



República Bolivariana de Venezuela
Universidad de Los Andes
Facultad De Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis
Instituto de Investigaciones
Sección Biotecnología



**MOLÉCULAS POTENCIALMENTE FOTOSENSIBLES - FOTOACTIVABLES EN EL
ZUMO DE LA PULPA DEL FRUTO MADURO, VERDE, TIERNO Y HOJAS DEL
NONI *Morinda citrifolia* EN DOS PISOS ALTITUDINALES.**

www.bdigital.ula.ve

Autor:

Méndez M. Jael I.

Tutor:

Prof. Efrén Andrades

Mérida, Octubre de 2017

C.C.Reconocimiento



República Bolivariana de Venezuela
Universidad de Los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis
Instituto de Investigaciones
Sección Biotecnología



**MOLÉCULAS POTENCIALMENTE FOTOSENSIBLES - FOTOACTIVABLES EN EL
ZUMO DE LA PULPA DEL FRUTO MADURO, VERDE, TIERNO Y HOJAS DEL
NONI *Morinda citrifolia* EN DOS PISOS ALTITUDINALES.
(Trabajo especial de grado para optar por el Título de Licenciado en
Bioanálisis)**

Autor:

Méndez M. Jael I.

Tutor:

Prof. Efrén Andrades

Mérida, Octubre de 2017

C.C.Reconocimiento

DEDICATORIA

A DIOS Todopoderoso, mi Padre Celestial, quien me ha dado la fortaleza para continuar aun en aquellos momentos difíciles, dándome la sabiduría, y la oportunidad de vivir, por estar conmigo en cada paso que doy protegiéndome y guiándome ante la adversidad, mi corazón esta infinitamente agradecido contigo Padre Eterno, a ti dedico primeramente este logro.

A mi Madre, Cenaida Matagira de Méndez, la mujer guerrera y maravillosa que Dios me ha dado, llena de sabiduría, amor y humildad, quien me ha apoyado toda mi vida, y me ha sabido formar con buenos sentimientos y valores, por ser el pilar fundamental de cada una de mis metas, a ti Mami Bella te dedico este logro. Te Amo.

De igual forma dedico esta tesis, A mi Padre, Idelmaro Méndez, el amor de mi vida, un hombre con mucho amor, y algo que lo caracteriza su bondad y humildad que me ha enseñado cada día, demostrándome que ante cualquier situación debo ver lo positivo sin perder la fe en el Padre Supremo, Te Amo papi.

A mi Hermano Marco Méndez, su inteligencia y perseverancia, son un ejemplo a seguir, gracias por tus consejos hermanito Te Amo.

A mi Sobrino, Mathias eres un regalo precioso de Dios, me alegras con tus palabras y ocurrencias de niño, te amo infinito espero ser un ejemplo para ti y en un futuro logres todas tus metas y sueños.

Jael Itamar Méndez Matagira.

AGRADECIMIENTOS

A la ilustre Universidad de los Andes, prestigiosa casa de estudio y fuente de conocimientos, por abrirme sus puertas de su seno científico, y poder estudiar esta carrera.

Al Instituto de Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis Sección Biotecnología, para la realización de esta investigación.

A mi tutor Profesor Efrén Andrades, y su esposa la profesora Cristina Grassi por su invaluable ayuda en todo el desarrollo del trabajo, gracias por todos sus conocimientos impartidos.

Al Profesor Manuel Jiménez y al Licenciado Gregory por la colaboración brindada durante la investigación.

A Darly Rosales por haber formado parte de este trabajo y juntas haber iniciado este proyecto de investigación .

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
RESUMEN	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. EL PROBLEMA	
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la investigación	3
Objetivos de la Investigación	3
Objetivo General	3
Objetivos Específicos	4
Alcances y Limitaciones	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
Trabajos Previos	6
Antecedentes Históricos	11
Antecedentes Teóricos	12
Definición de Términos	17
Operacionalización de las variables	20
Hipótesis	20
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	
Enfoque de la Investigación	21
Tipo de Investigación	21
Diseño de la Investigación	21
Población y Muestra	22
Sistema de Variables	22

Instrumento de Recolección de Datos	22
Procedimiento y Metodología	23
Estrategia de recolección de las muestras	23
Metodología para la obtención de los extractos	24
Espectrofotometría	29
Cromatografía en capa fina	31
Estudio microbiológico	31
Ensayo de fotoprotección y actividad biológica	32
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	
Resultados de la recolección de las muestras	34
Extracción de las muestras	34
Resultados de Fotosensibilidad evaluados por espectrofotometría	35
Cálculos de Concentración de Proteínas y Ácidos nucleicos	47
Cromatografía en capa fina	49
Resultados definitivos de la Cromatografía	54
Diferencias en los pigmentos debido a la altura	54
Análisis microbiológico	56
Fotoprotección y actividad biológica	59
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
Conclusiones	62
Recomendaciones	63
BIBLIOHEMEROGRAFIA	64
ANEXOS	66

ÍNDICE DE FIGURAS

N° de Figura		Pág.
1	Árbol de Noni	13
2	Fruto de Noni	14
3	Flores y frutos del Noni	17
4	Ubicación de la recolección de los frutos y hojas del Noni <i>Morinda citrifolia</i>	24
5	Marcha analítica del proceso de extracción del fruto de Noni maduro	26
6	Marcha analítica del proceso de extracción del fruto de Noni verde	27
7	Marcha analítica del proceso de extracción del fruto de Noni tierno	27
8	Marcha analítica del proceso de extracción de las hojas del Noni	28
9	Ubicación de las muestras en las placas (Mueller Hinton) en el ensayo de fotoprotección y actividad biológica	33
10	Cromatografía observada en luz visible	49
11	Cromatografía observada en luz U.V. Onda Corta	51
12	Cromatografía observada en luz U.V. Onda Larga	52
13	Cromatografía observada en luz visible de dos pisos altitudinales	54
14	Cromatografía observada en luz U.V. Onda Corta de dos pisos altitudinales	55
15	Cromatografía observada en luz U.V. Onda Larga de dos pisos altitudinales	55
16	Colonias bacterianas de N1 y N2	57
17	GRAM de las colonias bacterianas N1 y N2	57
18	GRAM de la colonia N1	58
19	Placa (Mueller Hinton) condición U.V.	60
20	Placa (Mueller Hinton) condición Luz Blanca	61
21	Placa (Mueller Hinton) condición Oscuridad	61

ÍNDICE DE TABLAS

N° de Tabla		Pág.
1	Cálculos de concentración de proteínas y ácidos nucleicos	47
2	Comparación del fruto de Noni y sus hojas	48
3	RF de la cromatografía realizada en Luz Visible	50
4	RF de la cromatografía realizada en Luz U.V. Onda Corta	51
5	RF de la cromatografía realizada en Luz U.V. Onda Larga	53
6	Características macroscópicas de las colonias observadas del extracto 1 del Noni	56
7	Características microscópicas de las colonias observadas del extracto 1 del Noni	58

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE GRÁFICOS

N° de Grafico		Pág.
1	Espectro ascendente y descendente del Extracto 2 Noni Maduro de la zona de San Juan de Lagunillas	36
2	Espectro diferencial (Resta) del Extracto 2 Noni Maduro de San Juan de Lagunillas.	36
3	Espectro diferencial (División) del Extracto 2 Noni Maduro de San Juan de Lagunillas	37
4	Espectro ascendente y descendente del Extracto 3 Noni Verde de la zona de Pie del Llano	38
5	Espectro ascendente del extracto 3 Noni verde sin diluir de la zona de Pie del Llano	38
6	Espectro ascendente y descendente del extracto 4 Noni Tierno dilución 1:300 de la zona de San Juan de lagunillas	39
7	Espectro diferencial (Resta) del Extracto 4 del Noni tierno, dilución 1:300 de la zona de San Juan de Lagunillas	40
8	Espectro diferencial (División) del extracto 4 del Noni tierno dilución 1:300 de la zona de San Juan de Lagunillas	40
9	Espectro ascendente y descendente del extracto 4 Noni Tierno Sin Diluir de la zona de San Juan de Lagunillas	41
10	Espectro ascendente del extracto 5 Noni Tierno dilución 1:200 de la zona de Pie del Llano	42
11	Espectro ascendente del extracto 5 Noni Tierno dilución 1 :10 de la zona de Pie del Llano	43
12	Espectro ascendente del Extracto 6 de las hojas de Noni de la zona de San Juan de Lagunillas	44
13	Espectro ascendente del extracto 7 Hojas del Noni dilución 1:300 de la zona de Pie del Llano	45
14	Espectro ascendente del extracto 7 Hojas del Noni dilución 1:10 de la zona de Pie del Llano.	45

15	Espectros ascendentes del Noni Tierno de la zona de San Juan de Lagunillas comparado con el de la zona de Pie del Llano	46
-----------	---	-----------

www.bdigital.ula.ve



República Bolivariana de Venezuela
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Instituto de investigaciones
Sección Biotecnología



MOLÉCULAS POTENCIALMENTE FOTOSENSIBLES - FOTOACTIVABLES EN EL ZUMO DE LA PULPA DEL FRUTO MADURO, VERDE, TIERNO Y HOJAS DEL NONI *Morinda citrifolia* EN DOS PISOS ALTITUDINALES

Autor: Jael Itamar Méndez Matagira
Tutor: Prof. Efrén Andrades

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es determinar la Fotosensibilidad y la actividad biológica de los extractos etanólicos de los frutos de *Morinda citrifolia* en sus diferentes etapas de maduración y sus hojas a dos pisos altitudinales. La metodología de trabajo incluye la recolección de las muestras en la zona de Pie del Llano y San Juan de Lagunillas, Municipio Libertador y Sucre respectivamente del Estado Mérida, transporte en la oscuridad y extracción manual con etanol. Los extractos fueron sometidos a diferentes técnicas de estudio, espectrofotometría ascendente y descendente para determinar el efecto comparativo. Cromatografía en capa fina para determinar los componentes generales de los extractos. Como control se determinó la presencia de microorganismos en el extracto 1. Se usó la cepa de *Escherichia coli* GY5027 para determinar la actividad biológica y la fotoprotección. La Cromatografía en Capa Fina arrojó que el Noni tierno presenta mayor número de bandas y a medida que el fruto madura las va perdiendo, además de ir cambiando sus bandas. En el análisis Espectrofotométrico se logró poner en evidencia que existe Fotosensibilidad en todos los grados de maduración de *Morinda citrifolia* las cuales son dependientes de la altura en la cual se realizó la recolección. El control microbiológico realizado al extracto 1, arrojó la presencia entre otros microorganismos de un actinomicetal, además se encontró que las hojas de *Morinda citrifolia* poseen más fotoprotección U.V. que sus frutos.

Palabras Claves: Fotosensibilidad, Fotoactivación, zumo de pulpa, Noni, *Morinda citrifolia*.

INTRODUCCIÓN

El Noni es un árbol de hoja perenne que crece en las regiones costeras abiertas y en las zonas forestales hasta 1300 metros de altura sobre el nivel del mar, es identificable por su tronco recto, hojas grandes, de color brillante y elípticas, flores blancas tubulares, ovoides. La fruta puede crecer en tamaño hasta 12 cm o más y tiene una superficie grumosa cubierto por secciones en forma poligonal, las semillas son de forma triangular y de color marrón rojizo. La fruta de Noni madura tiene un mal sabor y olor. Es conocido comúnmente por su especie *Morinda citrifolia*, pero también es llamado Mora india, Fruta prohibida, Árbol del dolor de cabeza, Mona, Nino, Nona, Nonu, Nuna, Nono, Piñuela, Pino silvestre, etc., en diversas partes del mundo. (Scot N., 2006)

Entre las plantas medicinales descubiertas por los antepasados polinesios, *Morinda citrifolia* (Noni), es una de las plantas tradicionales folklóricas importantes que se han utilizado por más de 2000 años en la polinesia. Se ha informado que tiene una amplia gama de valor terapéutico y nutricional. Los antepasados de los polinesios trajeron muchas plantas con ellos, ya que migraron desde el sudeste de Asia hace más de 2000 años, de las 12 plantas más comunes, trajeron Noni, siendo la segunda planta más utilizada en los remedios a base de hierbas para el tratamiento de varias enfermedades comunes y para mantener buena salud. (Pamplona J, 2006).

Las propiedades medicinales de *Morinda citrifolia* como antitumoral contra el cáncer, antidiabéticos, anti-envejecimiento, antibióticos, etc., han sido plenamente estudiados de forma científica en varios países obteniendo como resultado varios productos comerciales del Noni, disponibles en la actualidad. (Pamplona J, 2006).

Se han realizado varios estudios de la *Morinda citrifolia*, sin embargo no se ha evaluado el papel de la incidencia de la luz sobre los extractos y compuestos derivados del Noni.

Dentro de este marco la sistematización que se utilizó, fue la siguiente: Capítulo I (El Problema), integrado por el planteamiento del problema, justificación, objetivos (generales y específicos), alcances y limitaciones de la investigación. Capítulo II (Marco Teórico), constituido por trabajos previos, antecedentes históricos, antecedentes teóricos, definición de términos, Operacionalización de las variables y sistema de hipótesis. Capítulo III (Marco Metodológico), formado por enfoque, tipo y diseño de la investigación, población, muestra, sistema de variables, instrumento de recolección de datos, procedimiento o metodología y diseño de análisis. Capítulo IV (Resultados y Discusiones). Capítulo V (Conclusiones y Recomendaciones). Bibliografía y anexos.

El presente trabajo de investigación está orientado a la identificación preliminar de los compuestos derivados del fruto maduro, verde, tierno y hojas del Noni *Morinda citrifolia*, determinando si posee propiedades Fotosensibles y Fotoactivables que puedan ser aplicables a terapias fotodinámicas, relacionadas a la cura del cáncer de piel u otras enfermedades cutáneas, y a la fabricación de cosméticos medicinales.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Los estudios sobre los extractos de la *Morinda citrifolia*, realizados hasta ahora no han considerado la incidencia de la luz, como una variable importante. En este trabajo se plantea como problema a resolver, de manera preliminar, el siguiente: ¿La *Morinda citrifolia*, podría presentar además de sus usos medicinales conocidos, propiedades como Fotosensibilidad, Fotoactivación en algunas de las moléculas del fruto maduro, verde, tierno y hojas, que puedan ser aplicables en la terapia fotodinámica?

Justificación de la Investigación

Se han realizado varios estudios de la *Morinda citrifolia*, sin embargo no se ha evaluado el papel de la incidencia de la luz sobre los extractos y compuestos derivados. Por lo tanto se justifica hacer esta evaluación para determinar la posible Fotosensibilidad y Fotoactivación de los mismos.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

- Evaluar la Fotosensibilidad y Fotoactivación de las moléculas presentes en el zumo del fruto maduro, verde, tierno y hojas del Noni *Morinda citrifolia*.

Objetivos específicos

- Buscar el fruto *Morinda citrifolia*, en la zona de San Juan de Lagunillas y en la zona Pie del Llano, Municipio Sucre y Libertador respectivamente del estado Mérida.
- Extraer la concha y el zumo del fruto maduro, tierno, verde y hojas de la *Morinda citrifolia*, en la oscuridad, alternativamente con agua y etanol.
- Evaluar el nivel de Fotosensibilidad y Fotoactivación de extractos acuosos y etanólicos de la *Morinda citrifolia*, en el espectrofotómetro (UV-Visible).
- Realizar el control microbiológico de los extractos acuosos y etanólicos producidos y activados de la *Morinda citrifolia*.
- Evaluar por cromatografía la incidencia de la luz UV en los extractos etanólicos de la *Morinda citrifolia*.
- Determinar las actividades biológicas de Fotoactivación y Fotoprotección de los extractos de la *Morinda citrifolia*.

Alcances y Limitaciones de la investigación

Entre los **alcances** de la investigación se encuentran:

- Descubrir la Fotosensibilidad, Fotoactividad, Fotoprotección en el fruto del Noni.
- Contribuir con otros investigadores para ampliar la búsqueda científica sobre la *Morinda citrifolia*.
- Contribuir en la elaboración de productos, fármacos y cosméticos que sirvan para diversas patologías de la piel.

- Aportar información relevante sobre sus propiedades fotosensibles, Fotoactivables que puedan ser aplicables a la terapia fotodinámica.

Dentro de las **limitaciones** de la investigación se pueden mencionar:

- Los ambientes de trabajo no estén condicionados, como es el caso de un cuarto oscuro para llevar a cabo la extracción del zumo del Noni en la oscuridad; además de un espacio reducido para el desarrollo de la metodología de la investigación.
- Algunos reactivos que se deban comprar por emergencia pueden tardar en llegar, debido a que son importados.
- El presupuesto debido al alto costo de los materiales y reactivos a utilizar.
- El Uso no adecuado de los aparatos dificulte el desarrollo de la parte experimental.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

- **Morinda citrifolia Linn.: Potencialidades para su utilización en la salud humana.** González, N y González, J. (2003). Para la Revista Cubana de Farmacia. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152003000300006&lng=es.
- **Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L. “noni” y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales.** Ruiz S. y col. (2010). Para la revista UCV-Scientia: SALUD.
- **Comprobación del efecto hipoglucemiante del fruto del zumo del Noni (*Morinda citrifolia*) en Ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglucemia inducida.** Carrillo P (2011)
- **Characterization of *Morinda Citrifolia* L. (Noni) fruit.** Rodrigues, L. et al. (2012). Para la Revista Cubana de Plantas Medicinales.

Trabajos publicados Revistas Internacionales

- **First clinical experience using chlorin derivatives in Venezuela.** Cabrera H., Castro J., Grassi H. and Andrades E. **Journal of Medicine and Medical Sciences.**(2012). El presente estudio tuvo como objetivo establecer el fundamento para el uso de dos fotosensibilizadores e-6 basados en clorina y la introducción a la práctica clínica en nuestro país para el tratamiento de carcinoma de células basales superficiales, usando el método de terapia fotodinámica.

