



Evaluación de las propiedades antibacterianas del jugo de noni
(*Morinda citrifolia*)

Proyecto genérico: Obtención de materias primas,
principios activos, medicamentos y productos biológicos

Etapa: Extracción de principios activos o sustancias
auxiliares a partir de productos naturales



PRESENTA: ORTEGA CENTENO ÁNGEL

MATRICULA:21763065080

ASESORES:

HUGO CÉSAR RAMÍREZ SAAD (ASESOR INTERNO)

MARÍA EUGENIA DE LA TORRE HERNÁNDEZ (ASESORA EXTERNA)

Introducción

Las plantas tienen la capacidad de sintetizar diversos compuestos, que en muchos casos les sirven como mecanismos de defensa contra microorganismos, insectos y herbívoros. Atendiendo a ello, el humano ha dirigido sus investigaciones a la identificación y aislamiento de estas sustancias que tienen actividad antimicrobiana y ha logrado probar que un gran número de especies vegetales **inhiben el crecimiento de bacterias y hongos patógenos para el humano**. En el presente trabajo, se buscó evaluar las propiedades antimicrobianas del jugo de Noni (*Morinda citrifolia*) sobre las bacterias *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. y *Staphylococcus aureus*, seleccionadas por su importancia como patógenos humanos.

Marco Teórico

***Morinda citrifolia*: Generalidades**

Es un árbol de la familia Rubiaceae conocido popularmente como noni, originario de las islas de la Polinesia y ha tenido múltiples usos desde hace más de 2 000 años hasta nuestros días. El fruto de esta planta es utilizado como antiinflamatorio, antiséptico, antibacteriano, antiviral, antifúngico, antihelmíntico, analgésico, hipotensor e inmunoestimulante (Castillo., *et al.*, 014).

De acuerdo con los usos en medicina tradicional y popular debe destacarse que varias partes de la planta son utilizadas para controlar la fiebre y como tónico para mejorar la función del sistema digestivo; las hojas, las flores, los frutos y la corteza, para tratar enfermedades de los ojos, piel, abscesos, problemas respiratorios (como constipación y fiebre), además de problemas estomacales; las hojas infundidas en agua, para eliminar la tos, náusea y cólico; el jugo de las hojas es tomado para tratar la artritis. De esta manera, el noni, la llamada "fruta milagrosa", ha ayudado a combatir algunas enfermedades desde hace más de 1000 años principalmente en poblaciones del sureste de Asia y la polinesia, y cuyo uso se ha extendido hasta nuestros días. En el presente, la fruta y sus preparados son populares en la medicina tradicional debido a sus notables beneficios, mismos que podrían comprobarse científicamente (Dixon., *et al.*, 1999).

Actualmente existen dos variedades reconocidas de *M. citrifolia*: *citrifolia* y *bracteata*. La variedad más común es *citrifolia*, siendo también la que posee mayor importancia en la investigación científica y económica. Hay médicos tradicionales que pueden distinguir entre estas variedades por características como el tamaño, la forma de la hoja, además del olor de la fruta; sin embargo, en la mayoría de las investigaciones sobre sus propiedades y características bioquímicas, no se hace distinción entre las variedades (Vuanghao, L., & Laghari, M. H. 2017).

Características Bioquímicas

Se considera que *M. citrifolia* tiene un alto valor nutricional dado que, a partir de diferentes partes de la planta, se han identificado y aislado cerca de 200 compuestos fitoquímicos con propiedades bioactivas. Es importante mencionar que la composición bioquímica de estos fitoquímicos difiere no sólo de acuerdo con la parte de la planta de la que han sido obtenidos, sino también en relación con el lugar de origen y el periodo de cosecha, no obstante, la optimización de las prácticas agrícolas postcosecha, así como las tecnologías de procesamiento, han ayudado a que el margen de diferencia entre lugares y temporada de cosecha disminuya gradualmente (Chan-Blanco *et al.*, 2006).

Motshakeri M. y Ghazali H. M., (2015) hicieron pruebas para determinar la composición nutricional de la planta de noni y mostraron que la fruta madura tiene aproximadamente un 90 % de agua y un 10 % de materia seca. La materia seca se compone principalmente de sólidos solubles de los cuales el 5% son azúcares reductores (fructosa y glucosa) y el 1.3% es sacarosa. El resto de los sólidos solubles consiste en proteínas y fibra dietética. Según Dar y colaboradores (2009), una muestra de 100 g de polvo de fruta se compone de aproximadamente 71 % de carbohidratos, 36 % de fibra y 5,2 % de proteína. Estos resultados coinciden con un estudio realizado en México durante las diferentes etapas de madurez de la fruta , encontrando que tiene altos niveles de proteína soluble, carbohidratos, ácido ascórbico, rutina y fenoles (Lewis Luján et al., 2014). A continuación se presenta una tabla que resume los principales compuestos bioactivos del fruto de *M. citrifolia* que han sido publicados.

Tabla 1. Principales compuestos bioactivos de *M. citrifolia*

Compuesto Bioactivo	Clasificación Bioquímica	Cantidad (mg/g)	Actividad Biológica	Referencia
Alizarina	Antraquinonas	7.797	Citotóxico	Kiathevest et al. (2009)
Rubiadina		Sin determinar	Citotóxico	Kiathevest et al. (2009)
Rutina	Flavonoides	2.75	Antioxidante, antiviral, antiinflamatorio	Deng et al. (2008)
Quercetina		1.59	Antiinflamatorio antioxidante	Deng et al. (2008)
Beta-caroteno	Carotenoides	19.09	Citotóxico, antioxidante, antiviral	West et al. (2011)
Ácido Caprilico	Ácidos grasos	Sin determinar	Antimicrobiano, antibacteriano	Dittmar (1993)
Ácido Hexanoico		Sin determinar	Antifúngico. antioxidante	Dittmar (1993)
Acido caproico		Sin determinar	Antifúngico	Jayaraman et al. (2008)
Aucubina	Iridoides	Sin determinar	Bactericida	Elkins (1998)
Ácido asperulosídico		38.79	Inmunoestimulante, antibacteriano	Sang et al. (2001) West et al. (2012)
ácido Desacetilasperulósico		Alrededor de 100	Antibacteriano	(West et al., 2011)

Tomado de Almeida É. S., Oliveira, D., & Hotza, D. (2019) y Vuanghao, L., & Laghari, M. H. (2017).

La fruta de noni también es rica en sacáridos como la metil-D-fructofuranosido, pentacetil-glucopiranososa y un conjunto propio de azúcares que sólo se encuentran en esta parte de la planta, denominados noniósidos (Almeida E. S., Oliveira D., & Hotza D., 2019). Además de fitoquímicos (como flavonoides, carotenoides e irioides) y selenio que tienen propiedades antioxidantes, en el fruto se ha identificado la presencia de 17 aminoácidos (de los 20 proteogénicos), incluyendo los 9 que se consideran esenciales para los humanos.

Componentes bioactivos según el tipo de extracto de la fruta de noni (EFN)

La fruta de noni ha mostrado tener varios beneficios para la salud humana, incluida la capacidad antioxidante atribuida a las moléculas de Americanin A, neolignano y dimetilpironesinol, así como su alto contenido en compuestos fenólicos (Inada et al., 2017). La utilización del EFN ha atraído mucho la atención de los consumidores en general, así como de las industrias alimentaria y farmacéutica puesto que no posee el fuerte olor desagradable característico de las frutas de noni y su jugo.

