



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



ATISE_2025-FFBB-009

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **TRABAJO ACADEMICO (Segunda especialidad)** es:

Actividad antioxidante y antimicrobiana del exudado del fruto de noni (*Morinda citrifolia* L.) conservado a la luz natural y en ausencia de luz.

Presentado por:

MAG. CASTILLO ROMERO PATRICIA CECILIA

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **3%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matricula: 20141722

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 31 de octubre de 2025

.....
Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE
INVESTIGACION FACULTAD DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Segunda Especialidad



Actividad antioxidante y antimicrobiana del exudado del fruto de noni (*Morinda citrifolia L.*) conservado a la luz natural y en ausencia de luz.

Línea de investigación
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
QUÍMICA Y TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS NATURALES

Autor:
Mg. Patricia Cecilia Castillo Romero

Ica –Perú

2025

DEDICATORIA

A Dios mi fiel amigo, guía y acompañante eterno

A la memoria de mis padres con quienes hubiera querido compartir mis logros.

A mi hijo Eduardo razón de ser de mi vida y por el que lucho cada día.

AGRADECIMIENTOS

Mi especial agradecimiento a la Dra. Eddie Loyola por el apoyo incondicional en los momentos que necesitaba de su orientación; a la Dra. Iara Lucía Tescarollo de la Universidad de San Francisco (Brasil) por sus enseñanzas durante la realización del curso de especialidad.

A la Universidad Nacional San Luis Gonzaga y a la Facultad de Farmacia por las facilidades brindadas para el desarrollo de esta especialidad.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	ii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II.-ESTRATEGIA METODOLÓGICA	12
2.1.-TIPO, NIVEL Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	12
2.2. MATERIALES.....	12
2.3.-MÉTODOS	14
2.3.1. Descripción del muestreo (proceso de obtención).....	14
2.3.2. Preparación de las muestras.....	14
2.3.3. Tratamiento de las muestras	14
2.3.4. Actividad antioxidante por el método de neutralización del radical libre DPPH	15
2.3.5. Determinación de polifenoles totales. Método de Folin Ciocalteu.....	17
2.3.6. Actividad antimicrobiana.....	19
III.-RESULTADOS	23
3.1. DE LA OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS	23
3.2. DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y FISICOQUÍMICA	23
3.3. DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	24
3.4. DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES.....	26
3.5. DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	27
IV.-DISCUSIÓN	30
V.-CONCLUSIONES.....	33
VI. RECOMENDACIONES	34
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
ANEXOS.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Preparación de las diluciones para trabajar las muestras de noni.....	17
Tabla 2: Batería de reacción final del estándar de polifenoles	18
Tabla 3: Diluciones para las muestras del fruto fresco y exudado de noni	19
Tabla 4: Resultado de la determinación de metabolitos secundarios en el fruto fresco de <i>Morinda citrifolia L.</i> (noni)	23
Tabla 5: Resultado de la determinación de las características organolépticas y fisicoquímicas de los exudados expuestos y no a la luz	23
Tabla 6: Resultado de la determinación de la actividad antioxidante de la solución patrón de vitamina C.....	24
Tabla 7: Resultado de la capacidad antioxidante de los exudados en presencia y ausencia de luz comparados con la actividad de la vitamina C.....	25
Tabla 8: Resultados de las absorbancias de las soluciones patrón de ácido gálico.....	26
Tabla 9: Resultado de las absorbancias de las muestras analizadas expresados como mg/mL de polifenoles equivalente a ácido gálico	27
Tabla 10: Halos y porcentaje de inhibición de las muestras frente a <i>E. coli</i> y <i>S aureus</i> por el método de difusión por excavación	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura molécula DPPH y el espectro de banda a 517 nm.....	16
Figura 2: Procesos del ensayo de susceptibilidad antimicrobiana por el método de excavación en placa.....	22
Figura 3: Curva de calibración de la solución patrón de vitamina C	24
Figura 4: Comparación de la capacidad antioxidante de los exudados de <i>Morinda citrifolia L.</i> obtenidos en presencia y ausencia de luz (expresados en equivalente a mg/mL de Vitamina C).	25
Figura 5: Curva de calibración del ácido gálico.....	26
Figura 6: Comparación del contenido de polifenoles totales en las muestras analizadas expresados como mg/mL equivalente al ácido gálico	27
Figura 7: Actividad antibacteriana de jugo fresco de noni (1) y exudado a los 30 días: 2 (SL) , 3 (CL) frente a <i>E coli</i> y a <i>S. aureus</i>	29

RESUMEN

El propósito del estudio fue determinar el contenido de polifenoles, actividad antioxidante y antimicrobiana del exudado del fruto de *Morinda citrifolia L.* (noni) conservado en presencia y ausencia de luz.

Los frutos fueron separados en dos recipientes acondicionados con y sin luz. Se recolectó el exudado a los 30 días, se determinó el contenido de polifenoles (método Folin Ciocalteu), la actividad antioxidante (método DPPH) y se evaluó el efecto inhibitorio contra las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25923 por el método de excavación en placa a dos concentraciones. En la fruta fresca y licuada se hizo las mismas determinaciones.

El jugo de fruto fresco presentó actividad antioxidante (DPPH) equivalente a la vitamina C (EVC) de 1.43mg/mL y polifenoles totales de 0.319 mg/mL equivalente al ácido gálico (EAG), el exudado obtenido a los 30 días en presencia de luz difusa presentó actividad EVC de 3.46 mg/mL y contenido de polifenoles de 0.888 mg/mL EAG. El exudado a los 30 días en ausencia de luz presentó actividad antioxidante EVC de 3.97 mg/mL y el contenido de polifenoles de 0.9937 mg/mL EAG. Este exudado a los 30 días presentó mayor actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* que a *Staphylococcus aureus*. El jugo de fruto fresco fue inactivo frente a las bacterias ensayadas. El exudado de noni en ausencia de luz y después de 30 días presentó mayor actividad antioxidante y polifenoles con incremento de 178% y de 212% respectivamente además mayor actividad antimicrobiana frente a cepas estudiadas.

Palabras claves: *Morinda citrifolia L.*, antioxidante, polifenoles, antimicrobiana, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The purpose of the study was to determine the content of polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of the exudate of the fruit of *Morinda citrifolia L.* (noni) preserved in the presence and absence of light.

The fruits were separated in two containers conditioned with and without light. The exudate was collected after 30 days, the content of polyphenols was determined (Folin Ciocalteu method), the antioxidant activity (DPPH method) and the inhibitory effect against the strains *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Escherichia coli* ATCC 25923 was evaluated by the method of plate excavation at two concentrations. The same determinations were made in fresh and blended fruit.

The fresh fruit juice presented antioxidant activity (DPPH) equivalent to vitamin C (EVC) of 1.43 mg/mL and total polyphenols of 0.319 mg/mL equivalent to gallic acid (GAE), the exudate obtained at 30 days in the presence of diffuse light presented EVC activity of 3.46 mg/mL and polyphenol content of 0.888 mg/mL EAG. The exudate at 30 days in the absence of light presented EVC antioxidant activity of 3.97 mg/mL and polyphenol content of 0.9937 mg/mL EAG. This exudate at 30 days showed greater antibacterial activity against *Escherichia coli* than *Staphylococcus aureus*. The fresh fruit juice was inactive against the bacteria tested.

Noni exudate in the absence of light and after 30 days showed higher antioxidant activity and polyphenols with an increase of 178% and 212%, respectively, as well as higher antimicrobial activity against the strains studied.

Keywords: *Morinda citrifolia L.*, antioxidant, polyphenols, antimicrobial, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los más numerosos y representativos metabolitos de plantas que participan en la fisiología y el metabolismo celular como morfología, crecimiento, reproducción, defensa contra plagas, predadores, y procesos germinativos, entre otros. Numerosos estudios se vienen realizando demostrando que, estos compuestos presentan una significativa actividad antioxidante que evidencia su potencial beneficio sobre la salud humana. Muchos de los compuestos fenólicos extraídos o presentes en las plantas muestran además de la actividad antioxidante, actividad antimicrobiana; así tenemos a los ácidos orgánicos, ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, lignanos, taninos cumarinas y xantonas cuyo posible mecanismo de acción antibacteriano es explicado por Suriyaprom S, et al. (2022)¹.

Morinda citrifolia L. (noni) es un arbusto originario del sureste de Asia, Taiwan y las islas Paracel de China. El fruto es utilizado como alimento y medicamento popular. En la medicina popular se usan las hojas y los frutos para combatir una serie de dolencias como: aftas, reumatismo, dolor, dificultad menstrual, diarreas, lombrices intestinales, así como quemaduras, tumores e infecciones de la piel².

