



EXTRATOS TINTORIAIS DA MORINDA CITRIFOLIA (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

DYEING EXTRACTS FROM MORINDA CITRIFOLIA (NONI): EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL QUALITY AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY

EXTRACTOS TINTORANTES DE MORINDA CITRIFOLIA (NONI): EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL

Ariane de Sousa Mendes¹, Bruna Lorrany Carvalho de Castro², Luciana Pereira³, Aline Teixeira Amorim Braga⁴

e4124539

<https://doi.org/10.47820/recima21.v4i12.4539>

PUBLICADO: 12/2023

RESUMO

A *Morinda citrifolia* é uma pequena árvore da família *Rubiaceae* e seus frutos são conhecidos popularmente como noni. Ela agrega cerca de 200 substâncias fitoquímicas, tais como: flavonóides, cetonas, fenóis, glicosídeos, esteróis, taninos, entre outros. Essas propriedades bioativas crescem ao fruto da planta atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e que evitam o crescimento de células pré-cancerígenas. No mercado o fruto é comercializado *in natura* e também como forma de pó, óleos e extrato hidroalcoólico, também conhecido como extrato tintorial ou elixir. O presente trabalho analisou a qualidade microbiológica e a atividade antibacteriana de três elixires a base de noni comercializados em três casas de produtos naturais em uma cidade do Sudoeste baiano. Para isso, foi realizada a identificação de possíveis contaminantes nas amostras utilizando meios seletivos e diferenciais e provas bioquímicas. Entre aquelas em que não houve crescimento, foi realizado o antibiograma por disco difusão e a Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) por microdiluição contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Foi verificada a presença de *Lactobacillus sp.* em uma das amostras. Foi verificado que a concentração inibitória mínima dos elixires é maior do que 52,6 µL/mL. Conclui-se que são necessárias regulamentações acerca do controle de qualidade desses produtos, assim como aprimoramento nas informações contidas nos rótulos dos elixires.

PALAVRAS-CHAVE: *Morinda citrifolia*. Noni. Controle de qualidade. Atividade antibacteriana.

ABSTRACT

Morinda citrifolia is a small tree from the *Rubiaceae* family and its fruits are popularly known as noni. It brings together around 200 phytochemical substances, such as: flavonoids, ketones, phenols, glycosides, sterols, tannins, among others. These bioactive properties add antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, analgesic activity to the fruit of the plant and prevent the growth of pre-cancerous cells. On the market, the fruit is sold fresh and also as powder, oils and hydroalcoholic extract, also known as tinctorial extract or elixir. The present work analyzed the microbiological quality and antibacterial activity of three noni-based elixirs sold in three natural products stores in a city in southwestern Bahia. To this end, possible contaminants were identified in the samples using selective and differential media and biochemical tests. Among those in which there was no growth, an antibiogram was performed by disk diffusion and the Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) by microdilution against strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The presence of *Lactobacillus sp.* was verified in one of the samples. It was found that the minimum inhibitory concentration of elixirs is greater than 52.6 µL/mL. It is concluded that regulations regarding the quality control of these products are necessary, as well as improvements in the information contained on elixir labels.

KEYWORDS: *Morinda citrifolia*. Noni. Quality control. Antibacterial activity.

¹ Concluinte do curso de farmácia pela Faculdade Independente do Nordeste - FAINOR.

² Concluinte do curso de farmácia pela Faculdade Independente do Nordeste - FAINOR.

³ Técnica de laboratório na Faculdade Independente do Nordeste - FAINOR.

⁴ Docente da Faculdade Independente do Nordeste - FAINOR.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

RESUMEN

Morinda citrifolia es un pequeño árbol de la familia de las Rubiáceas y sus frutos se conocen popularmente como noni. Reúne alrededor de 200 sustancias fitoquímicas, tales como: flavonoides, cetonas, fenoles, glucósidos, esteroides, taninos, entre otros. Estas propiedades bioactivas añaden actividad antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria y analgésica al fruto de la planta y previenen el crecimiento de células precancerosas. En el mercado el fruto se vende fresco y también en polvo, aceites y extracto hidroalcohólico, también conocido como extracto tintorial o elixir. El presente trabajo analizó la calidad microbiológica y la actividad antibacteriana de tres elixires a base de noni vendidos en tres tiendas de productos naturales de una ciudad del suroeste de Bahía. Para ello se identificaron posibles contaminantes en las muestras mediante medios selectivos y diferenciales y pruebas bioquímicas. Entre aquellos en los que no hubo crecimiento se realizó antibiograma por difusión en disco y Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) y Concentración Mínima Bactericida (CBM) por microdilución contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Se verificó la presencia de *Lactobacillus* sp. en una de las muestras. Se encontró que la concentración mínima inhibitoria de los elixires es superior a 52,6 $\mu\text{L/mL}$. Se concluye que es necesaria normativa respecto al control de calidad de estos productos, así como mejoras en la información contenida en las etiquetas de los elixires.

PALABRAS CLAVE: *Morinda citrifolia*. Noni. Control de calidad. Actividad antibacteriana.

1. INTRODUÇÃO

A *Morinda citrifolia* é uma pequena árvore da família *Rubiaceae*, do sudeste asiático, a qual possui um fruto popularmente conhecido como “noni”. É uma planta que se desenvolve tanto em condições tropicais, quanto de seca, possui cor verde escura e quando madura, libera um forte odor de ácido butírico como cheiro de decomposição, a polpa é succulenta e amarga (Mororó, 2017). Segundo Manjula *et al.* (2016) o fruto possui compostos hidrofílicos como carboidratos, proteínas, minerais, vitaminas e pequena quantidade de gordura; possui ainda, cerca de 200 substâncias fitoquímicas com propriedades bioativas, tais como: flavonóides, cetonas, fenóis, glicosídeos, esteróis, taninos, entre outros.