Se ha determinado que la eficiencia de extracción y los perfiles químicos de los ingredientes activos en las plantas se ven afectados por la elección del solvente de extracción. La eficiencia de extracción depende de la composición de los constituyentes fitoquímicos, el tiempo de extracción, la temperatura, la proporción entre el soluto y el solvente; en particular es relevante la polaridad del solvente. Actualmente, la extracción de constituyentes fitoquímicos se ha logrado usando una variedad de solventes tradicionales, que incluyen agua, metanol (MeOH), etanol (EtOH), acetona, cloroformo y acetato de etilo (EtAC), que se usan comúnmente para extraer los ingredientes activos de los productos naturales y, en este caso, para extraer los diversos productos fitoquímicos de la fruta de noni (Li et al., 2021).

Las Tablas 2 y 3 muestran el contenido de los principales componentes fitoquímicos identificados en el noni, que tienen actividad biológica, y el tipo de solvente empleado para su extracción.

Tabla 2. Contenido de fenoles totales (TPC) y de iridoides totales (TIC) de los EFN obtenidos con diferentes solventes de extracción.

Solventes de Extracción	TPC (mg GAE/g PS)	TIC (mg CE/g PS)
H ₂ O	8.95 ± 0.05	12.80 ± 0.1
MeOH 70%	8.02 ± 0.03	22.35 ± 0.16
EtOH 70%	11.69 ± 0.04	26.38 ± 0.08
Acetona 70%	9.00 ± 0.03	17.08 ± 0.03
Acetato de etilo	0.61 ± 0.01	1.5 ± 0.02
ChCl-EtG	11.01 ± 0.06	23.17 ± 0.1
Bet-Gly	11.89 ± 0.06	19.20 ± 0.08

Tomada y modificada de Wang R., et al., 2022

Tabla 3. Contenido de los principales compuestos bioactivos de EFN, obtenidos con diferentes solventes.

	Solventes de Extracción				
	H ₂ O	70% MeOH	70% EtOH	70% Acetona	EtAc
Iridoides (mg/g PS)					
Ácido Deacetilasperulosídico	18.23	18.04	22.65	14.95	0.0045
Ácido asperulosídico	6.46	6.77	9.31	5.84	0.28
Cumarinas (µg/g PS)					
Escopoletina	171.11	210.21	221.87	175.35	9.77
Ácidos Fenólicos y Flavonoides (µg/g PS)					
Ácido gálico	922.98	323.46	1179.44	1529.29	148.35
Ácido clorogénico	219.93	466.99	277.15	66.52	70.35
α-catequina	652.29	231.22	137.85	229.87	0
Ácido p-hidroxibenzoico	111.57	101.09	93.76	89.05	0
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	0	390.63	336.96	0	0
Ácido cafeico	24.11	11.29	6.76	0	0
Rutina	301.52	623.48	389.00	437.33	0
Vainillina	8.40	7.62	6.77	7.84	0
Ácido ferúlico	0	5.86	29.69	24.98	0
Isorhamnetin-3-O-galatosido	131.52	246.51	0	0	0
Kaempferol 3-O-rutinodido	75.24	55.55	39.45	46.07	0
Kaempferol 3-O-glucosido	699.47	1230.04	909.31	949.5	0
Ácido salicílico	1293.63	2524.07	2039.49	1860.03	169.08
Quercetina	232.88	365.55	314.80	293.41	0
Contenido total de fenoles	4673.54	6583.36	5760.43	55339	387.78

Tomada y modificada de Wang R., et al., 2022

Actividad antibacteriana

El potencial antibacteriano que ejerce *M. citrifolia* sobre una gran variedad de diferentes linajes de especies bacterianas proviene de los metabolitos secundarios presentes en las diferentes estructuras de la planta. Entre los más destacados como compuestos bacteriostáticos están la acubina (un iridoide) y la pentacetil-γ-glucopiranos. Estos compuestos fueron identificados en la pulpa de la fruta de noni y mostraron acción antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Staphylococcus aureus*. También se ha probado la eficacia que tiene la extracción de compuestos fenólicos del fruto de *M. citrifolia* con los diferentes solventes tradicionales, los cuales tuvieron actividad antibacteriana contra un gran número de especies como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Vibrio harveyi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Salmonella paratyphi A*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *Chromobacterium violaceum* y *Enterobacter faecalis* (Almeida E. S., Oliveira D., & Hotza D., 2019).

En el estudio realizado por Wang R. y colaboradores, en 2022, se determinaron varias concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de diferentes EFN en tres bacterias grampositivas (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y tres gramnegativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Pseudomonas aeruginosa*). Los resultados mostraron que los EFN obtenidos con etanol al 70% exhibieron una actividad antimicrobiana más fuerte que los extractos obtenidos con otros solventes, especialmente contra *Escherichia coli* con los valores de CMI más bajos para *Listeria monocytogenes* (0.098 mg/mL), *Staphylococcus aureus* (0.049 mg/mL), *Bacillus subtilis* (0.024 mg/mL), *Escherichia coli* (0.024 mg /mL), *Salmonella typhimurium* (3.125 mg/mL) y *Pseudomonas aeruginosa* (0.781 mg/mL). Los EFN fueron más efectivos contra las bacterias grampositivas que las bacterias gramnegativas, excepto *Escherichia coli*, porque las paredes de las células gramnegativas constan de tres capas funcionales y la membrana externa contiene lipopolisacárido (LPS) que actúa como una barrera eficaz contra los agentes externos. Este estudio y junto con otros previos como el de Casagrande et al., 2018 y Jayaraman et al., 2008, han verificado que los metabolitos secundarios, como los ácidos fenólicos, flavonoides, terpenoides, iridoides y alcaloides, desempeñan papeles cruciales en la actividad antimicrobiana contra diferentes bacterias.

Altamirano L y Castro E. (2017), demostraron *in vitro* el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* sobre *Staphylococcus aureus*; en el estudio se utilizó una concentración inicial de *Staphylococcus aureus* de 1.5×10^8 UFC/ml que fueron expuestos a la acción del extracto etanólico de *M. citrifolia*, observándose que hubo mayor halo de inhibición del crecimiento conforme se incrementaron las concentraciones del principio activo (400 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml, 800 mg/ml y 900 mg/ml), siendo la concentración de 900 mg/ml la que mostró un mayor halo de inhibición (16.22 mm), de igual forma se probó el efecto del extracto etanólico sobre *Pseudomonas aeruginosa* la cual no presentó sensibilidad alguna.

De Rodríguez y Zevallos, en 2014, determinaron la concentración mínima inhibitoria de un exudado liofilizado del fruto de noni sobre las cepas ATCC25932 de *Escherichia coli*, ATCC25923 de *Staphylococcus aureus* y ATCC29212 de *Enterococcus faecalis*. Los resultados obtenidos demostraron que, para el caso de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, a concentraciones de 100 a 600 mg/ml no hay formación de halo inhibición, de 700 a 800 mg/ml se observa una leve formación del halo y a una concentración de 900 mg/ml se forma un halo de inhibición de alrededor de 7.3 mm de diámetro. Para el caso de *Enterococcus faecalis*, las concentraciones de 800 y 900 mg/ml mostraron un escaso efecto, se formó un pequeño halo de inhibición, pero aun así la actividad del fruto en este ensayo se categorizó como inactivo. Llegaron a la conclusión de que el exudado liofilizado del fruto de *Morinda citrifolia*, a una concentración máxima de 900mg/ml, tiene un leve efecto antibacteriano sobre las bacterias Gram-positivas utilizadas en el ensayo (*Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*), mostrando, a su vez, un efecto antibacteriano considerable sobre *Escherichia coli*, que es una bacteria Gram-negativa.

