matérias primas em questão, observa-se que para os resultados de fenólicos e flavonoides o pó liofilizado da polpa da fruta obteve melhores resultados em meio aquoso, a polpa em álcool 70%, a semente em acetona, enquanto a casca apresentou comportamento mais expressivo em acetona 80%.
- ✓ A atividade antioxidante pelo método FRAP garantiu resultados mais expressivos na polpa liofilizada em extrato aquoso e acetona, assim como, na semente em acetona 80% e álcool 70%. Para o método ABTS, o pó liofilizado expressou valores superior e unânime quando comparado às outras amostras em questão. Ao correlacionamos as duas metodologias para atividade antioxidante, foi perceptível que os resultados no radical ABTS⁺⁺ foi menos expressivo quando comparados ao método de redução do ferro (FRAP).
- ✓ A identificação e quantificação de açúcares em HPLC-DAD reportaram resultados satisfatórios e coerentes com a literatura, sendo reportados açúcares como sacarose, frutose e glicose. Os valores encontrados foram superiores para todos os açúcares na pó liofilizado, com destaque para glicose.
- ✓ O ácido ascórbico foi identificado e quantificado em HPLC-DAD tornando o fruto uma excelente fonte de vitamina C, com destaque para o resultado encontrado no pó liofilizado do fruto, aproximadamente o dobro quando comparado à polpa *in natura*. Entretanto, na semente não foi encontrado a presença deste bioativo.
- ✓ A identificação dos flavonoides por HPLC-DAD revelou a presença de bioativos, dentre eles, aterpillina, rutina e canferol. Os perfis cromatográficos utilizando extratos em metanol 70% expressaram maior número de picos, assim como, mais bem definidos quando comparados ao extrato em etanol 70%.
- ✓ Usando o sistema do LC-MS foi possível identificar e quantificar quatorze flavonoides na casca, doze na semente e oito na polpa, por se tratar de uma técnica mais precisa e exata, ela identificou um maior número de compostos quando comparada a técnica por HPLC-DAD.

7. PESQUISAS FUTURAS

De acordo com o presente trabalho foi possível observar que levando em comparação seus diversos constituintes, o noni apresentou de maneira geral boa capacidade antioxidante. Sendo assim, em pesquisas futuras seria interessante avaliar esse potencial antioxidante em células carcinogênicas.

No Brasil os tipos de câncer mais incidentes entre os anos de 2014/2015 foram incluindo casos de pele não melanoma, mais incidente em ambos os sexos (182 mil novos casos), seguido de próstata (69 mil), mama feminino (75 mil), cólon e reto (33 mil), pulmão (27 mil), estômago (20 mil) e colo de útero (15 mil) (Facina, 2014).

O trabalho analítico de compostos bioativos nas diversas partes de fruto noni pode ser aprofundado e maior número de compostos poderão ser identificados e quantificados o que não foi possível neste trabalho devido a falta de padrões orgânicos.

8. REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução nº 9, de 29 de abril de 2004.
- AIZAH, A. H.; RUSLAWATTI, N. M.; TEE, T. S. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 2, p. 199-202, 1999.
- AKIHISA, T.; MATSUMOTO, K.; TOKUDA, H.; YASUKAWA, K.; SEINO, K.; NAKAMOTO, K.; KUNINAGA, H.; SUZUKI, T.; KIMURA, Y. Anti-inflammatory and potential cancer chemopreventive constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (noni). **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 754–757, 2007. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17480098>>. Acesso em: Agosto. 2017.
- AKIHISA, T.; SEINO, K.; KANEKO, E.; WATANABE, K.; TOCHIZAWA, S.; FUKATSU, M.; BANNO, N.; METORI, K.; KIMURAI, Y. Melanogenesis Inhibitory activities of iridoid-, hemiterpene-, and fatty acid-glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Oleo Science**, v. 59, p. 49-57, 2010. Disponível em : < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20032599>>. Acesso em: Agosto.2017.
- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY.- A.O.C.S. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Champaign, USA, 1990.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. Ed. B. Ceppa, 2006. Disponível em: < <http://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/7489/5359>>. Acesso em: Agosto. 2017.
- ANGELO, P.M.; JORGE, N. Phenolic compounds in food – a brief review. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, SP.
- ANDRADE, J.K.S.; DENADAI, M.; OLIVEIRA, C.S.; NUNES, M.L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown , green and red propolis from Brazilian northeast region. **Rev. Food Research International**, v. 101, p. 129 – 138. 2017.
- APG, The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.161, p. 105 – 121, 2009. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x/full>>. Acesso em: Agosto. 2017.
- ARGOLO, A.C.C.; SANTANA, A.E.G.; PLETSCH, M. COELHO, L.C.B.B. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. **BioresourceTechnology**, v. 95, p. 229-233, 2004. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15246449>>. Acesso em: Agosto. 2017.
- ASSI, R.A.; DARWINS, Y.; ABDULBAQI, I.M.; KHAN, A.A.; VUANGHAO, L.; LARGHARI, M.H. *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. **Arabian Journal of Chemistry**, v.30, p. 1- 17, 2015.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the agricultural chemists**. 11th ed. Revisada. Washington, 2007.

BABIC, J.; CANTALEJO, M.J.; ARROQUI, C. The effects of freeze-drying process parameters on Broiler chicken breast meat. **LWT-Food Sci. Technol.**, v. 42, p.1325 – 1334, 2009.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.** vol.23, 2010. Disponível em < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732010000400013&script=sci_abstract&tlng=pt >.

BARCIA, M.T.; JACQUES, A.C.; PERTUZATTI, P.B.; ZAMBIAZI, R.C. Determinação de ácido ascórbico e tocoferóis em frutas por CLAE. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 381 - 390, 2010. Disponível em: < <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/5341/4852> >.

BATLOUNI, M. Hipótese oxidativa da aterosclerose e emprego dos antioxidantes na doença arterial coronária. **Arq Bras Cardiol**, v.68, p. 55 – 63, 1997. Disponível em: < <http://publicacoes.cardiol.br/abc/1997/6801/68010011.pdf> >.

BELTRÃO, F.A.S; SOUZA, K.P.; SILVA, J.M. Caracterização do noni (*Morinda citrifolia L*) **Rev. Eng. ambiental**, v. 11, n.1, p. 38 – 44. 2014.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: the case of functional food. **Rev. Trends Food Sci. Technol**, v. 31, p. 118 – 129, 2013.

BONECHI, C.; DONATI, A.; TAMASI, G., LEONE, G.; CONDUMI, M.; ROSSI, C.; LAMPONI, S. ; MAGNANI, A.; Protective effect of quercetin and rutin encapsulated liposomes on induced oxidative stress. **Rev. Biophysical Chemistry**, v.233, p. 55 – 63, 2018.

BONI, A.; PUGLIESE, C.; CHIANTELLI,C.; ROSE, C.; PATIN.V.; OLIVEIRA, F.L. Vitaminas antioxidantes e prevenção da arteriosclerose na infância Antioxidant vitamins and prevention of atherosclerosis in childhood. **Rev Paul Pediatr.**, v.28, p.373 – 380, 2010.

BRAGAGNOLO, N.; AMAYA, D.B.R. Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carnes suínas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 22, p. 98, 2002.

Brasil. Ministério da saúde. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). Resolução nº2, de 24 de julho de 1978. Aprova normas técnicas especiais do estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas) para efeito em todo território brasileiro.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v.56, n.11, 1998.

BRETT, S.D.; WEST, C.; JENSEN, J. Simultaneous characterisation and quantification of flavonol glycosides and aglycones in noni leaves using a validated HPLC – UV/MS method. **Rev. V.** 111, p. 526 – 529.

BRITTON, G. UV/ visible spectroscopy. Rev. BRITTON, (Eds). **Carotenoids, spectroscopy**. Birkhauser, 1995. V.1, p.13-62.

- CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A.A.O.; NEVES, L.C.; BENASSI, M.T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade antirradical livre. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 32, p. 1196-1205, 2010
- CAVALCANTI, A.L.; OLIVEIRA, K.F.; PAIVA, P.S.; RABELO, M.V.D.; COSTA, S.K.P. VIEIRA, F.F. Determination of total soluble solids content (°Brix) and pH in milk drinks and industrialized fruit juice. V.6, P. 56, 2006.
- CHAN BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.M.; BRAT, P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. Review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 645 – 654, 2006.
- CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PEREZ, A.M.; BELLEVILLE, M.P.ZUNIGA, C.; BRAT, P. The ripening and aging of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.): microbiological flora and antioxidant compounds. **Journal. Sci. Food Agric.**, v. 87, p. 1710-1716, 2007
- CHEMAT, F.; HUMA, Z.; KHAN, M.K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction ultrassom. **Rev. Sonochem**, v. 18, p.813 – 835, 2011.
- CHITARRA, A.B.; CHITARRA, M.I.F. Pós colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. LAVRAS: ESAL/FAEPE, p. 783, 2005.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005.
- CHUNHIENG, T. Développement de nouveaux nutraceutiques à partir de graines et fruits d'origine tropicale: application a la noix du Brésil *Bertholettia excelsa* et au fruit de Cambodge *Morinda citrifolia*. Tese (Doutorado) – Universidade de Nancy, France, 2003
- COHEN, J.S.; YANG, T.C.S. Progress in food dehydration. **Trends in Food Science e Technology**, 1995.
- CORREIA, A. A. S.; GONZAGA, M. L. C.; AQUINO, A. C.; SOUZA, P. H. M.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A. Caracterização química e físicoquímica da polpa do noni (*Morinda citrifolia*) cultivado no estado do Ceará. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 22, n. 4, p. 609-615, 2011.
- CORREIA, R.; MCCUE, P.; MAGALHÃES, M.; MACEDO, G. SHETTYh, K. Phenolic antioxidant enrichment of soy flour-supplemented guava waste by *Rhizopus oligosporus*-mediated solid state bioprocessing. **Journal of Food Biochemistry**, v.28, p. 408-418, 2004b.
- COSTA A.F. Farmacognosia: Fundação Calouste Gulbenkian. 2.Ed. Lisboa, p 1032, 1982.
- COSTA, A.B. Estudo do perfil clínico epidemiológico do consumo de *Morinda citrifolia* Linn (Noni) nos municípios do sudoeste goiano. 2016 Dissertação (Universidade Federal de Goiás, ciências aplicadas a saúde. Disponível em <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/5834/2/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Ariane%20Borges%20Costa%20-%20202016.pdf>>. Acesso em: Agosto, 2017.
- COSTA, B.A. Atividade antioxidante *in vitro* e antifúngica do noni (*Morinda citrifolia* L.). **Rev. Bras. Frutic.** v.35, p. 345 – 354, 2013.