En el Perú esta especie se ha aclimatado bien y se cultiva preferentemente en la región de la selva. Actualmente se ofertan varios productos elaborados a partir del fruto de Noni y para lo cual hay escasos estudios que demuestren la eficacia de estos. Se consume el jugo de la fruta fresca y madura, así como el jugo fermentado sin conocimiento de cuál de estos contiene mayor contenido de compuestos fenólicos y por tanto actividad antioxidante lo que sería necesario conocer para orientar su consumo; así como contribuir en la validación del uso medicinal del fruto y de los preparados obtenidos de este.

Nirwana, et al. (2022) determinaron la diferencia en la actividad antioxidante del polvo seco y el extracto metanólico del jugo del fruto de noni antes y después de la fermentación luego de la inoculación con *Lactobacillus plantarum* observando que ocurre un incremento de la concentración de polifenoles y de la actividad antioxidante después de 48 horas de fermentación³.

Wang, et al. (2021), evaluaron los cambios en compuesto volátiles, fenólicos y polisacáridos del jugo de noni (procedencia Hianan, China) con la fermentación (a escala industrial y en laboratorio) demostrando que a los 63 días aumentaron los flavonoides y

disminuyeron los ácidos hexanóico y octanóico así como el aroma intenso y penetrante característico del jugo ⁴.

Barra F., (2019), evaluó la actividad antioxidante del zumo por prensado neumático de noni con y sin cáscara (76,77% y 81,54% inhibición de radical DPPH), fenoles totales (75,59 y 83,68mg de ácido gálico/100g de zumo) y vitamina C (301,88 y 269,57mg de ácido ascórbico/100g de zumo) con cáscara y sin cáscara respectivamente. Demostrando mayor contenido de estos en el zumo sin cáscara excepto en contenido de vitamina C ⁵.

Robledo K, et al. (2017) demostraron que durante la fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* (cepa de levadura de vino comercial EC1118) del fruto submaduro de Noni procedente de la provincia de Chanchamayo, Junín, el contenido de fenoles y de su actividad antioxidante varían a las 4 semanas siendo para polifenoles de 62 mg GAE/L y la actividad antioxidante aumentó en un 18,75% ⁶.

Villacorta G et.al. (2011) evaluaron la actividad antioxidante por el método de neutralización del radical libre DPPH de los frutos y hojas de *Morinda citrifolia L.* como sus extractos acuoso y metanólico determinando que ambos tienen muy buena actividad antioxidante siendo mayor la del fruto. El extracto Metanólico del Fruto de Noni, presentó un IC₅₀ de 0.239 ± 0.003 mg/ml, el extracto metanólico de las hojas, que tuvo un IC₅₀ de 0.265 ± 0.008 mg/ml. El extracto acuoso del fruto de Noni, presentó un IC₅₀ de 0.586 ± 0.023 mg/ml, mostrando mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso de las hojas, que tuvieron 0.723 ± 0.006 mg/ml. Por tanto, el extracto metanólico del fruto presentó mayor actividad antioxidante ⁷.

Yang et al. (2007) demostraron que el jugo fresco de Noni (*Morinda citrifolia L.*), posee actividad captadora de radicales libres (RSA), 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), equivalentes a 140mg/100 mL de ácido ascórbico y fenoles totales equivalentes a 210 mg de ácido gálico / 100 mL. La fermentación de la fruta noni a temperatura ambiente (expuestos directo al sol) por tres meses disminuye drásticamente la actividad antioxidante (en 90%), la refrigeración y el almacenamiento en frío retarda la reducción de la actividad antioxidante. Ellos recomiendan que para maximizar los beneficios potenciales y saludables de los productos procesados de noni usar el jugo en polvo (deshidratados) o refrigerados y congelado ⁸.

Respecto a la actividad antimicrobiana existen varios reportes sobre el estudio en hojas y semillas contra *E. coli*, *S. aureus* y *Candida sp*, mostrando buena actividad excepto para *Candida sp*^{9,10}.

Beteta X, (2018), determinó la actividad antibacteriana del extracto acuoso de la harina de Noni contra *E coli* a las concentraciones de 2, 4 y 8% por medida del halo de inhibición en mm de los discos e sensibilidad, demostrando que a una concentración de 8% presenta un halo de 6,63 mm y que a partir de esta dosis se observa actividad contra esta bacteria¹¹.

Vásquez, (2019), determinó la actividad antioxidante por el método DPPH, compuestos fenólicos y antimicrobiana (contra *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes*) de las hojas, su decocción y del residuo de la decocción de *Morinda citrifolia L*, resultado que ningún extracto fue activo contra dichas bacterias¹².

Rodríguez et al., (2013) determinaron actividad antibacteriana del fruto de *Morinda citrifolia L* y planta entera sin raíz de *Notholaena nivea* usando el método de Kirby o de disco difusión contra las bacterias *Escherichia coli* ATCC25932, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC29212. Resultando ser inactivo en todas las concentraciones ensayadas frente a *Enterococcus faecalis* y fue inactivo contra *E coli* y *E aureus* a las concentraciones de 100 – 800 mg/mL y poca actividad a 900 mg/m¹³.

En este trabajo de investigación se planteó el siguiente problema:

¿En qué medida presentan actividad antioxidante y antimicrobiana el exudado de los frutos de *Morinda citrifolia L*. (“noni”) conservados a la luz natural y en ausencia de luz?

Los objetivos fueron:

Determinar la actividad antioxidante, contenido de polifenoles del fruto fresco y del exudado obtenido del fruto de Noni conservado en presencia y en ausencia de luz.

Estimar la actividad antibacteriana del fruto fresco y del exudado obtenido del fruto de noni conservado por 30 días en presencia y en ausencia de luz frente a las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

II.- ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1.- TIPO, NIVEL Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación fue experimental, cuantitativa y prospectiva. El diseño utilizado fue de tipo experimental pues consistió en preparar las muestras en el laboratorio, describir cualidades de los exudados, cuantificar polifenoles y su actividad antioxidante por métodos espectrofotométricos de absorción en la región visible, así como detectar el efecto inhibitorio del exudado en presencia y ausencia de luz sobre las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* comparado con el fruto fresco.

2.2. MATERIALES:

Materiales de laboratorio

- Frasco Erlenmeyer 500 mL
- Vasos de precipitado 250 mL, 50 mL
- Pipetas, 5 y 10 mL
- Probeta de 100 mL
- Mortero
- Papel de filtro
- Papel de aluminio
- Embudo simple
- Percolador de vidrio
- Guantes descartables
- Tubos de ensayo
- Frascos viales con tapa
- Papel indicador de pH
- Baguetas
- Placas Petri
- vernier o regla
- pinza punta plana
- hisopos de algodón
- tubos con tapa rosca

Equipos de laboratorio

- Estufa
- Balanza analítica
- Cocinilla eléctrica

- Rotavapor
- Destilador de agua
- peachímetro de sobremesa
- Espectrofotómetro
- termómetro
- baño maría
- vortex
- Autoclave
- incubadora

Reactivos y solventes

- Reactivo de Folin Ciocalteu
- 1,1-diphenil-2-picrilhidracil DPPH
- Limadura de Magnésio
- NaOH
- Hidróxido de amonio
- Reactivo de Dragendorf
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Hager
- Reactivo de Lieberman Burchard
- Alcohol amílico
- Ácido clorhídrico
- Goma arábica
- Etanol industria
- Diclorometano
- benceno
- Agua destilada
- Sol. Salina
- cloruro de bario
- ácido sulfúrico

Medios de cultivo y otros:

- agar Mueller Hilton
- caldo Mueller Hilton
- discos de sensibilidad antibiótica

Material biológico:

Frutos maduros de *Morinda citrifolia L.*

Staphylococcus aureus ATCC 29213

Escherichia coli ATCC 25922

2.3.- MÉTODOS

2.3.1. Descripción del muestreo (proceso de obtención)

El fruto de *Morinda citrifolia L.* (noni) (1Kg) fue adquirido en los abastecedores de frutas del Mercado Modelo en el mes de noviembre del 2023, quienes refieren como procedencia la ciudad de Chachapoyas. Se seleccionaron los mejores frutos en estado maduro, los cuales fueron lavados con agua corriente y se secaron con un paño suavemente para eliminar el material contaminante.

2.3.2. Preparación de las muestras

Medio kilo de fruta madura se separó en dos grupos de 250 g cada una y puestos en recipientes de vidrio con tapa, previamente acondicionados; un grupo fue protegido de la luz (con cubierta oscura) y el otro se permitió el paso de luz (luz difusa). A los 30 días se recolectó el líquido exudado sin presión del fruto. El líquido recolectado y conservado en recipientes con las mismas características de acceso y ausencia de luz fue guardado en el frigidier y rotulado tiempo y condición (con luz y en ausencia de luz).

