

## Caracterización microestructural de cenizas de *Morinda citrifolia*

### *Linneo Noni*

Zoila Garay<sup>1</sup>, Alcides López<sup>1,2,\*</sup>, Otilia Acha<sup>1</sup>, Amanda Souza<sup>3</sup>, Ingrit Collantes<sup>1</sup>,  
Paula Olivera<sup>2</sup>, Julio Santiago<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Lima 25, Perú

<sup>2</sup> Dirección de Investigación y Desarrollo, Instituto Peruano de Energía Nuclear. Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

<sup>3</sup> Laboratorio de Extração, Universidade Paulista. Av. Paulista 900, Bela Vista, São Paulo, Brazil

<sup>4</sup> Facultad de Química e Ing. Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Venezuela S/N, Lima 1, Perú

### Resumen

El noni, *Morinda citrifolia* Linneo, es muy utilizado en la medicina tradicional debido a su actividad antibacteriana, antiviral, antiparasitaria, anti-hongos, previniendo la proliferación de tumores y la diabetes. En este trabajo se presenta el estudio de la composición elemental y morfológica de las cenizas de las cáscaras, semillas, pulpa y hojas del noni. Estas cenizas son básicamente de naturaleza amorfa, excepto las que provienen de la calcinación de las hojas. Los compuestos principales que han sido identificado son el  $\text{CaCO}_3$  (semillas y hojas),  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  (cáscaras y semillas),  $\text{KHCO}_3$  (en todas las muestras excepto en las hojas),  $\text{KCl}$  (hojas) y  $\text{SiO}_2$  (hojas y pulpa). Se ha podido observar nanopartículas (20 nm) en todas las muestras, excepto en las cenizas de hojas.

### Abstract

Noni, *Morinda citrifolia* Linnaeus, is widely used in traditional medicine due to its antibacterial, antiviral, antiparasitic and antifungal properties, preventing the proliferation of tumors and diabetes. This paper presents a study of the elemental and morphological composition of the ashes from the peels, seeds, pulp and leaves of the noni. These ashes are basically amorphous, except those from the roasting of the leaves. The main compounds that have been identified are the  $\text{CaCO}_3$  (seeds and leaves),  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  (peels and seeds),  $\text{KHCO}_3$  (all samples except in leaves),  $\text{KCl}$  (leaves) and  $\text{SiO}_2$  (leaves and pulp). Nanoparticles (20 nm) have been observed in all samples except in the ashes of leaves.

### 1. Introducción

El Noni *Morinda Citrifolia* Linneo conocida como queso de frutas, noni, morera india, etc. pertenece a la familia de las Rubiáceas y es nativa del sur este de Asia, Oceanía y de Asia tropical que se extiende desde la Polinesia hasta la India.

El noni es una planta mundialmente utilizada en la medicina tradicional para reforzar el sistema inmunológico debido a su actividad antibacteriana, antiviral, antiparasitaria, anti-hongos, lo que permite prevenir la proliferación maligna de tumores y la diabetes [1-4]. Por esta razón ha despertado un gran interés económico y actualmente se cultiva a escala comercial en los trópicos y en el hemisferio sur [4].

El género *Morinda* comprende alrededor de 80 especies y están presentes exclusivamente en zonas de clima tropical [5]. Esta especie es un árbol pequeño con flores blancas, hojas

anchas y brillosas, la fruta madura tiene un olor fétido, causado por la presencia del octanoato de metilo, componente mayoritario del aceite esencial de la cáscara, pulpa y semillas del Noni [6].

Se han realizado muchos estudios para identificar los componentes presentes en el noni, hasta el momento se han aislado aproximadamente 200 compuestos en la que se observan antraquinonas glicosiladas, ácidos grasos y sus derivados, iridoides e iridoides glicosilados, lignanos, neolignanos, flavonoides glicosilados, fenilpropanoides, triterpenos y azúcares [7-10]. Sin embargo, no se ha reportado hasta el momento ningún estudio de la composición de las cenizas obtenidas por calcinación de las diferentes partes del noni.