A riqueza de compostos químicos e nutricionais da espécie pode induzir efeitos terapêuticos, como atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e propriedades que evitam o crescimento de células pré-cancerígenas (Silva *et al.*, 2022). Esses compostos são chamados de metabólitos secundários, que possuem diversas funções, tanto ecológicas, quanto protetoras, mas também no sentido de predizer o valor medicinal da espécie vegetal em questão (Arruda, 2019). Nesse sentido, na literatura possui alguns estudos que trazem descrições da presença de produtos secundários no noni, como na análise realizada por Lima (2013), que demonstrou a presença taninos, triterpenos, alcaloides e flavonóides ao analisar o extrato etanólico do noni, assim como, Lima (2015) que cita a escopoletina que possui associação a atividade bacteriana.

Apesar da literatura científica sobre essa espécie vegetal ser extensa, especialmente em relação aos possíveis efeitos farmacológicos e usos terapêuticos, a quantidade de publicações que avaliaram sua segurança é limitada, além de não possuir estudos toxicológicos pré-clínicos preconizados pela legislação brasileira. Assi *et al.* (2017) em seu estudo enfatizam a importância de pesquisas mais extensas em termos de identificação dos compostos ativos, o mecanismo de ação e segurança farmacológica do noni.

RECIMA21 - Ciências Exatas e da Terra, Sociais, da Saúde, Humanas e Engenharia/Tecnologia



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

Segundo Barbosa *et al.* (2017), não há descrição sobre o uso popular do noni por fontes seguras, embora, exista informações veiculadas em feiras livres sobre as propriedades curativas da planta, assim como, o seu comércio. Os produtos industriais dessa planta são comercializados livremente em casas de produtos naturais e podem ser encontrados em forma de extrato tintorial, ou também conhecidos como elixir, pós dos frutos secos ou das folhas e óleo extraído das sementes.

Não há indícios de regulamentação sanitária a cerca desses produtos. Ao procurar no site da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por “elixir”, “extratos tintoriais” ou “garrafadas” não são encontradas definições, além das buscas remetem a informes técnicos de produtos sem registro ou notificação. No estudo realizado por Passos *et al.* (2018), foi analisada a relação entre a legislação sanitária, disseminação e uso popular de garrafadas no Brasil. Por meio dessa análise, foi observada a falta de regulamentações que comprovem o uso, segurança e eficácia desses itens, uma vez que, não se enquadram na definição de medicamentos, fitoterápicos e tampouco de plantas medicinais, conforme concluem os autores.

Dentro do controle de qualidade dos produtos farmacêuticos, a avaliação microbiológica refere-se ao processo de analisar e testar a amostra para determinar a presença e a quantidade de microrganismos, como bactérias, fungos, vírus e outros microrganismos, em diferentes tipos de materiais ou ambientes (Safar, 2012). Seu principal objetivo é garantir segurança, qualidade e conformidade com regulamentações em produtos e ambientes que possam ser acometidos por microrganismos. Levando em consideração a lacuna na legislação sanitária, na falta de estudos que comprovem os benefícios dos elixires e de especificadores do controle de qualidade, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade de extratos tintoriais a base de *M. citrifolia* comercializados em casas de produtos naturais, assim como, sua atividade antimicrobiana com propósito de qualificar se cumpre as especificações rotuladas e também, identificar possíveis contaminantes.

2. MÉTODO

Trata-se de uma pesquisa experimental, de natureza quantitativa, baseada na avaliação da qualidade microbiológica e da atividade antibacteriana de extratos tintoriais a base de *Morinda citrifolia* (noni). Dessa maneira, foram adquiridas três amostras de marcas diferentes de extratos tintoriais do noni, essas foram enumeradas da seguinte forma: Amostra 1 – Vittanoni (Medical Ervas); Amostra 2 – Vita Noni (Naturale) e Amostra 3 – Noni + Uva. A coleta das amostras foi realizada em três casas de produtos naturais de uma cidade do Sudoeste baiano. A avaliação da qualidade microbiológica e da atividade antimicrobiana ocorreu em um laboratório de uma faculdade privada do mesmo município. Para isso, as amostras foram mantidas em suas embalagens originais e abertas de forma asséptica apenas durante os testes microbiológicos, a fim de evitar a contaminação externa do produto.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

2.1. Testes para avaliar a qualidade microbiológica

2.1.1. Identificação de contaminantes

O protocolo utilizado para a análise microbiológica foi baseado no Manual de Detecção de Bactérias de Importância Médica – Módulo V da ANVISA (2004). As amostras foram enumeradas e processadas separadamente. Para quantificar o crescimento bacteriano, foi utilizado o método de contagem padrão em placas. Inicialmente foram semeados 20 ml de cada amostra em meios de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI) e *água Sabouraud* para verificar a presença de contaminação bacteriana ou fúngica. O teste foi realizado em triplicata e as placas foram deixadas por 48 horas na estufa a 37°C. Com a ajuda do aparelho contador de colônias, as placas em triplicata foram observadas e realizadas a contagem. Após, conforme resultado obtido no teste anterior, cada amostra foi conduzida para testes que avaliaram a qualidade microbiológica e atividade antimicrobiana.