250 g de fruto maduro es cortado en trozos y llevado a una licuadora para ser reducido suavemente hasta formar una papilla homogénea sin destrozarse las pepas. En una coladera se filtró y el jugo se almacenó en frascos de vidrio con tapa y fue conservado en el refrigerador para su tratamiento fitoquímico, antioxidante y antimicrobiano. El resto se llevó al Museo de Historia Natural para su clasificación botánica.

2.3.3. Tratamiento de las muestras

En las muestras se evaluó las características organolépticas, fisicoquímicas: pH, reacciones de Cloruro Férrico, Shinoda y sólidos totales ¹⁴⁻¹⁶.

Características organolépticas cuya determinación u observación proporciona una primera impresión de la calidad del exudado.

📌 **Olor**

Tomar una tira de papel secante de 1cm de ancho por 10 cm de largo aproximadamente e introducir un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se anota, se determina si corresponde con la característica del fruto fresco.

📌 **Color**

Colocar en una luna de reloj una pequeña cantidad de la muestra de ensayo y observar el color y la transparencia.

📌 **Aspecto**

En una luna de reloj se coloca una pequeña cantidad de muestra previamente mezclada y se observa si es solución homogénea o tiene precipitado o suspensión de partículas propias de la muestra.

Características fisicoquímicas

PH. - Se determinó el pH con un peachimetro de sobremesa HI 221. Hanna de la siguiente manera. Se mezcló cuidadosamente la muestra hasta su homogenización, en un vaso se colocó aproximadamente 30 mL de muestra y 20 mL de agua destilada, se mezcló y colocó el electrodo dentro de la solución. Se leyó y anotó el pH

Reacción de Cloruro Férrico. - En una placa de reacciones a la gota se coloca 5 gotas de la solución de muestra previamente centrifugada y disuelta en etanol y se agrega 3 gotas de la solución de cloruro férrico acuoso al 5%. La reacción es positiva al observar cambio de color a tonos verdes azul y negro.

Reacción de Shinoda. - 5 gotas de la muestra centrifugada y disuelta con etanol se colocan en una placa de reacción, se trata con 3 limaduras de magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. La reacción es positiva si se observa tonos rojos, magenta, violeta azul.

Sólidos totales. - Se calentó una cápsula de porcelana limpia a 103 – 105°C durante una hora. Se dejó en un desecador hasta que se necesitó. Se anotó el peso. Se tomó 10 mL de la muestra bien mezclada y se colocó en la luna previamente pesada y se volvió a pesar. Se colocó en una estufa a 60 °C por una hora y luego se subió la temperatura a 105°C. y se dejó por 2 horas más. Se dejó enfriar en un desecador y se pesó en una balanza analítica. (% p/p)

El porcentaje de sólidos totales se obtuvieron mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Sólidos totales} = \frac{(C-A) \times 100}{(B - A)}$$

Donde:

A= Peso de la placa seca y limpia (g)

B= Peso de la placa + muestra húmeda (g)

C= Peso de la placa + muestra seca (g)

Screening Fitoquímico: Se trabajó con 25g de papilla (fruto fresco) y se procedió según metodología de Lock O¹⁶.

2.3.4. Actividad antioxidante por el método de neutralización del radical libre DPPH

El método empleado en este trabajo es el propuesto por Brand-William et al, 1995; con algunas modificaciones.

Este método consiste en secuestrar o neutralizar al radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil por una muestra que tenga esa capacidad

Fundamento del método. - El radical libre DPPH en solución etanólica o metanólica es de color violeta y absorbe a 517 nm; cuando reacciona con una muestra (compuesto puro o extracto) es neutralizado debido a una disminución de su concentración observándose ese efecto por un cambio en la coloración a amarillo, así como una disminución de su absorbancia que se lee en espectrofotómetro treinta minutos después.

La reacción entre la sustancia a evaluar (HA) y el DPPH es la siguiente:

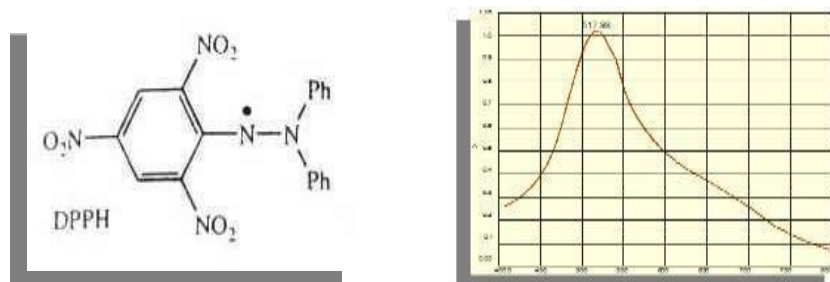


Figura 1 : Estructura molecula DPPH y el espectro de banda a 517 nm

Se determinó la absorbancia de una solución etanólica de DPPH a 517 nm con una absorbancia inicial entre 0.600- 0.700.

Se usó como estándar el reactivo de la vitamina C por tratarse de una muestra tipo fruto, para obtener la capacidad antioxidante equivalente a vitamina C ¹⁷⁻¹⁸.

Preparación de las soluciones:

a) Preparación del radical DPPH:

Se preparó una solución a 0,1 mM de DPPH en 100 mL de etanol, luego se llevó al espectrofotómetro para comprobar que la absorbancia a 517 nm esté entre 0,6 y 0,7. El matraz aforado se cubrió con papel de aluminio para la protección frente a la luz.

b) Preparación de la vitamina C:

Se preparó una solución stock de Vitamina C, equivalente a 50 µg/mL, para luego preparar diluciones finales en tubo de reacción con etanol, cuyas concentraciones estuvieron entre 1 y 7 µg/mL para realizar la curva de calibración.

A partir de estas diluciones de Vit C se agregaron en tubos de ensayo por triplicado, por cada uno de las concentraciones 300 µL de vitamina C y 2700 uL de DPPH. Se mantuvo en la oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente, para después realizar la lectura en un espectrofotómetro UV/VIS a 517 nm.

c) Preparación de la muestra:

Solución de muestra de noni: Se preparó las diluciones de las muestras del exudado del fruto de noni como se muestra a continuación:

Tabla 1: Preparación de las diluciones para trabajar las muestras de noni

MUESTRAS	1 DILUCIÓN	2 DILUCIÓN
0 días	0,1/10mL de etanol	0,1/1mL de etanol
30 días s/L	0,1/10mL de etanol	0,1/1mL de etanol
30 días c/l	0,1/10mL de etanol	0,1/1mL de etanol

Reacción de las muestras

Se tomó 300 μ L de las muestras diluidas y se colocó en 3 tubos de ensayo respectivamente.

Luego se adicionó 2700 μ L del reactivo de DPPH.

Se dejó reposar 30 minutos en oscuridad, luego es llevado al espectrofotómetro para leer su absorbancia a una longitud de onda de 517 nm. Se realizó por triplicado.

Para el cálculo de la capacidad antioxidante equivalente a vitamina C se tomó en cuenta el factor de dilución calculado que fue 1000.

2.3.5. Determinación de polifenoles totales. Método de Folin Ciocalteu.

Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu para la determinación de Compuestos Fenólicos presentes en la muestra de noni.

El Reactivo Folin-Ciocalteu consiste en una solución formada por ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$).

Se produce una reacción óxido-reducción entre el reactivo de Folin-Ciocalteu (se reduce) y los polifenoles (se oxidan).

El reactivo se reduce a óxidos de color azul (óxido de wolframio y de molibdeno) al reaccionar con compuestos fenólicos. Observándose una absorbancia a 760 nm.

Se utilizó también carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20% y una solución stock de ácido gálico 400 g/mL^{19,20}.

a) Preparación de los reactivos:

Reactivo de Folin Ciocalteu (FC): Se diluyó 1/3 en agua para la reacción.

Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%: Se tomó 4g de carbonato de sodio y se diluyó en 20 mL de agua destilada.

Solución stock de ácido gálico (AG) 400 g/mL: Se tomó 4mg de ácido gálico y se diluyó en 10mL de agua destilada.

b) Preparación del estándar de polifenoles:

A partir de la solución Stock de ácido gálico se preparó una solución a una concentración de 100 g/mL, a partir de la cual se prepararon soluciones de 10, 30, 50 y 75 g/mL volumen final de 1000 L.

c) Reacciones

Reacción para el Ácido gálico:

Se tomó 300 μL de cada una de las soluciones preparadas del estándar de ácido gálico obtenido en el paso anterior, con la ayuda de la micropipeta se colocó de forma ordenada en 4 tubos de ensayo rotulados.

A cada tubo se adicionó 450 μL del reactivo de Folin diluido y se dejó reposar por 5 minutos en la oscuridad.