- COSTA, S.B.; OLIVEIRA, A.M.C.; SILVA, A.M.O.; FILHO, J.M.; LIMA, A. Atividade antioxidante da polpa, casca e semente do noni (*Morinda citrifolia* Linn). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 35, n. 2, p. 345-354, 2013.
- DENG, S.; PALU, A. K.; WEST, B. J.; SU, C. X.; ZHOU, B. N.; JENSEN, J. C. Lipoxigenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 859 – 862, 2007.
- DENG, S.; WEST, B.; JARAKAE, J.C. A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. **Food Chem.**, v. 122, p. 267 – 270, 2010.
- DITTAMAR, A. *Morinda citrifolia* L. Use in indigenous Samoan medicine. **Journal of Herbs, Spices and Medicine Plant**, v.1, p.77, 1993.
- DUSSOSSOYA, E.; BRAT, P.; BONYA, E.; BOUDARDC, F.; POUCHERET, P.; MERTZ, C.; GIAIMIS, J.; MICHAEL, A. Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 108-115, 2011.
- ELKINS, R. Hawaiian Noni (*Morinda citrifolia*) Prize Herb of Hawaii and the South Pacific. Woodland Publishing, Utah. 1998
- FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. Anthocyanins as food colors. New York: **Academic Press**, v.28, p.181-207, 1982.
- GIRON ES-VILAPLAN, A.; BAENAS, N.; VILLANO, D. Evaluation of the latin American fruits rich in Phytochemicals with biological effects. **Journal Funct Foods**, v. 7, p. 599 – 608 2014.
- GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. v.53, p. 112, 2004. Disponível em : < http://diabetes.diabetesjournals.org/content/53/suppl_1/S110.full-text.pdf >.
- GUO, R.; WEI, P. Studies on the antioxidante effect of rutin in the microenvironment of cationic micelles. **Rev. Microchim. Acta**, v. 161, p. 233 – 239, 2008.
- HAEGELE, A. D.; GILLETE, C.O.; NEIL, C.; WOLFE, P.; HEIMENDINGER, J.; SEDLACEK, S. Plasma xanthophyll carotenoids correlate inversely with indices of oxidative DNA damage and lipid peroxidation. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v.9, p. 421 – 425, 2000.
- HAFLE, O. M. Conservação pós-colheita de pedúnculo de cajueiro anão "CCP-76" submetido à aplicação de cálcio. 2000. 49 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 2000.
- HAGE, D.S.; RUHN, P.F. An introduction to affinity chromatography. In: Hage DS, editor. Handbook of affinity chromatography. Boca Raton: Taylor & Francis Group; p 3-13, 2006.
- HARNKARNSUJARIT, N.; KAWAI, K.; WATANABE, M.; SUZUKI, T. Effects of freezing on microstructure and rehydration properties of freeze-dried soybean curd. **Journal of food engineering**, v.30, p.1 – 11, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico químicos para análise de alimentos - IAL. 4^o Edição, 2008.

JARDINI, F. A.; MANCINI, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum* L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 137-147, 2007.

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. **Rev. Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, p. 935–938, 2008.

KHACHIK, F.; BEECHER, G.R.; GOLI, M.B. Separation, identification, and quantification of carotenoids in fruits, vegetables and human plasma by high performance liquid chromatography. **Pure Appl Chem**, v.63, p. 71 – 80, 1991.

KIMURA, M; RODRIGUEZ-AMAYA, D. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**. v. 78, n. 3, p. 389-398, 2001.

KRISHNAIAH, D.; BONO, A.; SARBATLY, R.; ANISUZZAMAN, S.M. Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated *Morinda citrifolia* L. methanolic extract from Poly-ethersulphone (PES) membrane separator. **Journal of King Saud University - Engineering Sciences**, v.27, p. 63 – 67, 2015.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using diferente solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, v. 71, p. 214 – 222, 2005.

LAVAUT, N. G; LAVAUT, J. G. *Morinda citrifolia* Linn: potencialidades para su utilización en la salud humana. **Rev. Cubana Farm**, v. 37, n. 3, 2003.

LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*). 2008. 219f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, SP.

LIMA, C.R.; LIMA, R.A. Identificação de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico dos frutos verdes e maduros de *Morinda citrifolia* L. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 6, n. 3, p. 439-446, set./dez. 2013

LIN, C. F.; NI, C. L.; HUANG, Y. L.; SHEU, S. J.; CHEN, C. C. Lignans and anthraquinones from the fruits of *Morinda citrifolia*. **Natural Product Research**, v.21, p. 1199 – 1204, 2007.

LIN, Y.L.; LIN, H.W.; CHEN, Y.; YANG, D. CHUNLI, C. CHANG, Y. Hepatoprotective effects of naturally fermented noni juice against thioacetamide induced liver fibrosis in rats. **Journal of the Chinese Medical Association**, V. 80, p. 212 – 221, 2017.

LIU, C. H.; XUE, Y.; YE, Y.; YUAN, F.; LIU, J.; SHUANG, J. Extraction and Characterization of Antioxidant Compositions From Fermented Fruit Juice of *Morinda citrifolia* (Noni). **Rev. Agricultural Sciences** , V. 6, p. 1494-1501, 2006.

LIU, F. Antioxidant activity of garlic acid from rose flowers in senescence accelerated mice. **Elsevier**, v.77, p. 230 – 240, 2005.

LUBECK, W.; HANNES, H. Noni el valioso tesoro de los mares del sur. Madrid: **EDAF**, 2001.

MACRAE, R. Food Science and Technology – A series of monographs: HPLC in food analysis, 2a. ed., Editora Academic Press, 1998.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MALINOVSKA, R.J.; KUZMANOVA, S.; WINKELHAUSEN, E. Application of ultrasound for enhanced extraction of prebiotic oligosaccharides from selected fruits and vegetables. *Rev. Ultrasonics Sonochemistry*, v. 22, p. 446 – 453, 2015.

MANICA, I.; KIST, H.; MICHELETTO, E.L.; KRAUSE, C.A. Competição entre quatro cultivares e duas seleções de goiabeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 33, n. 8, p. 1305-1313, 1998.

MARÇO, P.M.; POPPI, R.J.; SCARMINIO, I.S. Analytical procedures for identifying anthocyanins in natural extracts. **Quim. Nova**. v.31, p. 1218 – 1223, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500051>.

MARQUES, G.L. Liofilização de frutas tropicais. Tese doutorado, Universidade Federal de São Carlos, engenharia química, p. 18, 2008.

MASUDA, M.; MURATA, K.; FUKUHAMA, A.; NARUTO, S.; FUJITA, T.; UWAYA, A.; ISAMI, F.; MATSUDA, H. Inhibitory effects of constituents of *Morinda citrifolia* seeds on elastase and tyrosinase. **Journal Natural of Medicine**, v. 63, p. 267–273, 2009.

MATTE, W.D.; QUEIROZ, L.F.; CORASSA, J.N. Primeiro registro de *atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) atacando noni (*Morinda citrifolia* L.) em Colorado do Oeste (RO), Brasil. **Arq. Inst. Bio.** v.86, p. 2016.

MCMMASTER, M. “*LC/MS: A Practical User’s Guide*”, Wiley-Interscience (2005).

MEDA, A.; LAMIEN, C.E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O.G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**. V.3, p. 571 -577, 2005.

MENEZES, E.M.S.; TORRES, A.T.; SRUR, U.S. Lyophilized açai pulp (*Euterpe oleracea*, Mart.) nutritional value. *Rev. Acta Amaz*, 2008.

MOTSHAKERI. M.; GHAZALI, H. M. Nutritional, phytochemical and commercial quality of Noni fruit: A multibeneficial gift from nature. *Rev. Elsevier*, 2015.

MSAADA, K.; JEMIA, M.B.; BACHROUCH, N.S.O.; SRITI, J.; TAMMAR, S.; BETTAIEB, I.; JABRI, I.; KEFI, S.; LIMAM, F.; MARZOUK, B. Antioxidante activity of methanolic extract from tree coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit varieties. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 3176 – 3183, 2017.

MUJUMDAR, A.S. Handbook of industrial drying, New York, 1995.