- **The effect of Photodynamic Therapy on Contiguous Untreated Tumor. Cabrera H., Castro J., Grassi H., Andrades E. and López S. Dermatol Surg (2012).** Este estudio trata sobre la terapia fotodinámica, el cual es un método antitumoral que utiliza un fotosensibilizador no tóxico y luz visible para producir especies reactivas de oxígeno que destruyen células malignas. Se ha utilizado cada vez más en el tratamiento de cánceres de piel no melanoma, carcinoma de células basales en particular, proporcionando un alto grado de regresión del tumor y excelentes resultados estéticos.
- **Tratamiento de Carcinoma Basocelular con terapia fotodinámica sistémica. Castro, J., Cabrera, H., Grassi, C., Andrades, E. Revista Colombiana de Cancerología 2012, v16 (3).** Evaluar en pacientes venezolanos, la respuesta terapéutica del Carcinoma Basocelular al ser tratados con terapia fotodinámica usando un compuesto fotosensibilizador derivado de las clorinas. Se incluyen en el estudio pacientes con Carcinoma Basocelular único o múltiple diagnosticado por histopatología en adultos, sin discriminación de sexo o localización de la lesión, a quienes se les inyectó por vía intravenosa el fotosensibilizador Photolon. Después de un tiempo de tres horas, se iluminó la zona o zonas tumorales con un diodo láser de longitud de onda de 662nm. Se trataron 43 lesiones en 16 pacientes con una respuesta favorable en todos los casos tratados, con desaparición de cualquier evidencia clínica del o los tumores, lo cual se comprobó histopatológicamente. Los pacientes no presentaron complicaciones atribuibles al tratamiento y permanecieron en control sin evidencia de enfermedad oncológica por 24 meses.

Trabajos realizados en el Instituto de Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, en la sección de Biotecnología para optar al título de Licenciado en Bioanálisis.

- **Estudio de la fotosensibilidad y fotoprotección de los extractos acuosos y etanólicos de la pulpa madura y verde de los frutos de *Couroupita guianensis aubi*. Soto, D y López, F. (2012).** Este trabajo evaluó el efecto de la luz sobre los extractos acuosos y etanólicos de la pulpa del fruto maduro y verde de *Couroupita guianensis aubi*. La metodología empleada incluye la recolección in situ, traslado, procesamiento en la oscuridad, extracciones acuosas y etanólicas, evitando siempre la incidencia de la luz.; Se mostró la existencia de una fotosensibilidad del extracto de la pulpa de *C. guianensis* la cual fue demostrada espectrofotométricamente y es dependiente de la iluminación previa, del estado de madurez y del uso de etanol como solvente de extracción, además se demostró un efecto de fotoprotección U.V. en un ensayo usando bacterias sensibles a la luz.
- **Evaluación de la actividad antibacteriana y de intercalación en el ADN de los compuestos purificados del acíbar del *Aloe vera*. Alarcon, G y Calderón, D. (2011).** El acíbar de aloe ha sido utilizado ampliamente en la medicina tradicional y contiene sustancias que han sido utilizadas en preparaciones farmacéuticas, entre estos compuestos se encuentran antraquinonas y sus derivados que pueden ser intercaladores del ADN; El presente trabajo se propuso la evaluación de los compuestos purificados del acíbar de aloe vera como intercaladores del ADN y como antibacterianos, para ello se obtuvo la planta de aloe vera, se extrajo el acíbar, y por medio de una cromatografía preparativa en capa fina se separaron los componentes del acíbar. En un ensayo para evaluar actividad antibacteriana, los compuestos aislados se resuspendieron y se confrontaron con bacterias de tipo ATCC y otras mantenidas en el cepario.

- **Actividad toxica de acíbar de *Aloe vera* y sus componentes sobre bacterias. Contreras, R. (2012).** El en presente trabajo se busco evaluar la actividad toxica del acíbar de aloe vera y sus componentes Fotoactivables sobre bacterias; se extrajo el acíbar, en presencia de la luz y el oxigeno, y se hizo un barrido espectrofotométrico de manera creciente en las longitudes de onda y de manera decreciente. Se cultivaron cepas de *Escherichia coli* en medio Muller Hilton y se diseño un método de siembra para evaluar la actividad y toxicidad activada por la luz blanca, ultravioleta o laser rojo. la cepa 645027 de *Escherichia coli* fue la única que permitió poner en evidencia el efecto antibacteriano posiblemente debido a su mayor sensibilidad ante productos tóxicos y/o mutagénicos.
- **Estudio de la fotosensibilidad y fotoactividad de los extractos etanólicos de la flor de *Lupinus meridanus* en el paramo merideño. Andrade, A y Rivas, N. (2012).** Este trabajo evalúa si la incidencia de la luz es determinante sobre la composición definitiva y la actividad biológica de los extractos etanólicos de la flor de *Lupinus meridanus* y si el color de la flor es determinante. Para esto se realizo la obtención de los extractos y se le hicieron estudios espectrofotométricos arrojando que existe fotosensibilidad en las longitudes de onda pertenecientes a la zona UV.
- **Estudio de la fotosensibilidad y fotoprotección de extractos etanólicos de la hoja y epitelio de *Anonna muricata*. Aldana, R. Páez, D. (2014), tutor Prof. Efrén Andrades.** En este trabajo fueron preparados extractos etanólicos a partir de hojas frescas, epitelio y frutos verdes de la planta *Anonna muricata*. Los extractos fueron examinados por espectrofotometría, cromatografía de capa fina, microbiología, y se le determino fotoprotección / fotoactivación. Los extractos de epitelio arrojaron toxicidad mientras que la hoja no. Además se observó el crecimiento de microorganismos en la hoja, posteriormente se verifica que los extractos efectuados con la hoja se protegen de la luz. En la cromatografía se distinguió el RF 0,97 en la muestra indicando la clorofila presente tanto en hojas

como en epitelio. En la espectrofotometría se halló la presencia de ácidos nucleicos y proteínas en longitud de onda 260 y 280 respectivamente.

- **Extracto etanólico de flor y hoja de Moringa (*Moringa oleífera*). Rey, K. (2014), tutor Prof. Efrén Andrades.** El extracto etanólico de la hoja presenta una absorción diferencial mayor en descendente que en ascendente, a una longitud de onda de 225 encontrándose allí un pico y en 231 un valle, con un RF de 0,7. El extracto etanólico de la flor presenta una absorción diferencial mayor en ascendente que en descendente, a una longitud de onda de 225 encontrándose allí un valle y en 231 un pico con un RF de 0,75.
- **Estudio de los extractos etanólicos de la semilla y vaina de Moringa (*Moringa oleífera*). Vielma, Y. (2014), tutor Prof. Efrén Andrades.** El extracto etanólico de la vaina presenta una absorción diferencial mayor en descendente que en ascendente, a una longitud de onda de 225nm, ese pico se debe corresponder a la banda nº 2 RF 0,74 ya que es en esa posición donde se presenta una banda oscura en la foto del cromatograma iluminado con luz UV de onda corta. El extracto etanólico de la vaina presenta una absorción diferencial mayor en descendente que en ascendente, a una longitud de onda de 225nm.
- **Evaluación de la actividad bactericida de extractos de *Jatropha curcas* Linn., en cepas patógenas multirresistentes.** Molina, R. y Uzcátegui, N. (2013), tutor Prof. Juan Dávila.
- **Evaluación preliminar de la fotoactivación y fototoxicidad del acíbar de plantas de Sábila.** Flores, M. (2012), tutor Prof. Cristina Grassi.

Antecedentes Históricos

Se considera que el Noni fue llevado a las Polinesias por los antepasados de sus nativos que emigraron desde el Asia Sudoriental hace unos dos mil años y que la empleaban medicinalmente y como alimento, fundamentalmente en sus travesías marinas donde nunca faltaba una buena provisión de este fruto (Tabrah F y col, 1966).

Los viajeros antiguos consideraban que el fruto del Noni era algo diferente de los demás frutos. Tal como se empleaba por los polinesios, fue traído intencionalmente a la nueva tierra para tratar la mayoría de las enfermedades que afligían a los habitantes en aquel tiempo, como las quemaduras, heridas, tumores, indigestiones e irregularidades menstruales, entre otras. El conocimiento de cómo usar los medicamentos herbarios se recogía en las historias y canciones de ciertas familias, y era transferido de generación en generación. (Dixon A y col, 1999).

Los polinesios utilizaban todas las partes de la planta para sus remedios y así vemos que las raíces, los tallos, la corteza, las hojas, las flores y los frutos del Noni, en diferentes combinaciones, forman parte de casi 40 remedios herbarios reportados (Bruggnecate, 1992).

Además, de la raíz extraían un pigmento de color rojo o amarillo para teñir sus ropas y esterilla mientras que el fruto también se comía con el fin de alimentarse y para fomentar la salud, existen numerosas historias de héroes y heroínas polinesios que sobrevivieron del hambre gracias al Noni (Neal M, 1965).

No obstante, aunque su origen práctico se reporta en las Polinesias, la existencia y empleo medicinal y nutricional de la *Morinda citrifolia* L., abarca también toda una extensión a lo largo de las Islas del Pacífico, el Sudeste de Asia, los aborígenes de Australia y la India, es descrito su uso en Tahití, por celebridades tales como el Capitán James Cook, de la Armada británica, a fines del Siglo XVIII (Cheeseman T, 1903) y recomendadas sus hojas y frutas como comida de emergencia por Merrill

en un Manual de Supervivencia para el ejército norteamericano durante la II Guerra Mundial en 1943, (Merril E, 1943).

El aparentemente exitoso uso tradicional del Noni conllevó a que diferentes investigadores le dedicaran su atención y entre ellos el Dr. Neil Solomon, el cual realizó toda una serie de encuestas al respecto que lo condujeron a publicar su libro "El Jugo de NONI, La Fruta Tropical de los 101 Usos Medicinales" que a su vez ha provocado actualmente un auge de las investigaciones relacionadas con las alegadas posibles propiedades medicinales de la Morinda citrifolia L., entre las que se encuentran su acción antioxidante, analgésica, anti-inflamatoria, antibacteriana, antiviral, antitumoral, mejoradora de la audición de las altas frecuencias, inmunológica, hipotensora, antihelmíntica e insecticida, entre otras, unidas también al desarrollo de una gran industria que comercializa su jugo, además, de otros derivados en forma de polvos y cápsulas para suplementos dietéticos, limpiadores faciales, geles de baño, jabones y otros productos empleados en la cosmética. (Solomon N, 1999).

www.bdigital.ula.ve

Antecedentes Teóricos

Fotosensibilidad

Significa en forma genérica, reacción patológica a la luz, el cual abarca dos mecanismos de respuesta tisular la fototoxicidad y fotoalergia (Magaña M, 2003).

Fotoactividad

Efecto que se produce cuando ciertas sustancias se exponen a la luz. En el caso del tratamiento del cáncer, algunos medicamentos se vuelven activos cuando se exponen a la luz y entonces son capaces de destruir las células tumorales. (Magaña M, 2003).

Noni

Es un árbol de hoja perenne o arbusto de 3-10 m de altura en la madurez. A veces se apoya en otras plantas como una liana. Hay mucha variación en la forma general

de la planta, tamaño de fruto, tamaño de las hojas y la morfología, el gusto, el olor a fruta madura, y el número de semillas por fruto. Las flores son perfectas, alrededor de 75-90 formas de ovoides a globosas cabezas. Pedúnculos son 10-30 mm de largo, el cáliz es un borde truncado. La corola es de color blanco, 5 lóbulos, el tubo de color blanco verdoso, 7-9 mm de largo. La fruta es de color blanco amarillento, carnosas, de 5-10 cm (2-4 pulgadas) de largo, unos 3-4 cm (1.2 a 1.6 pulgadas) de diámetro, y blando y fétido cuando está maduro. Las semillas tienen una cámara de aire distintas, y puede conservar viabilidad incluso después de flotar en el agua durante meses. (Scot N, 2006).



Figura 1.- Árbol de Noni

Zumo del Noni

Es el zumo de la fruta de un árbol cuyo nombre científico es *Morinda citrifolia*. Noni, es como se denomina en Hawai al árbol pero en el resto del mundo recibe muchos nombres como nono, nonu, mora india, árbol del queso, etc. El noni da fruta todo el año de manera escalonada; es decir, en la misma rama vamos encontrando noni que están verdes y noni muy maduros. No todos los *zumos de noni* son iguales. Aquí juega un papel muy importante tanto el origen de la fruta como el proceso de

elaboración del zumo de Noni. El **Noni** un alimento funcional o un nutraceutico (alimento con propiedades terapéuticas). (Pamplona J, 2006).



Figura 2.- Frutos de Noni

Compuestos del Noni

La primera publicación científica sobre el zumo de noni la hizo el Dr. Heinicke en una revista botánica de Hawai. Él afirmaba que había hallado un alcaloide en el noni llamado xeronina que era el causante de los beneficios del zumo que tanto había oído hablar a los curanderos nativos. Lo cierto es que en la publicación afirma que la xeronina se encuentra en el noni en cantidades de pico gramos pero que no dispone de instrumental capaz de detectar esas concentraciones. Después patentó en USA la xeronina como un nuevo alcaloide en 1982. (Solomon N, 1998).

El Noni contiene diferentes compuestos que, en general, Destacan en todos casos estos:

- **Proxeronina:** precursor del alcaloide xeronina
- **Proxerocinasa:** necesaria para la síntesis química que produce la xeronina.
- **Xeronina:** cumple funciones en la regulación de aminoácidos y proteínas de diversos procesos, activa más de 220 enzimas, puede ayudar a reducir las adicciones, tales como el tabaco o el alcoholismo.

- **Escopolamina:** actúa junto con la serotonina, como dilatador de las pupilas y ayuda en el "jet lag". Inhibe la transmisión del impulso nervioso hacia las terminales nerviosas parasimpáticas.
- **Damnacanthal:** antraquinona relacionan con la inhibición de un grupo de células precursoras del cáncer. Este alcaloide está considerado una de las sustancias vegetales naturales más potentes para combatir algunas enfermedades. Se ha comprobado que aumenta la producción de fagocitos.
- **Morindina y Morindadiol:** A estos dos alcaloides se les atribuyen algunos efectos; están siendo objeto de numerosos estudios. (Pamplona J, 2006).

El Noni contiene varios ácidos entre los que cabe destacar el ácido caprílico (poderoso antimicótico), el ácido caproico (fungicida e insecticida) o el ácido urónico desintoxicante ya que contiene ácido glucurónico que es sintetizado en el hígado para la desintoxicación. Es sumamente rico en aminoácidos, especialmente en:

- **Alanina:** Esencial para el metabolismo de los azúcares y de los ácidos orgánicos.
- **Arginina:** Esencial para los niños ejerce un importante papel en la desintoxicación de amoniaco en el cuerpo.
- **Cistina:** Excelente ayuda en casos de anemia perniciosa, enfermedades de la piel y afecciones hepáticas.
- **Fenilalanina:** Muy importante para todo el metabolismo. Está presente en casi todas las proteínas. Un déficit de este aminoácido o trastornos en sus funciones pueden conducir a enfermedades metabólicas u orgánicas graves.
- **Glicina:** Portadora de la estructura del colágeno contribuye a controlar el neurotransmisor inhibitor más importante de la motricidad. Indispensable para la curación de las heridas.
- **Isoleucina:** Indispensable en numerosos procesos bioquímicos.
- **Leucina:** Imprescindible para la síntesis de proteínas.
- **Lisina:** Muy importante en la formación de huesos en niños y jóvenes. Su carencia se detecta en posibles trastornos en el equilibrio ácido-básico. Interviene en la producción de anticuerpos, hormonas y enzimas.

- **Metionina:** Actúa contra infecciones de las vías urinarias y contra la insuficiencia renal crónica. Es el suministrador fisiológico más importante de grupos metilo y de azufre. Los trastornos en la reabsorción de metionina pueden llevar a incapacidad mental, espasmos, diarreas fétidas y envejecimiento prematuro.
- **Prolina:** Es uno de los aminoácidos que forman las proteínas. Es también un componente importante del colágeno.
- **Tirosina:** Es precursor directo a la melanina, la dopamina, la adrenalina y la tiroxina.
- **Triptófano:** Esencial en la biosíntesis de la triptamina, la serotonina, la melatonina y el ácido nicotínico. Tiene efectos antidepresivos y se utiliza también para inducir el sueño. (Pamplona J, 2006).

Determinación Taxonómica

Nombre Binomial: Morinda citrifolia

Familia: Rubiaceae

Subfamilia: Rubioideae

Tribu: Morindeae

Género: Morinda

Especie: citrifolia

Características Botánicas del Noni

El Noni es un árbol de hoja perenne que crece en las regiones costeras abiertas al nivel del mar y en las zonas forestales hasta 1300 metros de altura sobre el nivel del mar, es identificable por su tronco recto, hojas grandes, de color brillante y elípticas, flores blancas tubulares, ovoides. La fruta puede crecer en tamaño hasta 12 cm o más y tiene una superficie gruesa cubierta por secciones en forma poligonal, las

semillas son de forma triangular y de color marrón rojizo. La fruta de noni madura tiene un mal sabor y olor. (Scot N, 2006)



www.bdigitalula.ve **Figura 3.- Flores y Frutos del Noni**

Definición de términos

Fotosensibilidad

Significa en forma genérica, reacción patológica a la luz, el cual abarca dos mecanismos de respuesta tisular la fototoxicidad y fotoalergia (Magaña M, 2003).

Fotoactividad

Efecto que se produce cuando ciertas sustancias se exponen a la luz. En el caso del tratamiento del cáncer, algunos medicamentos se vuelven activos cuando se exponen a la luz y entonces son capaces de destruir las células tumorales. (Magaña M, 2003).