Como referencia de otros estudios de cenizas

\* Correspondencia autor: alopez@ipen.gob.pe

de especies vegetales podemos mencionar el estudio por Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) de las cenizas de la cáscara de arroz, donde se observó un 94 % de SiO<sub>2</sub> nanoestructurado [11,12]. De otro lado, en un estudio realizado por MET y difracción de rayos X (DRX) sobre las cenizas del bagazo de la caña de azúcar calcinado a 800 y 1000 °C se encontraron partículas menores a 90 micras que cambian su morfología y textura en presencia de calcio y silicio, observándose magnetita en sitios ricos en calcio, se encontraron además, que estas cenizas tienen alta influencia en la actividad puzolánica [13,14]. En otro estudio con microscopía electrónica de barrido (MEB) y MET se ha identificado la morfología de la parte orgánica que no ha sido completamente calcinada encontrándose que estas fibras retienen sus características originales [15].

De acuerdo con lo mostrado, los vegetales tienen componentes inorgánicos que pueden mantener o cambiar su fase con los procesos y en especial con los tratamientos térmicos que se les practique y que han podido ser estudiadas a nivel microscópico. Tales trabajos han motivado una propuesta de estudio para las cenizas de diferentes partes de la fruta Noni *M. citrifolia* mediante MET y otras técnicas analíticas.

## 2. Experimental

Las muestras del Noni *Morinda citrifolia* fueron obtenidas en la ciudad de Pucallpa, departamento de Ucayali, Perú, el 15 de mayo de 2007. La muestra fue depositada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y fue identificada por la Bióloga Joaquina Alban Castillo.

Las cenizas para el presente estudio fueron preparados por calcinación a 400 °C en una mufla eléctrica y caracterizados haciendo uso de un equipo de FTIR SHIMADZU ATR por Reflectancia difusa, un microscopio electrónico de transmisión Marca Philips EMG 300, en los modos de imagen y difracción de electrones; Microscopía de Luz (Meiji ENT), Difracción de Rayos X (Rigaku, modelo Miniflex, utilizando el intervalo  $5^\circ < 2\theta < 80^\circ$  con pasos  $2\theta$  de  $0,02^\circ$  y avance de 2 s/paso), Fluorescencia de Rayos X en Energía Dispersiva con irradiación de la muestra con una fuente

anular de Cd-109 durante 1000 segundos. La adquisición de datos se llevó a cabo con un sistema de espectrometría de rayos X, constituido principalmente por un detector de alta resolución, de Si (Li) marca CANBERRA Modelo SL 30165 (Resolución 165 eV para 5.89 keV) y un Analizador Multicanal PCAII The Nucleus. La evaluación de los espectros e identificación de los elementos presentes en las muestras se hizo utilizando el Software Quantitative X Ray Analysis System (QXAS) proporcionado por el Organismo Internacional de Energía Atómica.

### *Preparación de la muestra para análisis por MET*

Luego de la calcinación, el tamaño de las partículas fueron homogenizadas mediante la molienda de las cenizas en un mortero de ágata. Dichas partículas fueron suspendidas en agua destilada para hacer que las partículas más grandes precipitaran con mayor rapidez, la parte alta de la suspensión, la cual contenía las partículas más pequeñas fueron tomadas con una pipeta Pasteur y colocadas sobre una membrana de parlodion de las rejillas portamuestras. Luego de evaporarse el agua a temperatura ambiente se procedió al análisis morfológico y su microestructura cristalina mediante la Difracción de Electrones de Área Selecta (DEAS).

## 3. Resultados y Discusión

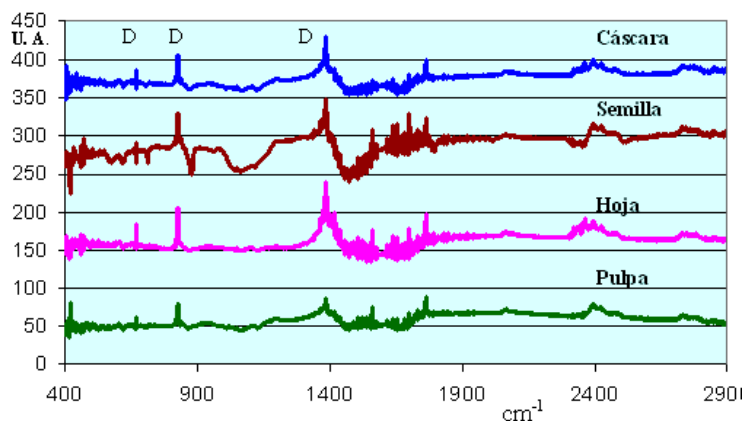
En el análisis por IR, Figura 1, no se detecta estructuras orgánicas, pero si se llega a identificar la presencia de CaCO<sub>3</sub> en todas las muestras.