Posteriormente se adicionó 450 μL de carbonato de sodio a cada uno de los tubos y finalmente 1800 μL de agua destilada, se dejó en reposo en un ambiente oscuro por 30 minutos, para después de ese tiempo ser llevado al espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm. Se preparó un Tubo blanco o tubo cero el cual contenía los reactivos adicionados a los tubos anteriores excepto el ácido gálico, el cual sirvió para calibrar el equipo.

Tabla 2 : Batería de reacción final del estándar de polifenoles.

Tubo	Ácido gálico (100 g/mL) μL	Reactivo de Folin μL	Na_2CO_3 20% μL	Agua destilada μL	VF (mL)	CF (g/mL)
0	-	450	450	2100	3	0
1	300	450	450	1800	3	1
2	300	450	450	1800	3	3
3	300	450	450	1800	3	5
4	300	450	450	1800	3	7,5

VF: volumen final, CF: concentración final.

d) Preparación de la muestra:

Solución de muestra de noni: A continuación, las muestras de fruto fresco y del exudado de noni se someten a dilución:

Tabla 3: Diluciones para las muestras del fruto fresco y exudado de noni.

Método Folin Ciocalteu

Muestra	1 dilución	2 dilución
0 d	0,5/5mL de agua	1/2 mL de agua
30 d s/L	0,1 /5 mL de agua	1/3 mL de agua
30 d c/L	0,1/5 mL de agua	1/3 mL de agua

Reacción de las muestras

Se tomó 300µL de las muestras diluidas y se colocó en 3 tubos de ensayo respectivamente.

Luego se adicionó 450µL del reactivo de Folin a cada uno de los tubos de ensayo, se dejó en reposo por 5 minutos en la oscuridad.

Se adicionó 450 µL de carbonato de sodio a cada tubo de ensayo, y finalmente 1800 µL de agua destilada.

Se dejó reposar 30 minutos en oscuridad, para ser llevado al espectrofotómetro y leer su absorbancia a una longitud de onda de 760 nm

Se obtuvieron las absorbancias promedio de las muestras y se llevaron a la ecuación de la recta del ácido gálico para obtener los resultados en mg/ml de polifenoles equivalentes al ácido gálico (tabla 9, figura 6).

2.3.6. Actividad antimicrobiana

Fue realizado en la Facultad de Ciencias, laboratorio de Microbiología donde se obtuvo las cepas:

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Escherichia coli ATCC 25922

Médios de cultivo

Se utilizaron como medios de cultivo; Agar Mueller- Hilton (MH), Agar tripticasa Soya (TSA), agar Mac Conkey, caldo nutritivo (CN) para los microorganismos en estudio.

Controles

El control positivo fue amikacina 30 µg para *E.coli* y ampicilina 10 µg. para *S. aureus*.

Como control negativo: Etanol-agua (1;1)

Preparación del extracto a evaluar: A partir del jugo fresco y del exudado de Noni en presencia y ausencia de luz se prepararon las muestras a la concentración de 100% y 50% usando como disolvente una solución de etanol –agua (1:1).

Reactivación de la especie bacteriana

Las bacterias fueron sembradas por estrías en tubos inclinados de agar TSA (por triplicado) utilizando medios de cultivo selectivos y diferenciales para la confirmación de la especie bacteriana. Se utilizó agar Mac Conkey para el cultivo de *Escherichia coli*, el Manitol salado (AMS) es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento de *Staphylococcus*, se incubó a 37°C por 24 a 48 horas, al cabo de las cuales se observó el crecimiento de las colonias.

Preparación del inóculo

De un cultivo puro de cepas microbianas se eligió una asada de 4 a 5 colonias que presentaron las mismas características morfológicas, las cuales fueron sembradas en caldo nutritivo para bacterias e incubadas a 37°C por 24 horas. Se ajustó la turbidez del inóculo con solución salina o caldo apropiado hasta llegar a una turbidez equivalente al tubo N° 5 de la escala de Macfarland por comparación visual con el estándar que contiene aproximadamente $1-2 \times 10^8$ UFC/ mL. Se utilizó una luz apropiada y se miró los tubos contra un fondo blanco con líneas negras como contraste.

Preparación de las placas

La inoculación de las placas se realizó dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez de la suspensión del inóculo. Las placas previamente rotuladas.

Método de difusión en agar mediante excavación en placa

Fundamento:

El medio de cultivo sólido contenido en la placa y en el que se realiza la siembra de la bacteria a ensayar es perforado con un sacabocado de 0.5 mm de diámetro, seguidamente con una gota del mismo medio se tapiza esta perforación de tal forma que queda una excavación; aquí se deposita 100 µL de extracto a ensayar. Al extracto debe permitírsele que difunda alrededor de la excavación y si este tiene actividad biológica contra el desarrollo de la bacteria en la zona de difusión no crecerá esta.

Técnica:

Se procedió de la siguiente manera:

- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se introdujo un hisopo estéril en la suspensión.
- Se inoculó la superficie seca de la placa de Mueller-Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones y se dejó secar a temperatura ambiente durante 5 minutos

- Se realizaron excavaciones con un sacabocado de 5 mm de diámetro en las cuales se depositaron 100 µl de extracto.
- Las placas se llevan a la refrigeradora entre 3 a 8 °C por 2 horas en posición normal y luego se incubó a 37°C por 24 h en posición invertida.
- Transcurrido el tiempo se leen los halos de inhibición de crecimiento bacteriano.
- Como control negativo se utilizó etanol – agua (1;1) que fue el vehículo del exudado al 50%.

En la figura 2 se indican los procesos de este ensayo.

Lectura:

Se midió el halo de inhibición de cada uno de los discos en las placas en mm

El efecto inhibitorio fue calculado a partir del diámetro (mm) del halo de inhibición del crecimiento bacteriano mediante el porcentaje de inhibición relativa (PIR).

Determinación del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR)

Se utilizó el Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) para comparar los resultados, el cual tiene por finalidad comparar la actividad antimicrobiana de los extractos frente al control positivo del antibiótico, obteniéndose un porcentaje de inhibición ^{21 – 23}

$$PIR = \frac{a \times 100}{b}$$

Donde:

PIR = Porcentaje de Inhibición Relativa

a = Promedio del diámetro del halo de inhibición del extracto.

b = Promedio del diámetro del halo de inhibición del antibiótico estándar

Técnicas de recolección de datos

Para la recolección de datos en la presente investigación se ha empleado lo siguiente:

1. Observación directa: representa ser una fuente primaria de información al examinar las condiciones y circunstancias en que se realiza la parte experimental del estudio.
2. Técnica analítica instrumental: debido a la investigación fue de tipo experimental se empleó las notas de campo, guías de observación y tablas de registro de resultados como instrumentos de trabajo. Además, se recolectó datos de un Espectrofotómetro.