Zumo del Noni

Es el zumo de la fruta de un árbol cuyo nombre científico es *Morinda citrifolia*. Noni, es un alimento funcional o un nutraceutico (alimento con propiedades terapéuticas). (Pamplona J, 2006).

Fruto verde

Es un fruto cosechado antes del desarrollo completo de las semillas, sin la formación de la sustancia gelatinosa que envuelve a las mismas o cuando aun no es visible el inicio de amarillamiento en la región apical. (Ugarriza S, 2009).

Fruto maduro

Es un fruto que ha completado su crecimiento natural y desarrollo. (Reid M, 2011).

Extracción

Procedimiento para la separación de mezclas solidas, liquidas o disueltas, que se basa en la transferencia de materia entre dos fases inmiscibles por su diferencia de solubilidad en cada una de ellas. Tal fin se pone en contacto íntimo el disolvente con la sustancia que se desea extraer, agitándolos conjuntamente en un recipiente, y a continuación se separan las fases resultantes por decantación o sedimentación. (Visor, 1999).

Espectrofotometría

Es el estudio del espectro de absorción y su aplicación; y dependiendo de la región de radiación estudiada se clasificara en visible, ultravioleta e infrarrojo. Los espectros de absorción son característicos de las sustancias absorbentes, por lo que se emplean con fines de identificación. (Burriel F, 2007).

Espectrofotómetro

Es un instrumento empleado para medir el espectro de absorción de un material, especialmente en las regiones del ultravioleta, el visible y el infrarrojo. Se compone de un foco de radiación electromagnética continua, una célula porta muestras, un

monocromador y un detector, además suele ir acoplado a un registro, en el que, aparece la transmitancia en función del número de onda. (Visor, 1999).

Espectro de absorción

Es el producido por un cuerpo que es atravesado por las radiaciones procedentes de un foco de espectro continuo.(Visor, 1999).

Fototerapia

Utiliza la luz del sol o la luz eléctrica de fuentes de radiación activas para la terapia, prevención y rehabilitación. Normalmente se utiliza la combinación con otros factores climáticos. Se emplea la luz ultravioleta y la radiación visible de 380 -780 nm y la radiación infrarroja cercana de 760-2500 nm (Arango C, 1998).

Terapia Fotodinámica

Data del año 1400 a.C., cuando se emplearon diversos productos de origen vegetal para mejorar los resultados de la fototerapia. La terapia fotodinámica fue aplicada por primera vez por los Drs. Von Tappeiner y Jodblauer hace más de 100 años, en 1905, como tratamiento del cáncer de piel. A lo largo del siglo pasado se han venido experimentando con diversos compuestos con capacidad para concentrarse en determinados tumores internos y externos o en estructuras sanas, como folículos pilosos y glándulas sebáceas, y que se pueden activar mediante la luz con el fin de destruir el tejido de forma localizada. Se han probado muchos tipos de compuestos que han demostrado ser eficaces a la hora de tratar diversas lesiones. (Goldman M, 2006).

Operacionalización de las Variables

Variable	Moléculas fotosensibles, Fotoactivables en el Zumo del fruto Maduro, Verde, Tierno y hojas del Noni.
Tipo	Continua y Dependiente.
Definición Conceptual	Los diferentes estados de maduración del Noni muestran cambios en sus propiedades químicas y físicas. (Rodrigues L y col, 2012).
Definición Operacional	Los datos de fotosensibilidad y fotoactivación de las moléculas presentes en el zumo del Noni derivaran del estudio espectrofotométrico.
Dimensiones	Diferentes longitudes de onda que corresponden al espectro electromagnético.
Indicador	Nivel de observancia

www.bdigital.ula.ve

Hipótesis

La luz blanca y la luz ultravioleta, deben provocar cambios en los extractos acuosos y etanólicos de los frutos maduros, verdes, tiernos y hojas de la *Morinda citrifolia*.

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Enfoque de la Investigación

Esta línea de investigación será enfocada a través de un modelo cuantitativo, donde se recolectara y analizara datos para contestar la pregunta de investigación y probar la hipótesis establecida previamente, confiando en los datos obtenidos para establecer con exactitud un patrón de comportamiento en una población, además esta investigación ofrece la posibilidad de generalizar los resultados más ampliamente, otorga control sobre los fenómenos y facilita la comparación entre estudios similares. (Hernández R. y col, 2003).

Tipo de Investigación

Este trabajo corresponde a una investigación de campo exploratorio, ya que el problema de investigación no se ha abordado antes; por lo que sus resultados constituyen una visión aproximada de dicho objeto. (Hernández R. y col, 2003).

Diseño de la Investigación

La estrategia que se implementara, para responder al problema planteado corresponde al diseño experimental, esta investigación se presenta mediante la manipulación de dos variables independientes, observando si la variable dependiente varia o no, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de escribir de qué modo y por qué causa se produce una situación o acontecimiento particular.(Hernández R. y col, 2003).

Población y Muestra

Unidad de Investigación

El grupo de estudio estará representado por los extractos acuosos y etanólicos de la pulpa del fruto maduro, verde y hojas del Noni.

Selección del tamaño muestral

n1 =	5	Frutos de noni
n2 =	15	Hojas de noni

Mostrando un margen de error donde α será $\leq 5\%$, con un nivel de confianza de 95 % y su valor respectivo de $P \leq 0,05$.

Sistema de Variables

Las variables relacionadas con el sistema de investigación son las siguientes:

Variable dependiente: Moléculas fotosensibles, Fotoactivables.

Variable independiente: Fruto maduro, verde, tierno y hojas del Noni.

Variables intervinientes: Agua, Etanol, Luz, Oscuridad

Instrumento de Recolección de Datos

Los datos se recolectara y medirán a través de:

- Cambio de intensidad de absorción a longitudes de onda definidas.
- Cambios de máximos y mínimos espectrales (Bato e Ipsi) de acuerdo al método.
- Cambios de color dependientes de la iluminación.
- Cambio de la actividad biológica y de la fotoprotección.

Procedimiento y Metodología

Estrategia de recolección de las muestras

La recolección de los frutos maduros, verdes, tiernos, y hojas de *Morinda citrifolia* se realizó en dos zonas pertenecientes al Estado Mérida; la primera en la zona de San Juan de Lagunillas Municipio Sucre, el cual se encuentra situado al Oeste del Estado en las coordenadas geográficas entre 8° 16' 50" y 8° 34' 53" de latitud Norte y 71° 18' 23" y 71° 29' 43" de longitud Oeste, situada a 1070 m.s.n.m., con una temperatura media de 22.5° C y baja pluviosidad. Las muestras tomadas del arbusto fueron un Noni tierno, uno maduro y las hojas, estos fueron empacados en bolsas negras y luego trasladados en una gamera con hielo.

La segunda recolección fue en la zona de Pie del Llano Municipio Libertador, el cual se encuentra situado en las coordenadas geográficas 8°49'16" a 8°15'13" de latitud norte y 70°50'40" a 71°13'30" de longitud oeste situado a 1330 m.s.n.m.. Las muestras tomadas fueron un Noni tierno, uno verde y hojas del fruto, igualmente empacadas en bolsas negras, ambas trasladadas hasta los laboratorios de la sección de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis para la preparación de los diferentes extractos y experimentos; al llegar inmediatamente fueron congelados para mantener sus propiedades.



Fig. 4.- Ubicación de la recolección de los frutos y hojas del Noni *Morinda citrifolia*.

Metodología para la obtención de los extractos

El fruto de Noni Maduro, se exprimíó manualmente y utilizando una malla tul, el líquido fue decantado en un recipiente de vidrio ámbar, al cual se le denominó **Extracto 1**, la pulpa del fruto ya exprimida se colocó en otro recipiente de vidrio ámbar en la oscuridad y se le agregó etanol, y a este se le denominó **Extracto 2**.

El fruto de Noni Verde, se le agregó la mitad del peso de la concha extraída en etanol, se maceró y a través de una malla se decantó en un recipiente ámbar, al cual se le denominó **Extracto 3**.

A los frutos de Noni Tierno, se les agrego la mitad del peso de la concha extraída del fruto en etanol, se macero y a través de una malla se decanto en un recipiente ámbar para el Noni recolectado en el municipio Sucre y el Noni recolectado en el municipio Libertador, a los cuales se les denomino **Extracto 4** y **Extracto 5** respectivamente.

Para la obtención de los extractos de las hojas de Noni, se pesaron y luego fueron picadas en trozos pequeños, colocándolos en un mortero con etanol, donde se macero para obtener el extracto, y utilizando una malla tul se decanto el líquido en frascos ámbar, para las hojas recolectadas en el municipio Sucre y en el municipio Libertador a los cuales se les denomino **Extracto 6** y **Extracto 7** respectivamente.

Todo el procedimiento se realizo en un cuarto oscuro y los extractos decantados en los frascos ámbar, envueltos en bolsas plásticas oscuras y refrigeradas entre 8-10 °C.

www.bdigital.ula.ve

Marchas analíticas de los frutos y hojas de *Morinda citrifolia*

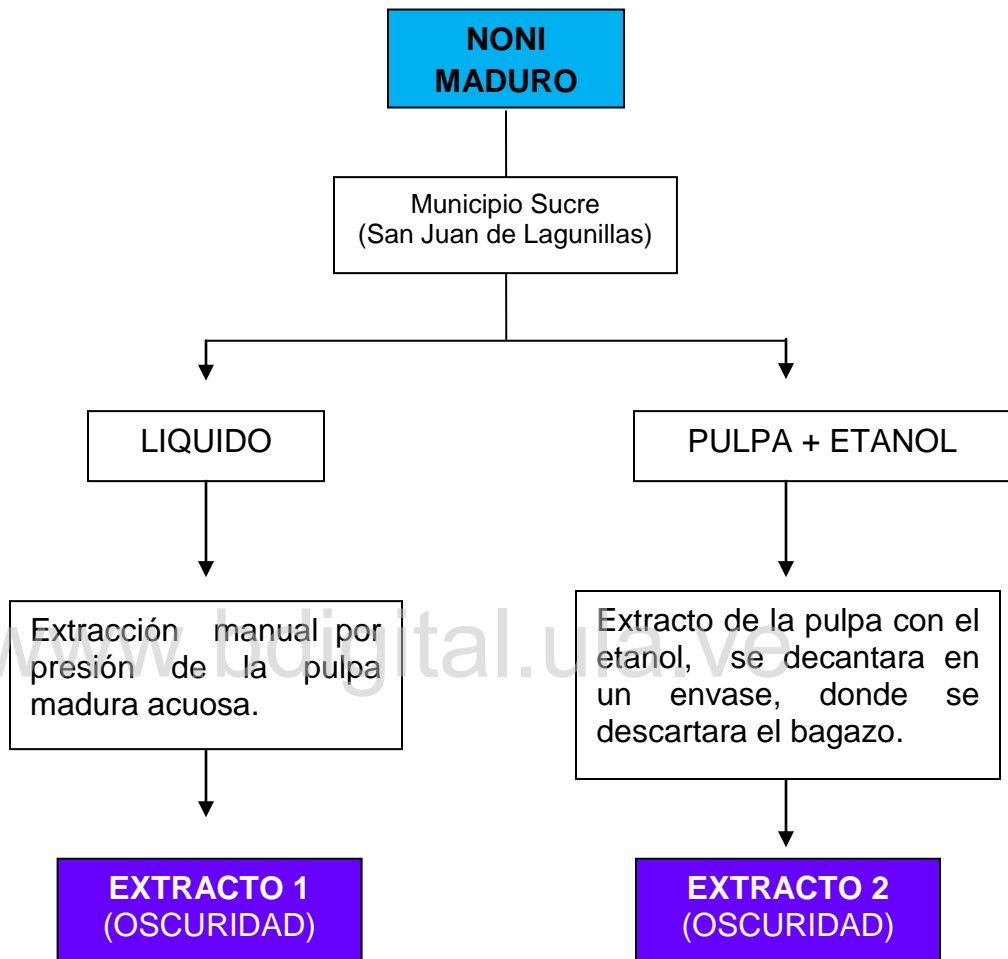


Fig. 5.- Marcha analítica del proceso de extracción del fruto de Noni Maduro

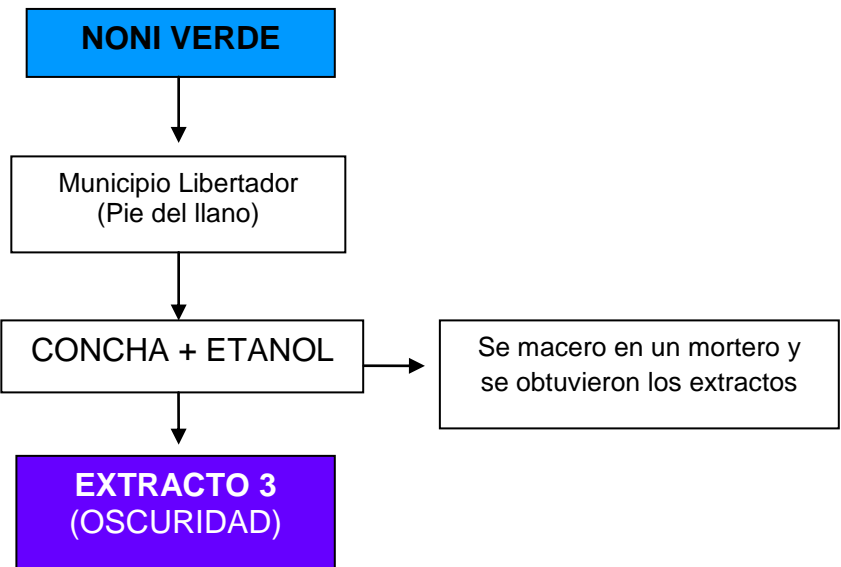


Fig.6.- Marcha analítica del proceso de extracción del fruto de Noni Verde

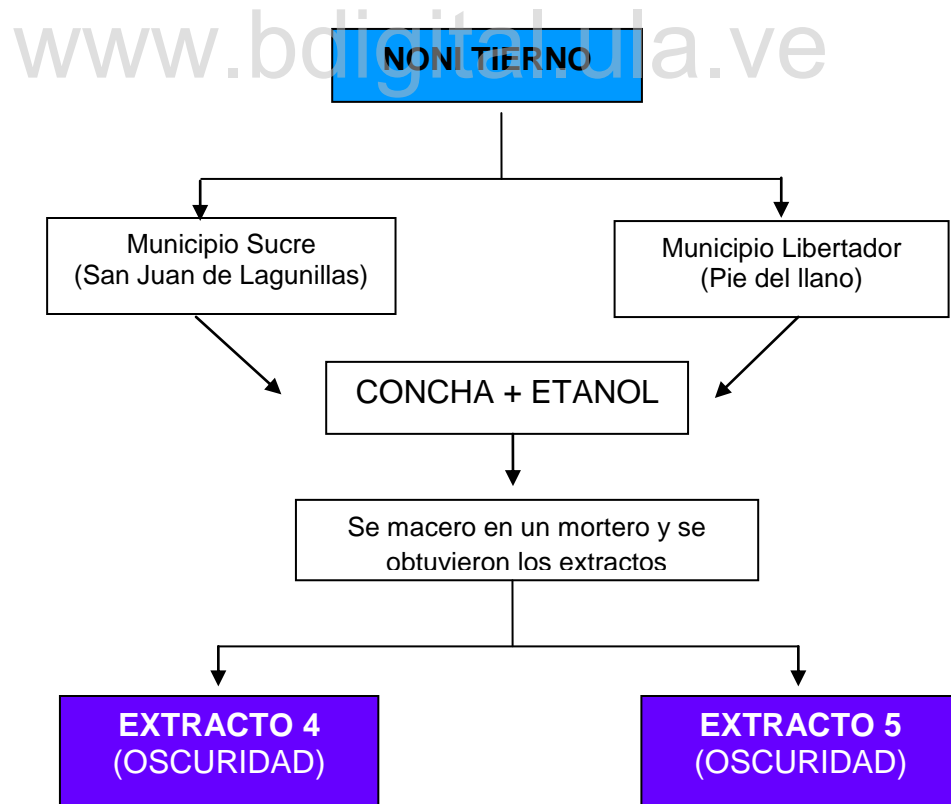


Fig.7 Marcha analítica del proceso de extracción del fruto de Noni Tierno

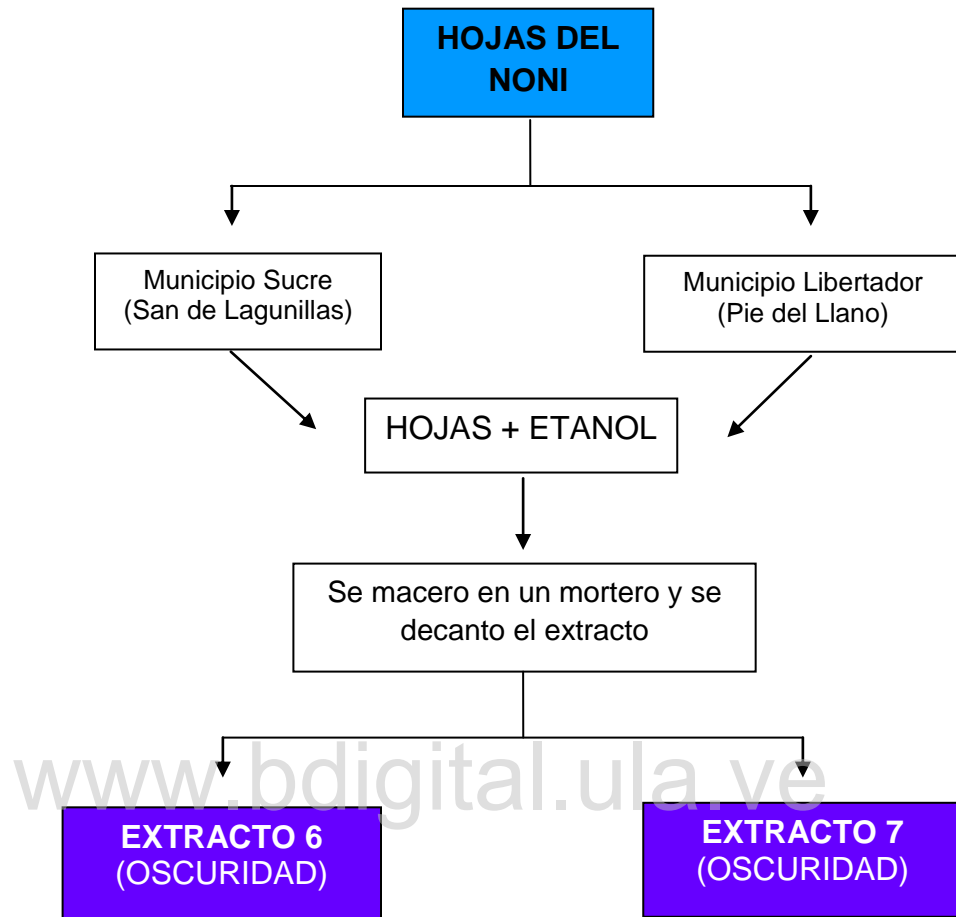


Fig.8.- Marcha analítica del proceso de extracción de las Hojas del Noni

Espectrofotometría

Para determinar si existe alguna Fotosensibilidad o Fotoactivación en la sección de Biotecnología se ha diseñado un sistema usando la irradiación del monocromador por el espectrofotómetro para sensibilizar/activar los extractos y al mismo tiempo detectar los cambios de absorción en las diferentes longitudes de onda. Para ello se hace un espectro ascendente en una dilución determinada y un espectro descendente en la misma dilución.