En el análisis por microscopía de luz se observa que las cenizas de cáscara de Noni, Figura 2a, presentan un aspecto granular con un diámetro medio de 0,5 mm distinguiéndose una fase oscura y otra clara, ambos duros para la molienda. Las cenizas de las hojas, Figura 2b, son de color gris claro con aspecto de polvo muy suave para la molienda. Las cenizas de la pulpa, Figura 2c, está constituida de granos oscuros de aproximadamente 0,3 mm mezclados con un polvo blanco, ambos muy suaves para la molienda. En contraste con los casos anteriores, las cenizas de la semilla, Figura 2d, tienen un color gris claro y granos blancos de 0,4 mm, suaves a la molienda.

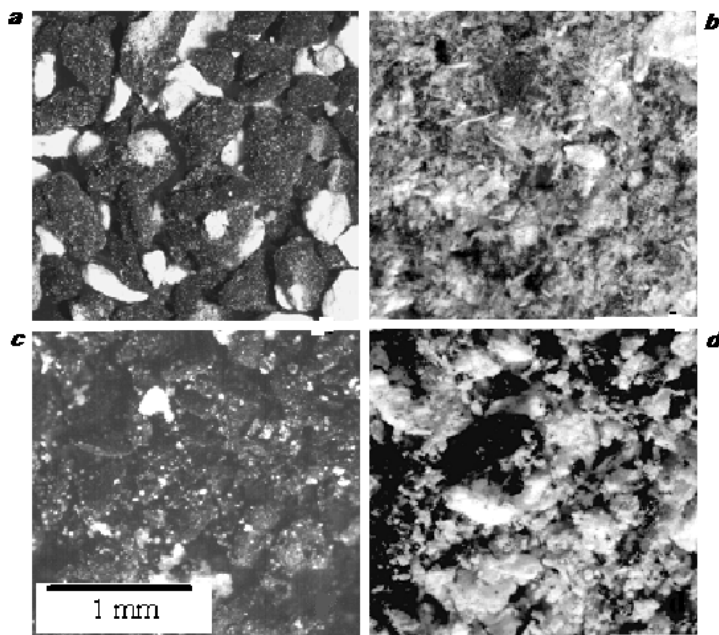
En el estudio de las cenizas por MET de los

diferentes órganos del Noni *M. citrifolia* se ha encontrado abundante material micro y nano estructurado. En la Figura 3, en cada caso se muestran las imágenes obtenidas por esta técnica mostrando su respectiva barra de calibración con el propósito de estimar las formas y dimensiones de los diferentes componentes presentados en cada micrografía. Adicionalmente, en algunas de las micrografías se han incorporado en una esquina, su correspondiente patrón de difracción electrónico. Al hacer el estudio de dichos patrones se han encontrado coinci-

dencias con estructuras variadas que se muestran en la tabla 1. Estas se obtuvieron al ser comparadas con las distancias interplanares de la base de datos JCPDF (Joint Committee of Powder Diffraction File) usados para los análisis por difracción de rayos X. Según los espectros de DRX, Figura 4, en las cenizas de cáscara se observa la predominancia de oxalato de calcio,  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  y bicarbonato de potasio,  $\text{KHCO}_3$ , siendo la mayor parte de este material de naturaleza amorfa.



