

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DE NONI EM DILUENTE PARA CONGELAÇÃO DE SÊMEN OVINO¹

ANNA LAUREN COSTA NASCIMENTO^{2*}, ANSELMO DOMINGOS FERREIRA SANTOS², HYMERSON COSTA AZEVEDO³, CLÉSIO LIMA ANDRADE⁴, VERONALDO SOUZA DE OLIVEIRA²

¹Recebido para publicação em 27/11/2015. Aceito para publicação em 21/03/2016.

²Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Zootecnia, São Cristóvão, SE, Brasil.

³Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, Brasil.

⁴Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Medicina Veterinária, São Cristóvão, SE, Brasil.

*Autor correspondente: annalauren.zootecnia@gmail.com

RESUMO: O noni (*Morinda citrifolia* L.) é um fruto consumido no mundo por apresentar propriedades nutricionais e terapêuticas devido a grande quantidade de compostos fenólicos, o que desperta o interesse da comunidade científica. Com o intuito de buscar novas fontes naturais de antioxidantes objetivou-se avaliar o desempenho do noni em diluente para congelação de sêmen ovino. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições por tratamento. Os tratamentos diferiram quanto à concentração do extrato aquoso do noni adicionado ao meio diluidor: controle, sem adição do extrato; e com três concentrações 24 µg/mL; 72 µg/mL; 120 µg/mL. Foram avaliadas as variáveis físicas e químicas do fruto maduro para acidez total (8,78), pH (4,12) e sólidos solúveis (8,18%). Para vitamina C, foi obtido 309,42 mg em 100 g de matéria fresca. O extrato aquoso do noni também foi avaliado quanto à quantificação de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e capacidade de inibição da peroxidação lipídica. O extrato aquoso do noni apresentou moderada quantidade de compostos fitoquímicos do tipo fenólicos de 47,96 ± 1,95 mg Eq. ácido gálico/100 g do extrato. A concentração de 72 e 120 µg/mL do extrato aquoso do noni inibiu a lipoperoxidação no meio diluidor para congelação de sêmen na ordem de 21,75% e 51,32%, respectivamente, e a menor concentração (24 µg/mL) não apresentou efeito positivo. O índice de atividade antioxidante do noni foi de 33,33, o que representa atividade antioxidante muito forte. O extrato aquoso do noni apresenta capacidade antioxidante muito forte e quando incluso ao meio diluidor para criopreservação de sêmen é capaz de inibir a lipoperoxidação a partir da concentração de 72 µg/mL.

Palavras-chave: ácido ascórbico, compostos fenólicos, congelação, fruto, meio diluidor, ovino.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF NONI IN DILUTENT FOR RAM SEMEN CRYOPRESERVATION

ABSTRACT: Noni (*Morinda citrifolia* L.) is a fruit consumed worldwide because of its nutritional and therapeutic properties resulting from the large amount of phenolic compounds, which has aroused interest of the scientific community. In order to identify new natural sources of antioxidants, the objective of this study was to evaluate the performance of noni in diluent for ram semen cryopreservation. A completely randomized design consisting of four treatments and three repetitions per treatment was used. The treatments differed in terms of the concentration of the aqueous extract of noni added to the diluent: control, no addition of the extract, and three concentrations (24, 72, and 120 µg/mL). The physical and chemical variables of the mature fruit were evaluated: total acidity (8.78), pH (4.12), and soluble solids (8.18%). The vitamin C content was 309.42 mg per 100 g fresh matter. The aqueous extract of noni was also evaluated regarding the quantity of total phenolic compounds, antioxidant activity, and lipid peroxidation inhibition

capacity. The aqueous extract contained a moderate amount of phenolic compounds (47.96 ± 1.95 mg gallic acid equivalent/100 g extract). The concentrations of the aqueous extract of 72 and 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in diluent used for semen cryopreservation inhibited lipid peroxidation by 21.75% and 51.32%, respectively. There was no positive effect of the lowest concentration (24 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The antioxidant activity index of noni was 33.33, corresponding to very strong antioxidant activity. The aqueous extract of noni exhibits very strong antioxidant activity and its addition to the diluent for semen cryopreservation at a concentration of 72 $\mu\text{g}/\text{mL}$ is able to inhibit lipid peroxidation.

Keywords: ascorbic acid, phenolic compounds, freezing, fruit, diluent, sheep.