El razonamiento es el siguiente; Cuando el espectro es ascendente se irradia desde las longitudes de ondas bajas a las altas y se observa el efecto de las energías de las primeras sobre la absorción en las ultimas y en el sistema descendente ocurre lo contrario, por lo tanto el espectro diferencial entre ambos experimentos pueden arrojar información sobre la Fotoactividad y fotoprotección.

La ecuación que demuestra el diferencial para todos los extractos es:

$A_{\lambda n} - D_{\lambda n}$ y $A_{\lambda n}/D_{\lambda n}$ que significa el diferencial en cada una de las longitudes de onda, restando el ascendente – descendente o dividiendo el ascendente / descendente.

Se le realizo una espectrofotometría de barrido a los extractos, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm de paso para todas las mediciones, utilizando un equipo espectrofotómetro GENESYS 10 BIO.

Extracto 1: No se le realizo espectrofotometría, solo se utilizo para el estudio microbiológico debido a su grado de madurez.

Extracto 2: Se le realizo una espectrofotometría de barrido ascendente desde 190nm hasta 790 nm y una descendente a la inversa, con un intervalo de longitud de onda de 5 en 5, y en una dilución de 1:250 utilizando como blanco etanol.

Extracto 3: Se le realizaron dos espectrofotometrías ascendentes; La primera con un barrido desde 190 nm hasta 390 nm, con un intervalo de longitud de 1 en 1, y en una dilución de 1:200 utilizando como blanco etanol. La segunda con un barrido desde 390 nm hasta 690 nm, con un intervalo de longitud de 1 en 1, sin diluir utilizando como blanco etanol.

Extracto 4: Se le realizaron dos espectrofotometrías; La primera con un barrido ascendente desde 190 nm hasta 390 nm y descendente a la inversa, con un intervalo de longitud de 5 en 5, y en una dilución de 1:300 utilizando como blanco agua destilada. La segunda con un barrido ascendente desde 590 nm hasta 790 nm y descendente a la inversa, con un intervalo de longitud de 1 en 1, sin diluir utilizando como blanco etanol.

Extracto 5: Se le realizaron dos espectrofotometrías ascendentes; La primera con un barrido desde 190 nm hasta 390 nm, con un intervalo de longitud de 1 en 1, y en una dilución de 1:200 utilizando como blanco etanol. La segunda con un barrido desde 390 nm hasta 690 nm, con un intervalo de longitud de 1 en 1, y en una dilución de 1:10 utilizando como blanco etanol.

Extracto 6: Se le realizo una espectrofotometría de barrido ascendente desde 400 nm hasta 700 nm, con un intervalo de longitud de 1 en 1 y en una dilución de 1:10, utilizando como blanco etanol.

Extracto 7: Se le realizaron dos espectrofotometrías ascendentes; La primera con un barrido desde 190 nm hasta 390 nm, con un intervalo de longitud de 1 en 1, y en una dilución de 1:300 utilizando como blanco etanol. La segunda con un barrido desde 390 nm hasta 690 nm, con un intervalo de longitud de 1 en 1, y en una dilución de 1:10 utilizando como blanco etanol.

Cromatografía en Capa fina

Se realizó una cromatografía en capa fina, para lo cual se emplearon placas Merck TLC silica gel 60 F₂₅₄ N° 1.05554_0001 de 20x20cm. Se colocaron para la corrida tres soluciones con etanol, con diferentes diluciones:

Noni Tierno 1:300	Noni Verde 1:200	Noni Maduro 1:250
25 y 50 µL	5 y 10 µL	5 y 10 µL

Se empleó como fase móvil un solvente compuesto por: 100mL de acetato de etilo, 17mL de metanol y 13mL de agua destilada. La corrida completa se realizó en 35 minutos en la oscuridad.

Después de la corrida la placa fue secada a 60°C por una hora y se fotografió, luego fue observada en una lámpara ultravioleta (Minera light, UVSL-25) en onda larga y corta.

Estudio Microbiológico

Para determinarle al **Extracto 1** la presencia de microorganismos, se agrego una muestra del extracto en el caldo con ATS (Agar Trypticase de Soya) se incubo a 37 °C y luego pasada las 24 horas, se observaron para determinar la presencia o ausencia de microorganismos, seguidamente se sembraron en placas y a los microorganismos aislados y estabilizados, se le realizó una prueba de GRAM, finalmente fueron entregados como microorganismos estabilizados al cepario de la sección de Biotecnología de IIFFB-ULA.

Ensayo de Fotoprotección y Actividad Biológica

Preparación de los extractos:

Se prepararon los medios Mueller Hinton.

En tubos ependorft rotulados y envueltos con teipe negro para mantener la oscuridad, se les agregaron 100 μ L de los extractos del Noni y 100 μ L de las hojas del Noni *Morinda citrifolia* en cada tubo, se secaron, se pesaron y luego se resuspendieron en agua destilada estéril, se agitaron por 1 minuto hasta disolver bien, luego estos se llevaron a una caja oscura con los extractos originales para proceder a hacer el experimento.

Procedimiento:

Se tomaron tres placas del medio de cultivo Mueller Hinton preparado anteriormente y se rotularon de la siguiente manera: O (oscuridad), U.V. (ultra violeta) y B (luz blanca), este ensayo se realizo conjuntamente con otro grupo de tesis (Alix y Noenky), donde al señalar en las placas se identificaron así:

U.V. , LUZ BLANCA y OSCURIDAD
Extractos 1 y 2 (Noni y Hojas San Juan de Lagunillas)
Extractos 3 y 4 (Noni y Hojas Pie de Llano)
Extractos 5 y 6 (Parte morada y Blanca <i>Lupinus</i>)

Además, en cada placa se colocó un control que fue cloruro de sodio (solución salina fisiológica), y una cepa de *Escherichia coli* GY5027 que es muy sensible, la cual es usada para mutagénesis y tiene propiedades carcinogénicas.

Se procedió de la siguiente manera:

Cada placa se rotulo con una serie de números (1-6) que pertenecen a cada muestra, se colocó 5µL de la bacteria y sobre ésta 5µL del extracto correspondiente, en condiciones de oscuridad e irradiados con luz U.V. por 30 segundos y por Luz blanca por 5 minutos, todo esto dentro de una campana oscura para evitar contaminación e iluminación de los extractos y para llevar a cabo todas estas condiciones necesarias y observar el efecto de la luz sobre las muestras.

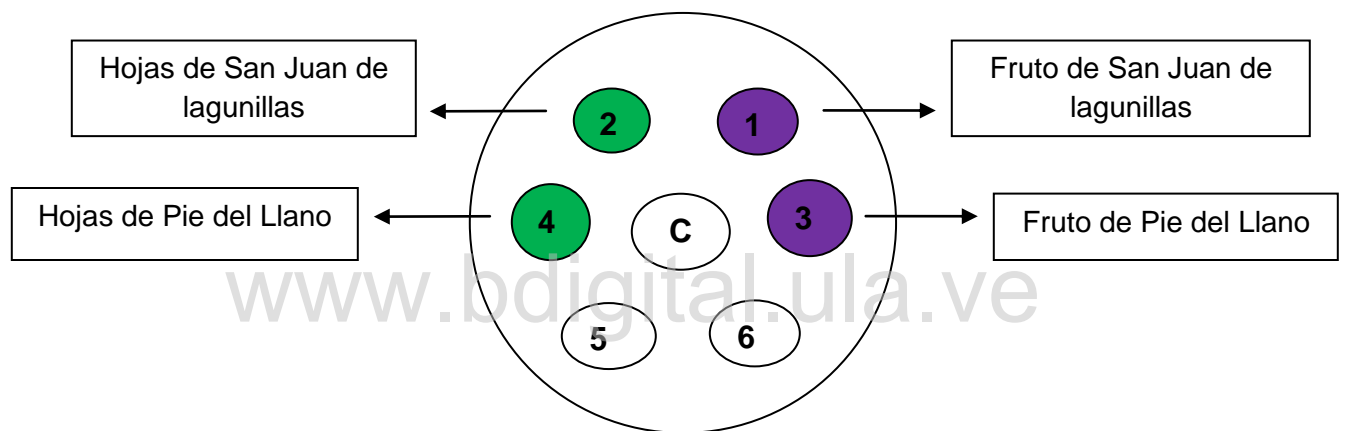


Fig. 9.- Ubicación de las muestras en las placas Muller Hinton en el ensayo de fotoprotección y Actividad Biológica

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados de la recolección de las muestras.

Del arbusto *Morinda citrifolia* se seleccionaron 5 frutos del Noni de diferentes etapas de maduración y 15 hojas, los cuales fueron envueltos en bolsas plásticas oscuras y trasladados en un cava de anime con hielo hasta el IIFFB, Y seguidamente fueron rotulados y refrigeradas para su posterior análisis.

Extracción de las muestras

El fruto de Noni Maduro, se retiro del refrigerador y se exprimió manualmente utilizando una malla tul, el liquido fue decantado directamente en un recipiente de vidrio ámbar, luego se envolvió en una bolsa plástica oscura, al cual se le denomino **Extracto 1**, y a la pulpa del fruto de Noni ya exprimida se coloco en otro recipiente de vidrio ámbar y se le agrego aproximadamente 10 ml de etanol, igualmente se envolvió en una bolsa plástica oscura, y a este se le denomino **Extracto 2**.

El fruto de Noni Verde, recolectado en Pie del Llano Municipio libertador, se le extrajo la concha con un cuchillo, luego se peso la concha arrojando un peso de 14 gr, y se le agrego la mitad de su peso en etanol 7 ml, fue macerado y decantado en un recipiente ámbar, este se envolvió igualmente en una bolsa plástica oscura, el cual se le denomino **Extracto 3**.

El fruto de Noni Tierno, recolectado en Lagunillas Municipio Sucre, se le extrajo la concha con un cuchillo, luego se peso la concha arrojando un peso neto de 2.75 gr, y se le agrego la mitad de su peso en etanol siendo $1.37 \approx 1.4$ ml, y el fruto recolectado en la zona de Pie del Llano Municipio Libertador, igualmente se le extrajo la concha, arrojando un peso neto de 32.37 gr, y se le agrego la mitad de su peso en etanol 16 ml, ambos se maceraron y a través de una malla se decantaron en recipientes ámbar por separado y envueltos en bolsas plásticas oscuras, a los cuales se le denomino **Extracto 4 y Extracto 5** respectivamente.

Las hojas de Noni recolectadas en Lagunillas Municipio Sucre, se cortaron en pedazos quitándole las venas, se pesaron 50 gr y se maceraron en un mortero con 25 ml de etanol, de igual manera con las hojas recolectadas en la zona de Pie del Llano Municipio Libertador, se cortaron en pedazos, se pesaron 20 gr y se maceraron en un mortero con 10 ml de etanol, ambos extractos fueron decantados en recipientes ámbar por separado, y envueltos en bolsas plásticas oscuras, a los cuales se les denomino **Extracto 6 y Extracto 7** respectivamente.

Todos estos experimentos fueron realizados en un cuarto oscuro, para protegerlos de la luz, evitando posibles alteraciones en las moléculas fotosensibles.

Resultados de Fotosensibilidad evaluados por espectrofotometría

Extracto 2

A continuación se muestran las graficas, que corresponden a los cuatro espectros, ascendente, descendente, resta diferencial y a la división diferencial. Los espectros de barrido ascendente y descendente fueron realizados desde 190 nm hasta 790 nm y a la inversa, con una dilución 1:250. Sin embargo se omiten los valores obtenidos en las longitudes de onda entre 590 nm hasta 790 nm, debido a que los resultados significativos se encuentran en el espectro parcial de la región UV-Visible.

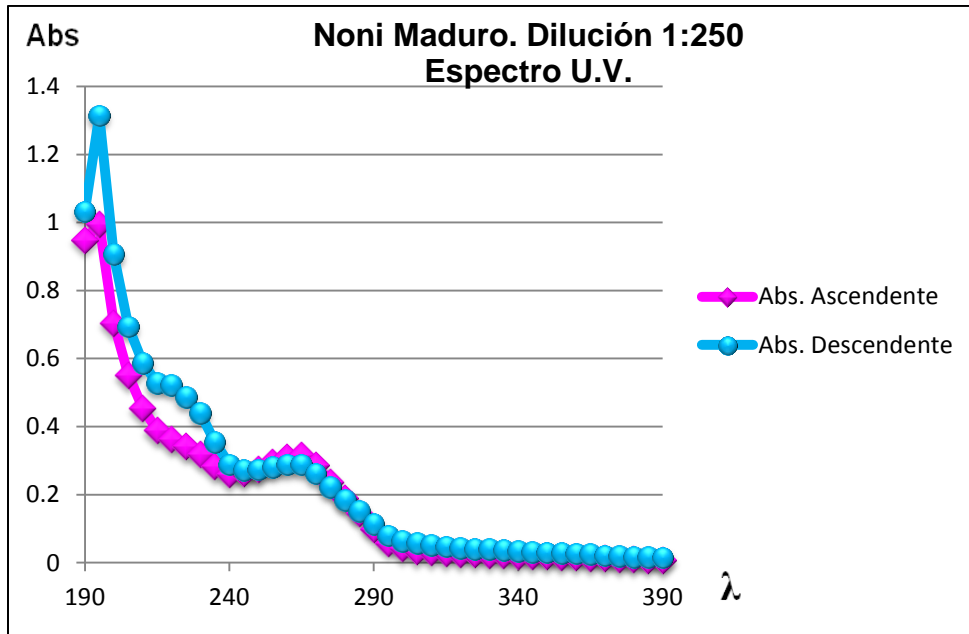


Grafico 1.- Espectro ascendente y descendente del extracto 2 Noni Maduro con dilución 1:250 de la zona de San Juan de Lagunillas.

www.bdigital.ula.ve

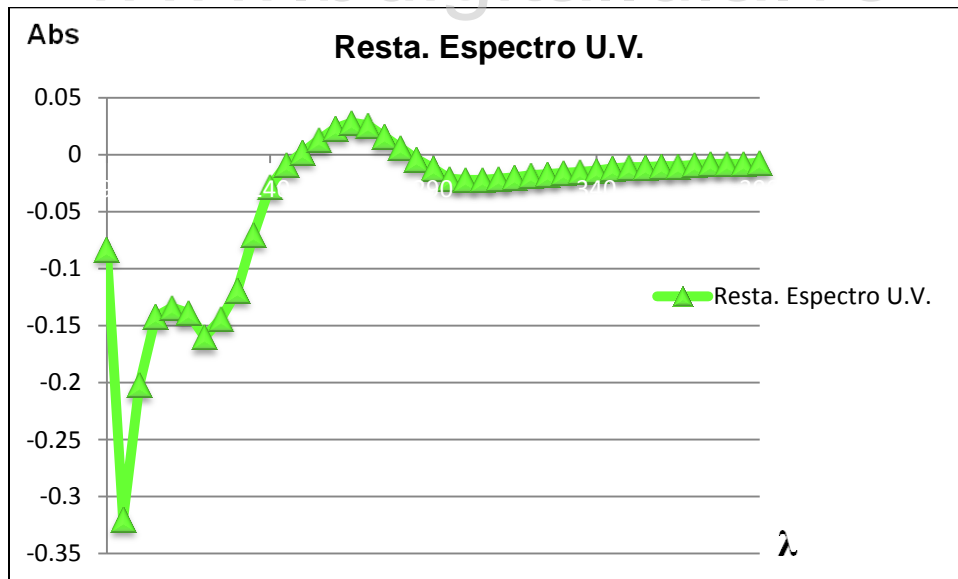


Grafico 2.- Espectro diferencial (Resta) del extracto 2 Noni Maduro de la zona de San Juan de Lagunillas

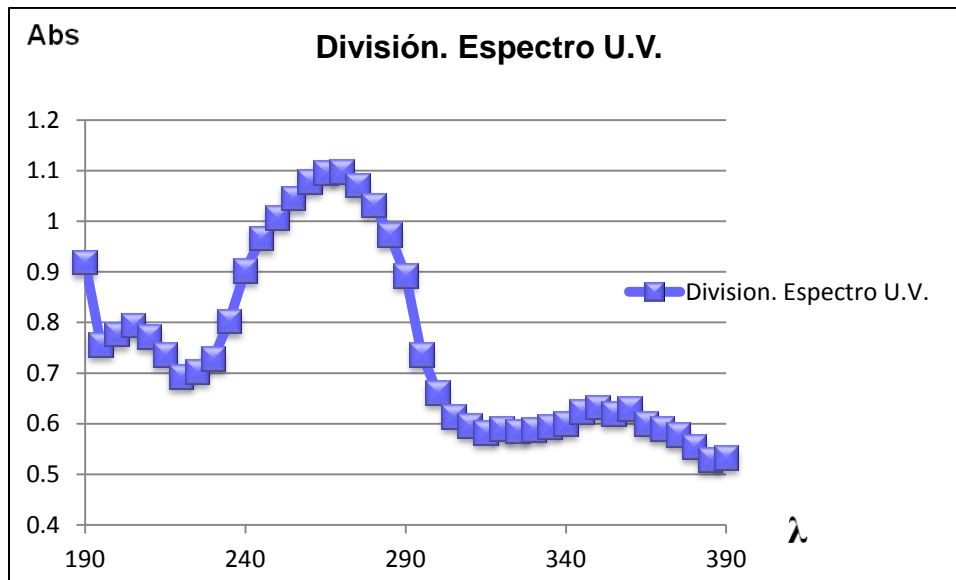


Gráfico 3.- Espectro diferencial (División) del extracto 2 Noni Maduro de la zona de San Juan de Lagunillas

Se observó que el comportamiento fue prácticamente semejante en los espectros ascendente y descendente, con un pico considerable al inicio a la longitud de onda de 195 nm y otro a 265 nm en ambos espectros. Los espectros diferenciales arrojaron en el caso de la resta un valle a 195 nm y un pico neto a 265 nm, la división presenta un pico pronunciado a 270 nm.