- MULLER, J.C. Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn. 2007. Dissertação (Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics em cereais, frutas e legumes: ocorrência, extração e análise. **Journal of Pharmaceutical e Análise Biomédica**, v.41, n5, p. 1523-1542, 2006.
- NAGALINGAM, S.; SASIKUMAR, C.S.; CHERIAN, K. M. Extraction and preliminary phytochemical screening of active compounds in *Morinda citrifolia* fruit. **Asian J. Pharm. Clin. Res.** v.5, p. 179 – 181, 2012. Disponível em: <<http://www.ajpcr.com/Vol5Suppl2/990.pdf>>.
- NASCIMENTO, L.C.; LAGE, L.F.O.; CAMARGOS, C.R.D.; AMARAL, J.C.; SOUSA, A.N.; OLIVEIRA, F.Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH edoseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Rev. Brasileira de farmácia**, v.92, p. 327 – 332, 2011.
- NAVARRETE, N.M.; VIDAI, M.M.C. LAHUERTA, J.J.M. Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. **Rev.Elsevier Doyma**, v.2, p. 64 – 68, 2008.
- NAVAS, J.S.R. Liofilización de alimentos. Universidade Del Vale. 2006.
- NELSON, S.C. *Morinda citrifolia* L: Rubiaceae Coffee family. **Permanent Agriculture Resources (PAR)**, HI 96725 USA, 2005. Disponível em : < https://www.doc-developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES_ARBRES/Morinda%20citrifolia_noni/Morinda%20citrifolia_noni.pdf>.
- NIESSEN, W.M.A., “Liquid Chromatography-Mass Spectrometry”, Third Edition (Chromatographic Science). Boca Raton: CRC Press, 2006.
- NUALSANIT, T.; ROJANAPANTHU, P.; GRITSANAPAN, W.; LEE, S.H.; LAWSON, D.; BAEK, S.J. Damnacanthal, a noni component, exhibits antitumorigenic activity in human colorectal cancer cells. **J. Nutr. Biochem**, v. 23, p. 913 – 923, 2012.
- OLIVEIRA, D.S.; AQUINO, P.P.; RIBEIRO, S.M.R.; PROENÇA, R.P.C.; PINHEIRO, H.M. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Rev. Acta Scientiarum. Health Sciences**, v.33, p. 89 – 98, 2011.
- OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método DPPH: Estudo de revisão, rev. **Bras. Plantas med.**, v. 17, p. 36 – 44, 2015. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000100036&lng=en&nrm=iso> .
- ORGAARD, A.; JENSEN, L. The effects of soy isoflavones on obesity. **Rev. Exp. Biol. Med.**, v. 9, p. 1066 – 1080, 2008.
- ORTHOLAND, J. Y.; GANESAN, A. Natural products and combinatorial chemistry: back to the future. **Chemical Biology**, v.8, p. 271 - 280, 2004.
- PADOVANI, R.M.; AMAYA-FARFÁN, J.; COLUGNATI, F.A.B.; DOMENE, S.M.A. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Rev. Nutr., Campinas**, 19(6):741-760, nov./dez., 2006.

- PALIOTO, G.F.; SILVA, C.F.G.; MENDES, M.P.; ALMEIDA, V.V.; ROCHA, C.L.M.S.C.; TONIN, L.T.D. Composição centesimal, compostos bioativos e atividade antioxidante de frutos de *Morinda citrifolia* Linn (noni) cultivados no Paraná / Proximate composition, bioactive compounds and antioxidant activity of fruits of *Morinda citrifolia* L. (noni) cultivated in Paraná, Brazil. **Rev. Bras. Plantas medicinais**, v.17, p. 59 – 66, 2015.
- PAN, G.; YU, G.; ZHU, C. QIAO, J. Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of flavonoids compounds (FC) from hawthorn seed (HS). **Rev. Ultrason. Sonochem.**, V.19, P. 486 – 490, 2012.
- PAN, L.; CHAI, H.B.; KINGHORN, A. D. Discovery of new anticancer agents from higher plants. **Frontiers in bioscience**, v. 4, p. 142 – 156, 2013.
- PARKER, R.S.; SWANSON, J.E.; YOU, C.S.; EDWARDS, A.J.; HUANG, T. Bioavailability of carotenoids in human subjects. **Proc Nutr Soc.** v.58, p. 155 – 162, 1999.
- PAWLUS, A.D., SU, B.N., KELLER, W.J., KINGHORN, A.D.. An anthraquinone with potent quinone reductase-inducing activity and other constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **J. Nat. Prod**, v.68, p. 1720 – 1722, 2005.
- PETERSEN, B.; EGERT, A.; BOSY-WESTPHAL.; MULLER, S.; WOLFFRAM,S.; HUBBERMANN, E.M.; RIMBACH, G. Bioavailability of quercetin in humans and the influence of food matrix comparing quercetin capsules. **Rev.Food Res. Int.**, v.88, p. 159 – 165, 2016.
- PETZOLD, G., AGUILERA, J.M. Ice morphology: fundamentals and technological applications in foods. **Food Biophy**, v.4, p. 378 – 396, 2009.
- POMPEU, D.R.; SILVA, E.M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of Euterpea oleracea using response surface methodology. **Biosource Technology**, v.100, p. 6076 – 6082, 2009.
- PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Rev.Ultrason. Sonochem.**, v.20, pp. 1076-1080, 2013.
- PRADO, A. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. 2009 Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo.
- 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.
- QUINTANA, A.R. El Noni (*Morinda citrifolia* L.): Nuevo Árbol Para la Agricultura Orgánica. **Agricultura Orgánica** 3. 2002.
- RAM, J. Noni processing and quality control: Protecting the image of Hawaiian products. **Conference University of Hawaii**, 2002.
- RATTI,C. Hot air and freeze drying of high values food: a review. **Journal of Food Engineering**, v.49, p.311-319, 2001.

RAWANGBAN, R.; THAMAREE, S.; PUNJANON, T.; KIETINUN, S. Bio-extract concentrated of Thai “Yore” *Morinda citrifolia* effects in analgesic, acute toxicity and human peripheral blood mononuclear cells. **Jornal Thammasat Med.**, V. 11, p. 8–17, 2011.

REIDAH, I.M.; ALI-SHTAYEH, M.S.; JAMOUS, R.M.; RAMÓN, D.A. CARRETERO, A.S. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits, **Rev. Food. Chem.**, v. 166, p. 179 - 191, 2015.

RETHINAM, P., & SIVARAMAN, K. Noni (*Morinda citrifolia* L.), the miracle fruit-A holistic review. **International Journal of Noni Research**, V. 2, p. 4- 34, 2007.

RHIM, J.W., KOH, S., KIM, J.M. Effect of freezing temperature on rehydration and water vapor adsorption characteristics of freeze-dried rice porridge. **J. Food Eng.** v. 104, p. 489 – 491, 2011.

RINHEL, A.S.G.F. O extrato etanólico das folhas de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) modula funções efetoras de neutrófilos: um promissor agente fitoterápico para o tratamento de processos inflamatórios mediados por estas células. Tese (Pós graduação em Ciências Farmacêuticas) – Ribeirão Preto. 2015.

RIQUE, A.B.; SOARES, E.A.; MEIRELLES, C.M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Rev. Bras Med Esporte**, v.8, p. 224 – 254, 2002.

RODRIGUES, H.G.; DINIZ, Y.S.; FAINE, L.A.; ALMEIDA, J.A.; FERNANDES, A.A.; NOVELLI, E.L. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rotina na concentração de colesterol - HDL. **Rev. Nutr**, v.16, p. 315 – 320, 2003.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. A guide to carotenoids analyses in foods. Washington: ILSI PRESS, 1999.

RODRIGUEZ, F. J. M.; PINEDO, D. M. Mito y realidad de *Morinda citrifolia* L. (noni). **Plantas medicinales**, v.9, 73, 2004. Disponível em < http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_3_04/pla02304.htm >. Acesso: Agosto, 2017.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in food. Washington: ILSI Press, p. 64, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Nature and distribution of carotenoids in foods. **Rev. CHATALAMBOUS, F. (Ed.). Shelf life of foods and beverages – chemical, biological, physical and nutritional aspects.**, p. 547-589, 1993.

RUHOMALLY, Z.; SOMANAH, J.; BAHORUN, T.; NEERGHEEN-BHUNJUN, V.S. *Morinda citrifolia* L. fruit extracts modulates H₂O₂-induced oxidative stress in human liposarcoma SW872 cells. **Elsevier**, v.30, p. 1 - 6, 2016. Disponível em < www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2225411015000930 >. Acesso em: agosto. 2017.

RYBAK, J.; RUZIK, L. Application of chromatography and mass spectrometry to the characterization of cobalt, copper, manganese and molybdenum in *Morinda citrifolia*. **J. Chromatogr**, v. 15, p. 19- 25, 2013.

SAINI, R.K.; NILE, S.H.; PARK, S.W. Carotenoids from fruits and vegetables: chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. Rev. **Food Chemistry**, v.76, p.735 – 750, 2015.

SAMPAIO, C.G. Estudo químico bioquímico das sementes de *Morinda citrifolia* Linn (NONI) e suas aplicações. 2010. Dissertação (Pós Graduação em Química) - Ceará. 2010.

SANTANA, F.F. Medina VM. Alterações bioquímicas durante o desenvolvimento do fruto do abacaxizeiro "Pérola". Rev. **Brasileira de Fruticultura**, v.22, p.53 – 56, 2002.

SCHIEL, JE; MALLIK R.; SOMAN, S, JOSEPH, K.S.; HAGE, D.S. Applications of silica supports in affinity chromatography. **J. Sep Sci**, v. 29, p. 719-737, 2006.