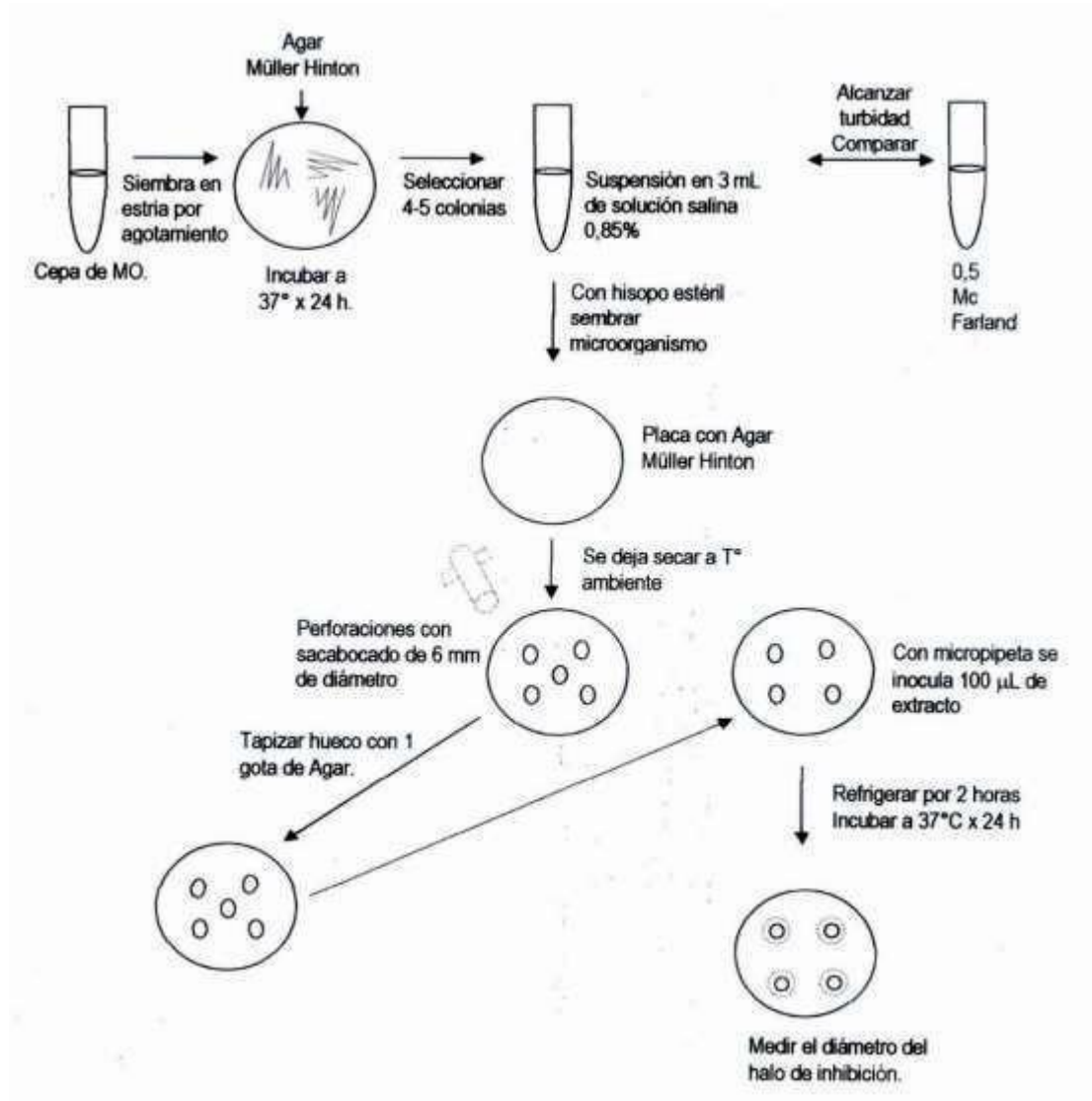


Figura 2: Procesos del ensayo de susceptibilidad antimicrobiana por el método de excavación en placa

III.- RESULTADOS

3.1. DE LA OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS:

Se obtuvo el jugo fresco y el exudado del fruto de Noni a los 30 días después de almacenarlos en un recipiente hermético en presencia y ausencia de luz.

3.2. DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y FISICOQUÍMICAS

Tabla 4: Resultado de la determinación de metabolitos secundarios en el fruto fresco de *Morinda citrifolia* L. (noni)

Metabolitos secundarios	Fracciones					
	A	B	C	D	E	F
Grupos fenólicos libres	+					
Taninos	-					
Triterpenos y/o esteroides		+	+	+		
Nafto-antraquinonas		+		-		
Alcaloides			-	-		
Flavonoides	-			+	+	
Leucoantocianidinas/catequinas				+	+	
Saponinas						-

Fuente: la autora

Los metabolitos secundarios encontrados en el fruto fresco de Noni fueron: triterpenos y/o esteroides, nafto-antraquinonas, flavonoides y catequinas

Tabla 5: Resultado de la determinación de las características organolépticas y fisicoquímicas de los exudados expuestos y no a la luz.

Características	Tiempo de muestreo		
	0d	30 d SL	30 d CL
Color	amarillento	amarillo marrón	Amarillo marrón oscuro
Olor	suigéneris	Suigéneris fuerte	Suigéneris fuerte
Aspecto	líquido uniforme	Líquido turbio y precipitado	Líquido turbio
pH	3.65	3.5	4.0
Grupos fenólicos	+	+++	+++
Flavonoides	+	++	+
Sólidos totales	7.80	5.60	4.02

CL = luz difusa

SL = sin luz

23

Fuente: La autora

3.3. DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

a) De las soluciones patrón de vitamina C

Los resultados de la determinación de la actividad antioxidante de las diluciones patrón de vitamina C se presentan en la tabla y figura siguiente:

Tabla 6: Resultado de la determinación de la actividad antioxidante de la solución patrón de vitamina C

VIT C (µg/mL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	PROMEDIO	DS +/-
0	0.605	0.600	0.602	0.602	0.0025
1	0.463	0.47	0.472	0.468	0.0047
3	0.321	0.31	0.305	0.312	0.0081
5	0.132	0.139	0.145	0.139	0.0065
7	0.01	0.015	0.018	0.014	0.0040

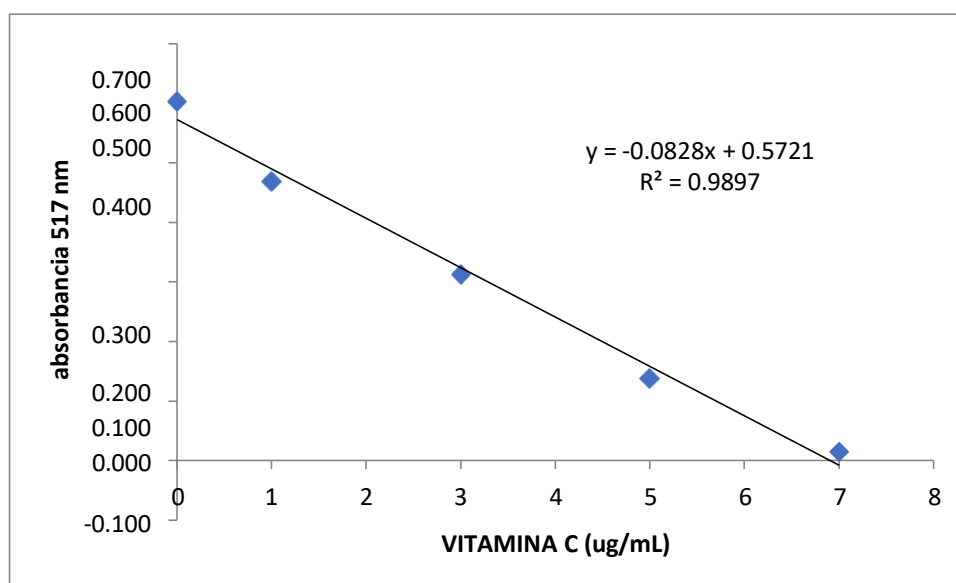


Figura 3 : Curva de calibración de la solución patrón de vitamina C

b) De la actividad antioxidante de los exudados de *Morinda citrifolia L.* en diferentes tiempos con y sin exposición a la luz.

Tabla 7: Resultado de la capacidad antioxidante de los exudados en presencia y ausencia de luz comparados con la actividad de la vitamina C.

Muestra	abs 1	abs 2	abs 3	promedio	resultado	FD	CAE vitC (ug/mL)	CAE vitC (mg/mL)
Noni 0 días	0.452	0.453	0.456	0.454 (+/-0.0021)	1.43	1000	1430.35	1.4303 (+/- 0.0021)
noni 30 días con luz	0.28	0.285	0.29	0.285 (+/-0.005)	3.47	1000	3467.39	3.4674 (+/-0.005)
noni 30 días sin luz	0.254	0.245	0.23	0.243 (+/- 0.012)	3.97	1000	3974.64	3.9746 (+/- 0.012)

CAE: Capacidad antioxidante equivalente a Vitamina C

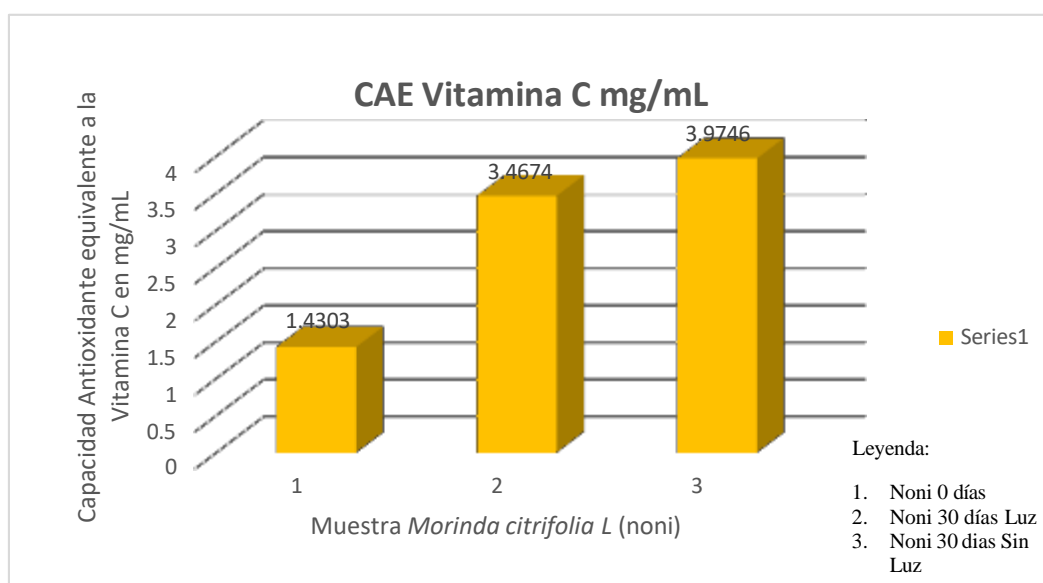


Figura 4: Comparación de la capacidad antioxidante de los exudados de *Morinda citrifolia L.* obtenidos en presencia y ausencia de luz (expresados en equivalente a mg/mL de Vitamina C).