Los resultados antes descritos nos llevan a concluir que sí hay Fotosensibilidad, ya que si bien los espectros ascendente y descendente presentan picos, los espectros diferenciales también presentan valles, picos y fluctuaciones.

Extracto 3

A continuación se muestran dos graficas del Extracto 3, a diferentes diluciones, que corresponden al espectro ascendente. La primera con un barrido ascendente desde 190 nm hasta 390 nm con una dilución 1:200. La segunda con un barrido ascendente desde 390 nm hasta 690 nm, sin diluir. Ambos espectros pertenecen al Noni Verde de Pie del Llano.

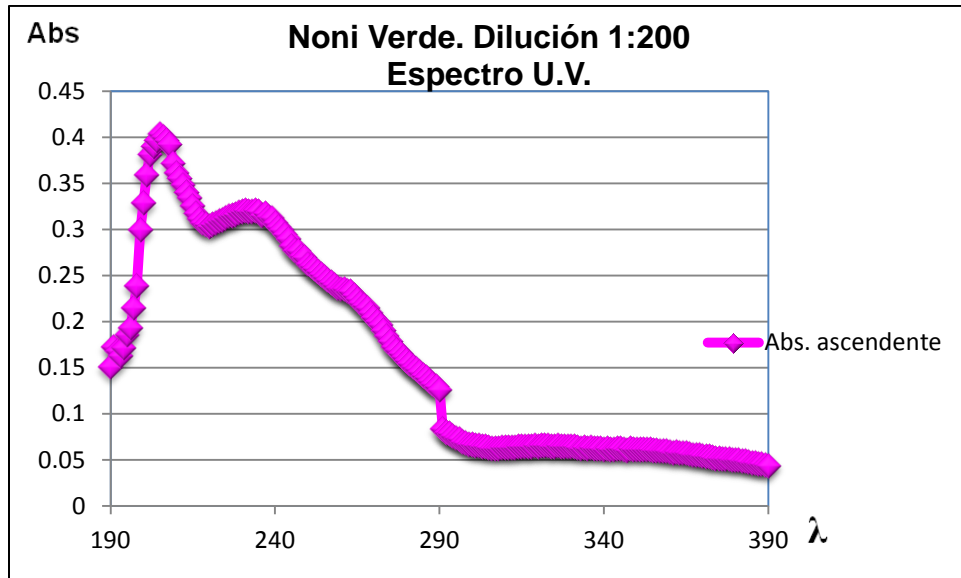


Grafico 4.- Espectro ascendente del extracto 3 del Noni Verde con dilución 1:200 de la zona de Pie del Llano

Se observó un pico considerable en el inicio a la longitud de onda de 206 nm y una pequeña meseta desde la longitud de onda 222 nm hasta 240 nm. Los resultados antes descritos nos llevan a concluir que sí hay Fotosensibilidad, ya que si bien el espectro ascendente presenta un pico, meseta y fluctuaciones.

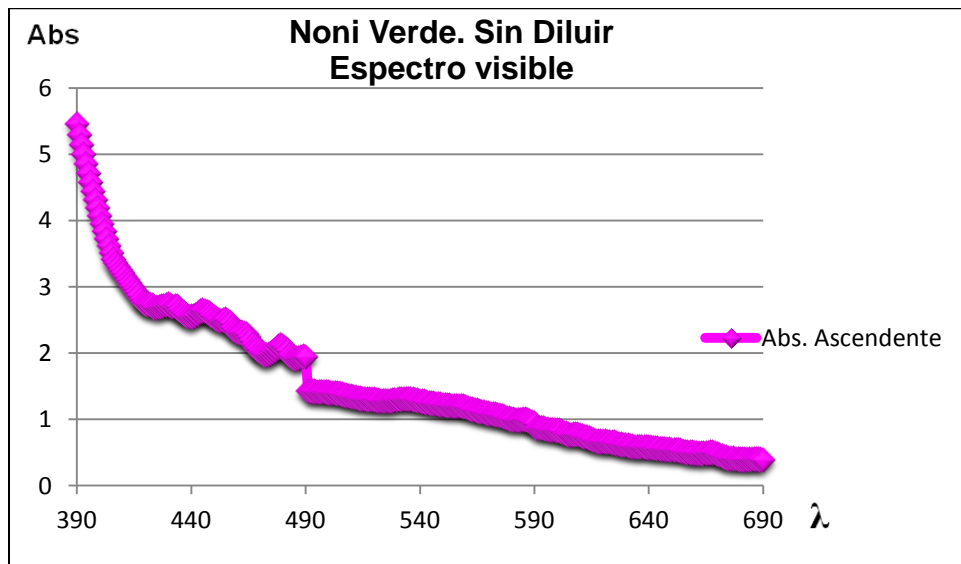


Grafico 5.- Espectro ascendente del extracto 3 Noni Verde sin diluir de la zona de Pie del Llano

Se observó la ausencia de picos que pudieran demostrar una posible fotosensibilidad.

Extracto 4

A continuación se muestran las graficas del Extracto 4, a diferentes diluciones, del Noni tierno de Lagunillas.

La siguiente corresponde a los cuatro espectros ascendentes, descendentes, resta diferencial y a la división diferencial. Los espectros de barrido ascendente y descendente fueron realizados desde 190 nm hasta 390 nm y a la inversa.

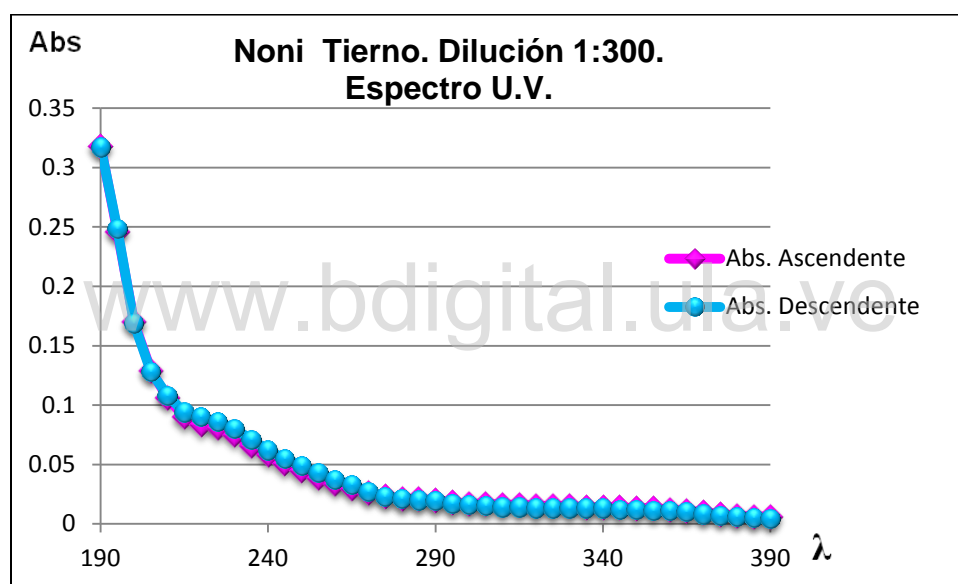


Gráfico 6.- Espectro ascendente y descendente del extracto 4 Noni Tierno dilución 1:300 de la zona de San Juan de Lagunillas

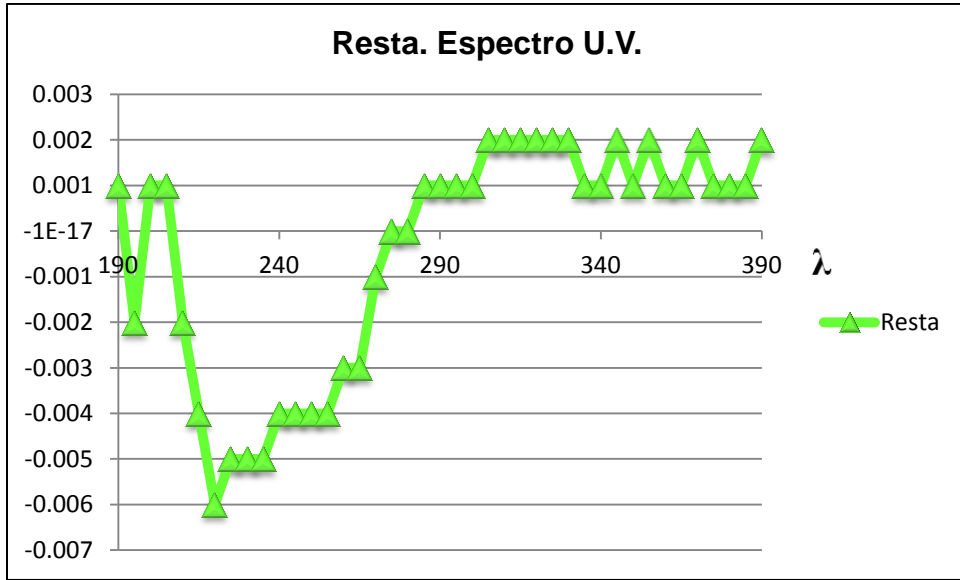


Grafico 7.- Espectro diferencial (Resta) del extracto 4 Noni tierno de la zona de San Juan de Lagunillas.

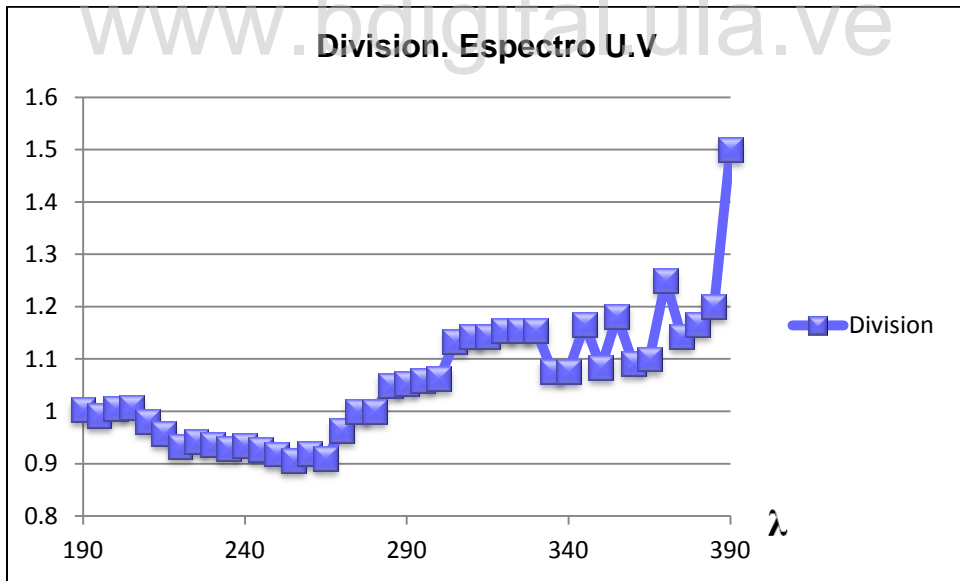


Grafico 8.- Espectro diferencial (División) del extracto 4 Noni tierno de la zona de San Juan de Lagunillas

Se observó que el comportamiento fue prácticamente semejante en los espectros ascendente y descendente con una parábola de tendencia negativa que va desde una menor longitud de onda a una mayor longitud de onda sin presentar picos, valles ni fluctuación. Los espectros diferenciales arrojaron fluctuaciones, estos resultados nos llevan a concluir que no hay fotosensibilidad evidente.

La siguiente grafica corresponden a los espectros, ascendente y descendente. Los espectros de barrido fueron realizados desde 590 nm hasta 790 nm y a la inversa, sin diluir.

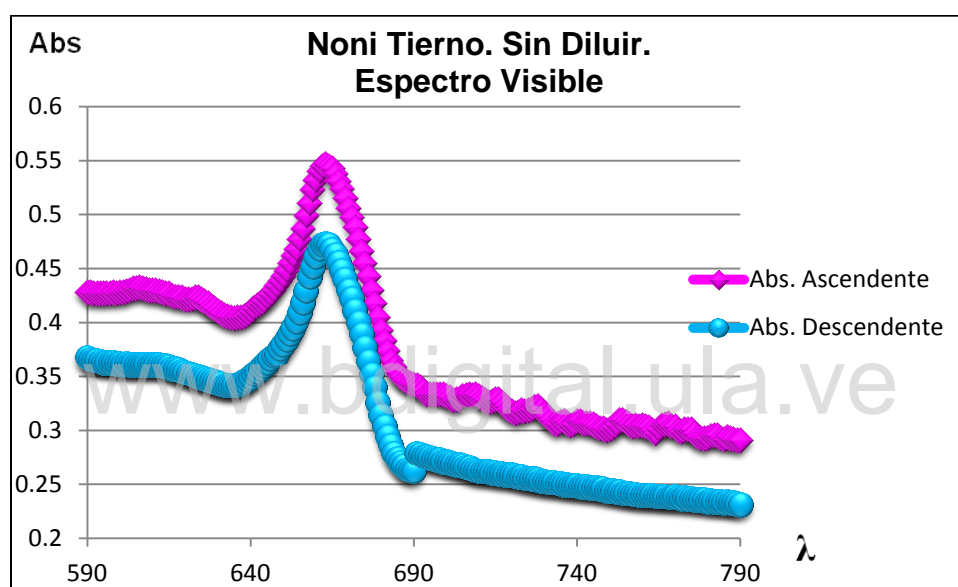


Gráfico 9.- Espectro ascendente y descendente del extracto 4 Noni Tierno sin diluir de la zona de San Juan de Lagunillas

Se observó que el comportamiento fue prácticamente semejante en los espectros ascendente y descendente, con un pico a la longitud de onda de 665 nm en ambos espectros. Los resultados antes descritos nos llevan a concluir que sí hay fotosensibilidad, ya que si bien los espectros ascendente y descendente presentan picos, los espectros diferenciales presentan valles, picos y fluctuaciones.

Extracto 5

A continuación se muestran las graficas que corresponden al Extracto 5, a diferentes diluciones del Noni Tierno de Pie del Llano.

Ambos espectros fueron ascendentes. El primero con un barrido desde 190 nm hasta 390 nm con una dilución 1:200.

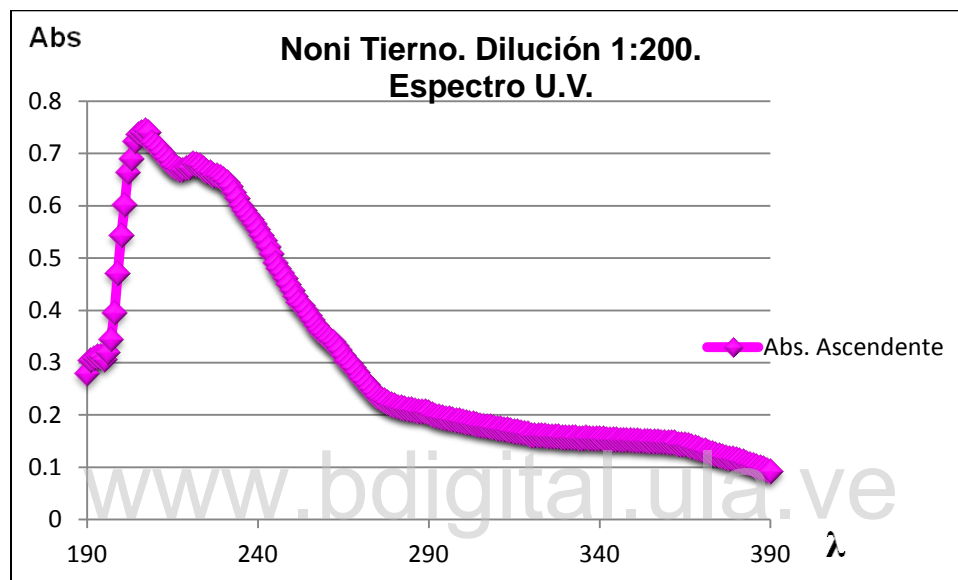


Grafico 10.- Espectro ascendente del extracto 5 Noni Tierno dilución 1:200 de la zona de Pie del Llano

Se observó un pico considerable en el inicio aproximadamente a la longitud de onda 208 nm. El resultado antes descrito nos lleva a concluir que sí hay fotosensibilidad, ya que si bien el espectro ascendente presenta un pico y fluctuaciones.