Por último, Alarcón Bustamante, S. I., y Velarde Rodríguez, N. A. (2019), realizaron un estudio de la actividad antimicrobiana de dos extractos alcohólicos (etanólico y metanólico) de las semillas de noni, a diferentes concentraciones, sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y la levadura *Cándida albicans* mediante el método de Kirby Bauer. Se logró determinar que los extractos etanólico y metanólico de la semilla de noni frente a las dos bacterias sí presentan actividad antimicrobiana en las cuatro concentraciones probadas (25, 50, 75 y 100%), de manera que a la

concentración de 100 % es donde se evidencia mayor actividad antimicrobiana, aumentando a las 48 horas de inoculación, ya que *S. aureus* formó halos de inhibición de 19, 20, 22 y 24 mm y *E. coli* de 23, 26, 27 y 29 mm. Sin embargo, estos mismos extractos no presentaron actividad antimicrobiana frente a *Cándida albicans*.

Escherichia coli

Pertenece a las enterobacterias, una familia de bacterias compuesta por numerosas especies Gram-negativas. Se trata de bacilos rectos generalmente flagelados peritricos y, por tanto, móviles. Pueden multiplicarse tanto en condiciones aerobias como anaerobias, se encuentran normalmente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas, sin embargo, algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de la ingesta de alimentos contaminados como carne cruda o poco cocida, leche cruda u hortalizas y semillas germinadas (Meng, J., LeJeune, J. T., *et al.*, 2012).

A la toxina Shiga se les conoce así por su semejanza con las toxinas producidas por *Shigella dysenteriae*. La cepa de *E. coli* productora de esta toxina puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7 y 50 °C, con una temperatura óptima de 37 °C. Algunas pueden proliferar en alimentos ácidos, hasta a un pH de 4.4, y en alimentos con actividad de agua (a_w) mínima de 0.60 (WHO, 2018).

Pseudomonas aeruginosa

Dentro de las infecciones nosocomiales más frecuentes, que pueden afectar a pacientes inmunosuprimidos, se encuentran las producidas por *Pseudomonas aeruginosa*. Se trata de bacterias Gram-negativas, aeróbicas, con motilidad unipolar. Estos patógenos oportunistas en humanos son capaces de desarrollar multi-resistencia a antibióticos y poseen una alta capacidad de adaptación a condiciones adversas, como por ejemplo el pH y la osmolaridad de la orina, lo que contribuye a la dificultad en el tratamiento de estas infecciones (Paz-Zarza, V. M., *et al.*, 2019)

Estas bacterias también tienen la capacidad para producir una serie de proteasas y elastasas, enzimas capaces de degradar múltiples proteínas inmunoreguladoras, incluyendo las proteínas surfactantes A y D, proteínas del complemento, inmunoglobulinas y péptidos antibacterianos, lo que facilita la formación de la biopelícula y genera la formación de microcolonias, que crecen por la adhesión de nuevas bacterias, dando lugar a coinfecciones crónicas más difíciles de tratar (Driscoll JA, Brody SL, Kollef M., 2007).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus es una bacteria anaerobia facultativa, Gram-positiva, y es de gran relevancia médica. Desde hace tiempo se le ha reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano. El género *Staphylococcus* forma parte de la familia Micrococcaceae, y contiene más de 30 especies diferentes, muchas de las cuales son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del humano. El principal impacto de este microorganismo se debe a las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), que tradicionalmente se encontraban limitadas al ámbito hospitalario, produciendo infecciones nosocomiales a nivel mundial. Sin embargo, en años recientes las cepas MRSA han aparecido en la comunidad, provocando problemas de salud en muchos países. La prevalencia de estas cepas en la población común, no sólo en los hospitales, se ha incrementado sustancialmente, dificultando su control (Bustos-Martínez, J. A., *et al.*, 2006).

Justificación

El árbol del noni ha sido usado desde tiempos antiguos como un remedio tradicional contra diferentes padecimientos y se le han atribuido diversas propiedades, entre ellas, la capacidad de ser usado como un eficaz agente antimicrobiano. Es por ello que, en el presente trabajo, se llevó a cabo la evaluación, determinación y caracterización de las propiedades antimicrobianas del jugo del fruto de noni, que es la parte más utilizada de la planta. Para dicha evaluación se utilizaron tres bacterias elegidas por su importancia clínica como patógenos humanos, principalmente en hospitales y para gente inmunodeprimida. De esta manera se buscó comprobar y/o refutar la actividad antimicrobiana del jugo de noni, según fuera el caso.

Objetivo General

- Evaluar *in vitro* las propiedades antimicrobianas del jugo del noni (*Morinda citrifolia*) sobre las bacterias Gram-negativas *Escherichia coli* y *Pseudomonas sp* y sobre la bacteria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*.

Objetivos Específicos

1. Determinar las propiedades fisicoquímicas del jugo de la fruta *Morinda citrifolia*
2. Evaluar la actividad antimicrobiana del jugo de *Morinda citrifolia* sobre las bacterias seleccionadas (*E. coli*, *Pseudomonas atacamensis*, *Staphylococcus aureus*).
3. Hacer extractos acuosos y acetónico de *Morinda citrifolia* y probar su actividad antibacteriana.

METODOLOGIA

1. Obtención y caracterización fisicoquímica del jugo de noni, exudado y extracto acetónico. preparación del extracto acetónico del exudado

Las frutas de noni fueron proporcionadas en el laboratorio de Ecología Molecular de la UAM-Xochimilco, procedentes de Morelos. Las frutas se dividieron en dos grupos, el primer grupo se licuó para formar una pulpa espesa, la cual se dejó en reposo en el refrigerador para separar la fase acuosa del resto de la pulpa; a esta fracción se le nombró “recuperado acuoso”. En cuanto al segundo grupo de frutas, se dejaron en reposo durante 7 días sin molerse o licuarse, de ellas se obtuvo un líquido oscuro proveniente de la fruta al que denominamos “exudado”. Ambas fracciones fueron recolectadas y utilizadas para los análisis posteriores.

1.1 Concentración de proteína

Obtenido el exudado y el recuperado acuoso se procedió a concentrarlos en tubos Milipore con un filtro (membrana) de 30,000 MWCO. Los tubos fueron centrifugados a 3500 rpm durante 15 minutos para un total de dos ciclos por tubo. Al final se recuperó el volumen que pasó a través de la membrana (filtrado) y aquel que se retuvo (concentrado).

1.2 Medición de pH

Se determinó el pH del recuperado acuoso y exudado, mediante el uso de un potenciómetro calibrado con buffers comerciales a pH conocidos.

1.3 Cuantificación de proteínas

Se determinó la cantidad de proteína por el método colorimétrico de Lowry (Orea Coria *et al.*, 2018) en el jugo de noni, el exudado (fase filtrada y concentrada), el recuperado acuoso (RA fase filtrada y concentrada). La cuantificación de proteínas se llevó a cabo en diluciones seriadas desde 1:2 hasta 1:256.

1.4 Determinación de azúcares reductores

Se utilizó el método colorimétrico de Miller o DNS (Orea Coria *et al.*, 2018), para determinar la cantidad de azúcares reductores presentes en el jugo de noni, el exudado (fase filtrada y concentrada), y el recuperado acuoso (RA fase filtrada y concentrada). La cuantificación de azúcares se llevó a cabo en diluciones seriadas desde 1:2 hasta 1:256.