SERAFINI, M.R.; SANTOS, R. C.; GUIMARAES, A.G.; SANTOS, J. P. A.C. SANTOS, A. D.C.; ALVES, I. A.; GELAIN, D.P.; NOGUEIRA, P.C.L.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; SOUZA, A. A.; Bonjardim, L.R. *Morinda citrifolia* linn leaf extract possesses antioxidant activities and reduces nociceptive behavior and leukocyte migration. **J. Med. Food**, v.14, p. 1159 – 1166, 2011.

SHAI, F; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: **Technomic Publishing**, 1995.

SHAMI. N.J.I.E.; Moreira. E.A.M. Licopeno como agente antioxidante. Rev. **Nutr**. v. 17, p. 227 – 236, 2004.

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

SIDDIQUI, B.S.; SATTAR, F.A.; BEGUM, S.; GULZAR, T.; AHMAD, F. New anthraquinones from the stem of *Morinda citrifolia* Linn. **Natural Product Research**, v. 20, p. 1136 - 1144, 2006.

SILVA, B.P.; BALBINO, K.P.; CARDOSO, L.M.; AQUINO, P.P.; PINHEIRO, H.M.; RIBEIRO, S.M.R. Avaliação da estabilidade da capacidade antioxidante e de parâmetros físico-químicos de néctares de frutas caseiras. Rev. **Inst Adolfo Lutz**. V. 75, 2016.

SILVA, G.C.G. *Morinda citrifolia* L. – Investigação Científica das Propriedades Biológicas com Base no uso Popular. 2015 . Dissertação (Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, PE.

SILVA, L.R.; MEDEIROS, P.V.Q.; LEITE, G.A.; SILVA, K.J.S.; MENDONÇA, C.V.; SILVA, G.G. Caracterização do fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni). Rev. **Cubana Plant Med**, v.17, p. 96 – 100, 2012. Disponível em <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000100010> . Acesso em: agosto. 2017

SILVA, C.L.R.; MEDEIROS, P.Q.V.; LEITE, G.A.; SILVA, K.J.P.; MENDONÇA, C.V.; SILVA, G.G. Characterization of *Morinda citrifolia* L. (noni) fruit. Rev. **Cubana Plant Med**, vol.17, p. 93 – 100, 2012

SINGH, D.R. *Morinda citrifolia* L. (Noni): a review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties. **J. Diabet. Endocrinol**, v.3, p. 77 – 91, 2012.

Disponível em : < <http://www.academicjournals.org/journal/JDE/article-full-text-pdf/4AD8D561213>>. Acesso em: Agosto. 2017.

SIRIWARDHANA, N.; KAALUOAHANA, N.S.; CEKANOVA, M.; LEMIEUX, M.; GREER, B.; Moustaid-Moussa, N. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.24, p. 613 - 623, 2013.

SOLER- RIVAS, C.; ESPIN, J.C.; WICHERS, H.J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. **Phytochem. Anal.** v.11, p. 330-338, 2000.

SORIA, A.C.; VILLAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. Rev. **Trends in Food Science e Technology**, V. 21, p. 323 – 331, 2010.

SOUSA, J.A.; NETO, P.A.F.; FERREIRA, F.V.N.; ARAÚJO, D.B.; SOUSA, J.C.R.; Aquino, A.R.L.; SILVA, T.C.S.; Bezerra, F.C. Substrato para produção de mudas de noni (*Morinda citrifolia*). Cong. Bras. Agronomia, Gramado, 2009.

SOUZA, P. A. Conservação pós-colheita de melão Charentais tratado com 1-MCP e armazenado sob refrigeração e atmosfera modificada. Rev. **Hortic. Bras.**, v. 16, p. 464 – 470, 2006. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-05362008000400008&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em : Agosto. 2017.

STREIT, N.M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M.W.; HECKTHEUER, L.H.H. The chlorophylls. Rev. **Cienc. Rural**, V. 35, 2005.

SU, B.; PAWLUS, A. D.; JUNG, H.; KELLER, W.J.; MCLAUGHLIN, J.L.; KINGHORN, D. Chemical Constituents of the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni) and Their Antioxidant Activity, **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 592-595, 2005.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituent of *Punus domestic* : Quantitative analysis constituents . **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.19, p. 63-69, 1959.

TIAN, Y.; XU, Z.; ZHENG, B.; MARTIN, Y. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. Rev. **Ultrason. Sonochem.**, V. 20, pp. 202-208, 2013.

TROVATO, M.A.; MONFORTE, R.; BARBERA, A.; ROSSINO, E. M.; GALATI, A. M.; FORESTIERI. Effects of fruit juices of *Citrus sinensis* L. and *Citrus limon* L. on experimental hypercholesterolemia in the rat. Rev. **Phytomedicine**, V. 2, pp. 221-227, 1996.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E.A.; CUNHA, D.F.; Junqueira-Franco, M.V.; Bernardes, M.M.; Jordão, A.A. Whole of nutrients on lipid peroxidation and antioxidant defense system. 1998.

VIEIRA, L.M.; SOUSA, M.S.B.; MANCINI, J.; LIMA, A. Total phenolics and antioxidant capacity “in vitro” of tropical fruit pulps. Rev. **Bras. Frutic.** V.33, 2011.

VILANO, D.; FERNANDEZ, P.M.S.; TROCOSO, A.M. GARCIA, P.M.C. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. Rev. **Food Chemistry**, v.95, p. 393-404, 2006.

VINATORU, M.. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Rev. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 21, p. 303-313, 2010.

VINCI, G.; BOTRE, F.; RUGGIERI, G. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. **Food Chemistry**, London, v. 53, n. 2, p. 211-214, 1995.

WANG, M. Y. et al. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, 2002.

WANG, M. Y.; SU, C. Cancer Preventive Effect of *Morinda citrifolia* (Noni). **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 952, p. 161 – 168, 2001.

WANG, M.Y. LIEHR J.G. Induction by estrogens of lipid peroxidation and lipid peroxide derived malondialdehyde-DNA adducts in male Syrian hamsters: role of lipid peroxidation in Estrogen induced kidney carcinogenesis. 1995

WANG, X.; WU, Y.; CHEN, G. YUE, W. LIANG, Q.; WU, Q. Optimisation of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *Sparganii rhizoma* with response surface methodology **Rev.Ultrason. Sonochem.**, V. 20, pp. 846-854, 2013.

WEST, B.J.; DENG, S.; C. JENSEN. C.J. Nutrient and phytochemical analyses of processed noni puree. **Rev.Food Research International**, v.44, p. 2295 – 2301, 2011.

WEST, B.J.; JENSEN, C.J.; WESTENDORF, J. **J. food science and technology**, v.43, 2008.

WITROWA, R. D.; LEWICKI, P.P. Rehydration properties of dried plant tissues. Rev. **Int. J. Food Sci. Technol**, v.41, p. 1040 – 1046, 2006.

WOJDYLO, A.; NOWICKA, P.; BARRACHINA, A.A.C.; HERNANDEZ, F.; Phenolic compounds, antioxidant and antidiabetic activity of different cultivars of *Ficus carica* L. fruits. **Journal of functional foods**, v. 25, p. 421 – 432.

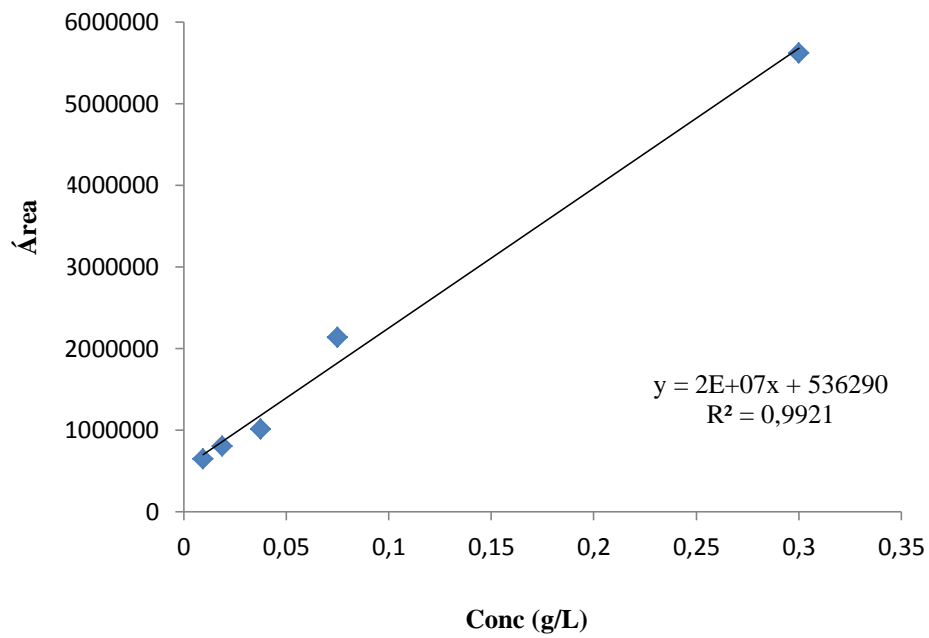
WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAY-TOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.52, n.12, p.4026-4037, 2004.

YANG, J. GARDI, R.; THOMSON, T. Antioxidant capacity, total phenols, and ascorbic acid content of noni (*Morinda citrifolia*) fruits and leaves at various stages of maturity. Rev. **Micronesica**, v.41, p. 167 – 176, 2011.