Em seguida, as bactérias foram semeadas em meios seletivos e diferenciais para confirmação da coloração, como o *ágar MacConkey* e *ágar Manitol*, depois em *ágar sangue* em condições de aerobiose e anaerobiose da espécie bacteriana para avaliar as condições de crescimento e também sua atividade hemolítica. Prosseguiu com o teste de catalase que determina o consumo do peróxido de hidrogênio pela atividade da enzima para a formação de água e oxigênio (Costa, 2020). Foi realizado também o teste de oxidase, que é útil para especificação e identificação de bactérias que usam o oxigênio como aceitador de elétrons final em respiração aeróbica (ANVISA, 2021). E, por fim, a prova de indol que verifica a presença de bactérias móveis, que quando semeadas em meio semi-sólido difundem-se no meio, turvando-o, e as imóveis crescem apenas no local da semeadura (ANVISA, 2013).

2.2. Avaliação da atividade antimicrobiana

2.2.1. Teste de sensibilidade - Antibiograma por disco difusão

Amostras dos elixires que não sucederam crescimentos microbianos foram direcionadas para realização da atividade antimicrobiana do extrato.

Os elixires de noni foram utilizados para verificar a atividade antimicrobiana *in vitro* sobre duas linhagens patogênicas do Banco de amostras de microrganismos da Faculdade Independente do Nordeste: uma de *Staphylococcus aureus* e uma *Escherichia coli*. Inicialmente os discos difusão estéreis foram impregnados com 100µL, 300uL e 600uL. Para favorecer a impregnação nos discos, pequenas quantidades das amostras foram inseridas nos discos e esperava-se a evaporação para nova inoculação, até que a quantidade proposta fosse finalizada. Isso resultou em discos com quantidades distintas de amostra (Tabela 1).



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

Tabela 1. Concentrações mg/mL utilizadas para impregnar os discos no teste de disco difusão

Quantidade	Amostra 01	Amostra 02
100 µL	40 mg	86,8 mg
300 µL	188 mg	280,8 mg
600 µL	569,1 mg	558,5 mg

Fonte: Autores

Em seguida, os discos foram adicionados em placas com *ágar Mueller Hinton* contendo inóculos dos microrganismos previamente preparados obedecendo à concentração de 0,5 da escala de *MacFarland*, equivalente a de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (Alencar *et al.*, 2020). As placas foram incubadas a 37°C por 24h e em seguida foi realizada a leitura.

2.2.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) – microdiluição

A determinação da concentração inibitória mínima dos extratos seguiu a metodologia da diluição em caldo (microdiluição), conforme as normas descritas por Diemer (2016).

Inicialmente, foi realizada a diluição seriada dos elixires na ordem de 1/2 para avaliação do CIM e CBM. Em seguida, a partir das linhagens bacterianas crescidas em *ágar Manitol*, foram preparadas as suspensões microbianas. Para isso, foi adicionada uma alçada do microrganismo a 10 mL de solução salina 0,8 % estéril até a obtenção de uma turbidez equivalente à escala nefelométrica de *McFarland* em 0,5, que é indicativo da presença de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Para isso, foi realizada a leitura da turbidez em espectrofotômetro 43 UV-VIS Genesys 10S UV-VIS, no comprimento de onda 625 nm com o propósito de garantir que o padrão produzido está de acordo com o descrito pela literatura (0,130-140) (Weinstein *et al.*, 2018).

Em seguida, foi preparada a solução de trabalho 1/1000 a partir do inóculo, realizando a transferência de alíquotas de 20 µL do inóculo padronizado a tubos de ensaio contendo 20 mL de caldo BHI. Alguns tubos permaneceram sem inóculo para o controle negativo. Realizou-se a transferência de 190 µL da solução de trabalho para placas de poliestireno com 96 poços. Foram aplicados 10 µL das diluições dos extratos, todos em quadruplicata. Também os controles negativos (meio de cultura sem adição de inóculo e meio de cultura com extrato) e controles positivos (meio com adição de inóculo sem os extratos). Após a inoculação, as placas foram incubadas a 37°C por 24h.

A confirmação de crescimento bacteriano é representada pela turvação do poço e a ausência de crescimento representada pelo poço límpido. O primeiro poço onde não se observa crescimento (de maior diluição) corresponde ao valor da concentração inibitória mínima (Diemer, 2016).

2.2.3. Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Na concentração em que não houve crescimento bacteriano visível e na primeira concentração com crescimento, em um poço de triplicata, foi colocado 30 µL de resazurina e deixado



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

agir por 15 a 30 minutos. A resazurina é um corante utilizado como indicador colorimétrico da viabilidade celular, ou seja, permite visualizar a presença de crescimento bacteriano mais facilmente (Alves *et al.*, 2008). Com a propriedade redox, na qual a forma oxidada tem a coloração azul e denomina-se célula não viável, já a forma reduzida tem a coloração rósea ou vermelha, designada como a célula viável (Madureira *et al.*, 2020).

Os outros poços foram semeados em meio Manitol ou meio EMB para avaliar o crescimento de *S. aureus* e *E. coli* e a sua quantificação, respectivamente. Para interpretação dos resultados considerou-se os seguintes critérios: o crescimento do microrganismo no meio de cultura significa ação bacteriostática; e a ausência de crescimento do microrganismo no meio de cultura significa ação bactericida (Diemer, 2016).