INTRODUÇÃO

A composição do meio diluidor utilizado para congelamento de sêmen é de fundamental importância, uma vez que a diluição diminui a concentração de antioxidantes, o que promove uma instabilidade entre antioxidantes e oxidantes gerando um estresse celular (BILODEAU *et al.*, 2000). Um meio diluidor com concentrações adequadas de substâncias que atuem como antioxidantes pode promover uma menor ação de espécies reativas ao oxigênio (ROS), pois estas substâncias seriam responsáveis por controlar estes radicais gerados pelo metabolismo das células (GUERRA *et al.*, 2012).

A utilização de antioxidantes exógenos no diluente de sêmen tem determinado resultados favoráveis, como a redução da concentração de malonaldeído (MDA) nas amostras seminais em decorrência da redução da peroxidação lipídica, havendo menor incidência de danos espermáticos e melhor proteção dos espermatozoides durante o processo de criopreservação (SARLÓS *et al.*, 2002). Nesse contexto, o noni, um fruto nativo da Ásia cujo consumo se dá há mais de 2000 anos, tem sido associado a benefícios na saúde por sua conhecida capacidade antioxidante. Este potencial antioxidante se dá pela grande quantidade de vitamina C e pela presença de compostos fenólicos, e possivelmente devido à presença da proxeronina, um dos principais componentes deste fruto, que é capaz de ativar as enzimas catalisadoras do metabolismo celular (SILVA *et al.*, 2012). Quando inclusos em meios para congelamento de sêmen, podem minimizar ou reverter os efeitos danosos causados pela ação das espécies reativas ao oxigênio no espermatozoide (MAIA, 2006).

Assim, devido à presença de substâncias antioxidantes presentes no fruto do noni, tem-se como objetivo caracterizar os aspectos físicos e químicos do noni e avaliar a ação antioxidante do mesmo por meio da inclusão de diferentes

concentrações do extrato aquoso do fruto em diluente para congelamento de sêmen ovino.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, localizada a $11^{\circ}01'$ de latitude sul e $37^{\circ}12'$ de longitude oeste, com início em setembro e término em dezembro de 2014.

Elaboração do extrato aquoso de noni

Frutos maduros do noni (*Morinda citrifolia*) na cor amarela esbranquiçada foram colhidos de plantas com aproximadamente 12 anos de idade cultivadas em solo classificado como argissolo vermelho-amarelo distrófico, com precipitação mensal de 126,1 mm e temperatura média de 28°C .

Para a obtenção do extrato a ser adicionado ao meio diluidor de sêmen ovino, foi seguida metodologia adaptada de KUTVOELGYI (2008). O fruto maduro do noni foi descascado, despolpado e retiradas as sementes. Em seguida, passado por uma peneira de 400 micras e centrifugado a 600 G (Kacil, modelo CE01-B1) durante 6 minutos. Após a centrifugação, foi retirado o sobrenadante desprovido de sedimento filamentosos, filtrando-o em copo coletor com filtro de 75 micras.

Após obtenção do extrato aquoso do noni foi elaborado o meio diluidor a base de tris-gema-glicerol (ROBERTS, 1986) e seus respectivos tratamentos. Os tratamentos diferiram quanto à concentração do extrato aquoso do noni adicionado ao meio diluidor: controle, sem adição do extrato; e com três concentrações 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 72 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Quantificação de compostos fenólicos

A quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos do produto da filtragem

(extrato aquoso) do noni foi realizada através do método de Folin-Ciocalteu (SOUSA *et al.*, 2007).

O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da média de absorbância de três leituras de cada amostra, utilizando um espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22), contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (5 a 100 g/mL, Vetec, código - 444) e expresso em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato. A equação da curva de calibração do ácido gálico foi $C = (A - 0,0278)/0,0018$, em que C é a concentração do ácido gálico, A é a absorbância a 750 nm e o coeficiente de correlação $R = 0,9773$ (SOUSA *et al.*, 2007).