YU, E., L. Acute hepatotoxicity after ingestion of *Morinda citrifolia* (Noni Berry) juice in a 14 year old boy. **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition**, v. 52, p.222 – 224, 2011.

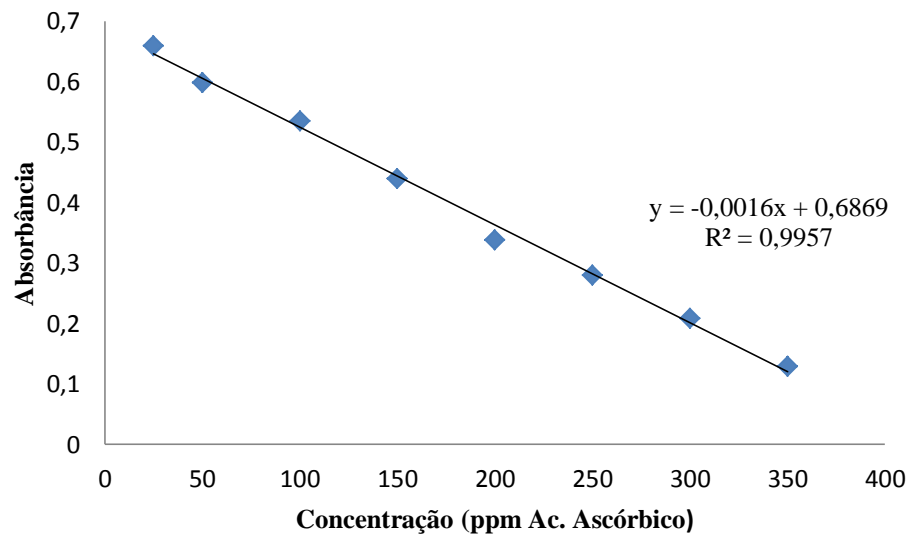
YU, H.; LI, S.; HUANG, M.; HO, C. Antiinflammatory Constituents in Noni (*Morinda citrifolia*) Fruits. **American Chemical Society**, v. 987, p. 179-190, 2008.

ZIN, Z.M.; HAMID, A.A.; OSMAN, A.; SAARI, N. Antioxidative activities of chromatographic fractions obtained from root, fruit and leaf of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Rev. **Food Chemistry**, v.94, p. 169 – 178, 2006.

APÊNDICE A - CURVA DE CALIBRAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO

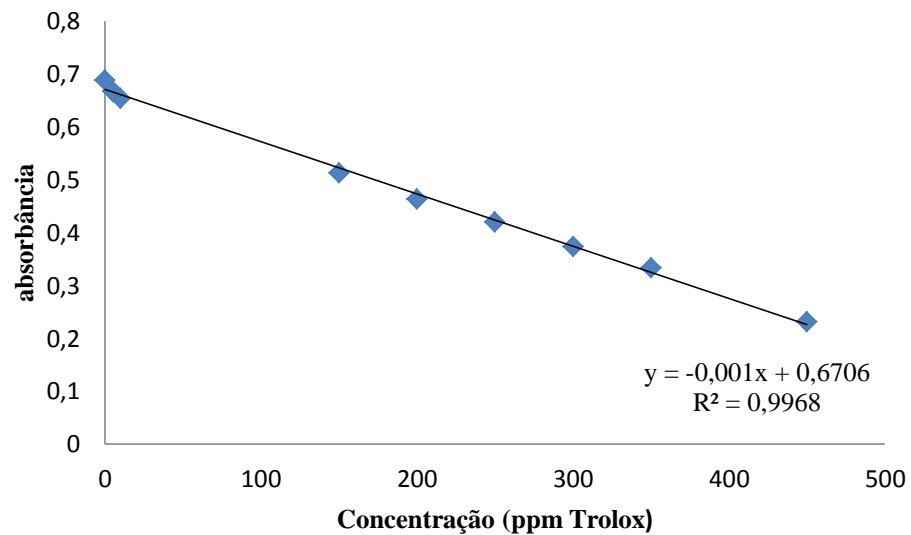
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE B - CURVA DE CALIBRAÇÃO ÁCIDO ASCÓRBICO ABTS⁺⁺



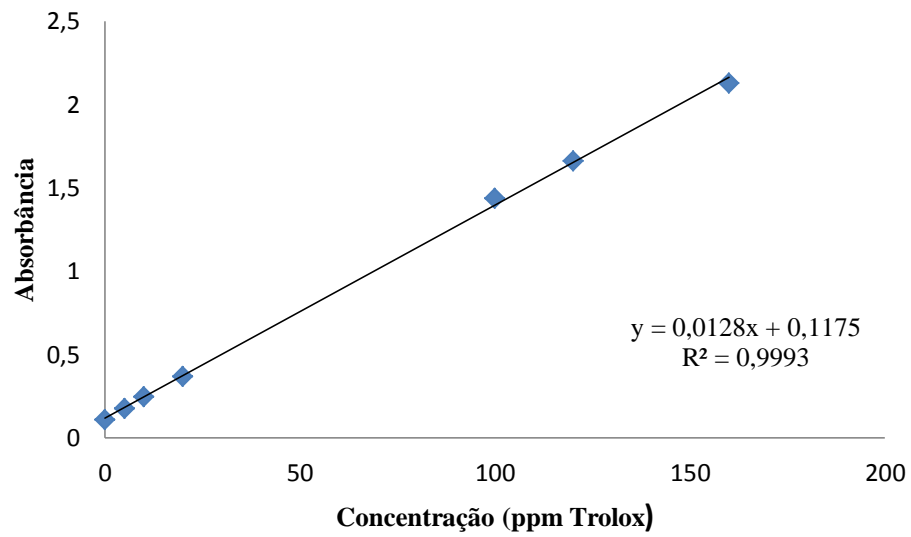
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE C - CURVA DE CALIBRAÇÃO TROLOX ABTS⁺⁺



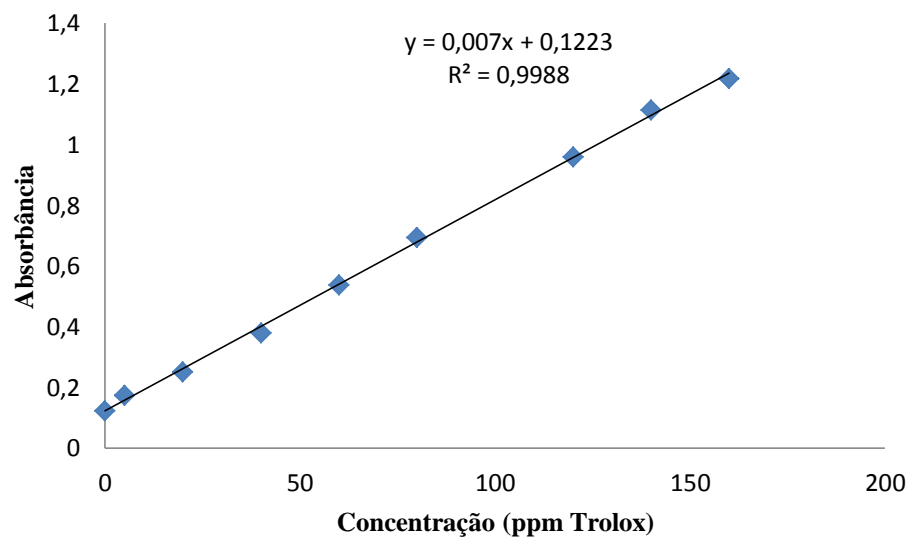
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE D - CURVA DE CALIBRAÇÃO FRAP ÁCIDO ASCÓRBICO



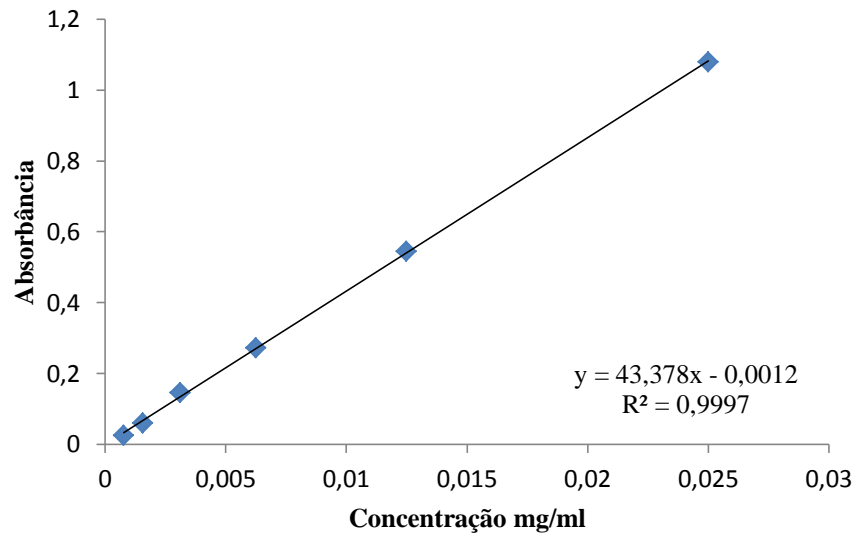
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE E - CURVA DE CALIBRAÇÃO FRAP TROLOX