1.5 Preparación de buffers y geles de acrilamida

La preparación de los buffers se realizó en base a cantidades estandarizadas, tal y como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 4. Cantidades de reactivos para la preparación de buffer y geles para electroforesis de proteínas

Buffer de corrida 1 L	Buffer de muestra 10 ml	Buffer gel separador 100 ml	Buffer gel concentrador 100 ml	Gel separador 15 % 10 ml	Gel concentrador 5 % 10 ml
3 g Tris base 14.4 g Glicina 1 g SDS Agua	0.6 ml Tris 1M 6.8 pH 5 ml Glicerol 50 % 2 ml SDS 10% 1.3 ml Agua 1 ml Azul de bromofenol 1%	75 ml Tris 2M 8.8 pH 4 ml SDS 10% 21 ml Agua	50 ml Tris 1M 6.8 pH 4 ml SDS 10% 46 ml Agua	5 ml Acrilamida 2.5 ml Buffer 2.5 ml agua 100 µl persulfato de amonio 10% 15 µl TEMED	0.67 ml Acrilamida 1 ml Buffer 2.3 ml agua 50 µl persulfato de amonio 5 µl TEMED

1.5 Carga de muestras en los geles y condiciones de corrida

Los geles se colocaron en la unidad de electroforesis evitando la formación de burbujas y restos de acrilamida en los pozos. Se cargó un volumen final de 20 µl a cada pozo (14 µl de muestra, 3 µl de buffer de carga y 3 µl de NaOH); del marcador de peso molecular (Precision Plus Protein Dual Color Standards, BioRad, No. cat.), se cargaron 10 µl. Se conectaron los electrodos al tanque de electroforesis y a la fuente de alimentación eléctrica a un voltaje constante de 100V, aproximadamente durante 40 min, hasta que se observó que el frente de corrida alcanzo el final del gel.

1.6 Tinción con azul de Coomassie

Terminada la electroforesis, el gel se pasó a un recipiente de vidrio para dos lavados de 1 minuto cada uno con agua Milli-Q. Terminados los lavados, el gel se sumergió en 15 ml de solución de

proteínas (40% metanol, 10% de ácido acético) durante 1 hora y posteriormente en 15 ml de la solución comercial de tinción Coomassie Brilliant Blue G-250 (BioRad, No. cat.) y se incubó toda la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente se recuperó la solución de tinción y se lavó con la solución de destinción (50 ml metanol, 50 ml ácido acético y 400 ml de agua). Se hicieron en total 3 lavados de 30 minutos cada uno y se dejó destiñendo durante la noche o hasta haber eliminado por completo la coloración del fondo; posteriormente se hizo un lavado con agua Milli-Q 5 min. y se conservó el gel en solución de destinción a 4°C.

2. Obtención de las bacterias y evaluación de las propiedades antibacterianas del jugo de noni, exudado y recuperado acuoso.

2.1 Pseudomonas sp

Fue proporcionada por el laboratorio de Ecología Molecular de la UAM-X en un cultivo criopreservado en glicerol al 25%. Se cultivó en medio TY líquido y sólido (Tryptona 5.0 g/L, extracto de levadura 3.0 g/L, CaCl₂ 1.0 g/L y agar 1.5 %); a partir de cultivos líquidos se prepararon nuevos gliceroles al 25% para la conservación de la cepa a -80°C.

2.2 Escherichia coli DH5α

Fue proporcionada por laboratorio de Ecología Molecular de la UAM-X en un cultivo criopreservado en glicerol al 25%. Se cultivo en medio LB líquido y sólido (Tryptona 10 g/L, extracto de levadura 5.0 g/L, NaCl 10 g/L y agar 1.5 %); a partir de cultivos líquidos se prepararon nuevos gliceroles al 25% para la conservación de la cepa a -80°C.

2.3 Staphylococcus aureus ATCC29213

Fue proporcionada por el laboratorio de Biología Molecular de la UAM-X en forma de cultivo liquido aislado. Se cultivo en medio TY líquido y solido (Anexo 1); a partir de cultivos líquidos se prepararon nuevos gliceroles al 25% para la conservación de la cepa a -80°C.

2.4 Preparación de medios sólidos y líquidos TY y LB

Para limitar el crecimiento bacteriano y hacer una mejor evaluación de las propiedades antimicrobianas del jugo de noni, los componentes de los medios de cultivo TY o LB se adicionaron a la mitad de la concentración habitual (LB: Tryptona 5 g/L, extracto de levadura 2.5 g/L, NaCl 5 g/L; TY: Tryptona 2.5 g/L, extracto de levadura 1.5 g/L, CaCl₂ 0.5 g/L), el único componente cuya concentración se mantuvo fue el agar (1.5%), esto para obtener la consistencia deseada de un medio sólido.

2.5 Cultivo de bacterias

Se inocularon 5 ml de medio liquido (TY o LB, conforme corresponda) con 500 µl del crio preservado en glicerol de *Pseudomonas sp.*, *E. coli* y *S. aureus* (en tubos independientes) y se dejó en agitación a 37 °C toda la noche, esto con el propósito de obtener la cantidad suficiente de UFC/ml como para llevar a cabo los ensayos de actividad antibacteriana.

2.6 Cuantificación de las UFC/ml

De los cultivos de *Pseudomonas* sp., *E. coli* y *S. aureus* se tomó 1 ml de cada uno, así como 1 ml de medio líquido TY y LB (blancos), los cuales se colocaron en celdas plásticas para espectrómetro (asegurándose que estén completamente limpias) y se mide su absorbancia a 600 nm. La determinación de las UFC/ml se lleva a cabo por la siguiente ecuación:

$$\frac{UFC}{ml} = \frac{ABS - 0.094}{1.218 \times 10^{-9}}$$

2.7 Inoculación del medio y adición del noni

Se partió del método original de Kirby-Bauer, el cual se modificó para adecuarlo a las características del experimento. Mientras los medios de cultivo sólidos (TY o LB, según correspondiera) aún estaban tibios debido a la esterilización, se inocularon con 8×10^6 UFC/ml de la bacteria indicada.

Una vez inoculados los medios, se mezclan bien y se vacían en las cajas de Petri (25 mL en cada una). Gelificado el medio se hicieron pequeños pozos (6 por caja) con ayuda de una punta estéril para micropipeta, mismos que se recubrieron con agar agua 0.75% para sellarlos. Posteriormente, a cada pozo se le añadieron 100 μ l de exudado, exudado 1:2, o recuperado acuoso, según correspondiera. Las cajas se sellaron e incubaron a 32 °C por 20 horas.

2.8 Medición de los halos de inhibición

Tras las 20 horas de incubación, se midió el diámetro del halo formado alrededor de cada uno de los pozos y se determinó tanto el porcentaje como el índice de inhibición. Se hicieron los promedios de las repeticiones y se calculó la desviación estándar por cada bacteria y condición.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{diámetro del halo} - \text{diámetro del pozo})}{\text{diámetro del halo}} \times 100$$

$$\text{índice de inhibición} = \frac{(\text{diámetro del halo} - \text{diámetro del pozo})}{\text{diámetro del halo}}$$

Con los datos obtenidos de las mediciones se llevó a cabo un análisis de la varianza (ANOVA) para comparar las varianzas entre las medias de diferentes grupos, enseguida se aplicó la prueba de Tukey para determinar si existen diferencias significativas (α 0.05) en el efecto que tienen las distintas fracciones del noni sobre el crecimiento de las bacterias de prueba.

3. Preparación del extracto acetónico del exudado y medición de su actividad antimicrobiana

3.1 Elección del solvente

Se probaron diversas extracciones utilizando como solventes cloroformo, agua, etanol (en frío y caliente) y acetona, de los cuales la mejor opción fue la acetona (tomando en cuenta las limitaciones de laboratorio al no contar con un rotavapor).

3.2 Extracción

Se llevó a cabo usando un embudo de separación al cual se adicionaron, en partes iguales, la acetona (25 ml) y el exudado (25 ml). Posterior a su vertido en el embudo, este se agitó vigorosamente repetidas veces para mezclar bien ambos líquidos y se dejó en reposo durante 48 horas.