Para avaliar a atividade antioxidante do extrato aquoso do noni, foi realizado o teste de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) segundo metodologia descrita por SOLER-RIVAS *et al.* (2000) e ARGOLÓ *et al.* (2004). Para tanto, uma alíquota de 50 mL de solução estoque de DPPH em metanol na concentração de 40 g/mL foi preparada e mantida sob refrigeração e protegida da luz. Em seguida, diluições para dar as concentrações finais de 30, 25, 20, 15, 10, 5 g/mL da solução estoque de DPPH foram preparadas. A curva de calibração foi construída a partir dos valores da absorbância a 515 nm de todas as soluções medidas em cubetas de vidro com percurso óptico de 1 cm, tendo como controle o metanol.

As medidas de absorbância foram efetuadas em triplicata e nos tempos de 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min. Igualmente, soluções do extrato de noni (1 mg/mL), bem como do controle positivo (ácido gálico) em metanol, foram diluídas para dar concentrações finais de 30, 25, 20, 15, 10 e 5 g/mL. As medidas das absorbâncias das misturas reacionais (0,3 mL da amostra ou do controle positivo e 2,7 mL de DPPH) foram realizadas a 515 nm nos mesmos tempos da curva de calibração do DPPH. Misturas de metanol (2,7 mL) e solução metanólica do extrato (0,3 mL) foram utilizadas como controle. A partir da equação da curva de calibração e dos valores de absorbância para cada concentração testada, foram determinados os percentuais de DPPH remanescentes (%DPPH REM), conforme a equação: $\%DPPH \cdot REM = [DPPH \cdot]T = t \div [DPPH \cdot]T = 0 \times 100$, em que, $[DPPH \cdot]T = t$ corresponde à concentração de DPPH• no meio, após a reação com o extrato e $[DPPH \cdot]T = 0$ é a concentração inicial de DPPH•.

Os valores de absorbância em todas as concentrações testadas foram convertidos em porcentagem de inibição (PI). A concentração

eficiente, quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH, em 50% (CE50), foi determinada usando o programa computacional Microcal Origin 7.5, a partir de uma curva exponencial de primeira ordem, obtida plotando nos eixos das abscissas as concentrações da amostra (g/mL) ou do controle positivo e no eixo das ordenadas, a porcentagem de DPPH remanescente (% DPPH REM).

A atividade antioxidante foi determinada pelo índice de atividade antioxidante (IAA) conforme SCHERER *et al.* (2009) e calculada por meio da seguinte equação: $IAA = DPPH (\mu\text{g/mL}) \div CE50 (\mu\text{g/mL})$. A atividade antioxidante será considerada insatisfatória quando o valor do IAA for inferior a 0,5; moderada entre 0,5 e 1,0; forte entre 1,0 e 2,0 e muito forte quando o valor do IAA for superior a 2,0.

Quantificação da lipoperoxidação

A capacidade do extrato para inibir a lipoperoxidação foi determinada com o monitoramento da produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) em meio rico em lipídio, conforme protocolo descrito por SILVA *et al.* (2007). Para a quantificação de TBARs foi seguido o protocolo adaptado de LAPENNA *et al.* (2001). Em síntese, 1,0 mL de homogenato de gema de ovo (1% m/v) em tampão fosfato 20 mM (pH 7,4), foi sonificado (10 s na potência 4) e, em seguida, homogeneizado com 0,1 mL do extrato em concentrações 10, 50, 100, 150 e 200 g/mL preparadas imediatamente antes do experimento. A peroxidação lipídica foi induzida pela adição de 0,1 mL de solução de FeSO_4 (0,17 M, Vetec, código - 119). O Trolox (100 g/mL) foi usado como moléculas antioxidantes de referência (controle positivo) e o controle negativo com amostras contendo apenas extrato e veículo (água ou metanol). As reações foram realizadas por 30 min a 37°C. Após o resfriamento, as amostras (0,5 mL) foram centrifugadas (Kacil, modelo CE01-B1) com 0,5 mL de ácido tricloroacético (15%, Dinâmica, código - 2203) a 1200 G por 10 min. Uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante foi misturada com 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) (0,67%, Sigma, código - T5500) e aquecida a 95°C por 60 min. Foi utilizado o hidroxitolueno butilado (BHT) para prevenir a peroxidação lipídica durante o aquecimento e foi neutralizado a reação final sob água gelada. Após atingir temperatura ambiente, as absorbâncias foram medidas usando espectrofotômetro a 532 nm. Foi usado o coeficiente de extinção molar de $1,54 \times 10^5$ M/cm e o resultado foi expresso em

equivalentes de malonaldeído (Eq MDA)/mL de substrato.