As fotos foram exportadas para o *software* ImageJ onde foi realizada a quantificação do número de colônias por cálculo de área da placa. Os dados obtidos foram transcritos para a plataforma *Excel* versão 2010 Microsoft ® e exportados para o *software* GraphPad Prism. Em seguida, foram realizadas análises inferenciais, utilizando o teste de Mann-Whitney unicaudal para comparação entre grupos, adotando um nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Identificação de contaminantes

Dentre as amostras que foram submetidas à avaliação da qualidade microbiológica, apenas o Noni + Uva (Medical Ervas) – amostra 03 apresentou crescimento bacteriano em ágar BHI, contabilizando 223 UFC/mL. Prosseguindo para a identificação da espécie, a bactéria foi caracterizada como gram-positiva, catalase variável e oxidase negativa, hemólise negativa e anaeróbia, pois teve maior crescimento na ausência de oxigênio. Além disso, não reduziu nitrato, não produziu Indol ou H₂S no meio SIM. Conforme os testes bioquímicos realizados, a bactéria encontrada foi sugestiva ao gênero *Lactobacillus spp.*

O gênero *Lactobacillus* é constituído por bactérias gram-positivas, não esporuladas, sem flagelos e produtoras de catalase, anaeróbios ou facultativos, sendo encontrados em plantas, tecidos animais, inclusive do homem (Zanini *et al.*, 2012). Esse gênero está inserido dentro do grupo das bactérias ácido lácticas (LAB), que são utilizadas na indústria alimentícia com o intuito de aumentar a vida de prateleira destes produtos, graças à produção de substâncias antimicrobianas e ao seu efeito competitivo, evitando que microrganismos deteriorantes ou patogênicos cresçam (Cypriano, 2013).

Segundo Campedelli *et al.*, (2018), as LAB têm sido amplamente utilizadas como probióticos e culturas iniciais devido à sua longa história de uso seguro, e muitas espécies têm *status* de presunção de segurança qualificada. Ademais, de acordo Altarugio (2016), os probióticos são microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefício à saúde do hospedeiro. Ainda, os *Lactobacillus spp.* são um dos principais gêneros representantes, sendo o lactato o principal resíduo produzido, com benefícios de redução das taxas de infecções, modulador da microbiota intestinal e prevenção de injúrias a mucosa por microrganismos patogênicos



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

e conseqüentemente, seu desequilíbrio. Dessa forma, embora a bactéria encontrada não seja patogênica e não demonstre potenciais riscos à saúde dos consumidores, é imprescindível que a legislação sanitária inclua qualificadores de produção para esse tipo de produto, assim como, fiscalizar as empresas e fabricantes.

A partir desses resultados, foi dado seguimento para avaliação da atividade antimicrobiana das amostras Vittanoni (Medical Ervas) – Amostra 01 e Vita Noni (Naturale) – Amostra 02.

3.2. Avaliação da atividade antimicrobiana

O antibiograma determina a sensibilidade de micro-organismos a um antimicrobiano. No mundo o antibiograma mais utilizado em rotinas laboratoriais é por disco difusão. É um teste prático, barato, de fácil execução e indicado para bactérias de rápido crescimento. Ele baseia-se na adição de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro na superfície do ágar onde o micro-organismo foi inoculado. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é utilizado para determinar o grau de sensibilidade. Esse método é qualitativo, permitindo classificar a amostra bacteriana em suscetível (S), intermediária (I) ou resistente (R) ao antimicrobiano (Leandro *et al.*, 2012).

Na determinação da sensibilidade das duas linhagens bacterianas frente ao extrato de noni pelo teste do antibiograma por disco difusão, verificou-se que as 2 amostras testadas não apresentaram capacidade de causar inibição do crescimento bacteriano com as concentrações utilizadas frente às bactérias *S. aureus* e *E. coli* (figura 1).

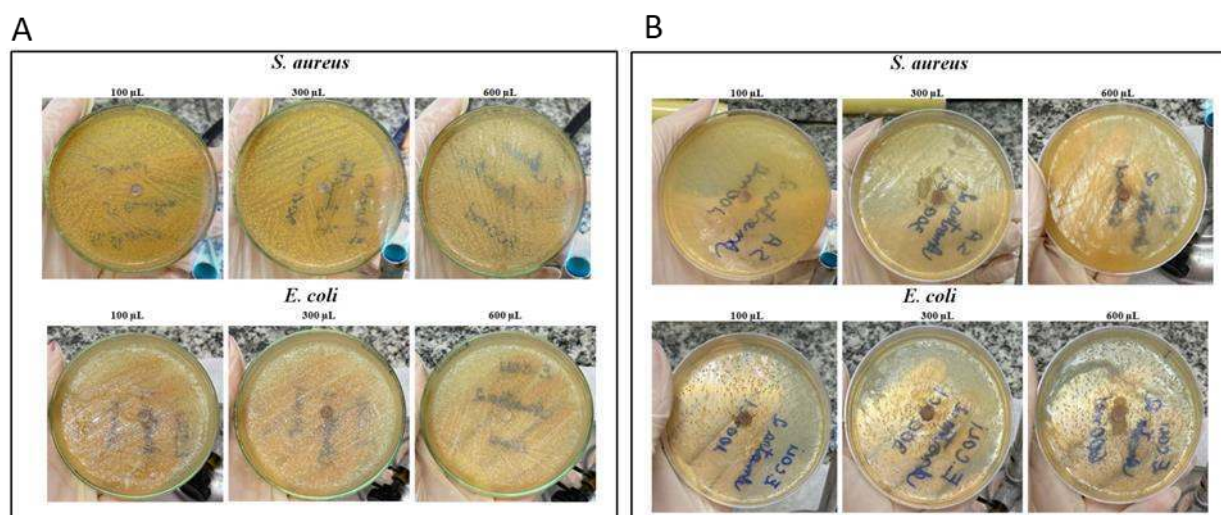


Figura 1: Avaliação da atividade antimicrobiana - teste por disco difusão. Legenda: A – Vittanoni (Medical Ervas) – Amostra 01; B - Vita Noni (Naturale) – Amostra 02



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

3.3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) - microdiluição

Com a finalidade de confirmar o resultado anterior, realizamos outro ensaio com o intuito de observar a influência de diferentes concentrações dos extratos no crescimento bacteriano. A Tabela 2 representa os resultados obtidos do teste CIM sobre as linhagens *S. aureus* e *E. coli* frente aos elixires. Foi observado crescimento dos microrganismos em todos os poços, inclusive nos poços onde foram aplicados os extratos puros, inviabilizando a realização do teste com a resazurina.