3.3 Separación de fases

Tras las 48 horas de reposo las fracciones del extracto fueron recuperadas, cuidando que no se volvieran a mezclar, en vasos de precipitado. En total se formaron 3 fracciones, siendo la fracción intermedia la de mayor volumen (30 ml). Los tres vasos se dejaron en reposo de 48 a 72 horas a temperatura ambiente, dentro de la campana de extracción.

3.4 Resuspensión

Tras la evaporación total del solvente y el exudado en las fracciones previamente obtenidas, se procedió a re suspender los restos en el vaso de precipitado (sólo se recuperó la fracción intermedia), con un volumen equivalente de agua al adicionado de solvente al inicio, es decir 25 ml. El extracto se guardó en un tubo Falcon de 50mL y se refrigeró hasta su uso.

3.6 Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana

Se repitieron los pasos 1.1 a 1.6 y 2.4 a 2.8 de la metodología, utilizando el extracto acetónico como formulación.

RESULTADOS

1. Propiedades fisicoquímicas del jugo de noni

1.1 pH

Se determinó en las tres principales formulaciones del jugo de noni, mismas que se utilizaron a lo largo de las pruebas de actividad antimicrobiana. Como se puede observar en la tabla 6 las tres comparten un pH similar.

Tabla 6. Medición de pH		
Exudado	Recuperado Acuoso	Extracto Acetónico
3.74	3.76	3.66

*Las tres mediciones fueron realizadas en el mismo día y con el mismo potenciómetro, el cual se calibró previamente la medición de las muestras presentadas.

1.2 Proteína

En la tabla 7 se presenta la cuantificación de proteínas de las diferentes muestras que se obtuvieron a partir de la fruta de noni, su exudado y el extracto acetónico. Cabe destacar que el valor reportado de proteínas corresponde al promedio de las cuantificaciones hechas por triplicado.

Tabla 7. Cuantificación de Proteínas		
Muestra	Cantidad (mg/ml)	Error estándar
Exudado	6.63	0.22
RA (recuperado acuoso)	1.66	0.08
Exudado concentrado	11.85	0.11
Exudado filtrado	3.83	0.12
RA concentrado	1.36	0.12
RA filtrado	1.11	0.19
Extracto Acetónico concentrado	6.54	0.27

1.3 Azúcares reductores

En la tabla 8 se presenta la cuantificación de azúcares reductores de las diferentes muestras que se obtuvieron a partir de la fruta de noni, su exudado y el extracto acetónico. Cabe destacar, que el valor reportado de azúcares reductores corresponde al promedio de las cuantificaciones hechas por triplicado.

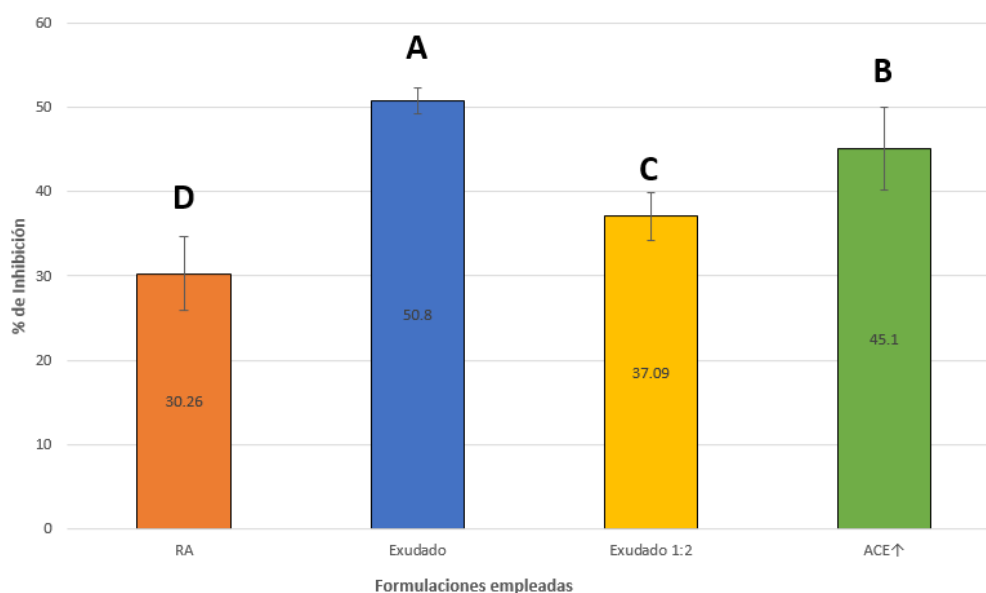
Tabla 8. Cuantificación de Azúcares Reductores		
Muestra	Cantidad en mg/ml	Error estándar
Exudado	43.86	1.20
RA	8.91	0.61
Exudado concentrado	31.99	5.39
Exudado filtrado	38.29	4.05
RA concentrado	13.66	0.98
RA filtrado	12.91	0.80
Extracto Acetónico concentrado	42.17	1.34

2. Actividad antimicrobiana

En las figuras 1, 2 y 3 se muestran los porcentajes de inhibición de cuatro diferentes formulaciones del jugo de noni sobre las bacterias *E. coli* (Figura 1), *Pseudomonas sp.* (Figura 2) y *S. aureus* (Figura 3). Los resultados obtenidos fueron promediados y las medias fueron comparadas mediante ANOVA; se utilizó la prueba de Tukey para identificar grupos de medias en los que haya diferencias significativas.

En la figura 1, se observa que la formulación más efectiva contra *E. coli* fue el exudado con un porcentaje de inhibición de 50.8 mientras que la de menor efectividad fue el RA con solo 30.26%, además de eso la prueba de Tukey arrojó que las medias de cada formulación empleada pertenecen a un grupo diferente, es decir que existen diferencias significativas entre sí.

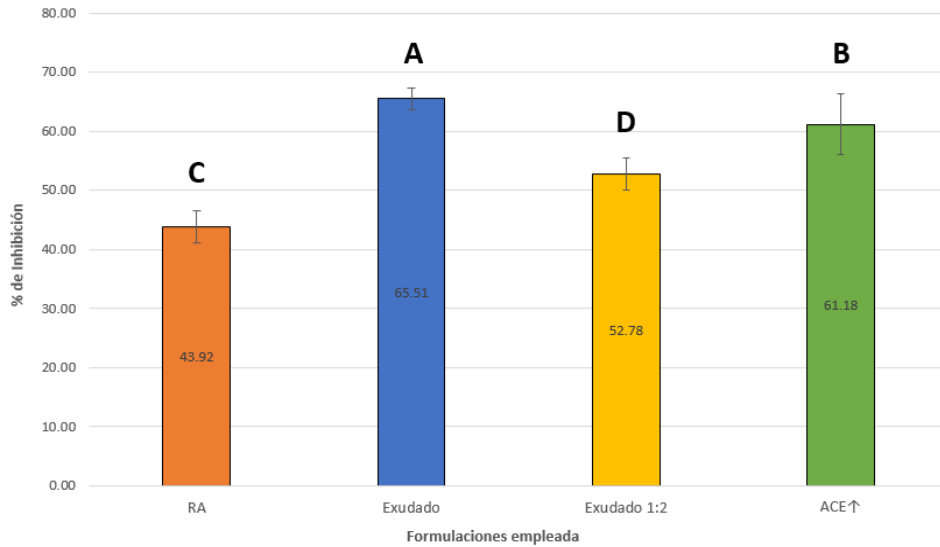
Figura 1. Porcentaje de inhibición de diferentes formulaciones de noni sobre *E. coli*



**Escherichia coli* DH5 α . Cada letra sobre las barras del gráfico significa un grupo de medias distinto, agrupadas en orden descendente en cuanto al porcentaje de inhibición reportado. RA = recuperado acuoso, Exudado 1:2 = Exudado al 50%, ACE↑ = extracto acetónico concentrado.
n = 36 (por cada formulación)
El ANOVA y Tukey se llevaron a un IC95% $p < 0.05$

En cuanto a la figura 2 que compara los porcentajes de inhibición las formulaciones empleadas sobre *Pseudomonas sp.*, se puede apreciar que los resultados son similares a los de la figura 1. En cuanto los porcentajes de inhibición, *Pseudomonas sp.* presenta los valores más altos, siendo el exudado con 65.51% el de mayor eficacia y el RA con 43.92% el de menor eficacia.