El segundo grafico, con un barrido ascendente desde 390 nm hasta 690 nm con una dilución 1:10

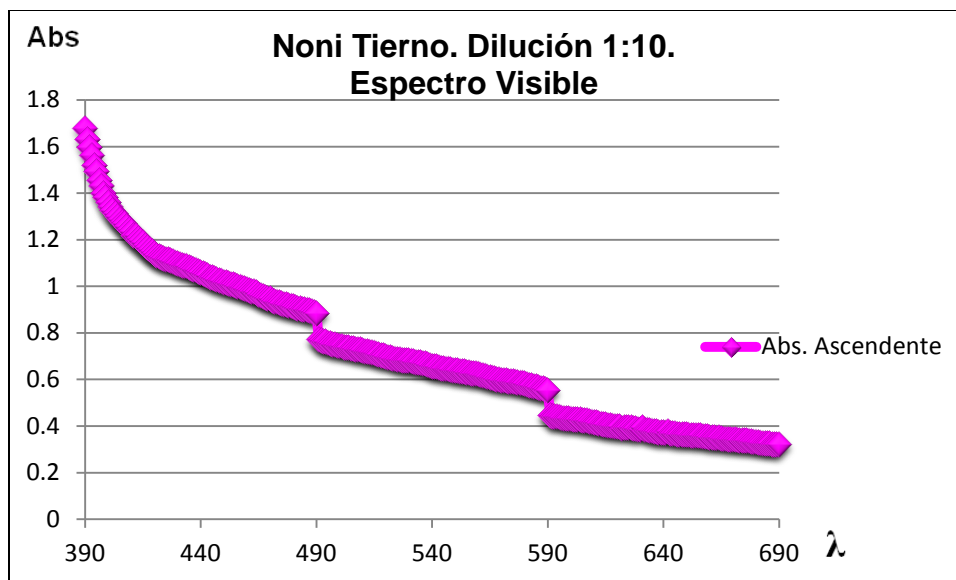


Grafico 11.- Espectro ascendente del extracto 5 Noni tierno dilución 1:10 de la zona de Pie del Llano

Se observó en el espectro, la formación de una parábola con tendencia negativa que va desde una menor longitud de onda a una mayor longitud. El resultado antes descrito nos lleva a concluir que no hay moléculas fotosensibles, ni la presencia de clorofila, ya que el espectro ascendente no presenta picos ni fluctuaciones.

Extracto 6

A continuación se muestra el espectro ascendente que corresponde al extracto 6 de las Hojas del Noni de Lagunillas. El espectro de barrido fue realizado desde 400 nm hasta 700 nm con una dilución 1:10.

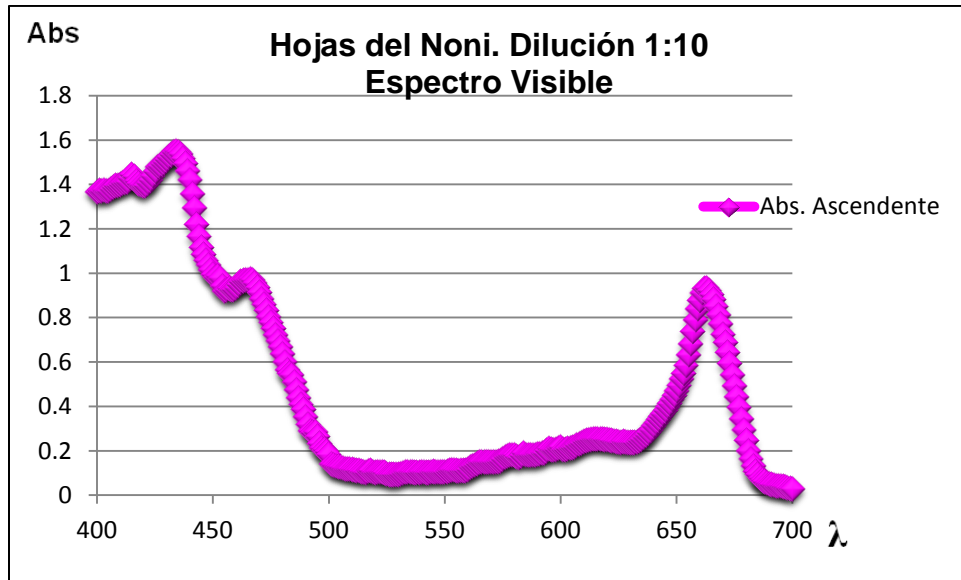


Gráfico 12.- Espectro ascendente del extracto 6 Hojas del Noni dilución 1:10 de la zona de San Juan de Lagunillas

Se observó aproximadamente a la longitud de onda 435 nm y 663 nm la aparición de la Clorofila A, y a la longitud de onda 466 nm y a 616 nm la presencia de la Clorofila B, lo que hace referencia a un ondómetro.

Extracto 7

A continuación se muestra el espectro ascendente que corresponde al extracto 7 de las Hojas del Noni de Pie del Llano.

El espectro de barrido fue realizado desde 190 nm hasta 390 nm con una dilución 1:300

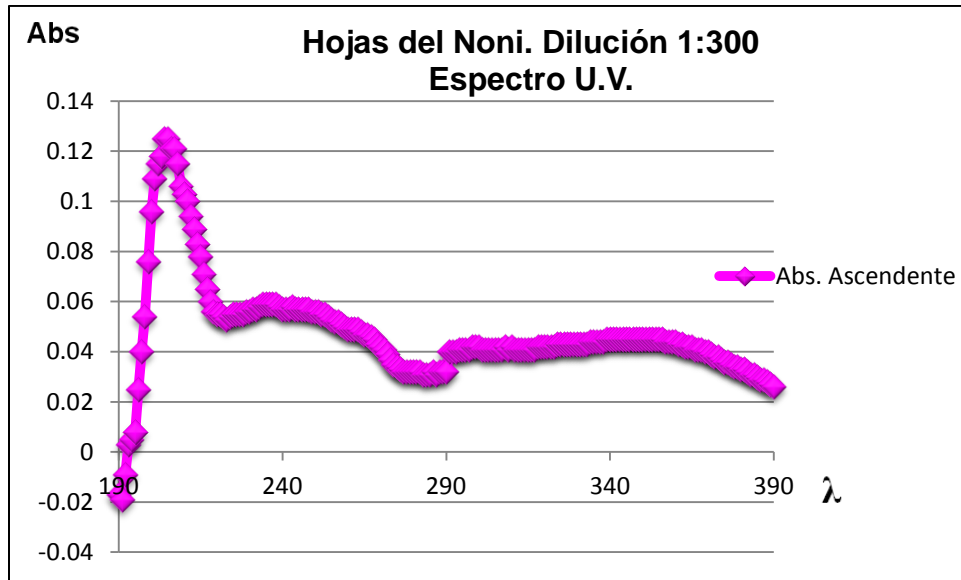


Grafico 13.- Espectro ascendente del extracto 7 Hojas del Noni dilución 1:300 de la zona de Pie del Llano

Se observó la aparición de la Clorofila A, a la longitud de onda 205 nm de la zona UV, lo cual llama la atención porque según la teoría, las clorofilas A y B deben aparecer en la zona visible del espectro.

El segundo con un barrido desde 390 nm hasta 690 nm y con una dilución 1:10

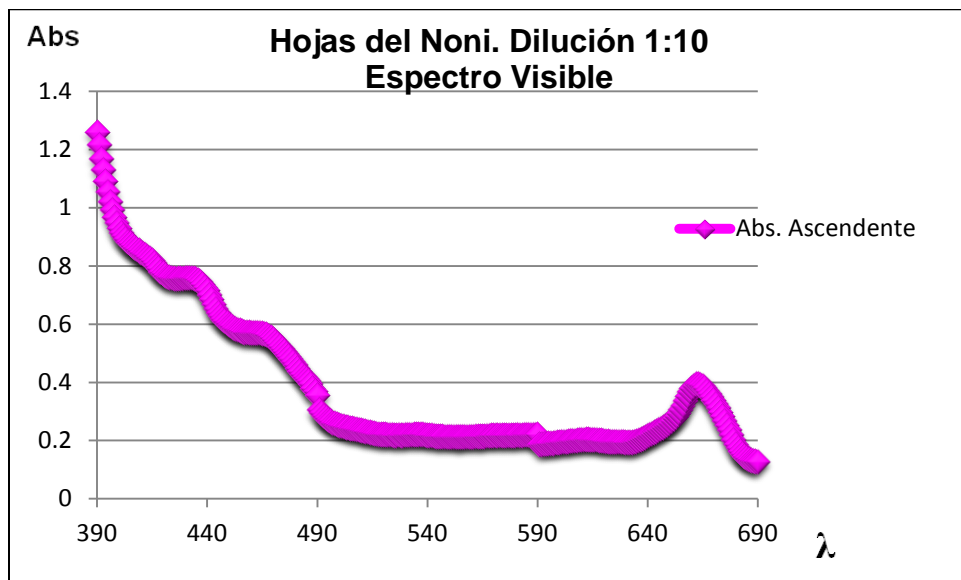


Grafico 14.- Espectro ascendente del extracto 7 Hojas del Noni dilución 1:10 de la zona de Pie del Llano.

Comparación de los espectros de Fotosensibilidad y Fotoactivación de los extractos del fruto de Noni Tierno a dos pisos altitudinales

A continuación se muestra un gráfico representando la comparación de los espectros ascendente del Noni Tierno de la zona de San Juan de Lagunillas y de la zona de Pie del Llano que va desde una longitud de onda de 190 nm a 390 nm representado el espectro ultravioleta

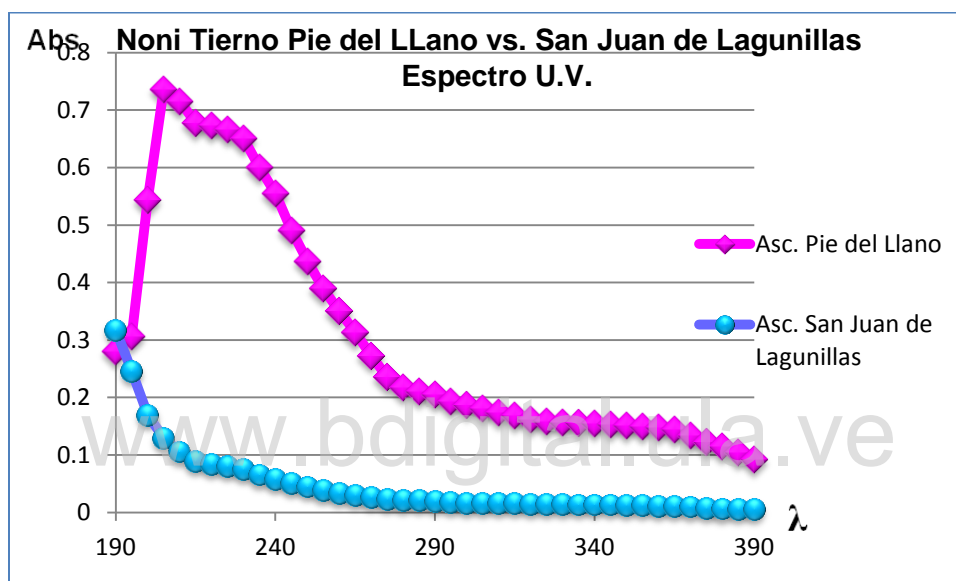


Gráfico 15.- Espectros ascendentes del Noni Tierno de la zona de San Juan de Lagunillas comparado con el de la zona de Pie del Llano

Se observa que en el Noni recolectado de la zona de Pie del Llano presente un pico considerable al inicio del espectro a 208 nm por lo que se considera que si hay una Fotosensibilidad evidente, mientras que en Noni recolectado en la zona de San Juan de Lagunillas se observa una parábola con tendencia negativa desde una menor longitud de onda a una mayor longitud de onda sin presentar Fotosensibilidad en el espectro ultravioleta, lo que nos lleva a concluir; que este efecto puede deberse a los distintos pisos altitudinales por lo que a mayor altura

se observa la Fotosensibilidad en el espectro ultravioleta y a menor altura en el espectro visible.

Calculo de Concentración de Proteínas y Ácidos Nucleicos

Se le realizo a los extractos 2, 4 y 5 un cálculo de proteínas y ácidos nucleicos, según el método de Warburg y Christian.

Noni	<i>E280/E260</i>	Factor Corrección	Ácidos Nucleicos (%)	[Proteínas] mg/ml
Maduro (Extracto 2) Ascendente	0.61	0.30	17.9	14.325
Maduro (Extracto 2) Descendente	0.64	0.368	14.5	17.02
Tierno Lagunillas (Extracto 4) Ascendente	0.62	0.330	16.6	27.720
Tierno Pie del Llano (Extracto 5) Ascendente	0.62	0.330	16.6	14.388

Tabla 1.- Cálculos de Concentración de Proteínas y Ácidos Nucleícos

Se midió la extinción y la solución de proteína adecuadamente diluida, tanto en 260 nm y 280 nm, y se calculo la relación de E_{280}/E_{260} . Utilizando esta relación, la proporción de ácido nucleicos en la solución de proteína y el factor para el cálculo de la concentración de proteína a partir de la tabla según Warburg y Christian. Luego de obtener estos valores se pudo calcular la concentración de

proteínas a partir de la formula: **Concentración de Proteínas (mg/ml)**= Extinción a 280 nm x factor de corrección x dilución.

Noni Tierno San Juan de Lagunillas	Noni Tierno Pie del Llano
<p>1.- En la zona U.V. del espectro no se observo fotosensibilidad.</p> <p>2.- En la zona Visible del espectro, si se observa fotosensibilidad y la presencia de clorofila A y B.</p> <p>3.-Presenta una mayor concentración de proteínas siendo esta de 27,720 mg/ml de proteínas en el espectro ascendente y un % de ácidos nucleicos de 16,6.</p>	<p>1.- En la zona U.V. del espectro, se observa fotosensibilidad.</p> <p>2.- En la zona Visible del espectro, no se observa fotosensibilidad ni la presencia de clorofilas.</p> <p>3.- Presenta una menor concentración de proteínas siendo esta de 14,338 mg/ml, en el espectro ascendente y un % de ácidos nucleicos igual de 16,6. Muy similar a la que presenta el Noni Maduro.</p>
Hojas de San Juan de Lagunillas	Hojas de Pie del Llano
<p>1.- En la zona U.V del espectro no se observo la aparición de la Clorofila.</p> <p>2.- En la zona Visible al Rojo lejano del espectro, se observa la presencia de la clorofila A y B.</p>	<p>1.- En la zona U.V del espectro se observo la aparición de la Clorofila A.</p> <p>2.- En la zona Visible al Rojo lejano del espectro, se observo solo la clorofila A y un compuesto que guarda similitud del fruto de la Granada.</p>

Tabla 2.- Comparación de los frutos de Noni Tierno y las Hojas de San Juan de Lagunillas y Pie del Llano

Cromatografía en capa fina.

En las Figuras 10, 11 y 12 se muestra el resultado de la cromatografía de los Extractos de los frutos de Noni en los pocillos 1 y 2 pertenecen al Noni Tierno, 3 y 4 al Noni Verde, 5 y 6 al Noni Maduro. Los cuales fueron observados bajo luz visible, luz U.V. onda corta y luz U.V. onda larga, y en las tablas 3, 4 y 5 se muestran los Rf correspondientes a las manchas visualizadas en la cromatografía.

Luz Visible



Figura 10.- Cromatografía observada en Luz Visible

En la imagen se observa de izquierda a derecha al Noni Tierno 25 µl, Noni Tierno 50 µl, Noni verde 5µl, Noni verde 10 µl, Noni Maduro 5 µl, Noni Maduro 10 µl.