Tabela 2: Resultado do CIM para *S. aureus* e *E. coli* frente aos extratos Vittanoni (Medical Ervas) – Amostra 01 e Vita Noni (Naturale) – Amostra 2

	Vittanoni (Medical Ervas) – Amostra 01								Vita Noni (Naturale) – Amostra 2							
	<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>				<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
52,6µL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26,3µL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13,2µL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6,6µL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3,3µL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1,6µL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,8µL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BHI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C extrato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: + presença de crescimento microbiológico; - ausência de crescimento microbiológico

Como houve crescimento em todos os poços, foi necessário avaliar a diferença no crescimento total das bactérias nos poços com extrato puro frente aos poços com extrato com a diluição de 50%. Assim, foram semeados 10 µL de cada poço em meio Manitol para *S. aureus* e EMB para *E. coli*. Após análise dos dados, verificou-se que *S. aureus* exposto ao Extrato 2 puro (Vita Noni da Naturale) apresentou crescimento menor quando comparado a amostra diluída, e *E. coli* expostas ao Extrato 1 puro (Vittanoni da Medical Ervas) apresentou menor crescimento quando comparado a amostra diluída (Figura 2). Assim, é possível verificar que a concentração inibitória mínima dos elixires é maior do que 52,6 µL/mL.

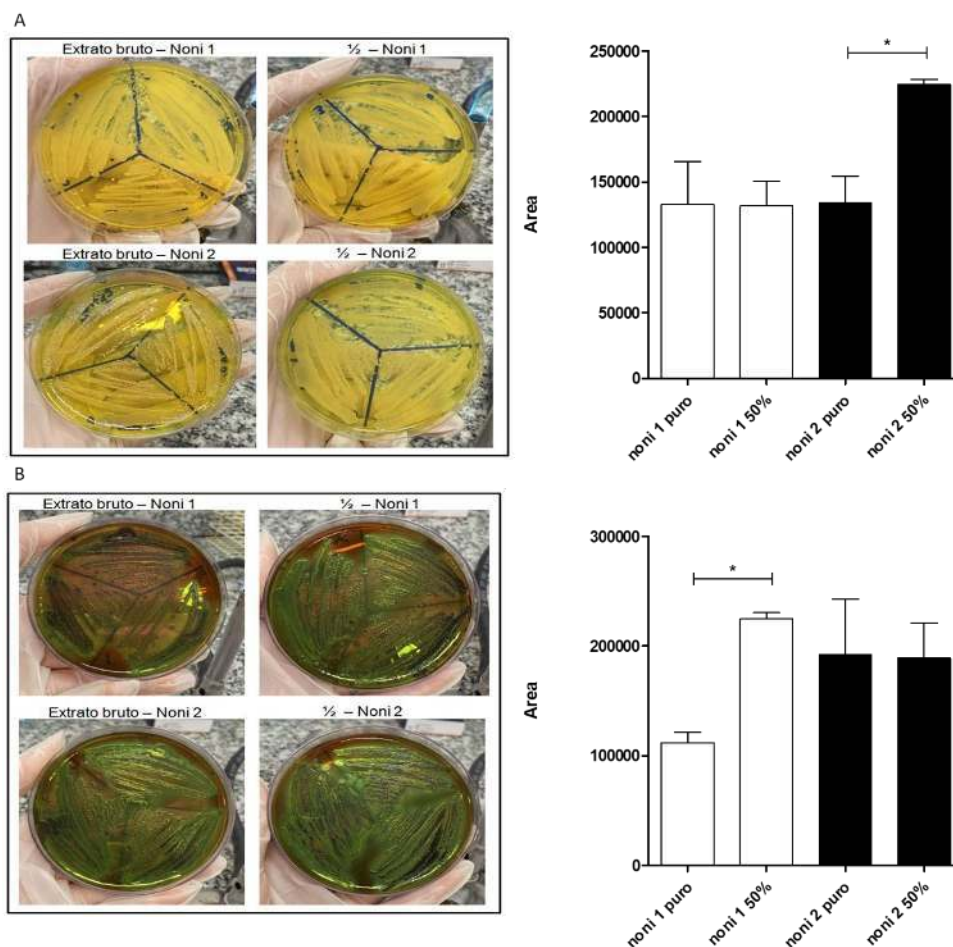


Figura 2: Avaliação da atividade antimicrobiana - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) - microdiluição. Legenda: A – Crescimento de *S. aureus* frente aos extratos puros e diluídos de Vitanoni (Medical Ervas) – Amostra 01 e Vita Noni (Naturale) – Amostra 02. B – Crescimento de *E. coli* frente aos extratos puros e diluídos de Vitanoni (Medical Ervas) – Amostra 01 e Vita Noni (Naturale) – Amostra 02. Os asteriscos representam a presença de diferença estatisticamente significativa – Teste de Mann Whitney unicaudal.

Nesse sentido, pode-se considerar que os elixires de noni puros – Amostras 1 e 2 possuem pequena inibição *in vitro* sobre as bactérias testadas. Fica claro que a concentração essencial para a completa inibição necessita ser superior a apresentada nos elixires encontrados comercialmente.