Utilizando cálculos de relação entre a concentração eficiente em reduzir o DPPH à 50% na atividade antioxidante (CE50) e concentração inibitória para inibir a lipoperoxidação à 50% (CI50) foi interpolado três concentrações (24, 72 e 120 µg/mL do extrato de noni) para testar o potencial de prevenção da lipoperoxidação do meio utilizado para diluir o sêmen e, conseqüentemente, manter os espermatozoides. Em seguida foram determinadas as concentrações utilizadas para cada tratamento. Os tratamentos diferiram quanto à concentração do extrato aquoso do noni adicionada ao meio diluidor: controle, sem adição; e três concentrações 24 mg/mL; 72 mg/mL e 120 mg/mL. Para tanto, essa análise ocorreu da mesma forma que a utilizada para inibir a lipoperoxidação, sendo que o meio lipídico (gema de ovo) e o FeSO₄ foi incluso no meio reacional, sem espermatozoides.

O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi realizado conforme PALHARIM e JACOMINO (2011) por meio da adição de algumas gotas de suco de noni obtidas por meio de expressão da polpa minimamente processada em gaze sobre o prisma de um refratômetro e relatado em porcentagem. O pH foi determinado por meio de um pHgâmetro de bancada digital Hanna previamente calibrado com soluções padrões de pH 7,0 e 4,0.

A determinação de acidez titulável foi realizada através do método de titulação com hidróxido de sódio até o ponto de viragem com o indicador fenolftaleína. Cinco gramas do noni foram dissolvidos em 100 mL de água destilada e adicionadas de 3 gotas de fenolftaleína. Em seguida foi retirado 20 mL desta solução para a titulação com solução de hidróxido de sódio a 0,1 M sob agitação constante, até obter a coloração rósea persistente por pelo menos 30 segundos.

Determinação da vitamina C

A determinação da vitamina C foi de acordo com técnica adaptada da American Official Analysis of Chemistry (AOAC) (CARNELOSSI *et al.*, 2000), utilizando uma solução de extração 2,6, diclorofenolindofenol (DCPIP) e solução de ácido ascórbico PA. O teor de vitamina C foi expresso em mg de ácido ascórbico/100 mL de suco. Para estes resultados, as análises foram realizadas em quadruplicatas em seguida, expressas em média.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições por tratamento. Para observar a normalidade

dos dados foi utilizado o teste Shapiro-Wilk pelo programa estatístico XLSTAT-Pro, 2011. O teste t de Student foi utilizado para amostras não pareadas comparando os valores em % da atividade antioxidante e CE50. A ANOVA foi utilizada para verificar se houve influência sobre os tratamentos. Para avaliar as diferenças entre as médias foi utilizado o teste de Tukey e a significância foi declarada quando P<0,05. Para estes procedimentos foi utilizado o programa estatístico Graphpad Prism versão 5.0 (Graphpad Software, San Diego, CA, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A polpa do noni apresentou pH ácido de 4,12 a uma temperatura de 25°C. O pH dos meios diluidores correspondentes aos tratamentos controle, 24 mg/mL; 72 mg/mL e 120 mg/mL foi de 6,06; 6,02; 5,97 e 5,89, respectivamente (Tabela 1).

O fruto maduro do noni apresentou pH semelhante ao encontrado por SILVA *et al.* (2012) de 4,66. SILVA *et al.* (2009) observaram que o pH do noni diminui de acordo com a maturação. Os frutos quando maduros apresentaram pH em torno de 4,6, e quando verdes, o pH foi de 5,0. O noni, quando comparado a outros frutos, é menos ácido que o

Tabela 1. Características físicas e químicas do Noni (*Morinda Citrifolia* L.) colhidos maduros

Acidez Titulável (%)	8,78
pH	4,12
Sólidos Solúveis (°Brix)	8,18
Vitamina C (mg/100 g)	309,42

cajá (2,5), apresentando valores de pH próximos ao do caju (4,0) e mais ácido que o açai (4,5–5,5) (RUFINO, 2008).