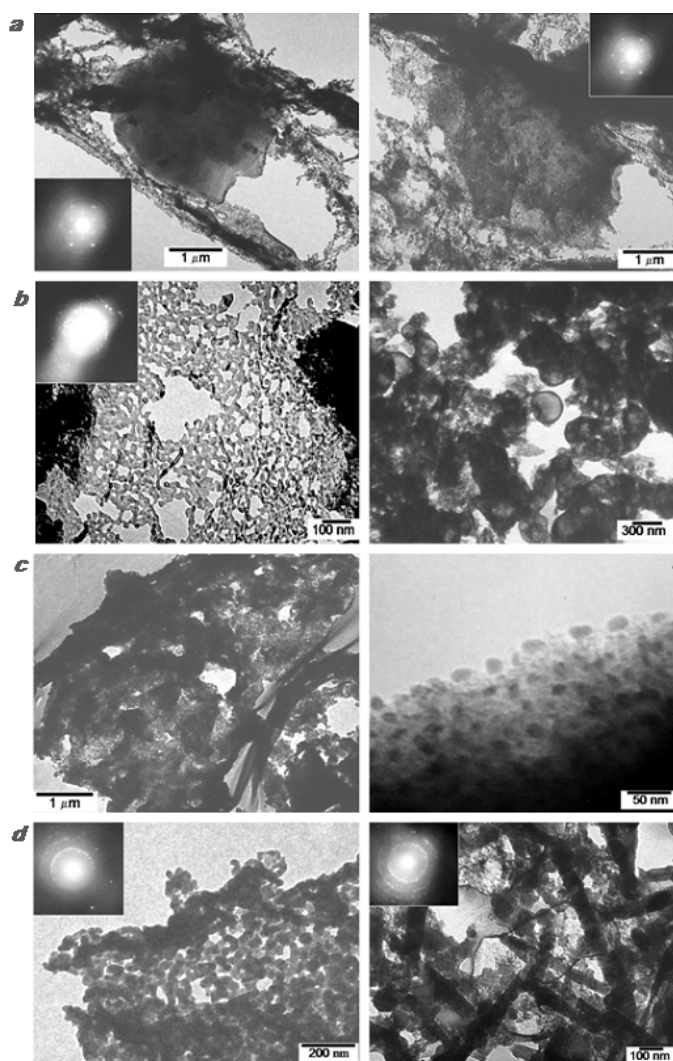
**Figura 1.** Espectros FTIR de cenizas de la cáscara, semilla, hoja y pulpa de *M. Citrifolia*. D corresponde al  $\text{CaCO}_3$ .

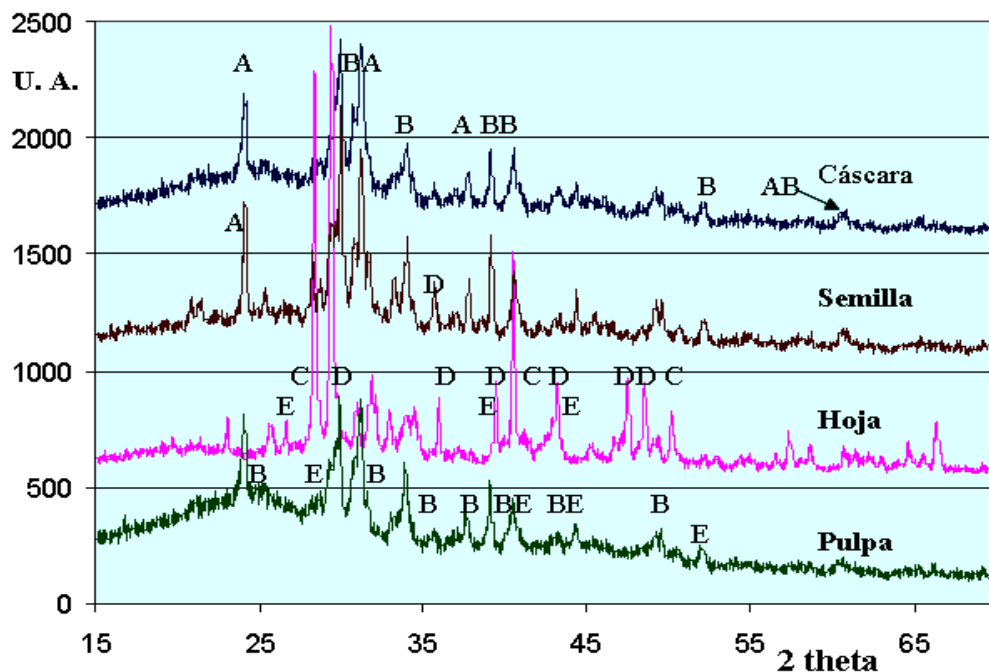


**Figura 2.** Imágenes por microscopía de luz a iguales ampliaciones de las cenizas de *M. Citrifolia* a) cáscara, b) hoja, c) pulpa y d) semilla.