Dentre os estudos encontrados sobre a atividade antibacteriana da *M. citrifolia*, não há indício de análises realizadas com elixires produzidos com a espécie vegetal, existem apenas estudos que analisam a atividade antibacteriana das raízes, frutos, cascas ou sementes da planta, com isso, não foram encontrados dados na literatura para comparar os valores encontrados no presente estudo. A exemplo, o estudo realizado por Lima (2015), que ao analisar a atividade antibacteriana com as partes citadas anteriormente da *M. citrifolia*, obteve como resultado a inibição apenas de *S. aureus* pelo extrato das raízes e nenhuma inibição para *E. coli*. Ainda, na realização do MIC, não foi possível obter resultados concretos devido à turvação e intensidade da cor proporcionada pelos extratos.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

Ademais, no experimento realizado por Bittencourt *et al.* (2022), ao estimar a atividade antibacteriana no extrato etanólico da polpa/fruto do noni frente às duas bactérias trabalhadas no presente trabalho, observou-se apenas ligeira sensibilidade frente à cepa de *E. coli*. Resultado discordante ao de Candida *et al.* (2014), que ao avaliar o mesmo extrato, observou que *S. aureus* foi menos resistente em comparação a *E. coli*, e os valores de CIM na inibição dos microrganismos foram 1 mg/mL e 10 mg/mL, respectivamente.

A atividade antioxidante também tem sido investigada em vários estudos, como por exemplo, Zin *et al.* (2002) que analisaram as raízes, folhas e frutos de noni, como também, Costa (2013) que examinou a polpa, casca e sementes. Ambos os estudos obtiveram resultados favoráveis para ação antioxidante da planta. Além disso, outra linha de estudo encontrada foi a de Wang e Su (2001) que identificaram mecanismos preventivos de formação tumoral no suco cítrico do noni. Resultado semelhante ao encontrado por Kamiya, *et al.* (2010) que isolaram antraquinonas das raízes do noni que demonstraram potencial anticancerígeno.

Como foi visto no presente estudo, concentrações maiores dos elixires são necessários para causar inibição do crescimento dos microrganismos. Entretanto, deve-se considerar a toxicidade do produto. Em relação à toxicidade, segundo o estudo de Arruda (2019) a *M. citrifolia* não apresentou citotoxicidade e toxicidade nas linhagens celulares e espécies animais respectivamente testados. Enquanto isso, Andrada *et al.* (2007) descreveram um caso de paciente que foi internada com hepatotoxicidade grave e que teve essa evolução relacionada ao uso de noni por vários dias, além disso, os autores atribuem essa condição as antraquinonas que foram isoladas no suco *de Noni*, que é conhecida como substância hepatotóxica.

Diferentes estudos relataram efeitos tóxicos do noni devido à presença em suas raízes de antraquinonas, substância com efeitos antibacterianos, fúngicos e virais, sendo metabolizada no fígado e a ingestão excessiva pode causar danos hepáticos. Dadas as limitações encontradas no campo científico devido à falta de pesquisas e evidências sobre o assunto, autoridades e profissionais de saúde afirmam que o fruto noni deve ser evitado, pois ainda não se sabe os efeitos tóxicos ou benéficos para os seres humanos (Bezerra, 2022).

Algumas publicações técnicas do noni tiveram muitas controversas em relação à sua segurança. Também existe uma notável falta de pesquisas que avaliem os efeitos do noni nos países onde é consumido. As evidências técnicas consideradas até o momento não apresentaram uma segurança. Para então preservar a saúde da população no geral, a ANVISA (2007) determinou que os produtos que contenham a fruta não devem ser comercializados como alimentos no Brasil, a menos que atendam aos requisitos legais que exijam comprovação de sua segurança para uso.

Não obstante, os rótulos dos elixires adquiridos trazem informações que os produtos possuem compostos curativos, antibacterianos e outros atributos, porém não informam como é produzido e os de mais componentes da fórmula. A posologia instituída é de uma colher de sopa três vezes ao dia e contra-indica a utilização por grávidas, lactantes, diabéticos e crianças. Por fim, nas



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

embalagens dos produtos existe ainda a advertência de ser um produto que dispensa registro conforme a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 23 de 2000 e nº 240 de 2018.

As RDCs são regulamentos técnicos da ANVISA que determinam padrões de qualidade para produtos e serviços sob regulamentação da agência. Na RDC nº 240/18 se demonstra a obrigatoriedade de registro sanitário para alimentos com alegações de propriedade funcional e ou de saúde, o que inclui os elixires testados, pois alegam a existência de compostos curativos. Entretanto, pela mesma regulamentação não há obrigatoriedade para suplementos alimentares. Dessa forma, é necessário que haja um controle maior de compostos como este, pois não possuem outros regulamentos para comprovar qualidade, segurança e eficácia sobre sua composição.

4. CONSIDERAÇÕES

Com a realização do presente trabalho, pode-se concluir que os elixires a base de *Morinda citrifolia* testados demonstraram pouca atividade antibacteriana frente às cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* nas concentrações utilizadas.

Além disso, foi observada a presença de um contaminante em uma das amostras analisadas, que conforme os testes de identificação realizados, foi sugestivo a bactéria do gênero *Lactobacillus spp.*

Conclui-se também, que mais estudos devem ser realizados para comprovar a ação biológica do noni, seja por extrações manuais, extratos tintoriais e com as variadas partes da planta. É necessária uma atualização por meio das autoridades sanitárias na legislação sobre produtos isentos de registros, assim como, na divulgação, controle de qualidade e rotulagem desse tipo de produto.