Os sólidos solúveis associados a outros compostos existentes representam um indicativo da quantidade de açúcares presentes no alimento. Assim, os teores de sólidos solúveis tendem a aumentar devido à biossíntese ou degradação dos polissacarídeos com a maturação do fruto (FICHINELLO *et al.*, 2011). A média de 8,18 °Brix é indicativo de que o noni apresenta baixo teor de sólidos solúveis quando comparado a outros frutos comercializados como, por exemplo, manga, caju e uva (SILVA *et al.*, 2009). O resultado obtido está de acordo com BARROS *et al.* (2008) estudando o noni, que foi 8 °Brix.

A acidez titulável (AT) é uma importante característica de qualidade, indicando a porcentagem de ácido cítrico e sabor nos frutos (CHITARRA, 1997). A encontrada no estudo foi de 8,78 sendo maior que a encontrada por CORREIA *et al.* (2011) de 0,63 (g/100 g). Essa diferença de AT pode ser devido ao tipo de solo, estação do ano ou estágio de maturação do fruto (CHITARRA, 1997).

As fontes de vitamina C são classificadas em diferentes níveis: elevada, contém de 100-300 mg/100 g de AA; média, contém de 50-100 mg/100 g de AA e baixa contém de 25-50 mg/100 g de AA (ANDRADE *et al.*, 2002). Diante desta classificação, foi concluído que o noni apresentou elevado teor de vitamina C e, conseqüentemente, possui atividade antioxidante.

O teor de vitamina C da polpa do noni do presente trabalho (309,42 mg/100 g), quando comparado a outros estudos já realizados com o noni, foi três vezes maior que aquele relatado por SILVA *et al.* (2012), que encontrou 101,41 mg/100 g, e semelhante ao teor encontrado por CHAN-BLANCO *et al.* (2007), que foi de 316 mg/100 g de ácido ascórbico. BARROS *et al.* (2008) comparando o teor de vitamina C dos frutos do noni em diferentes estádios de maturação, relataram que, dependendo da fase, o fruto chega a atingir média de 385,16 mg/100 g de polpa.

O extrato aquoso do noni apresentou moderada quantidade de compostos fitoquímicos do tipo fenólicos, sendo observado um total de 47,96 ± 1,95 mg Eq. ácido gálico/100 g do extrato, o que, em termos proporcionais, ajustando a unidade por grama, representa 47,96% dos compostos fitoquímicos presentes no extrato em um grama.

A atividade antioxidante observada no extrato aquoso do noni foi maior que encontrado por COSTA *et al.* (2013) que foi 1.401,00 µg/mL. Devido à quantidade expressiva de compostos com potencial antioxidante, como os compostos fenólicos, o extrato aquoso do noni na concentração de 3,0 µg/mL no tempo de 30 minutos reduziu o radical livre DPPH em 85,72 ± 0,87%, o que representa uma atividade antioxidante de 89,35 ± 2,32%. Paralelamente, foi observado que apenas 1,2 ± 0,15 µg/mL do extrato foi capaz de inibir o radical livre DPPH em 50%. O índice de atividade antioxidante do noni foi de 33,33, o que representa uma atividade antioxidante muito forte (Tabela 2).

Em relação ao sequestro de radicais livres,

os extratos são classificados como sendo forte (acima de 70%), moderada (70 - 50%) e fraca (abaixo de 50%) capacidade de sequestro (MELO *et al.*, 2008). O extrato aquoso do noni do presente

Tabela 2. Atividade antioxidante (média ± desvio padrão) do extrato aquoso de noni determinado através da redução do radical livre DPPH•

Amostra	AA% ¹	CE50 µg/mL ²	IAA ³
Noni	89,35 ± 2,32 a	1,2 ± 0,15 a	33,33
Ácido Gálico	96,91 ± 1,69 b	1,05 ± 0,15 a	38,09

¹Atividade antioxidante.²Concentração eficiente em reduzir o DPPH a 50% na atividade antioxidante. ³Índice de atividade antioxidante.

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Tukey.

estudo apresentou maior capacidade (89,35%) em sequestrar o radical livre sintético DPPH que o mesmo extrato (8,08 ± 0,81%) relatado por NASCIMENTO (2012), sendo considerado um extrato forte. Essa diferença de sequestro de radicais pode ser atribuída ao estado de maturação em que o fruto se encontrava na obtenção do extrato.