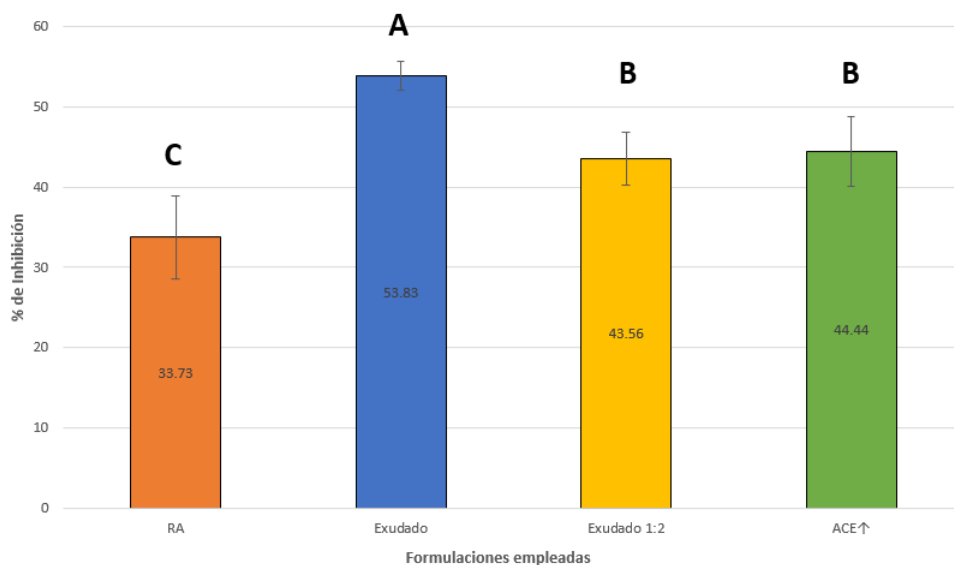
Figura 2. Porcentaje de inhibición de diferentes formulaciones de noni sobre *Psuedomonas sp.*



**Psuedomonas sp.* Cada letra sobre las barras del grafico significan un grupo de medias distinto, agrupadas en orden descendente en cuanto al porcentaje de inhibición reportado. RA = recuperado acuoso, Exudado 1:2 = Exudado al 50%, ACE↑ = extracto acetónico concentrado.
n = 36 (por cada formulación)
El ANOVA y el Tukey se llevaron a un IC95% $p < 0.05$

Para la figura 3 correspondiente a los resultados de *S. aureus*, se observa un cambio en cuanto a *E. coli* y *Psuedomonas sp.* ya que tanto el exudado 1:2 como el ACE↑, forman parte del mismo grupo de medias, es decir que sus valores no presentan diferencias significativas entre sí. Sin embargo, el patron del exudado como formulación más efectiva y el RA como la menos efectiva se mantiene con porcentajes de inhibición de 53.83 y 33.73 respectivamente.

Figura 3. Porcentaje de inhibición de diferentes formulaciones de noni sobre *S. aureus*



**Staphylococcus aureus* ATCC29213. Cada letra sobre las barras del gráfico significan un grupo de medias distinto, agrupadas en orden descendente en cuanto al porcentaje de inhibición reportado. RA = recuperado acuoso, Exudado 1:2 = Exudado al 50%, ACE↑ = extracto acetónico concentrado.
n = 36 (por cada formulación)
El ANOVA y Tukey se llevaron a un IC95%, $p < 0.05$

3. Perfil proteico de las formulaciones del jugo de noni

Lo principal a destacar del gel son las bandas más significativas de los carriles 3, 4 y 5 están señaladas del lado derecho del gel, corresponden a tamaños de proteína aproximados a los 45, 30 y 17 kDa, tomando como referencia el marcador de peso molecular utilizado en el carril 1.

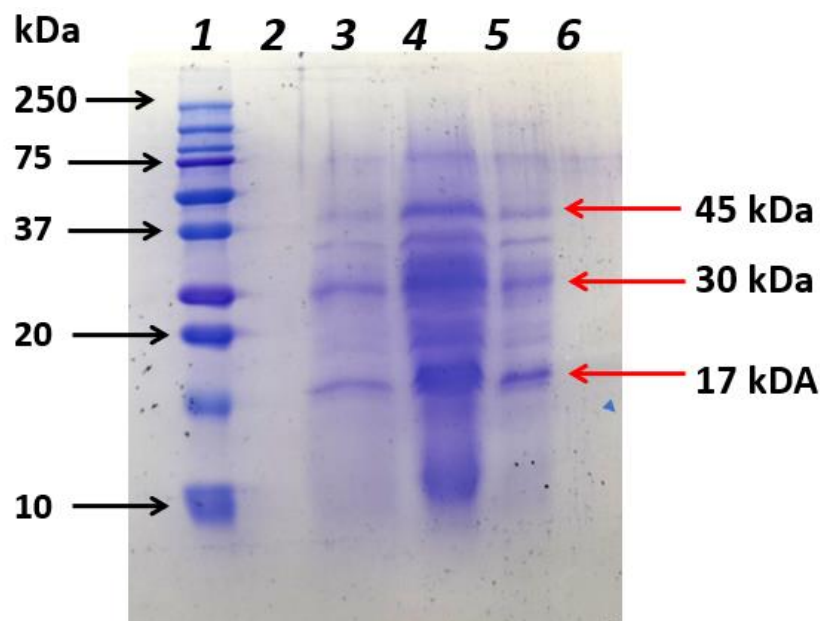


Figura 4. Gel de poliacrilamida al 15%. Se observa en el carril 1 el marcador de peso molecular, carril 2 vacío, carril 3 el exudado, carril 4 exudado (fase concentrada), carril 5 exudado reciente (fase concentrada), carril 6 exudado (fase filtrada). En cada pozo se vertió un total de 20 μ l: 2 μ l de buffer de carga, 2 μ l de NaOH y 16 μ l de exudado. Así el carril 3 tiene 106 μ g de proteína, el carril 4 190 μ g y el carril 6 61 μ g. La cantidad de proteína en el carril 5 no fue determinada con anterioridad. Solo se añadieron 10 μ l en el carril 1.

DISCUSION

Como se puede observar en la Tabla 6, el pH de las tres principales formulaciones del jugo de noni coinciden en un rango reducido de pH siendo notoriamente ácido, de igual manera es importante recalcar que estos valores coinciden en buena medida con los reportados por otros autores como Nascimento et al. (2018), Faria et al. (2014), Da Silva et al. (2012) y Chun Hieng (2003), quienes midieron el pH de la fruta de noni y coinciden en un rango de 3.72 a 4.3. No sorprende el pH ácido del noni, cuando se caracteriza por tener un sabor excesivamente ácido y un olor penetrante, dichas características se acentúan en sus formulaciones, principalmente en el exudado de la fruta.