Por fim, mais ensaios podem ser realizados a partir dos resultados deste trabalho, contribuindo com a metodologia utilizada ou para fins de comparação com outros estudos.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, D. *et al.* Análise Fitoquímica e Atividade Antibacteriana de Extratos da Casca Dos Frutos De *Hymenaea Courbaril* L Sobre *Staphylococcus Aureus*. **Atena**, v. 3, p. 10-123, 2020. Disponível em: <https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/post/analise-fitoquimica-e-atividade-antibacteriana-de-extratos-da-casca-dos-frutos-de-hymenaea-courbaril-l-sobre-staphylococcus-aureus>.

ALTARUGIO, R. **Seleção e Caracterização Probiótica In Vitro de *Lactobacillus spp.*** Isolados de Perus. Com Potencial de Inibição de *Salmonella heidelberg*. Botucatu, SP: Departamento de Clínica Veterinária, Laboratório de Ornitopatologia e Clínica Veterinária UNESP Botucatu-SP, set. 2016. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/b08e6218-90bf-4464-925c-b81519931e99/content>.

ALVES, E. *et al.* Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**, v.31, n. 5, p.1224-1229, 2008. Disponível em: Disponível em: <https://tede.ufrj.br/jspui/bitstream/jspui/3362/2/2013%20%20Victor%20Hugo%20do%20Nascimento%20Cypriano.pdf>.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

ANDRADA, J. *et al.* Hepatotoxicidad grave asociada al consumo de Noni (*Morinda citrifolia*). **Española de Enfermedades Digestivas**. v. 99, n.3, mar. 2007. Disponível em:

https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082007000300017

ARRUDA, M. Avaliação Fitoquímica e Hepatotóxica do Extrato Etanólico dos Frutos De *Morinda Citrifolia* Linn. Em Modelos Experimentais.2019. Monografia (Especialização) - Universidade Federal de Pernambuco Centro de Biociências Departamento de Histologia e Embriologia Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia. Recife, 2019. Disponível em:

https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/37932?locale=pt_BR

ASSI, R. *et al.* *Morinda citrifolia* (Noni): uma revisão abrangente sobre seus usos industriais, atividades farmacológicas e ensaios clínicos. **Jornal Árabe de Química**, King Saud University, v 10, p. 691–707, 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535215001902>. Acesso em: 10 out. 2023

BARBOSA, A. *et.al.* *Morinda citrifolia*: fatos e riscos sobre o uso do noni. **Fitos**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 02, p.189-2015, 2017. Disponível em:

https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/24856/andrea_freire_et_all.pdf;jsessionid=C1FD3BFDD039F156FEDF1DBB69245345?sequence=2.

BEZERRA, M. *et al.* **Revisão sobre aspectos toxicológicos da morinda citrifolia (NONI).**

Conbracis. Carururu-PE: Centro Universitário UNIFAVIP, 2022. Disponível em

[:https://www.editorarealize.com.br/editora/anais/conbracis/2018/TRABALHO_EV108_MD4_SA3_ID14_22_21052018235442.pdf](https://www.editorarealize.com.br/editora/anais/conbracis/2018/TRABALHO_EV108_MD4_SA3_ID14_22_21052018235442.pdf).

BITTENCOURT, A. *et al.* Atividade antibacteriana in vitro de extratos da casca, folha e polpa de *Morinda citrifolia* L. (Noni) sobre *Escheria coli* e *Sthaphylococcus aureus*. **Society and Development**. v. 11, n. 6, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/28879>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. **Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final**. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013. v. 9. p. 8-95. Disponível em:

https://www.saude.gov.br/images/imagens_migradas/upload/arquivos/2017-02/modulo-4---procedimentos-laboratoriais---da-requisicao-do-exame-a-analise-microbiologica-e-laudo-final.pdf.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada a Assistência à Saúde. **Modulo 5: Detecção e identificação de Bactérias de Importância médica**. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004. p.8-95. Disponível em:

https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 240, DE 26 DE JULHO DE 2018, que dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 de junho. 2018. Disponível em

https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2018/rdc0240_26_07_2018.pdf.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 23, DE 15 DE MARÇO DE 2000. Dispõe sobre O Manual de Procedimentos Básicos para Registro e Dispensa da Obrigatoriedade de Registro de Produtos Pertinentes à Área de Alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 de março. 2000. Disponível em:

https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0023_15_03_2000.html.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Esclarecimentos sobre as avaliações de segurança realizadas de produtos contendo *Morinda citrifolia*, também



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

conhecida como noni. **Informe Técnico n. 25**, de maio. Brasília, DF, 2007. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/informes/copy_of_25de2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Família de Meios de Cultura e Suplemento Diferenciais Destinados a Identificação de Microrganismos Por Meio De Teste Bioquímicos - Laborclin, v.17, p. 03, 2021. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2023/03/170145.pdf>.

CAMPEDELLI, I. *et al.* Avaliação de todo o gênero da resistência aos antibióticos em *Lactobacillus* spp. **Asm Journals**, dez. 2018. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.01738-18>.

CANDIDA, T. *et al.* Evaluation of antitumoral and antimicrobial activity of *Morindacitrifolia* L. grown in Southeast Brazil. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 29, n. 2, p.10-14, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/acb/a/7Fp7Qb5KGhQGZ9scdGFVYgK/?lang=en>.