Foi observado que o extrato aquoso do noni apresentou excelente capacidade em inibir a lipoperoxidação na concentração de 10 µg/mL, sendo semelhante ao controle positivo sintético Trolox. No entanto, o noni apresentou um comportamento de redução de eficiência em prevenir a lipoperoxidação em concentrações mais elevadas, demonstrando uma reversão prooxidativa com o aumento da concentração (Figura 1), e a capacidade em inibir lipoperoxidação induzida por sulfato ferroso em 50% (CI50) foi 34,76 ± 6,45 µg/mL. Concentrações mais elevadas não sugerem boa proteção lipoperoxidativa.

Quando foi avaliada a capacidade do noni em prevenir a lipoperoxidação no meio diluidor para congelamento de sêmen, após avaliação do CE50 na capacidade antioxidante e CI50 no potencial inibitório lipoperoxidativo, foi observado que a menor concentração (24 µg/mL) não apresentou efeito positivo, no entanto, a concentração de 72 e 120 µg/mL inibiu a lipoperoxidação na ordem de 21,75% e 51,32%, respectivamente. O controle positivo Trolox na concentração 100 µg/mL foi capaz de inibir a lipoperoxidação em 93,20% como é possível observar por meio da produção de malonaldeído na Tabela 3.

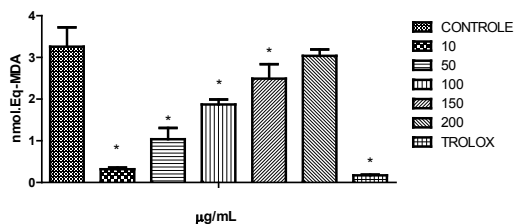


Figura 1. Capacidade de prevenção da lipoperoxidação *in vitro* de diferentes concentrações do extrato aquoso do noni quanto à produção de malonaldeído em nmol comparada ao controle positivo Trolox na concentração de 100 µg/mL.

Tabela 3. Capacidade do noni em prevenir a lipoperoxidação no meio diluidor para sêmen

Concentração de Noni	Produção de malonaldeído (nmol Eq MDA/mL) ± desvio padrão
Sem antioxidante	5,10 ± 0,30
24 µg/mL	5,28 ± 0,14
72 µg/mL	3,99 ± 0,37
120 µg/mL	2,48 ± 0,50
Trolox (100 g/mL)	0,35 ± 0,11

CONCLUSÃO

A polpa do noni apresenta quantidades elevadas de vitamina C e o extrato aquoso uma moderada quantidade de compostos fenólicos, representando atividade antioxidante muito forte. O extrato aquoso de noni quando incluso ao meio diluidor para criopreservação de sêmen é capaz de inibir a lipoperoxidação a partir da concentração de 72 µg/mL.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R.S.G.; DINIZ, M.C.T.; NEVES, E.A.; NÓBREGA, J.A. Determinação e distribuição de vitamina C em três frutos tropicais. *Ecletica Quimica*, v.27, p.393-401, 2002.

ARGOLO, A.C.C.; SANTANA, A.E.G.; PLETSCH, M.; COELHO, L.C.B.B. Antioxidant activity of leaf extracts from Bauhinia monandra. *Bioresouce Technology*, v.95, p.229-233, 2004.

BARROS, S.P.N.; MAIA, G.A.; BRITO, E.S.; SOUZA

NETO, M.A.; SOUSA, J.A. Caracterização Físico-Química da Polpa de Noni (*Morinda citrifolia*). In: CONGRESSO DE FRUTICULTURA, 20., 2008, Vitória. *Anais...Vitória: Sociedade Brasileira de Fruticultura*, 2008. CD-ROM.

BILODEAU, J.F.; CHATTERJEE, S.; SIRARD, M.A.; GAGNON, C. Levels of antioxidant defense are decreased in bovine spermatozoa after a cycle of freezing and thawing. *Molecular, Reproduction and Development*, v.55, p.282-288, 2000.

CARNELOSSI, M.A.G.; TOLEDO, W.F.F.; SOUZA, D.C.L.; LIRA, M.L.; SILVA, G.F.; JALALI, V.R. R.; VIÉGAS, P.R.A. Conservação pós-colheita de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). *Revista Ciência e Agrotecnologia*, v.28, p.1119-1125, 2000.

CHITARRA, A.B. Qualidade, colheita e manuseio pós-colheita de frutos de pessegueiro e da ameixeira. *Informe Agropecuário*, v.18, p.68-74, 1997.