3.4. DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES:

a) De las soluciones patrón de ácido gálico:

Los resultados de la determinación del contenido de polifenoles totales de las diluciones patrón de ácido gálico se presentan en la tabla 9 y figura 5:

Tabla 8: Resultados de las absorbancias de las soluciones patrón de ácido gálico

Soluciones de	ABSORBANCIAS			
ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	PROMEDIO
1	0.15	0.155	0.159	0.155 +/-0.0045
3	0.2	0.225	0.23	0.218 +/-0.0161
5	0.27	0.268	0.259	0.266+/-0.0058
7.5	0.37	0.356	0.35	0.359+/-0.0103

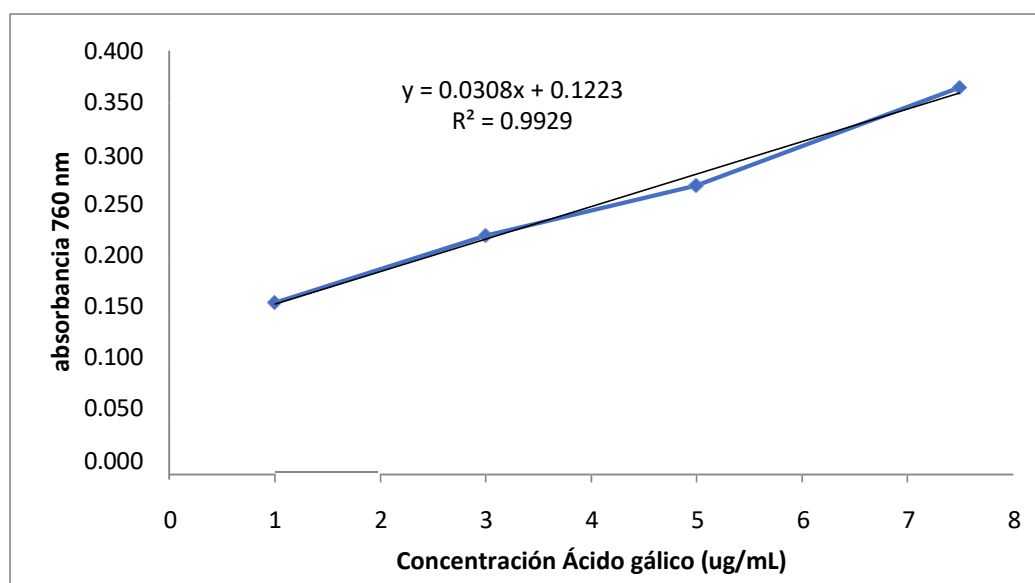


Figura 5: Curva de calibración del ácido gálico

a) **Del contenido de polifenoles totales de los exudados de *Morinda citrifolia L.* en diferentes tiempos con y sin exposición a la luz.**

Tabla 9: Resultado de las absorbancias de las muestras analizadas expresados como mg/mL de polifenoles equivalente a ácido gálico

Muestra	abs 1	abs 2	abs 3	promedio	resultado	FD	ug/mL	mg/mL EAG	mg/100 ml EAG
noni 0 días C.L.	0.61	0.62	0.615	0.615	16.00	20	319.93	0.3199	31,99
noni 30 días C L	0.31	0.299	0.305	0.305	5.92	150	888.15	0.8881	88,81
noni 30 días S.L.	0.325	0.324	0.33	0.326	6.62	150	993.67	0.9937	99,37

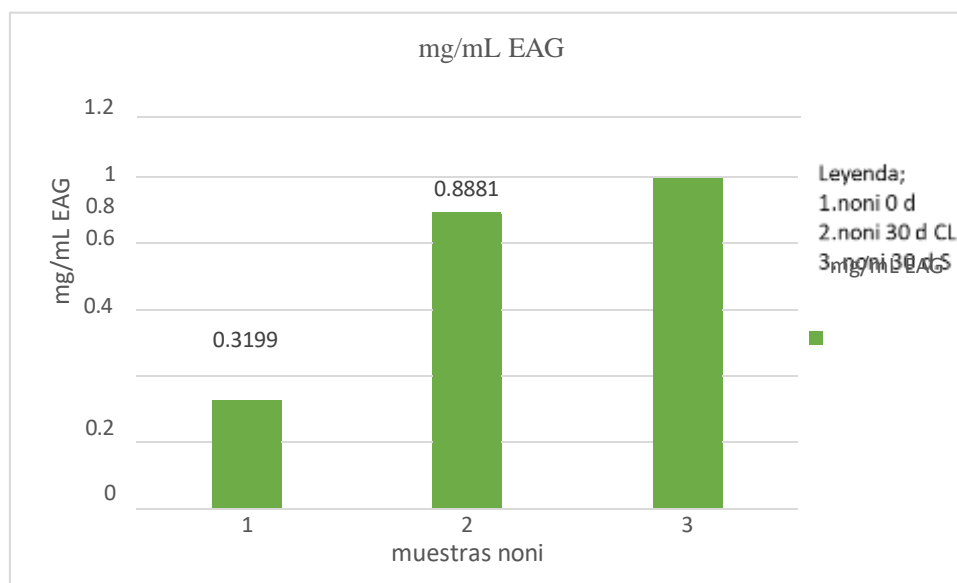


Figura 6 : Comparación del contenido de polifenoles totales en las muestras analizadas expresados como mg/mL equivalente al ácido gálico

3.5. DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

La actividad antimicrobiana del jugo fresco de Noni y de los exudados en presencia y en ausencia de luz se evaluó por la presencia de halos de inhibición y se reporta el valor promedio +/- desviación de cada diámetro luego de tres determinaciones.

En la tabla 10 se puede observar los halos de inhibición de las muestras en presencia y en ausencia de luz frente a las bacterias *S. aureus* y *E.coli* así como el porcentaje de inhibición bacteriana. En la Figura 7 se observa las placas mostrando los halos de inhibición del jugo fresco y de los exudados a 30 días sin luz y en presencia de luz a 100 y 50%.

Tabla 10: Halos y porcentaje de inhibición de las muestras frente a *E. coli* y *S aureus* por el método de difusión por excavación

Muestras	Halo de inhibición (mm)	Porcentaje de inhibición	Halo de inhibición (mm)	Porcentaje de inhibición
	<i>E. coli</i>	PIR	<i>S aureus</i>	PIR
Etanol-agua(1:1)	0	0	0	0
1 a (100%)	0		0	
1 b (50%)	0		0	
2 a (100%)	20 +/- 0.58	71.42	16 +/- 0.89	41.02
2 b (50%)	18 +/- 0.36	64,28	14 +/- 1,0	35.90
3a (100%)	12 +/- 0.45	42.86	14 +/- 0.68	35.90
3b(50%)	10 +/- 0,59	35.71	14 +/- 0.85	35.90
Amikacina 30 µg	28 +/- 0.75		----	
Ampicilina 10 µg	-----		39 +/- 0.60	

- 1: jugo fresco
- 2: exudado 30 días sin luz
- 3. Exudado 30 días con luz y
- a: 100% b: 50%.

Se puede observar que el exudado conservado sin luz al 100% a 30 días, presenta la mejor actividad frente a las bacterias estudiadas, siendo mayor para *E.coli*, de igual manera dentro de las muestras al 50% conservado sin luz se observó mayor actividad antibacteriana para *E. coli* que para *S aureus*.