COSTA, A. *et al.* Atividade antioxidante in vitro e antifúngica do noni (*Morinda citrifolia* L.). **Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 2, p. 345-354, jun. 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/3fjksx85FJ7snRzWWvLJmhb/?format=pdf&lang=pt>

COSTA, R. **Determinação da Atividade Enzimática da Catalase e Tironase por Eletroforese capilar com detecção UV/VIS e Espectrometria de Massas**. 2020. TCC (Graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Departamento de Química, Florianópolis, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/219160/TCC.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

CYPRIANO, V. **Propriedades Probióticas De *Lactobacillus* spp. De Origem Humana E Interação Com Leveduras Potencialmente Patogênicas Do Gênero *Candida***. 2013. Monografia (Especialização) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Instituto De Tecnologia Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Tecnologia De Alimentos (UFRRJ). Seropédica, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <https://tede.ufrrj.br/jspui/bitstream/jspui/3362/2/2013%20-%20Victor%20Hugo%20do%20Nascimento%20Cypriano.pdf>.

DIEMER, A. Ação Antimicrobiana de *Rosmarinus Officinalis* e *Zingiber Officinale* Frente a *Escherichia Colie* *Staphylococcus Aureusem* Carne Mecanicamente Separada de Frango. 2016. Dissertação (Mestrado) - apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2016. Disponível em: <https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/1075/6/2016AndreaWolfDiemer.pdf.txt>.

KAMIYA, K. *et al.* Inhibitory effect of anthraquinones isolated from the noni (*Morindacitrifolia*) root on animal A-, B- and Y-families of DNA polymerases and human cancer cell proliferation. **Food Chemistry**, v. 118, p. 725-730, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/223763562_Inhibitory_effect_of_anthraquinones_isolated_from_the_Noni_Morinda_citrifolia_root_on_animal_A_B_and_Yfamilies_of_DNA_polymerases_and_hu_man_cancer_cell_proliferation

LEANDRO, B. *et al.* **Resistência Bacteriana e a Importância do Antibiograma nessa Problemática**. UFC, Juazeiro do Norte-CE, p. 01-04, dezembro, 2012. Disponível em: <https://conferencias.ufca.edu.br/index.php/encontros-universitarios/eu-2012/paper/view/885/472>.

LIMA, C. *et al.* Identificação de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico dos frutos verdes e maduros de *Morinda Citrifolia*. **Saúde e Pesquisa**. v. 6, p. 439-446, 2013. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/2945/2155>.

LIMA, J. **Bioatividade de *Morinda citrifolia* L. (noni) na inibição de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus***. 2015. Dissertação (Mestrado em saúde humana e meio ambiente) -



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

EXTRATOS TINTORIAIS DA *MORINDA CITRIFOLIA* (NONI): AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Ariane de Sousa Mendes, Bruna Lorrany Carvalho de Castro, Luciana Pereira, Aline Teixeira Amorim Braga

Universidade Federal de Pernambuco Centro Acadêmico de Vitória, Recife, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/17126>.

MADUREIRA, M. *et al.* Análise das propriedades mecânicas e biológicas do cimento ósseo de fosfato de cálcio bifásico nanoestruturado de cura rápida. **Matéria**, v. 25, n. 4, p. 13, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/rmat/a/D95sTRvsXMVCbqh5cZQTJjf/?lang=pt>.

MANJULA, N. *et al.* Benefícios para a saúde da Morinda citrifolia (Noni): uma revisão. **Pharmacogn. j.**, v. 8, p. 321-334, 2016. Disponível em: <http://mail.phcogj.com/article/173>.

MENEZES, S. **Avaliação da Eficácia Antimicrobiana do Extrato Hidro alcoólico dos Frutos de Punica granatum L. (Romã) na Placa Bacteriana.** 2004. Dissertação (Mestrado em farmacologia clínica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/2633>.

MORORÓ, A. *et al.* Morindacitrifolia (noni): uma revisão dos seus efeitos biológicos. **Revinter**, v. 10, n. 02, p. 46-61, jun. 2017. Disponível em: <https://autores.revistarevinter.com.br/index.php?journal=toxicologia&page=article&op=view&path%5B%5D=268>

PASSOS, M. *et al.* A disseminação cultural das garrafadas no Brasil: um paralelo entre medicina popular e legislação sanitária. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 116, p. 248–262, jan. 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/sdeb/a/frsCzjwQK7VZwpSC9dCMtqg/abstract/?lang=pt>.

SAFAR, L. **Controle de Qualidade Microbiológico de Produtos Farmacêuticos não Estéreis.** 2012. Monografia (curso de especialização em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de ciências biológicas, Departamento de microbiologia, Belo Horizonte, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUOS-9ATJ8V>.

SELVAM, P. *et al.* Antimicrobial Activity of Fruit Extracts of Morindacitrifolia. **Journal of Applied Chemical Research**, v. 10, p. 61-63, 2009. Disponível em: https://www.sid.ir/en/VEWSSID/J_pdf/1010820090207.pdf

SILVA, L. *et al.* Características bioquímicas Dos Frutos De Noni -Uma Breve Revisão. **Scientific Electronic Archives**, v.15, p. 02-06, 2022. Disponível em: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1629>.

WEINSTEIN, M. *et al.* Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. **Clinical Laboratory Standanos Institutem**, v. 32, n. 2, jan. 2003. Disponível em: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1130011296573796871>.

ZANINI, S. *et al.* Identificação bioquímica e molecular de Lactobacillus spp. isolados do íleo de frangos de corte tratados ou não com antimicrobianos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 9, p.1648, set. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/WX747YRm4ffcpVLgRRRG6CL/abstract/?lang=pt>

ZIN, Z.; ABDUL-HAMID, A.; OSMAN, A. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morindacitrifolia* L.) root, fruit and leaf. **Food Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 227-231, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814601004022>