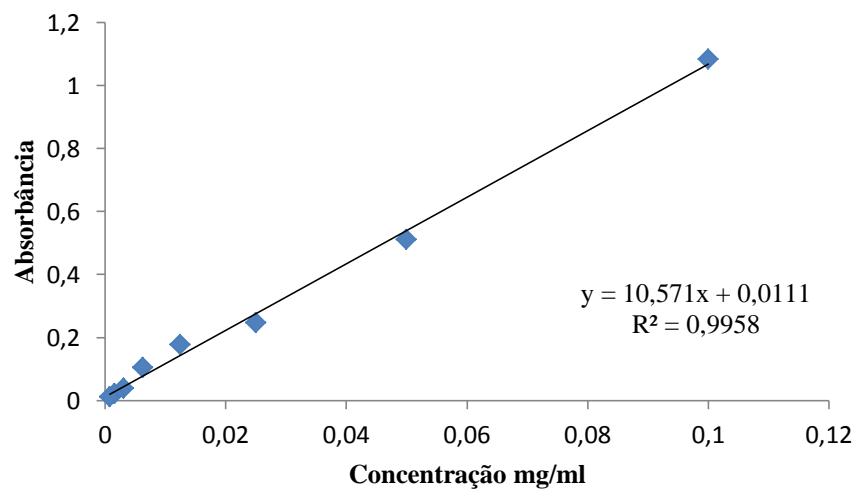
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE F - CURVA DE CALIBRAÇÃO QUERCETINA



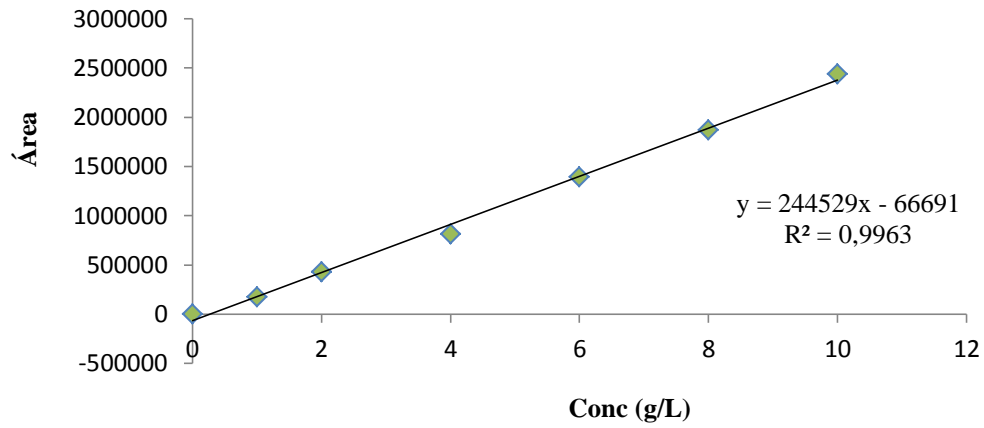
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE G - CURVA DE CALIBRAÇÃO FENÓLICOS



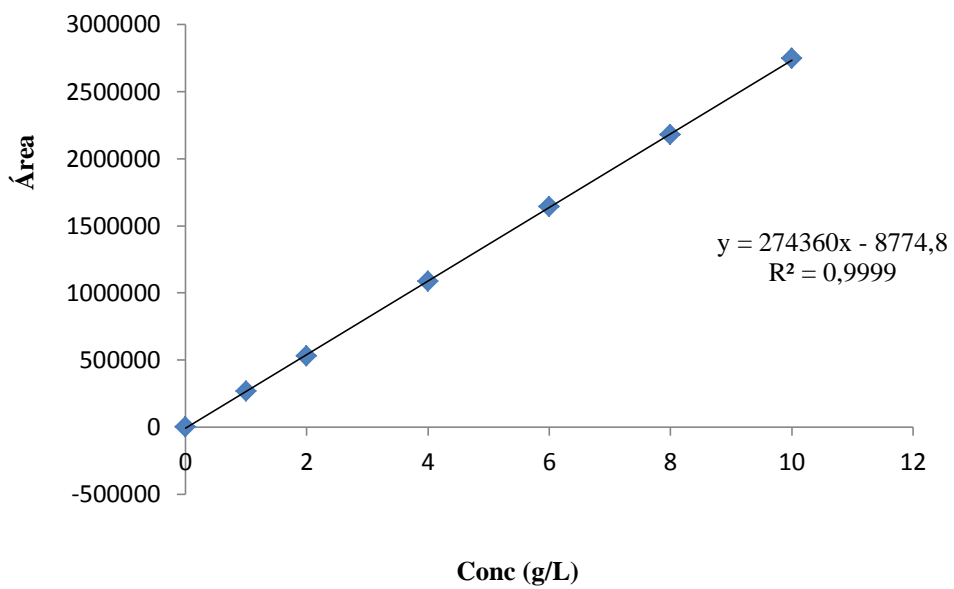
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE H - CURVA DE CALIBRAÇÃO AÇUCARES: GLICOSE

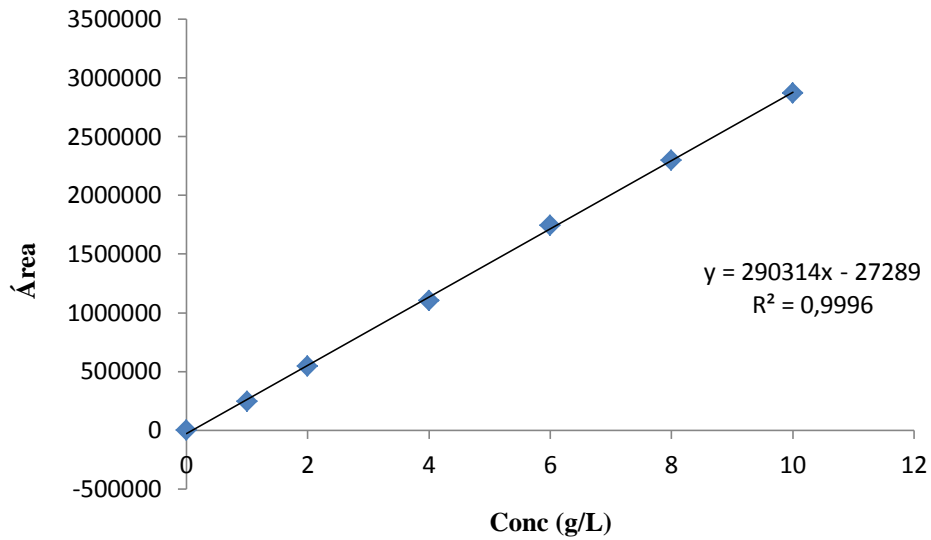


Fonte: Próprio Autor.

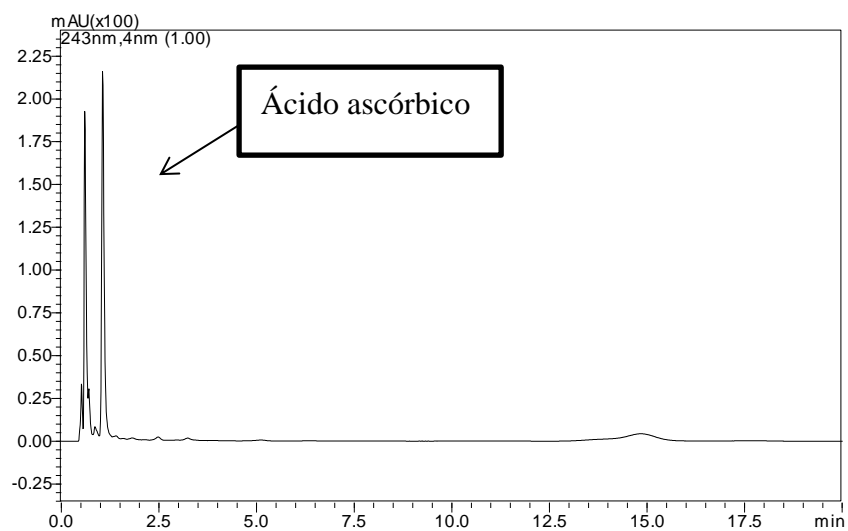
APÊNDICE I - CURVA DE CALIBRAÇÃO AÇÚCARES: FRUTOSE



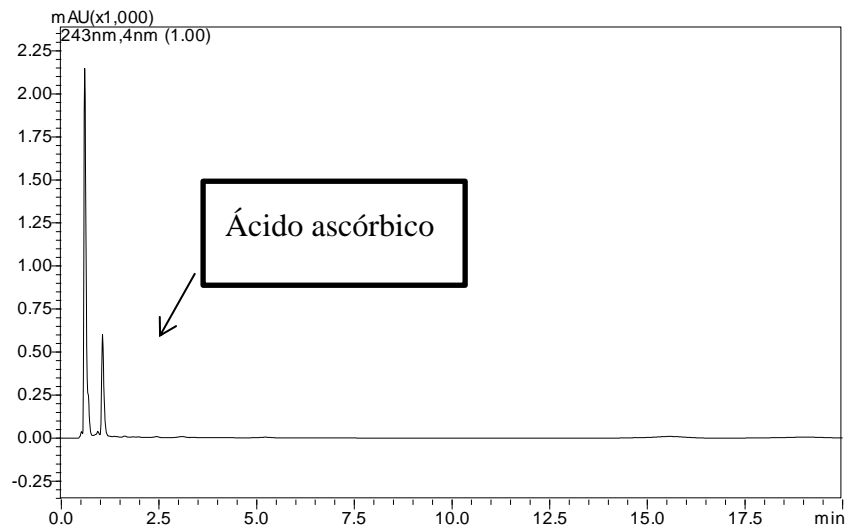
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE J - CURVA DE CALIBRAÇÃO AÇÚCARES: SACAROSE