Si bien, no se determinaron proteínas y azúcares específicos a lo largo del trabajo es interesante observar la correlación que existe entre la cantidad de proteínas reportada en la Tabla 7, así como

de azúcares reductores en la tabla 8, con el porcentaje de inhibición, ya que, a mayor cantidad de proteínas y azúcares contenidos, mayor es el halo de inhibición observado (Ver Anexo 1, Figuras 5, 6 y 7); este patrón se repitió con las tres bacterias en estudio. A partir de los datos obtenidos se hizo un análisis de varianza (ANOVA), seguido de la prueba Tukey, lo que permitió observar que existen diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes formulaciones de noni probadas, sobre el crecimiento las tres bacterias estudiadas. La fracción de noni que tuvo el mejor efecto inhibitorio fue el exudado, seguido del extracto acetónico del exudado y, por último, el recuperado acuoso (RA); las cantidades de proteína y azúcares reductores determinados en estas muestras indican que la que tiene un mayor efecto también tiene una mayor concentración de estas macromoléculas. Sin embargo, el porcentaje de inhibición en las bacterias no fue homogéneo, *Pseudomonas sp.* mostró ser más susceptible al noni, seguido de *S. aureus* y por último *E. coli*, la cual presentó mayor tolerancia a las tres formulaciones de noni, esto se puede concluir tras la observación de los halos de inhibición (ver Anexo 1, Figuras 5, 6 y 7) y tras la medición de estos mismos halos podemos ver que el porcentaje de inhibición en *Pseudomonas sp* (figura 3) es mayor al de *S. aureus* (figura 2) y *E. coli* (figura 1), la comparación se puede llevar a cabo dado que se usaron las mismas concentraciones tanto de noni como de UFC/ml. La tolerancia puede deberse a características específicas de la bacteria entre las que destacan la composición de la membrana externa, la cantidad de lipopolisacáridos, las enzimas propias de cada bacteria, la velocidad de crecimiento bacteriano e incluso la cepa (Vuanghao, L., & Laghari, M. H. 2017). La tolerancia de *E. coli* hacia el noni observada en este trabajo es algo inusual y va en contra de lo mencionado con anterioridad por Wang R. et al., 2022, quienes habían llevado a cabo pruebas en diferentes tipos de bacterias, tanto Gram-negativas como Gram-positivas, con varios extractos de la fruta de noni, hallando que estos extractos solían ser más efectivos contra bacterias Gram-negativas (*E. coli*) que Gram-positivas (*S. aureus*), sin embargo, cabe destacar que la composición de los extractos usados por Wang R. et al., 2022 así como por Altamirano L. y Castro E., 2017, son diferentes a las formulaciones de noni que se usaron en este trabajo, ya que mucho importa el tipo de solvente que se haya ocupado para la extracción, como se puede observar en las tablas 2 y 3 (Wang R., et al., 2022) el solvente determina en gran medida la cantidad y tipo de TPC y TIC, compuestos a los que se les atribuye en buena parte de las cualidades antibacterianas del noni y sus extractos, de igual manera es sabido que la fruta del noni es poseedora de fitoquímicos que no se encuentran en otras frutas, los cuales pueden ser más o menos solubles en diversos solventes (aunque por regla general entre más polar sea el solvente mejor será la extracción de los constituyentes fitoquímicos), es probable que si se hubiera utilizado etanol o metanol como solvente principal, los resultados obtenidos se hubieran podido asemejar un poco más a la literatura referida, sin embargo, esta información abre un abanico de posibilidades en cuanto a la efectividad de las diferentes formulaciones o extractos sobre distintas bacterias. En cuanto a la proteína presente en la fruta de noni, aún no se han publicado estudios sobre su composición específica ni sus cualidades en el ámbito de las propiedades antibacterianas del noni, sin embargo, dada la cantidad presente en las formulaciones de noni usadas, cuyo perfil electroforótico se caracterizó por presentar bandas más abundantes con pesos moleculares de aproximadamente 10, 15, 25 y 50 kDa (Figura 4) no se puede descartar que parte de la actividad antimicrobiana del jugo de noni y sus extractos sea debida, también a la presencia de alguna proteína o péptido con actividad antimicrobiana. El jugo de noni y sus formulaciones tienen indiscutiblemente propiedades antibacterianas prometedoras tanto en bacterias Gram-positivas como Gram-negativas, dichas propiedades son

debidas en parte a las propiedades fisicoquímicas del jugo de noni (y sus formulaciones) como el pH, la cantidad y tipo de azúcares reductores así como de proteínas presentes, pero también al tipo de solvente o extracto que se haya hecho a partir del jugo de noni, ya que este determinará en gran medida la cantidad y tipo de fitoquímicos presentes. Sin duda, la investigación con fines terapéuticos alrededor de esta fruta debe continuar y buscar un enfoque orientado tanto a los TPC y TIC como a los péptidos presentes, ya que como en muchos otros casos de productos naturales, la actividad antibacteriana no se debe a un único componente, sino a la combinación de varios.

CONCLUSION

En relación con el objetivo general podemos decir que se ha cumplido satisfactoriamente al determinar que el jugo de noni y sus formulaciones (las cuales son más efectivas que el jugo en sí mismo) poseen propiedades antimicrobianas sobre las tres bacterias utilizadas a lo largo del trabajo, ya que, se pudieron observar y medir halos de inhibición sobre las tres bacterias y en todas las formulaciones, mismos que fueron gráficos y promediados. Esto nos lleva a los objetivos particulares uno y dos, los cuales también se cumplieron satisfactoriamente ya que se pudieron determinar las características fisicoquímicas más sobresalientes del jugo de noni, mismas que coinciden con lo observado en la literatura y aunado a eso se determinó el perfil proteico del jugo (exudado) mostrándonos los tamaños de proteína más abundantes en dicha formulación, que si bien aún no se estableció una correlación directa entre ellas y la actividad antimicrobiana, no se puede descartar que contribuya significativamente a sus propiedades antimicrobianas (sobre todo cuando se halló una abundante concentración de proteína en el jugo). En cuanto al tercer y último objetivo puede decirse que se cumplió, sin embargo, es importante recalcar que el extracto acetónico es sólo uno de los diversos extractos que se pueden obtener del jugo noni, no es necesariamente el más efectivo ni es más sencillo de obtener, pero fue el que se utilizó para determinar si estos tipos de extractos tienen actividad antimicrobiana, la cual fue probada exitosamente de la misma manera que el exudado y el RA.

ANEXO 1. Halos de inhibición observados sobre las diferentes cepas bacteriana

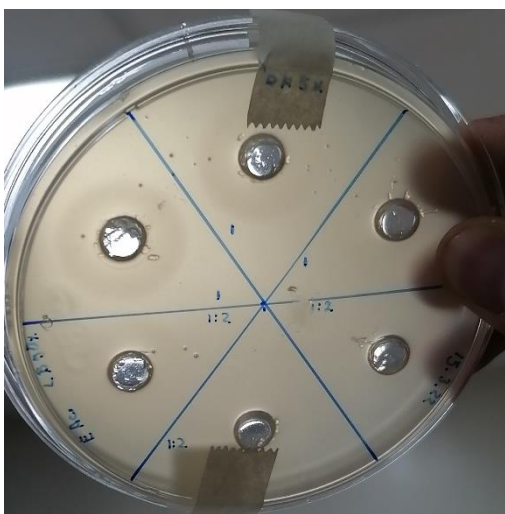


Figura 5. Halos de inhibición en *E. coli* formados a partir del exudado de la fruta de noni.

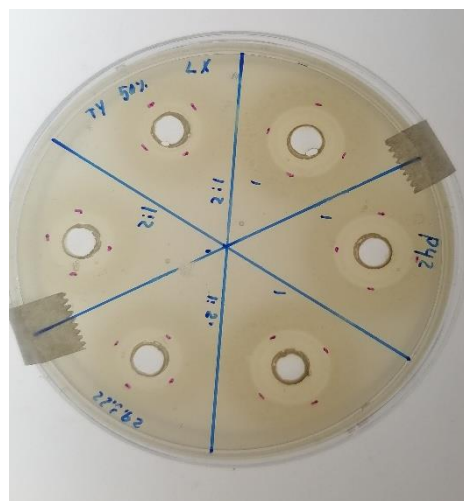


Figura 6. Halos de inhibición en *Pseudomonas sp.* formados a partir del exudado de la fruta de noni.