**Tabla 1.** Resultados del análisis por MET.

<i>Muestra</i>	<i>Sólidos cuyas difracciones coinciden con el análisis DEAS</i>	<i>Análisis morfológico por MET</i>
Pulpa	Si, Mn $\beta$ , Al <sub>2</sub> SiO <sub>5</sub> , C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> , Fe <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub> , Al <sub>3</sub> Zr <sub>4</sub> , Mg(OH) <sub>2</sub> , Ta <sub>2</sub> O, Mn, Fe( $\alpha$ ), Ca, Ni(OH), (Li, Al)Mn <sub>2</sub> O <sub>4</sub> y C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> NaO <sub>7</sub>	Se observan fragmentos bien cristalizados de gran tamaño, mayores a 3 $\mu$ m.
Semilla	Mn, Si y Fe( $\alpha$ ), Ca, SiO <sub>2</sub> Mn( $\beta$ ), Fe, Ca	Partículas cristalinas del orden de los 20 nm, y casquetes esferoidales de material inorgánico amorfo del orden de los 300 nm de diámetro.
Cáscara	Material Amorfo	Aglomerados de partículas amorfas del orden de 1 $\mu$ m, nanopartículas amorfas menores a 20 nm de tamaño.
Hoja	Ca, Si, Mn, Fe	Se observan cristales alargados de 100 nm de ancho y más de 1 $\mu$ m de longitud sobre un fondo de nanopartículas de 20 nm.

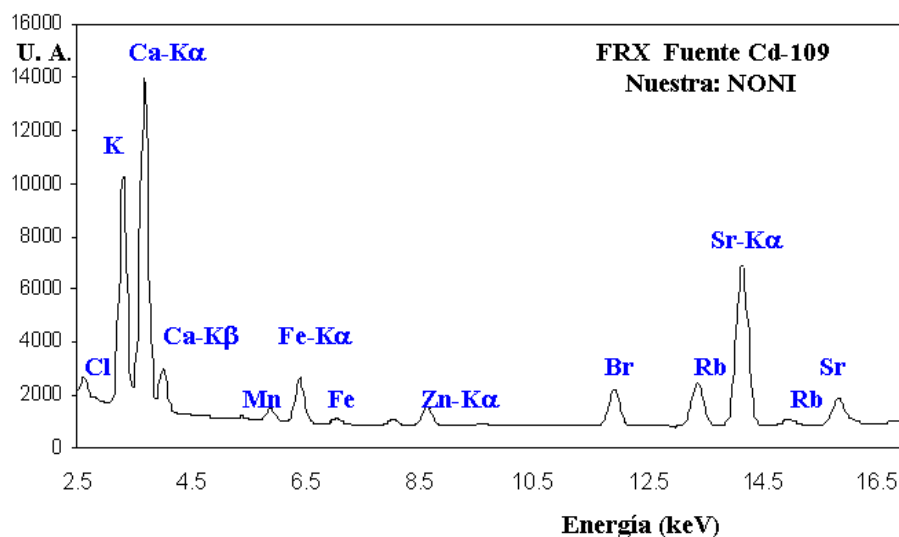
**Figura 3.** Micrografías MET vistas a dos ampliaciones (izquierda y derecha) y patrones de difracción (DEAS, ver esquinas) de cenizas de *M. Citrifolia* **a)** pulpa, **b)** semilla, **c)** cáscara y **d)** hojas.



**Figura 4.** Patrones de Difracción de Rayos X de cenizas de la cáscara, semilla, hoja y pulpa de *M. Citrifolia*. Ver descripción en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Resultados de los análisis por Difracción de rayos X de cenizas de la cáscara, semilla, hoja y pulpa de la *M. Citrifolia*, referidos a los patrones de difracción de la Figura 3.

Etiqueta	Fórmula	Nombre	Ref. JCPDF
A	CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Oxalato de calcio	00-003-0090
B	KHCO <sub>3</sub>	Bicarbonato de potasio	01-086-0912
C	KCl	Cloruro de potasio	01-075-0296
D	CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de calcio	00-004-0636
E	SiO <sub>2</sub>	Dióxido de silicio	01-083-0539



**Figura 5.** Espectroscopia de Fluorescencia de rayos X de la muestra de hoja.

En la semilla se nota la predominancia del Oxalato de calcio  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ , bicarbonato de potasio  $\text{KHCO}_3$  y poca cantidad de carbonato de calcio,  $\text{CaCO}_3$ . En la hoja se nota la abundancia de carbonato de  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{KCl}$  y pocas cantidades de  $\text{SiO}_2$  con una alta cristalinidad en toda la muestra. Finalmente, en la pulpa se ve una abundancia de bicarbonato de potasio  $\text{KHCO}_3$ , presencia de  $\text{SiO}_2$  y una porción considerable de material amorfo. Estos datos están agrupados en la tabla 2.

El análisis de las cenizas de las hojas por FRX, Figura 5, permite identificar la presencia de potasio, calcio y estroncio y en menor cantidad relativa el cloro, hierro, manganeso, zinc, bromo y rubidio.