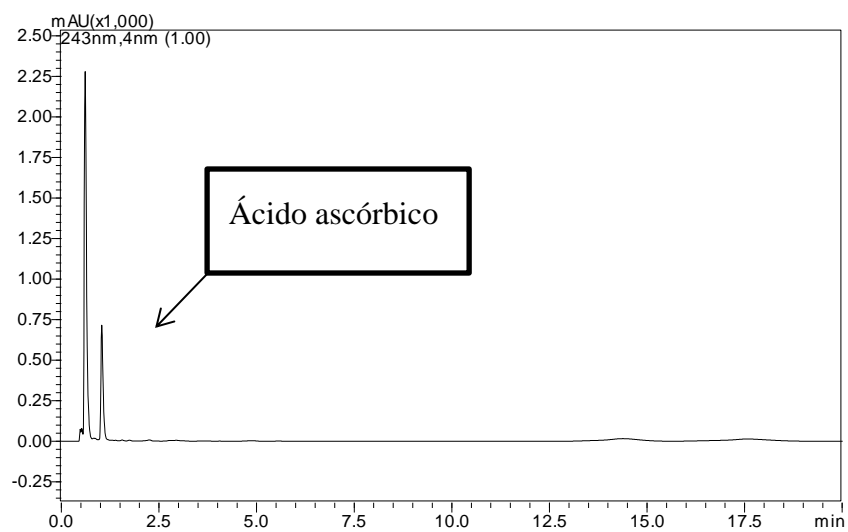
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE K - CROMATOGRAMA ÁCIDO ASCÓRBICO NO PÓ LIOFILIZADO

Fonte: Próprio Autor.

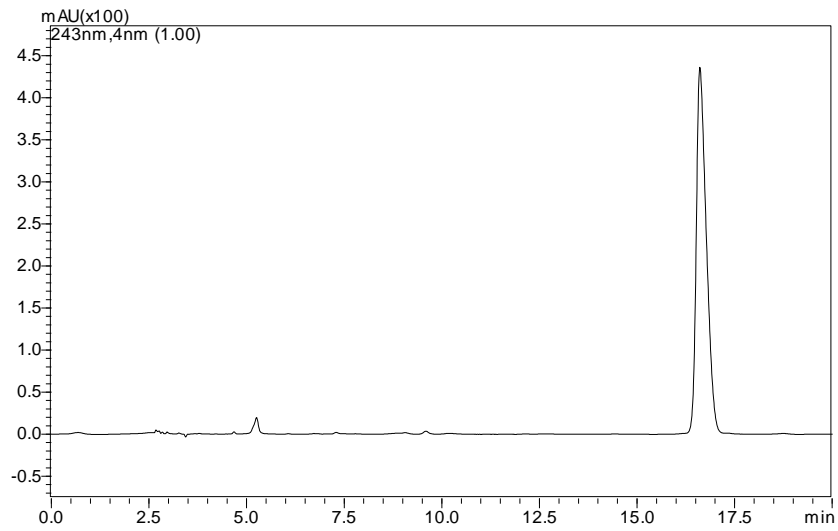
APÊNDICE L - CROMATOGRAMA ÁCIDO ASCÓRBICO NA CASCA

Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE M - CROMATOGRAMA ÁCIDO ASCÓRBICO DA POLPA *in natura*

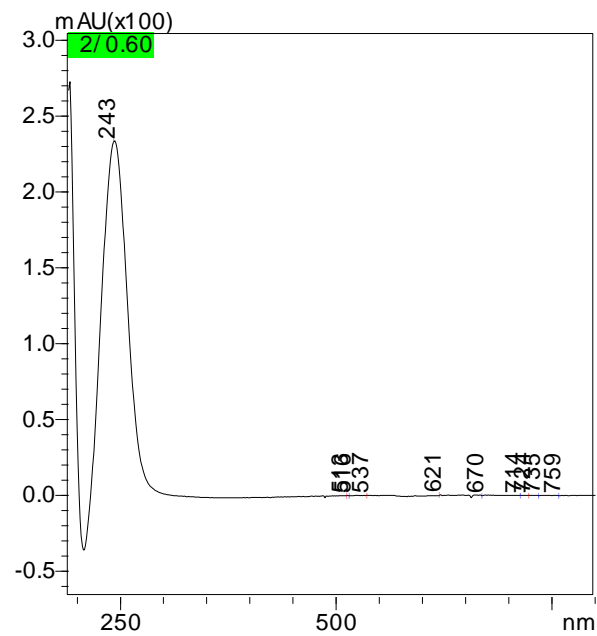
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE N - CROMATOGRAMA ÁCIDO ASCÓRBICO NO SEMENTE



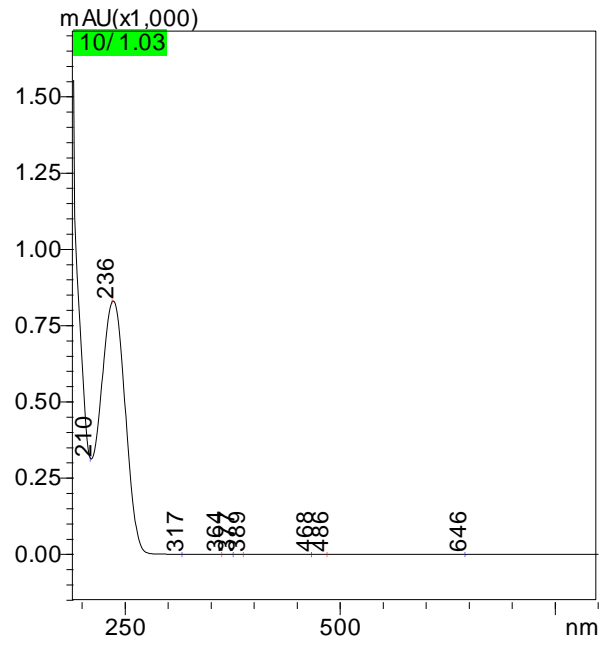
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE O - ESPECTRO DO PÓ LIOFILIZADO



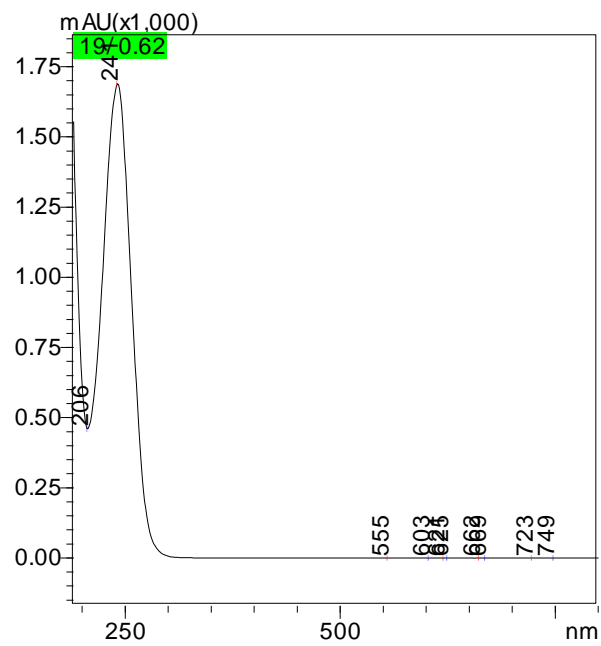
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE P - ESPECTRO DA POLPA *in natura*

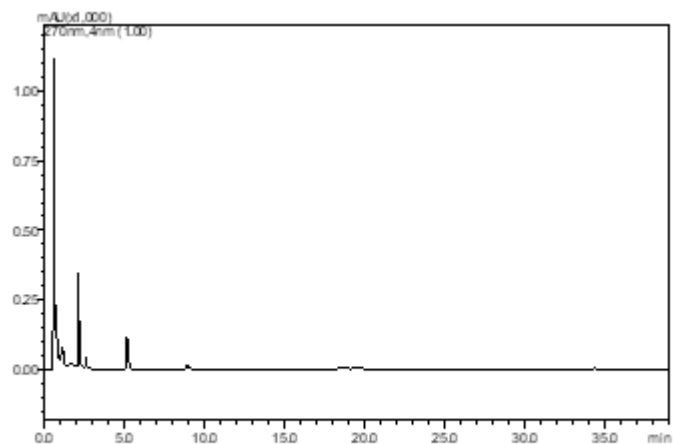


Fonte: Próprio Autor.