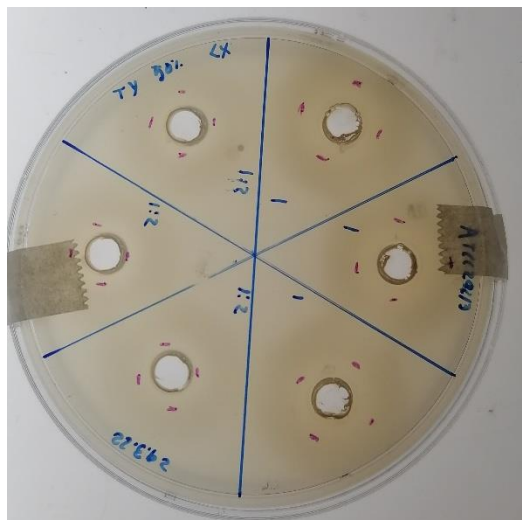


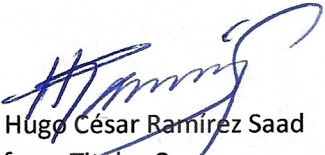
Figura 7. Halos de inhibición en *S. aureus* formados a partir del exudado de la fruta de noni.

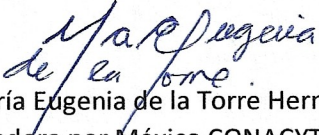
Bibliografía

- Alarcón Bustamante, S. I., & Velarde Rodríguez, N. A. (2019). Evaluación de actividad antimicrobiana en extractos metanólico, etanólico en semilla, hoja de noni (*Morinda citrifolia* L.), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Cándida albicans* (Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas).
- Almeida, É. S., de Oliveira, D., & Hotza, D. (2019). Properties and applications of *Morinda citrifolia* (noni): A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 883-909.
- Beteta Blas, X. (2018). Actividad antimicrobiana in vitro del noni (*Morinda citrifolia*) sobre *Escherichia coli* y su efecto inmunomodulador en cuyes, en Tingo María.
- Bustos-Martínez, J. A., Hamdan-Partida, A., & Gutiérrez-Cárdenas, M. (2006). *Staphylococcus aureus*: the reemergence of a pathogen in the community. *Revista Biomédica*, 17(4), 287-305.
- Casagrande, M., Zanela, J., Wagner, A., Busso, C., Wouk, J., Iurckevicz, G., ... Malfatti, C. R. M. (2018). Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: In vitro antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. *Industrial Crops and Products*, 125, 207–219.
- Castillo Mompí, A., Pascual Sanchez, Y. M., CunhaNune, L. C., de la Paz Lorente, C., & Cañete Aguila, F. (2014). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de *Morinda citrifolia* L.(noni). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(4), 374-382.
- Chan-Blanco, Yanine, Vaillant, Fabrice, Perez, Ana Mercedes, Reynes, Max, Brillouet, Jean-Marc, Brat, Pierre, 2006. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): a review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *J. Food Compos. Anal.* 19 (6-7), 645–654.
- Dar, B. N., Malik, A. R., & Wani, S. H. (2009). Noni (*Morinda citrifolia*): A hope in a bottle. In *New Biology: Current Developments/Frontiers in Life Sciences* (Vol. 1, Chapter 12, pp. 338–353). New Dehli: MD Publications.
- Dixon AR, McMillen H, Etkin NL. The Transformation of Noni, a Traditional Polynesian Medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). *Econ Bot* 1999;53(1):51-68.
- Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH (2007). The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*; 67 (3): 351-68. DOI: 10.2165/00003495200767030-00003.
- González Lavaut, N. E., & González Lavaut, J. A. (2003). *Morinda citrifolia* Linn: potencialidades para su utilización en la salud humana. *Revista Cubana de Farmacia*, 37(3), 1-1.

- Hirazumi A, Furusawa E (1999). An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumor activity. *Phytother Res* ;13(5):380-7.
- Inada, A. C., Figueiredo, P. S., Santos-Eichler, R. A. D., Freitas, K. C., Hiane, P. A., Castro, A. P., & Guimaraes, R. C. A. (2017). *Morinda citrifolia* Linn. (Noni) and Its Potential in Obesity-Related Metabolic Dysfunction. *Nutrients*, 9(6), 540.
- Jayaraman, S. K., Manoharan, S. M., & Illanchezian, S. (2008). Antibacterial, Atifungal and Tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. *International Journal of Integrative Biology*, 3(1), 44.
- Levand, O, Larson HO. Some chemical constituents of *Morinda citrifolia*. *Planta Med* 1979; 36(2):186-7.
- Lewis Luján, Lidianys María, Assanga, Iloki, Bernard, Simon, Rivera-Castañeda, Elba Griselda, Gil-Salido, Armida Andrea, Acosta-Silva, Ana Lilian, Meza-Cueto, Cipactli Yuridia, Rubio- Pino, José Luis, 2014. Nutritional and phenolic composition of *Morinda citrifolia* L. (Noni) fruit at different ripeness stages and seasonal patterns harvested in Nayarit, Mexico. *Int. J. Nutr. Food Sci.* 3 (5), 421–429.
- Li, S., Wang, R., Hu, X., Li, C., & Wang, L.u. (2021). Bio-affinity ultra-filtration combined with HPLC-ESI-qTOF-MS/MS for screening potential α -glucosidase inhibitors from *Cerasus humilis* (Bge.) Sok. leaf-tea and in silico analysis. *Food Chemistry*, 373, 131528.
- Meng, J., Lejeune, J. T., Zhao, T., & Doyle, M. P. (2012). Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*, 287-309.
- Motshakeri, M., & Ghazali, H. M. (2015). Nutritional, phytochemical and commercial quality of noni fruit: A multi-beneficial gift from nature. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 118–129.
- Orea Coria Dorys, Jaramillo Soto Edgar, Sánchez Mendoza Ernesto, Arévalo Ramírez José Alfredo, Granados Cosme José, Gutierrez Nava María, Castilla Hernández Patricia. 2018. *Manual de prácticas de las unidades de enseñanza aprendizaje relacionadas con la obtención y evaluación de productos biológicos*. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, 27-32.
- Rodríguez, M. Y F. Zevallos. 2014. 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.
- Wang M, Kikuzaki H, Csiszar K, Boyd C, Maunakea A, Fong S, et al. Novel Trisaccharide Fatty Acid Ester Identified from the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). *J Agric Food Chem* 1999; 47(12):4880-2.
- Vuanghao, L., & Laghari, M. H. (2017). *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 691-707.
- Wang MY, Brett W, Jensen J, Diane N, Palu CH, et al. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacol Sin.* 2002;23(12):1127-1141.
- Wang, R., Wang, L., Zhang, L., Wan, S., Li, C., & Liu, S. (2022). Solvents effect on phenolics, iridoids, antioxidant activity, antibacterial activity, and pancreatic lipase inhibition activity of noni (*Morinda citrifolia* L.) fruit extract. *Food Chemistry*, 377, 131989.

Vo. Bo. Del informe final de servicio social titulado "Evaluación de las propiedades antibacterianas del jugo de noni (*Morinda citrifolia*)"


 Dr. Hugo César Ramírez Saad
 Profesor Titular C
 Número económico: 8642


 Dra. María Eugenia de la Torre Hernández
 Investigadora por México CONACYT
 No. identificador: 900031