Los exudados al 100 y 50% en presencia de luz presentaron similar actividad frente a *S aureus* y ligeramente diferente frente a *E. coli*

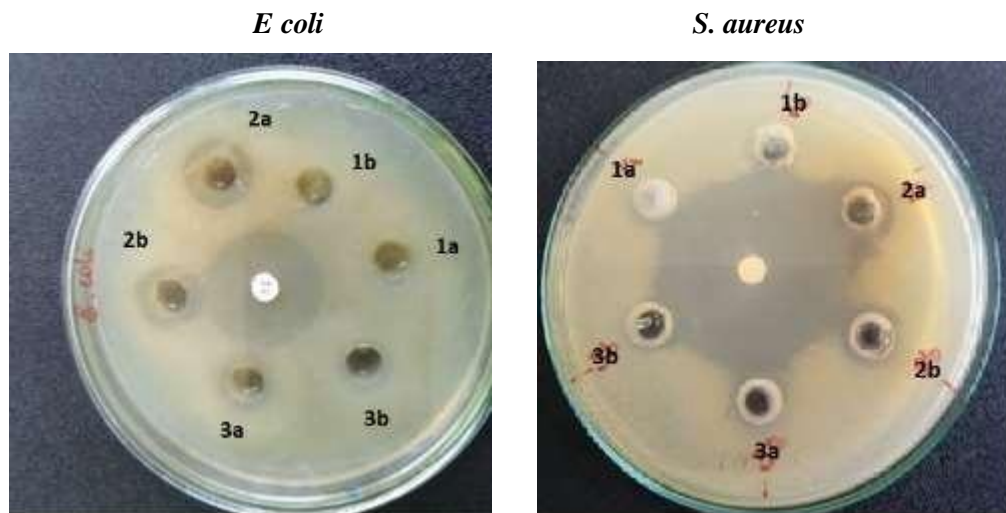


Figura 7 : Actividad antibacteriana de jugo fresco de noni (1) y exudado a los 30 días: 2 (SL) , 3 (CL) frente a E coli y a S. aureus

- 1: jugo fresco
- 2: exudado 30 días sin luz
- 3. Exudado 30 días con luz y
- a: 100% b: 50%.

IV.- DISCUSIÓN

En la actualidad la incidencia de enfermedades infecciosas y tropicales se ha incrementado en las diversas regiones del Perú. El Ministerio de Salud está preocupado por controlarlas, combatir las y evitar complicaciones dentro de ellas la resistencia bacteriana frente a los antibióticos ya conocidos. Nosotros como profesionales de la salud podemos contribuir de diferentes maneras en la solución de la problemática de salud de la población una de ellas es buscar nuevas fuentes de antibacterianos que resulten más potentes y eficaces, así como que estén al alcance de la población.

Las plantas medicinales, las cuales abundan en nuestro país han resultado ser fuentes importantes de sustancias medicinales dentro de ellas compuestos con actividad antioxidante y antimicrobianos y otras.

Morinda citrifolia L. (noni) es una planta medicinal utilizada por los pobladores desde tiempos antiguos para el tratamiento de muchas dolencias, enfermedades crónicas y degenerativas. En la actualidad se consume este producto de diferentes maneras, como jugo de fruta fresca sola o combinada con otras especies o luego de un proceso de fermentación por algunos días. Los reportes populares indican que el fruto tiene efectos para la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas y degenerativas y como quiera que estos están mediados por estrés oxidativo se hizo necesario identificar si el exudado obtenido a los 30 días de almacenamiento conserva sus propiedades antioxidantes y si tiene efecto antibacteriano.

En este trabajo considerando la estabilidad del producto y la apariencia aceptable del exudado, se obtuvo este a los 30 días de fermentación en ausencia y en presencia de luz, y se comprobó su efecto inhibitorio sobre dos tipos de bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, como representativas de bacterias gram positivas y gram negativas, respectivamente en presencia y en ausencia de luz, en comparación con el jugo del fruto fresco.

Los metabolitos secundarios presentes en el jugo del fruto fresco de *Morinda citrifolia L.* (noni) fueron: triterpenos y/o esteroides, nafto-antraquinonas, flavonoides y catequinas coincidente con lo reportado anteriormente y por otros autores ^{6,7,8,9,10}. No se detectó la presencia de alcaloides por los métodos y procedimientos aplicados en el fruto fresco de noni,

Respecto a las características organolépticas y fisicoquímicas del fruto y los exudados obtenidos a los 30 días, se pudo observar algunos cambios con el tiempo. El color fue oscureciéndose con el tiempo indistintamente si el exudado haya sido almacenado en presencia o ausencia de luz. El olor se hizo más intenso a los 30 días de almacenamiento en ambos casos con luz y sin luz.

El aspecto fue variado de un líquido amarillento uniforme a un líquido heterogéneo con partículas y precipitado al finalizar el tiempo del estudio en el exudado en ausencia de luz.

El pH mantuvo su acidez en el exudado protegido de la luz hasta el final de los 30 días lo que no ocurrió con el exudado almacenado a la luz difusa pudiendo ser por transformación de algunos

compuestos durante el proceso de fermentación por la actividad enzimática o por la liberación de compuestos propios del fruto.

Respecto a los fenoles libres se detectó un aumento a los 30 días en ambos grupos de muestras (almacenados con luz difusa y en ausencia de luz). La reacción para flavonoides fue mejor a los 30 días para el exudado almacenado en ausencia de luz.

El fruto fresco de *Morinda citrifolia* L. presento buena actividad antioxidante equivalente a 1.43 mg de vitamina C por mL de jugo , si multiplicamos por 100 obtenemos una actividad equivalente a la vitamina C de 143 mg/100mL de jugo resultado muy cercano al reportado por Yang y col⁸(140mg/100ml) pero a diferencia de ellos en la presente investigación la actividad antioxidante fue aumentando con el paso de los días en todos los casos, siendo algo menor cuando la muestra fue almacenada en presencia de luz difusa. A los 30 días el exudado de noni sin luz presentó una actividad antioxidante equivalente de 3.97 mg/mL de muestra o 397 mg/100 mL, 3 veces mayor que el fruto fresco posiblemente por la actividad enzimática activa del fruto y de algunos microorganismos que con el paso de los días producen cambios en las estructuras de los compuestos como glucósidos fenólicos y otros responsables de la actividad antioxidante los que se liberan o hidrolizan y aumentan así la actividad antioxidante.

Respecto al contenido de polifenoles totales el jugo del fruto fresco presento un total de polifenoles de 31.9 mg/100mL equivalente al acido gálico a diferencia de los reportado por Yang quien reporta 210 mg/100 mL equivalente al acido gálico. La diferencia puede deberse a su procedencia, este último recolectado en las Isla de Guam del Archipiélago de las islas Marianas del Pacifico occidental.

A los 30 días el contenido de polifenoles aumentó en 177.62% y 210.62% para el exudado almacenado con luz y en ausencia de luz respectivamente, lo cual puede deberse al aumento de flavonoides como fue reportado por Wang et al (2021) ⁴; quienes demuestran que los flavonoides van aumentando hasta los 63 días de fermentación.

En el estudio microbiológico realizado podemos ver por los resultados obtenidos que los exudados de noni a los 30 días conservado en ausencia de luz y con luz presentan buena actividad antibacteriana frente a las dos cepas estudiadas. Los halos de inhibición fueron mayores en el exudado conservado en ausencia de luz frente a *E. coli* (20mm) (PIR 70%) que ha *S. aureus*.(16mm)(PIR 40%) estos exudados según la clasificación dada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS) (21) para los halos de inhibición y comparado con la amikacina para *E coli* y *S aureus* estarían considerados dentro del grupo de sensibles (S) (> 17). Por lo que podemos decir que *E coli* es sensible al exudado al 100% y al 50% conservado sin luz. El mismo es de sensibilidad intermedia frente a *S aureus* (15-16mm). El exudado a 30 días con luz a 100 y 50% es resistente comparado a la Ampicilina (< de 14mm).

El jugo del fruto fresco de Noni fue inactivo frente a las dos bacterias ensayadas *E, coli* y *S aureus* a la concentración de 100 y 50 %

Rodríguez, M et al. (2014) ¹³ determinaron que el liofilizado del exudado del fruto de *Morinda citrifolia* L. por el método de disco difusión, fue: inactivo frente a *Escherichia coli* a concentraciones de 100 a 800 mg/ml, poca actividad a concentración de 900 mg/ml; en tanto frente a *Staphylococcus aureus* también demostró ser inactiva a concentraciones de 100 a 800 mg/ml y poco activa a concentración de 900 mg/ml.

Los resultados de esta investigación coinciden con lo reportado por Rodríguez et al.¹³ al no encontrar actividad para el fruto fresco frente a *E coli* y *S aureus*. La diferencia estaría en el tiempo y forma de conservación pues a los 30 días el exudado que obtuve con luz y sin luz mostraron buena actividad (mejor el sin luz). Tras el reposo de 30 días, la actividad enzimática parece que libera los compuestos fenólicos y otros que serían los responsables de la actividad antibacteriana reportada en este trabajo.

El mecanismo de acción de los compuestos fenólicos fue explicado por Murphy Cowan ²⁴ éstos pueden inactivar enzimas esenciales, reaccionar con la membrana celular o alterar la función del material genético. La aparición de mayor número de grupos hidroxilo aumenta la actividad antimicrobiana formando complejos con los aminoácidos nucleofílicos de las proteínas de la membrana bacteriana y causan daño a la célula.

En este trabajo se demostró que:

Los exudados obtenidos en ausencia de luz y hasta por 30 días aumentan su contenido en polifenoles y su actividad antioxidante, así como presentan buena actividad antibacteriana contra *E coli* y algo menor contra *S. aureus*.