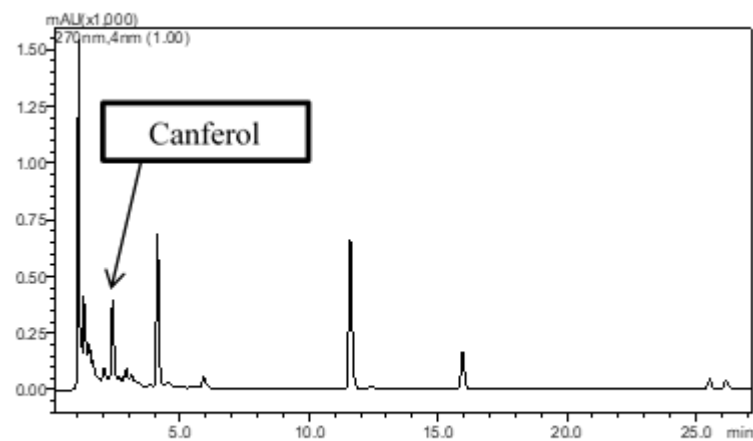
APÊNDICE Q - ESPECTRO ÁCIDO ASCORBICO DA CASCA



Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE R - IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES NA POLPA *in natura* EM ETANOL 70% E METANOL 70%

Etanol 70%



Metanol 70%

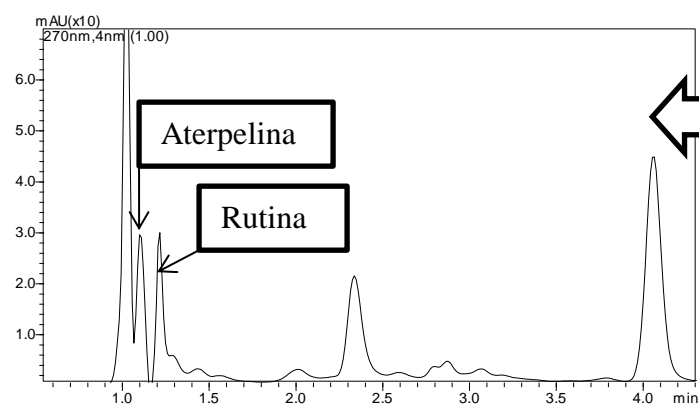
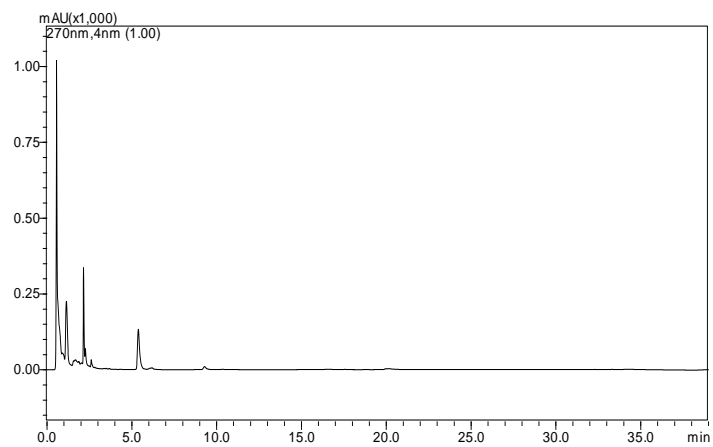
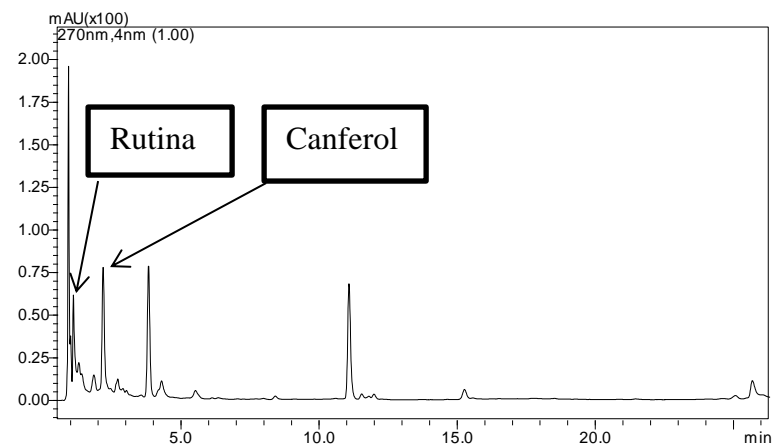


Imagem ampliada do
início da corrida em
metanol 70%

Fonte: Próprio Autor.

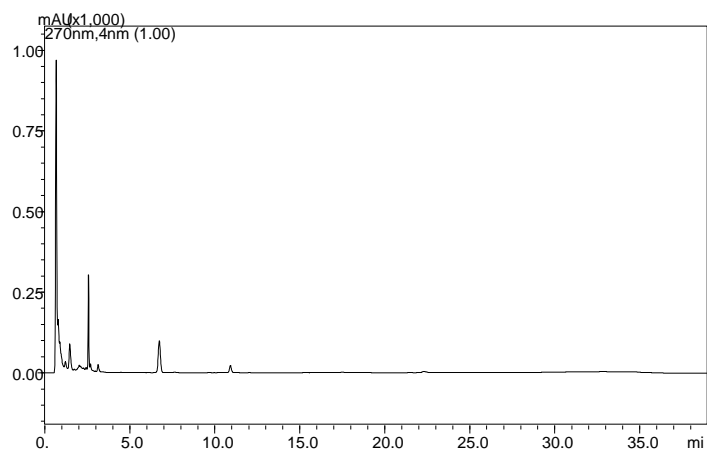
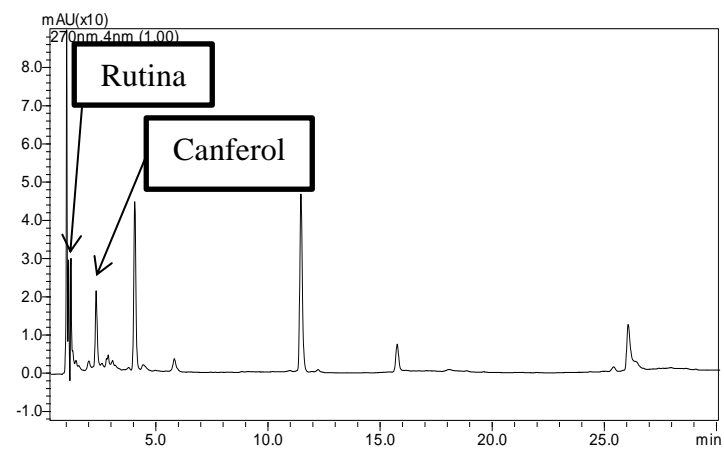
APÊNDICE S - IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES NA CASCA EM ETANOL 70% E METANOL 70%

Etanol 70%

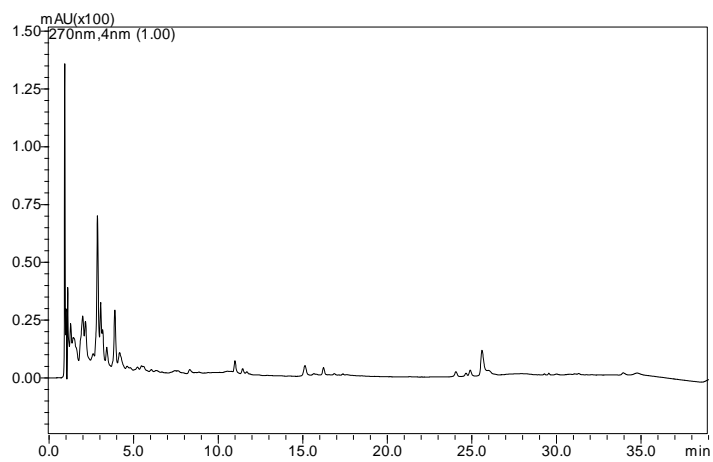


Metanol 70%

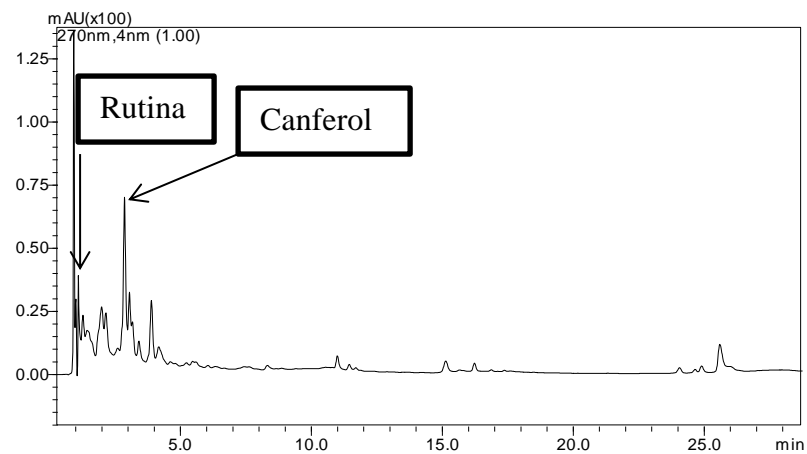
Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE T - IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES NO PÓ LIOFILIZADO EM ETANOL 70% E METANOL 70%**Etanol 70%****Metanol 70%**

Fonte: Próprio Autor.

APÊNDICE U - IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES EM SEMENTE UTILIZANDO ETANOL 70% E METANOL 70%

Etanol 70%



Metanol 70%

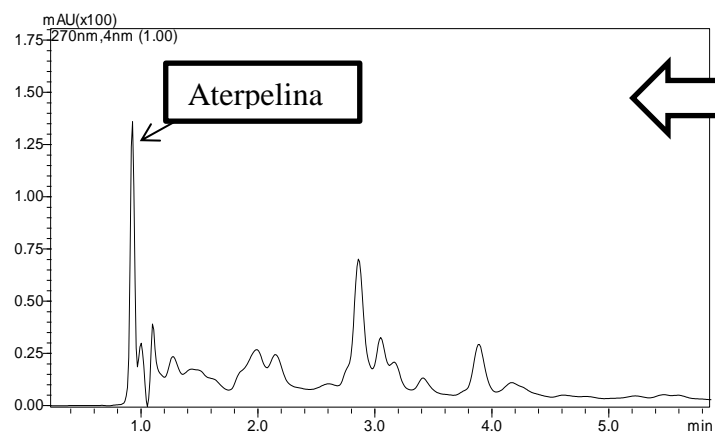


Imagem ampliada no início da corrida

Fonte: Próprio Autor.