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PEREZ, A.M.; BELLEVILLE, M.; ZÚNIGA, C.; BRAT, P. The ripening and aging of noni fruits (*Morinda Citrifolia* L.): microbiological flora and antioxidant compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.87, p.1710-1716, 2007.

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. *Alimentos e Nutrição*, v.22, p.609-615, 2011.

COSTA, B.A.; OLIVEIRA, A.M.C.; SILVA, A.M.O.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do noni (*Morinda citrifolia* linn). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.35, p.345-354, 2013.

FICHINELLO, J.C.; NACHITIGAL, J.C.; KERSTEN, E. *Fruticultura: fundamentos e práticas*. Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2011.

GUERRA, M.M.P.; CÂMARA, D.R.; SILVA, E.C.B.; SILVA, S.V. Uso de antioxidantes no sêmen ovino. *Ciência Animal*, v.22, p.354-364, 2012.

KUTVOELGYI, G. *Use of Morinda citrifolia (noni) extract for improving sperm preservation*. EP Pat. WO 2008032132 A2, 20 mar. 2008.

LAPENNA, D.; CIOFANI, G.; PIERDOMENICO, S.D.; GIAMBERARDINO, M.A.; CUCCURULLO, F. Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Radical Biology and Medicine*, v.31, p.331-335, 2001

- MAIA, M.S. **Viabilidade espermática e geração de metabólitos reativos do oxigênio (ROS) no sêmen ovino criopreservado em diluidor aditivado de lauril sulfato de sódio (OE), trolox-C e catalase.** 2006. 147p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006.
- MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.A.G.L.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, p.193-201, 2008.
- NASCIMENTO, L.C.S. **Caracterização centesimal, composição química e atividade antioxidante do noni (*Morinda citrifolia* L.) cultivado no município de Zé Doca-MA.** 2002. 69p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.
- PALHARIM, M.C.A.; JACOMINO, A.P. Processamento mínimo de goiaba. **Pesquisa & Tecnologia**, v.8, p.1-5, 2011.
- ROBERTS, S.J. **Veterinary obstetrics and genital diseases (Theriogenology).** 3rd ed. Michigan: Edwards Brothers, 1986.
- RUFINO, M.S.M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais.** 2008. 237p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2008.
- SARLÓS, P.; MOLNAR, A.; KÓKAI, M.; GÁBOR, G.; RÁTKY, J. Comparative evaluation of the effect of antioxidants in the conservation of ram semen. **Acta Veterinaria Hungarica**, v.50, p.235-245; 2002.
- SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M.C.T.; GODOY, H.T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, p.442-449, 2009.
- SILVA, E.G.; BEHR, G.A.; ZANOTTO-FILHO, A.; LORENZI, R.; PASQUALI, M.A.B.; RAVAZOLO, L.G.; BORDIGNON JR., C.L.; SILVA, F.A.; ABOY, A.L.; BASSANI, V.L.; HENRIQUES, A.T.; REGINATTO, F.H.; DALPIZZOL, F.; MOREIRA, J.C.F. Antioxidants activities and free radical scavenging potential of *Bauhinia microstachya* (Raddi) MACBR (caesalpinaceae) extracts linked to their polyphenol content. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.30, p.1488-1496, 2007.
- SILVA, L.R.; MEDEIROS, P.V.Q.; LEITE, G.A.; SILVA, K.J.P.; MENDONÇA, V.; SOUSA, J.A.D.; SILVA, M.S. Caracterização Físico-Química do fruto do noni (*Morinda citrifolia* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRONOMIA, 26., 2009, Gramado. **Anais...** Gramado: Confederação das federações de Engenheiros Agrônomos/ Sociedade de Agronomia do Rio Grande do Sul, 2009. CD-ROM.
- SILVA, L.R.; MEDEIROS, P.V.Q.; LEITE, G.A.; SILVA, K.J.P.; MENDONÇA, V.; SILVA, C.G.G. Caracterização do fruto de *Morinda citrifolia* L. (*noni*). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.17, p.93-100, 2012.
- SOLER-RIVAS, C.; ESPÍN, J.C.; WICHERS, H.J. An easy and fast test to compare total free radical scavenging capacity off foodstuffs. **Phytochemical Analysis**, v.11, p.330-338, 2000.
- SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA JUNIOR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.D.; ARAÚJO, D.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, p.351-355, 2007.