V.- CONCLUSIONES

1. El fruto fresco de *Morinda citrifolia L.* (noni) presentó: triterpenos y/o esteroides, nafto-antraquinonas, flavonoides y catequinas.
2. Las características organolépticas, pH y sólidos totales del exudado obtenido hasta los 30 días con presencia y ausencia de luz sufrieron cambios con el tiempo.
3. El jugo del fruto fresco de *Morinda citrifolia L.* (noni) presentó una actividad antioxidante equivalente a la vitamina C de 1.43 mg/mL de muestra determinada por el método de neutralización del radical libre DPPH. y el exudado obtenido a los 30 días en ausencia y en presencia de luz presentaron mayor actividad antioxidante (3.97 y 3,46 mg equivalentes a la vitamina C por ml respectivamente).
4. El contenido de contenido de polifenoles totales en el jugo del fruto fresco de *Morinda citrifolia L.* (noni) fue de 31.9 mg/100mL equivalente al ácido gálico. A los 30 días el contenido de polifenoles aumentó siendo ligeramente mayor en el almacenado en ausencia de luz (99.37 mg/100ml EAC).
5. En la estimación microbiológica realizado por el método de excavación en placa el jugo del fruto fresco de *Morinda citrifolia* no presentó actividad antibacteriana contra cepas *E coli* ATCC 25923 y *S aureus* ATCC 29213. El exudado obtenido a los 30 días conservado en ausencia de luz al 100% presenta buena actividad antibacteriana (PIR 70%) contra *E coli* y una actividad intermedia (PIR 40%) frente a *S aureus*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio fitoquímico para determinar y separar los metabolitos secundarios presentes en el exudado del fruto de *Morinda citrifolia L* obtenido a los 30 días en ausencia de luz.
2. Evaluar la actividad antioxidante por otros métodos como ABTS y FRAP en el exudado del fruto de *Morinda citrifolia L*. obtenido a los 30 días en ausencia de luz
3. Determinar la Concentración mínima inhibitoria CMI del exudado del fruto de *Morinda citrifolia L*. obtenido a los 30 días frente a *E.coli* y *S aureus* y frente a otras bacterias y hongos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Suriyaprom S, Mosoni P, Leroy S, Kaewkod T, Desvaux M, Tragoolpua Y. "Antioxidants of Fruit Extracts as Antimicrobial Agents against Pathogenic Bacteria. *Antioxidants*". 21 de marzo de 2022;11(3):602.
2. González Lavaut Nirda E, González Lavaut José A. "*Morinda citrifolia* Linn.: potencialidades para su utilización en la salud humana". 2003;37(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152003000300006&lng=es.
3. Nirwana D, et al. Increasing antioxidant activity of soursop (*Annona muricata* L.) and noni (*Morinda citrifolia* L.) leaves fermented by *Lactobacillus plantarum* BP102. *Berala Penelitian Hayati*. ISSN: 08526834/E-ISSN:2337-389X . Vol 27(N2.)June 2022.
4. Wang Z, Dou R, Yang R, Cai K, Li C, Li W. Changes in Phenols, Polysaccharides and Volatile Profiles of Noni (*Morinda citrifolia* L.) Juice during Fermentation. *Molecules*. 29 de abril de 2021;26(9):2604.
5. Barra Flores J. "Actividad antioxidante, polifenoles totales y vitamina C del zumo de noni (*Morinda Citrifolia* L.) obtenido por prensado neumático provenientes de la Provincia de Satipo". [Internet]. 2019. Disponible en: <https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/1208/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Robledo Pérez, Karla Paola; Buenaño Schol, Jimena; Maúrtua, Morales, Stefania. "Efecto de la fermentación alcohólica en el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante en el extracto del fruto maduro del noni (*Morinda Citrifolia* L.)" [Internet]. 2017. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10757/62319>
7. Villacorta Villacorta, Giuliano Giancarlo, Pérez Valdez, Aileen Margaret. "Actividad antioxidante in vitro de las hojas y frutos de *Morinda citrifolia* Linn. mediante el método de secuestro de radicales libres 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazilo (DPPH)" [Internet]. 2011. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/3672>
8. Yang J, Paulino R, Janke-Stedronsky S, Abawi F. "Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage". *Food Chem*. enero de 2007;102(1):302-8.
9. Alarcón Bustamante, Solange Isbel, Velarde Rodríguez, Nicole Alexandra. "Evaluación de actividad antimicrobiana en extractos metanólico, etanólico en semilla, hoja de noni

- (*Morinda citrifolia* L.), Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Cándida albicans" [Internet]. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas; 2019. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/43469>
10. Castillo MA, Pascual SYM, CunhaNune LC, et al.2 "Evaluation of the antimicrobial activity of extracts from leaves and seeds of *Morinda citrifolia* L. (noni)". Rev Cuba Plant Med. 2014;19(4):374-82.
 11. Beteta Blas, Xiomara. "Actividad antimicrobiana in vitro del noni (*Morinda citrifolia*) sobre Escherichia coli y su efecto inmunomodulador en cuyes, en Tingo María" [Internet]. 2018. Disponible en: <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/1884>
 12. Vázquez H. Carolina I." Caracterización fitoquímica y evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de productos derivados de la hoja de Noni (*Morinda citrifolia* L.)" [Internet]. [Culiacán, Sinaloa, México]: Universidad Autónoma de Sinaloa-Facultad de Ciencias Químico Biológicas; 2019. Disponible en: https://mcta.uas.edu.mx/pdf/repositorio/2016-2018/06_Vazquez_Herrera_Carolina.pdf
 13. Rodríguez Vargas, Mercedes Teresa Violeta, Zevallos Souza, Fredy Daniel. "Actividad antibacteriana in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. y planta entera de *Notholaena nivea* (Poiret) Desv, frente a escherichia coli, staphylococcus aureus y enterococcus faecalis", IMET - EsSalud 2013 [Internet]. 2013. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/3688>
 14. Universidad Tecnológica de Panamá, Centro de Investigaciones Hidráulicas e, Hidrotécnicas, Laboratorio de Sistemas Ambientales. "Procedimiento para la Medición de Sólidos Totales" [Internet]. 2006. Disponible en: <https://utp.ac.pa/documentos/2011/pdf/PCUTP-CIHH-LSA-211-2006.pdf>
 15. Mahabir P. Gupta SR del B Luis, Pinzón Roberto. "Manual de técnicas de investigación. Proyecto X-1. Búsqueda de principios bioactivos en plantas de la región". Colombia: SubprogramaX. Química Fina Farmacéutica; 1995. 225 p.
 16. Lock de Ugaz, Olga. "Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales" [Internet]. segunda edición. Lima: Fondo editorial PUCP; 1994. 326 p. Disponible en: <https://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/181719>
 17. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity". LWT - Food Sci Technol. 1995;28(1):25-30.

18. Sanchez Chagua, William; Ramos Aparcana, Karenl. "Evaluación de la actividad antioxidante y efecto hepato protector de Esphilantes leiocarpa. D.C. en ratas con lesión hepática inducida por paracetamol". 2013.
19. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. [14] "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En: Methods in Enzymology" [Internet]. Elsevier; 1999 [citado 19 de abril de 2022]. p. 152-78. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0076687999990171>
20. Geogé S, Brat P, Alter P, Amiot MJ. "Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products". J Agric Food Chem. 1 de marzo de 2005;53(5):1370-3.
21. Instituto Nacional de Salud. "El antibiograma de discos. Guía para la normatización de la técnica de Kirby Bauer" [Internet]. 1986. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/antibiograma-de-discos.pdf>
22. Aquiahuati Ramos, María de los Angeles, Pérez ChabelaMaría de Lourdes. "Manual de Prácticas. Laboratorio de Microbiología General [Internet]. Primera edición. Mexico"; 2004. 123 p. Disponible en: https://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL_RAMO_S_MARIA_DE_LOS_ANGELES_Manual_de_practicas_de.pdf
23. MINSA. "Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión". 2002. [internet]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/353004-manual-de-procedimientos-para-la-prueba-de-sensibilidad-antimicrobiana-por-el-metodo-de-disco-difusion>
24. Murphy Cowan, Marjorie, "Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical microbiology reviews", 0893-8512/99/\$04.0010. Oct. 1999, p. 564–582., Vol 12, N°4. American Society for Microbiology

ANEXOS



Foto 1. Frutos frescos y maduros



Foto 2. Vista de los recipientes con los frutos almacenados en presencia de luz y en ausencia de luz



Foto 3. Jugo fresco de Noni



Foto 4. Jugo de noni a los 30 días, con luz y sin luz



Foto 5. Soluciones para determinación de polifenoles: Método fe Folin Ciocalteu