Rf	Extracto 1:300 Noni Tierno 25µL	Extracto 1:300 Noni Tierno 50µL	Extracto 1:200 Noni Verde 5µL	Extracto 1:200 Noni Verde 10µL	Extracto 1:250 Noni maduro 5µL	Extracto 1:250 Noni maduro 10µL
Rf 1	-	-	-	-	-	-
Rf 2	-	-	-	-	-	-
Rf 3	-	-	-	-	-	-
Rf 4	-	-	-	-	-	-
Rf 5	+	0,23	+	+	-	-
Rf 6	+	0,27	+	+	-	-
Rf 7	+	0,32	+	+	-	-
Rf 8	+	0,36	+	+	-	-
Rf 9	+	0,42	-	-	-	-
Rf 10	+	0,46	-	-	-	-
Rf 11	-	-	-	0,50	-	-
Rf 12	-	-	-	0,54	-	-
Rf 13	-	-	-	0,58	-	-
Rf 14	+	0,85	+	+	+	+
Rf 15	+	0,89	+	+	+	+

Tabla 3.- RF de la Cromatografía realizada en luz visible

Luz U.V. Onda Corta

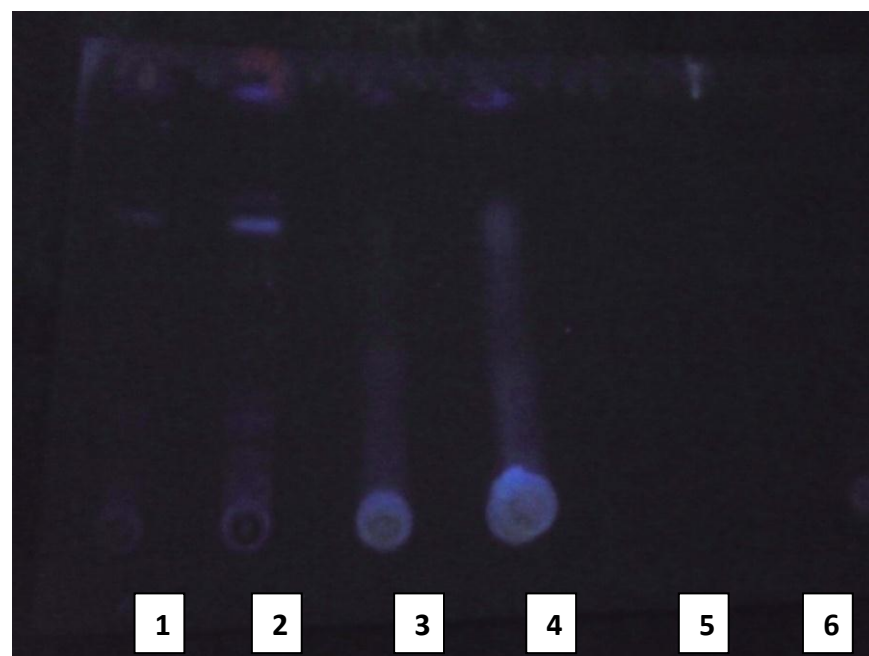


Figura 11.- Cromatografía observada en luz U.V. en onda corta

Rf	Extracto Noni Tierno 25 μ L	Extracto Noni Tierno 50 μ L	Extracto Noni Verde 5 μ L	Extracto Noni Verde 10 μ L	Extracto Noni maduro 5 μ L	Extracto Noni maduro 10 μ L
Rf 1	+	0,06	+	+	-	-
Rf 2	+	0,10	+	+	-	-
Rf 3	-	0,15	+	+	-	-
Rf 4	+	0,21	+	+	-	-
Rf 5	+	0,28	+	+	-	-
Rf 6	-	-	0,34	+	-	-
Rf 7	-	-	0,37	+	-	-

Rf 8	-	-	-	0,42	-	-
Rf 9	-	-	-	0,46	-	-
Rf 10	-	-	-	0,53	-	-
Rf 11	-	-	-	0,58	-	-
Rf 12	+	0,62	-	+	-	-
Rf 13	+	0,70	-	+	-	-
Rf 14	+	0,89	+	+	+	+
Rf 15	+	0,93	+	+	+	+

Tabla 4.- RF de la cromatografía realizada en luz ultra violeta Onda Corta

Luz U.V. Onda Larga

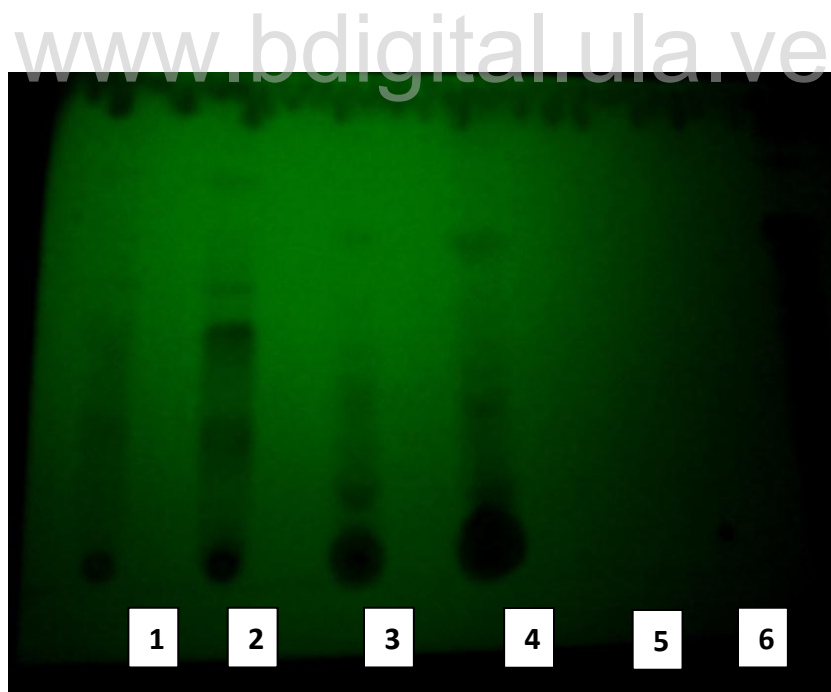


Figura 12.- Cromatografía observada en luz U.V. onda larga

Rf	Extracto 1:300 Noni Tierno 25µL	Extracto 1:300 Noni Tierno 50µL	Extracto 1:200 Noni Verde 5µL	Extracto 1:200 Noni Verde 10µL	Extracto 1:250 Noni maduro 5µL	Extracto 1:250 Noni maduro 10µL
Rf 1	-	0,07	+	+	-	-
Rf 2	+	0,11	+	+	-	-
Rf 3	-	0,17	+	+	-	-
Rf 4	-	0,21	+	+	-	-
Rf 5	+	0,27	+	+	-	-
Rf 6	+	0,35	+	+	-	-
Rf 7	+	0,42	+	+	-	-
Rf 8	+	0,48	-	-	-	-
Rf 9	+	0,50	+	+	-	-
Rf 10	+	0,54	-	-	-	-
Rf 11	+	0,62	-	-	-	-
Rf 12	-	-	+	0,74	-	-
Rf 13	+	0,85	-	-	-	-
Rf 14	+	0,93	+	+	+	+
Rf 15	+	0,97	+	+	+	+

Tabla 5.- RF de la Cromatografía realizada en luz ultra violeta Onda Larga

Resultados definitivos de la Cromatografía

- El Noni tierno presenta mayor número de bandas.
- Comparando los datos de las tablas, el Noni tierno a medida que madura va perdiendo el bandeo, además van cambiando sus bandas y perdiendo interés.
- Comparando los tres tipos de análisis, es mejor el ensayo en Onda larga que en onda Corta. Pero Ambos mejores que en Luz visible.

Diferencias en los pigmentos debido a la altura

En las Figuras 13, 14 y 15 se muestra el resultado de la cromatografía de los Extractos de los frutos de Noni y sus hojas en dos pisos altitudinales, ubicándose de la siguiente manera: Los pocillos del 1 al 6 pertenecen a la zona de Pie del llano situado a 1330 m.s.n.m. (1 y 2 Noni Verde, 3 y 4 Hojas, 5 y 6 Noni Tierno), y los pocillos 7,8 y 9 pertenecen a la zona de San Juan de Lagunillas situado a 1070 m.s.n.m. (7 Hojas, 8 Noni Tierno, 9 Noni Maduro). Los cuales fueron observados bajo luz visible, luz U.V. onda corta y luz U.V. onda larga.

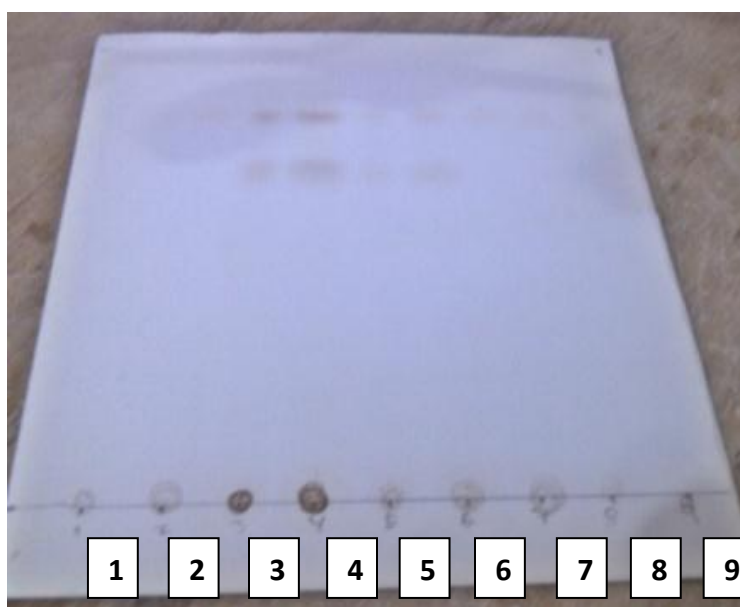


Figura 13.- Cromatografía observada en luz Visible

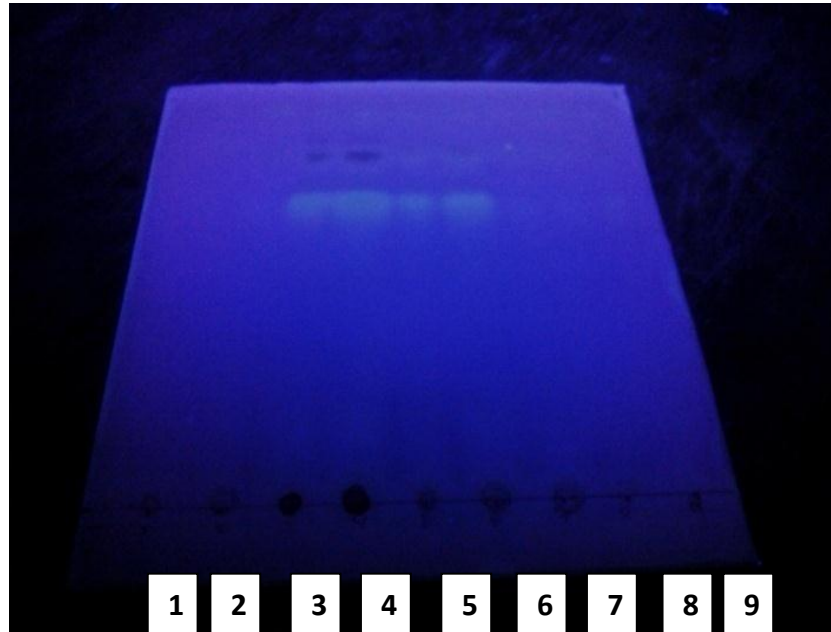


Figura 14.- Cromatografía observada en luz U.V. Onda corta



Figura 15.- Cromatografía observada en luz U.V. Onda larga

Es evidente como la altura hace notar una gran diferencia en los extractos de los frutos y hojas recolectados en la zona de pie del llano situado a 1330 m.s.n.m. ya que se observa las bandas de la clorofilas y de otro compuesto q ha sido detectado a esa longitudes de onda que en la zona de san juan de lagunillas situado a 1070 m.s.n.m no aparecen, por lo que se puede concluir que la altura

influye en la aparición de moléculas fotosensibles y además a medida que madura el fruto estas bandas desaparecen.

Análisis Microbiológico

Se observo crecimiento en los tubos, y seguidamente se realizo un GRAM donde se observaron cocos dispuestos en cadena y racimos, y luego se inocularon en un medio estéril.

Se realizo una siembra en placa con medio Trypticase de Soya y se incubo por 24 horas a 37 °C, donde se observo crecimiento de dos colonias bacterianas distintas denominadas N1 y N2 mostrando unas características macroscópicas distintas para cada colonia.

N1		N2	
Color	Blanco	Color	Blanco
Aspecto	Opaco	Aspecto	Brillante
Forma	Redondas	Forma	Redondas
Tamaño	Grande	Tamaño	Pequeña
Elevación	Plana	Elevación	Convexa
Bordes	Rugosos	Bordes	Lisos

Tabla 6.- Características macroscópicas de las colonias observadas del Extracto 1 del Noni.



Fig. 16.- Colonias Bacterianas N1 y N2

Se procedió a reaislar en placa cada una de las colonias incubándose por 24 horas a 37 °C. Al transcurrir las 24 horas se realizo un Gram a las dos colonias mostrando las siguientes características Microscópicas



Fig. 17.- GRAM de las colonias bacterianas N1 y N2

Mostrando las siguientes características microscópicas:

N1	N2
<ul style="list-style-type: none">• Cocos Grampositivos• Bacilos Grampositivos, con un promedio de ancho de 0.25 a 0.5 micrómetros, y un largo de 3 a 5 micrómetros (Posible Actinomycetal)	<ul style="list-style-type: none">• Cocos Grampositivos, con tendencia agregarse con un tamaño máximo de 1 micra y un tamaño mínimo de 0.25 micras.

Tabla 7. Características microscópicas de las colonias Observadas del extracto 1 del Noni.

Se le realizo un Gram a la colonia **N1** para verificar la existencia de ese Actinomycetal, observándose un bacilo Grampositivo 4 x1 más pequeño y grueso no muy filamentado, esto puede deberse a la etapa de crecimiento y a los medios de cultivo, demostrando la veracidad de ser un Actinomycetal.

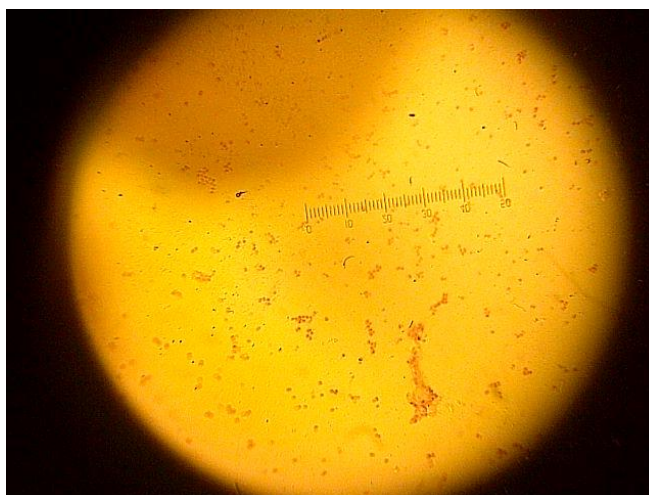


Figura 18.- GRAM de la colonia N1.

Se tomo de la placa muestras de las dos colonias, colocándolas en un medio de Tripticasa de Soya en tubo, se rotularon y se almacenaron al Cepario del Instituto de Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

Fotoprotección y Actividad Biológica

- Se demostró que los extractos 2 y 4 que corresponden a las hojas de Lagunillas y Pie de Llano respectivamente, poseen más fotoprotección U.V. que los frutos del Noni.
- Las hojas fotoprotegen 100% en cada caso, los frutos de Noni de Lagunillas y Pie de Llano fotoprotegen un 95% y 90% respectivamente en la cepa ***Escherichia coli GY5027***.
- La fotoprotección es mayor en el material biológico recolectado en Lagunillas.
- Los ensayos en la luz blanca y en la oscuridad, sirvieron para comparar y no se observó actividad biológica, debido a que la bacteria creció en todas las muestras y no se manifestó nada significativo que alterara dicho crecimiento.
- Se encontró que no hay toxicidad en los extractos, en ninguno de los casos (oscuridad, luz blanca).

www.bdigital.ula.ve

Determinación comparativa del nivel de fotoprotección –UV en la cepa de *Escherichia coli GY5027*, de los extractos etanólicos resuspendidos en agua, del fruto y hojas del Noni *Morinda citrifolia*.

En este experimento se trató de evaluar la fotosensibilidad y la fotoprotección U.V. de los extractos 1, 3 (Noni de Lagunillas y Pie de Llano respectivamente, 5 µL cada uno) y 2,4 (hojas de Lagunillas y Pie de Llano respectivamente, 5 µL cada uno). Para determinar la cantidad efectiva del extracto seco usado en cada caso, 1 ml de cada uno de ellos fue secado totalmente a 60°C durante 48 horas, obteniendo valores de :extracto1=616,6 µg/µL, extracto2=447,6 µg/µL, extracto 3=460,3 µg/µL y extracto 4=542,59 µg/µL. Se tomaron 100 µL de los extractos, se resuspendieron en agua destilada y se utilizaron en el ensayo.

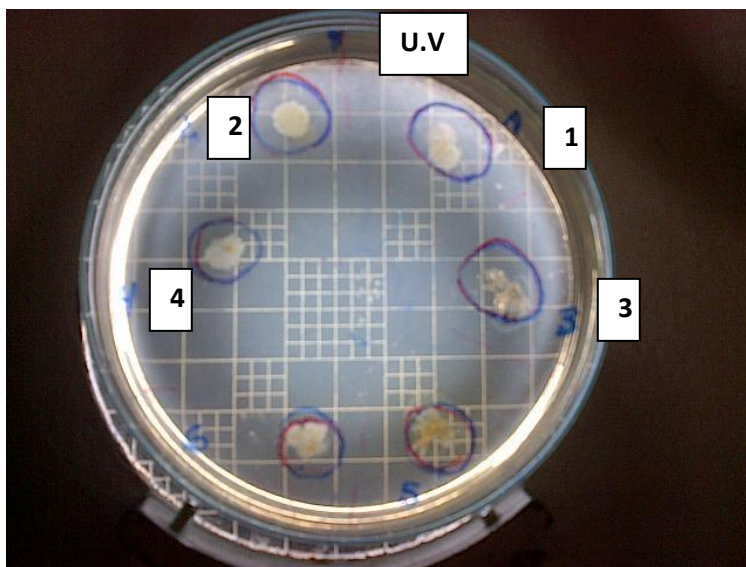


Figura 19.- Placa (Mueller Hinton) Condición Ultra Violeta

En la figura 19 se demuestra que si hay fotoprotección en todos los casos sin embargo los extractos 2 y 4 que corresponden a las hojas de Lagunillas y Pie de Llano respectivamente, poseen más fotoprotección U.V. que los extractos 1 y 3 de los frutos del Noni.

Las hojas fotoprotegen 100% en cada caso, los frutos de Noni de Lagunillas y Pie de Llano fotoprotegen un 95% y 90% respectivamente en la cepa *Escherichia coli* GY5027.