#### 4. Conclusiones

Las cenizas de las cáscaras, semillas, pulpa y hojas del noni son mayoritariamente de naturaleza amorfa, excepto las que provienen de la calcinación de las hojas. Los compuestos principales que han sido identificados son: el carbonato de calcio  $\text{CaCO}_3$  (semillas y hojas), oxalato de calcio  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  (cáscaras y semillas), bicarbonato de potasio  $\text{KHCO}_3$  (en todas las muestras excepto en las hojas), cloruro de potasio  $\text{KCl}$  (hojas) y óxido de silicio  $\text{SiO}_2$  (hojas y pulpa). También se han podido observar estructuras nanoparticuladas tanto amorfas como cristalinas de aproximadamente 20 nm en todas las muestras, excepto en las cenizas de hojas.

#### 5. Agradecimientos

A la Bióloga Joaquina Alban Castillo por la identificación de la especie Noni *Morinda citrifolia*.

#### 6. Bibliografía

- [1] Kumar S, Saravanan M, Illanchezian S. Antibacterial, antifungal and tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. *International Journal of Integrative Biology*. 2008; 3(1):44-49.
- [2] Rodríguez M, Boffill M, Lorenzo G, Sánchez P, López R, Verdecía B, Díaz L. Evaluación preclínica del efecto antiinflamatorio del jugo de *Morinda citrifolia* L. *Revista Cubana de Plantas Médicas*. 2005; 10(3-4).
- [3] Palu A, Seifulla R, West B. *Morinda citrifolia* L. (noni) improves athlete

endurance: Its mechanisms of action. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2008; 2(7): 154-158.

[4] Pawlus A, Kinghorn D. Review of the ethnobotany, chemistry, biological activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni). *Journal of Pharmacy and pharmacology*. 2007; 59: 1587-1609.

[5] Potterat O, Hamburger M. *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit-Phytochemistry, pharmacology, Safety. *Planta Medica*. 2007; 73:191-199.

[6] González S, Estrada A, del Val R, Rosales T, Andrade I, Hernández A. Determinación de compuestos volátiles en compuestos de Noni (*Morinda citrifolia* L.) mediante micro extracción en fase sólida y cromatografía de gases. En: XVII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. Acapulco marzo 2010. Disponible en: [http://biomedbiotec.homelinux.org/congreso2010/Extensos/Prod\\_naturales/NAT71ALE20091209.pdf](http://biomedbiotec.homelinux.org/congreso2010/Extensos/Prod_naturales/NAT71ALE20091209.pdf)

[7] García C, Kim N, Bich N, Tillan J, Romero A, Darío O, Fuste V. Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata* L., *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. Secondary metabolites in *Passiflora incarnata* L., *Matricaria recutita* L. and *Morinda citrifolia* L. dry extracts. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2009; 14(2). Disponible en [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962009000200004&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962009000200004&script=sci_arttext)

[8] Simonsen J. Note on the Constituents of *Morinda citrifolia*. *Journal of the Chemical Society Transactions*. 1920; 117:561-564.

[9] Chunhieng T, Hay L, Montet D. Detailed study of the juice composition of noni (*Morinda citrifolia*) fruits from Cambodia. *Fruits*. 2005; 60:13-24.

[10] Chan-Blanco Y, Vaillant F, Pérez A, Belleville M, Zúñiga 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*. 2007; 87: 1710-1716.

[11] Proctor A. X-ray diffraction and scanning electron microscope studies of processed rice hull silica. *Journal of the*

American Oil Chemists' Society. 1990; 67(9):576-584.

[12] Sánchez N, Solache M, Teresa M, Fripiat J, Pacheco G, Saniger J, Bulbulian S. Selectivity of the  $\text{Cd}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$  exchange on modified rice hull silica. *Environmental Technology*. 2009; 30(3):269-275.

[13] Payá J, Monzó J, Borrachero M, Díaz L, Ordóñez L. Sugar-cane bagasse ash (SCBA): studies on its properties for reusing in concrete production. *Journal of Chemical*

*Technology & Biotechnology*. 2002; 77(3):321-325.

[14] Frias M, Villar E, Valencia E. Characterisation of sugar cane straw waste as pozzolanic material for construction: Calcining temperature and kinetic parameters. *Waste Management*. 2007; 27:533-538.

[15] Batra V, Urbonaite S, Svensson G. Characterization of unburned carbon in bagasse fly ash. *Fuel*. 2008; 87(13-14):2972-2976.