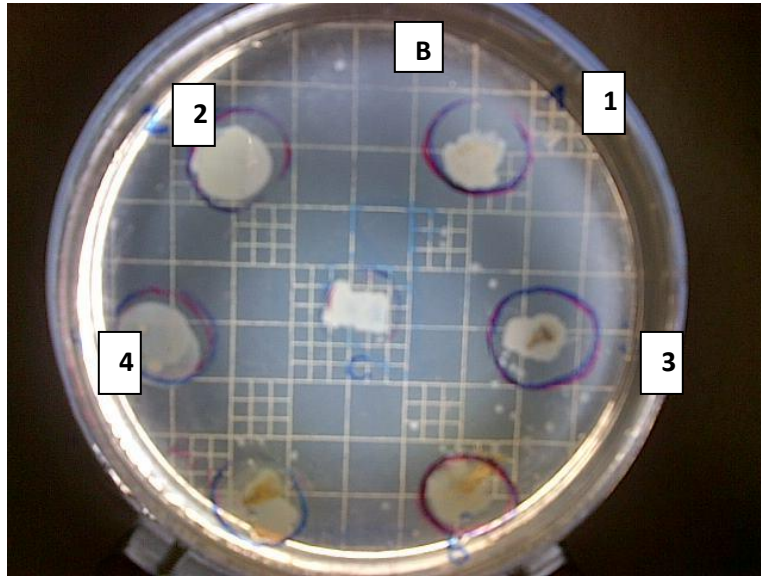


Figura 20.- Placa (Mueller Hinton) Condición Luz Blanca

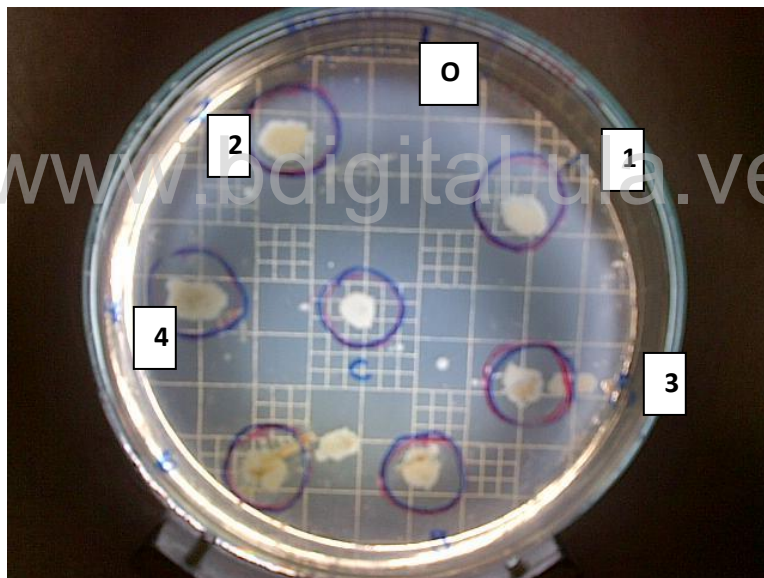


Figura 21.- Placa (Muller Hinton) Condición Oscuridad

En las figuras 20 y 21 que son los ensayos en la luz blanca en la oscuridad y respectivamente , sirvieron para comparar ,no se observo actividad biológica en ninguno de los extractos, debido a que la bacteria creció en todas las muestras y no se manifestó nada significativo que alterara dicho crecimiento.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. Se demostró la existencia de Fotosensibilidad en todos los grados de maduración de *Morinda citrifolia*, la cual fue demostrada espectrofotométricamente, siendo dependiente de la iluminación previa.
2. Se demostró la presencia de clorofila en Noni tierno de San Juan de lagunillas en la zona Visible del espectro, mientras que en el Noni tierno de Pie del Llano no se observó, por lo que puede deberse a la condición climática, la altura, y el factor lumínico de los rayos U.V.
3. Se demostró la presencia de la clorofila A y B En las hojas de San Juan de lagunillas por espectrofotometría encontrándose en la región visible a rojo lejano, también se observó la presencia de la clorofila A en las Hojas de Pie del en la zona Ultra violeta .
4. El control microbiológico realizado al extracto 1, arrojó la presencia entre otros microorganismos de un posible actinomicetal de la *Morinda citrifolia*.
5. En la fotoprotección y actividad biológica, se demostró que si existe fotoprotección en todos los ensayos, y no existe evidencia de la actividad biológica por lo que ninguno de los extractos de los frutos y hojas del Noni inhibió el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* **GY5027**.

Recomendaciones

- Realizar extractos preparativos
- Aislar algunos de los compuestos fotosensibles
- Ensayar con compuestos de diferentes polaridades
- Caracterizarlos preliminarmente

www.bdigital.ula.ve

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Arango C. (1998). **Hidrología médica y terapias complementarias**. Editorial Sevilla pág. 180.
- Burriel, F. (2007). **Química Analítica Cualitativa**. Editorial Paraninfo. Pág 347. Bruggnecate, J. (1992) **Native Plants can heal your wounds**. Honolulu Star-Bulletin Local News.
- Cheeseman, T. (1903). **The flora of raratonga, the chief island of the cook group**. VG. London: linneanSoc; 261-313.
- Dixon, A., McMillen, H. and Etkin, N. (1999). **The transformation of Noni, a traditional Polynesian Medicine (Morinda citrifolia Rubiaceae)**. Econbot 53 (1): 51-68.
- Goldman M. (2006). **Terapia Fotodinámica**. Elsevier España, S.A
- González, N y González, J. (2003). **Morinda citrifolia Linn: Potencialidades para su utilización en la salud humana**. Revista Cubana de Farmacia.
- Hernandez, R. Fernandez, C. y Baptista, L. (2003) **Metodología de la investigación**. 3era Edición. Editorial McGraw Hill. Mexico. Pág 5-18.
- Magaña M y Lozano M. (2003). **Dermatología**. Editorial Medica Panamericana, S.A. Mexico
- Merrill, E. (1943) **Noni Morinda citrifolia As an edite plant. In technical manual: emergency foud plants and poisonous plants of the islands of the pacific**. Washington DC: us Government Printing of fice.

- Pamplona J. (2006). **Salud por las plantas medicinales**. Editorial safeliz, S.L. 1ª edición. Pág. 369.
- Reid, M. (2011). **Tecnología Postcosecha de cultivos Hortofrutícolas**. 3ra Edición por los agentes de la universidad de California. Pág 65.
- Ruiz, S. y col,. (2010) **Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de Morinda citrifolia L. “noni” y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales**. Revista UCV-Scientia: SALUD.
- Rodrigues, S et al. (2012). **Characterization of Morinda citrifoliaL. (noni) fruit**.Revista cubana de plantas medicinales.
- Neal, M. (1965). **Gardens of Hawaii**. Honolulu, Hawaii: Bishop Museum Press; Pág 804.
- Scot, N. (2006). **Morinda citrifolia (noni)**. Species Profiles for Pacific Island Agroforestry.4.
- Ugarriza, S. (2009). **Terminología Comercial agropecuaria**. Edición de la universidad católica de SOLTA. Pág. 110.
- Solomon, N. (1999). **The tropical fruit with 101 medicinal uses, NONI juice**. 2da Edition. Wood land Publishing.
- Tabrah, F. and Eveleth, B. (1966). **Evaluation of the effectiveness of ancient Hawaiian medicine**. HawaiiMed J. 25: 223-30.
- Visor Enciclopedias Audiovisuales S.A. (1999). Espectrofotómetro y Espectro de Absorción. Tomo 9.

ANEXOS

www.pedagogia.ula.ve

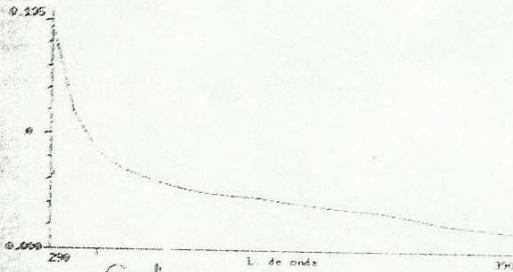
ANEXO A

Datos originales del Espectro Ascendente y Descendente del Noni Maduro

www.bdigital.ula.ve

11/11/12 DDT
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001 EXP 1

Barrido de Exploración 12:22pm 14Nov12
 Nombre Análisis 240912 290 390
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 290nm
 L.O. final 390nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Adag.

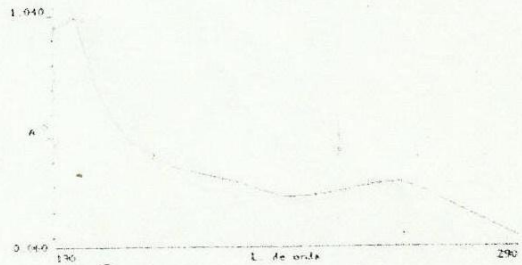


ID: 7 ② Noni Maduro (4) Zumo de la fruta Diluido 1/250 Ascendente

L. de onda	Abs
290	0.098
295	0.059
300	0.043
305	0.035
310	0.031
315	0.028
320	0.026
325	0.024
330	0.023
335	0.022
340	0.021
345	0.020
350	0.019
355	0.018
360	0.017
365	0.015
370	0.013
375	0.011
380	0.010
385	0.009
390	0.008

14/11/12 DARLY-JAEL
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001 EXP 1

Barrido de Exploración 12:20pm 14Nov12
 Nombre Análisis 240912 290 390
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 190nm
 L.O. final 290nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Adag.



ID: ① Noni Maduro (4) Zumo de la fruta Diluido 1/250 Ascendente

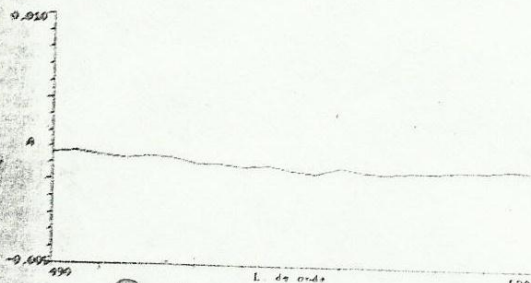
L. de onda	Abs
190	0.950
195	0.995
200	0.705
205	0.552
210	0.454
215	0.389
220	0.363
225	0.342
230	0.320
235	0.285
240	0.261
245	0.263
250	0.276
255	0.295
260	0.312
265	0.317
270	0.288
275	0.238
280	0.191
285	0.148
290	0.101

14/11/12

DARLY-JAEL
Exp 1

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:27pm 14Nov12
Nombre Análisis 240912 290 390
Modo de medición Absorbancia
L.O. de inicio 490nm
L.O. final 590nm
Posicionador de Muestras Manual 6
Velocidad de Barrido Turbo
#ID (0=OFF) 7
Impr aut Apag.



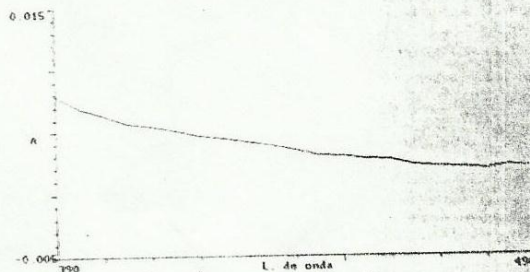
ID: 7 (4) Noni Maduro (4) Zumode
la fruta Diluido 1/250
Ascendente

L. de onda	Abs
490	0.002
495	0.002
500	0.002
505	0.001
510	0.001
515	0.001
520	0.001
525	0.001
530	0.001
535	0.001
540	0.001
545	0.001
550	0.001
555	0.001
560	0.001
565	0.001
570	0.001
575	0.001
580	0.001
585	0.001
590	0.001

14/11/12 DARLY-JAEL Exp 1

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:25pm 14Nov12
Nombre Análisis 240912 290 390
Modo de medición Absorbancia
L.O. de inicio 390nm
L.O. final 490nm
Posicionador de Muestras Manual 6
Velocidad de Barrido Turbo
#ID (0=OFF) 7
Impr aut Apag.

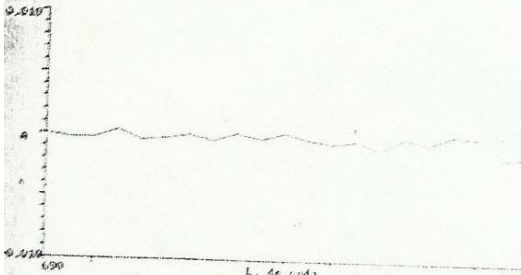


ID: 7 (3) Noni Maduro (4) Zumode
la fruta Diluido 1/250
Ascendente

L. de onda	Abs
390	0.008
395	0.007
400	0.006
405	0.006
410	0.005
415	0.005
420	0.005
425	0.004
430	0.004
435	0.004
440	0.003
445	0.003
450	0.003
455	0.003
460	0.003
465	0.002
470	0.002
475	0.002
480	0.002
485	0.002
490	0.002

14/11/12 DDJ EXP 1
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:32pm 14Nov12
 Nombre Análisis 240912 290 390
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 690nm
 L.O. final 790nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Apag.



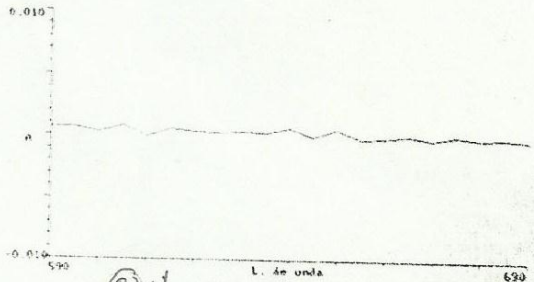
ID: 7 (4) Noni Maduro (4) Zumo de la fruta Diluido 1/250

L. de onda	Abs
690	0.000
695	0.000
700	0.000
705	0.000
710	0.000
715	0.000
720	0.000
725	0.000
730	0.000
735	0.000
740	0.000
745	0.000
750	-0.001
755	0.000
760	-0.001
765	0.000
770	-0.001
775	0.000
780	0.000
785	-0.002
790	-0.001

ASCENDENTE

14/11/12 DDJ EXP 1
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:29pm 14Nov12
 Nombre Análisis 240912 290 390
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 590nm
 L.O. final 690nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Apag.



ID: 7 (5) Noni Maduro (4) Zumo de la fruta Diluido 1/250

L. de onda	Abs
590	0.001
595	0.001
600	0.000
605	0.001
610	0.000
615	0.001
620	0.000
625	0.000
630	0.000
635	0.000
640	0.001
645	0.000
650	0.001
655	0.000
660	0.000
665	0.000
670	0.000
675	0.000
680	0.000
685	0.000
690	0.000

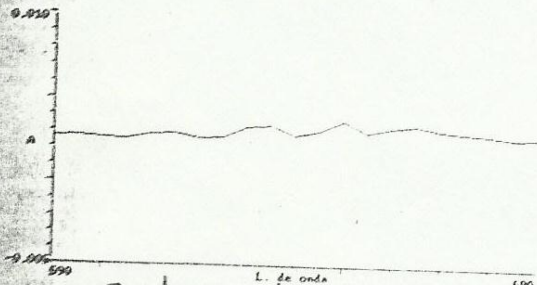
ASCENDENTE

14/11/12

DDJ Exp 1

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:42pm 14Nov12
 Nombre Análisis 240912 290 390
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 590nm
 L.O. final 690nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Apag.

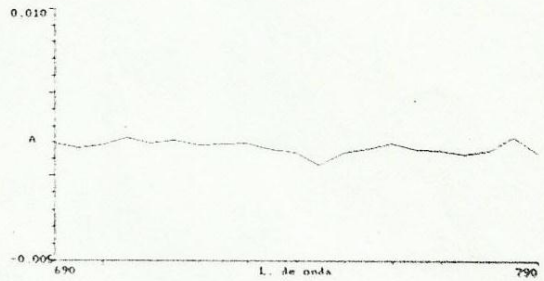


ID: 7 ② Noni Maduro (4) Zumo de la fruta Diluido 1/250
DESCENDENTE

L. de onda	Abs
590	0.003
595	0.003
600	0.003
605	0.003
610	0.003
615	0.003
620	0.003
625	0.003
630	0.003
635	0.003
640	0.003
645	0.003
650	0.004
655	0.003
660	0.003
665	0.003
670	0.003
675	0.003
680	0.003
685	0.003
690	0.003

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:39pm 14Nov12
 Nombre Análisis 240912 290 390
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 690nm
 L.O. final 790nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Apag.



ID: 7 ① Noni Maduro Diluido 1/250 Zumo de la fruta

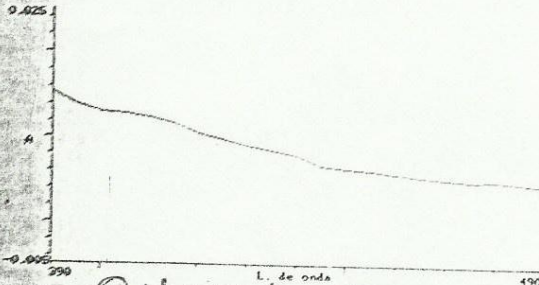
L. de onda	Abs
690	0.002
695	0.002
700	0.002
705	0.002
710	0.002
715	0.002
720	0.002
725	0.002
730	0.002
735	0.002
740	0.001
745	0.001
750	0.001
755	0.002
760	0.002
765	0.002
770	0.002
775	0.001
780	0.002
785	0.002
790	0.001

DESCENDENTE

14/11/12 DDJ. Exo 1.

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:48pm 14Nov12
Nombre Análisis 240912 290 390
Modo de medición Absorbancia
L.O. de inicio 390nm
L.O. final 490nm
Posicionador de Muestras Manual 6
Velocidad de Barrido Turbo
#ID (0=OFF) 7
Impr aut Apag.



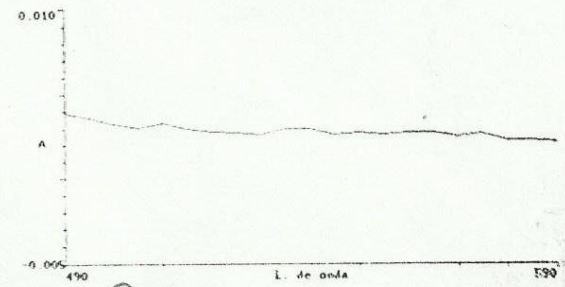
ID: 7(4) Noni Maduro (4) Zumo de la fruta Diluido 1/250 Descendente

L. de onda	Abs
390	0.015
395	0.014
400	0.013
405	0.013
410	0.012
415	0.012
420	0.011
425	0.010
430	0.009
435	0.009
440	0.008
445	0.007
450	0.006
455	0.006
460	0.006
465	0.005
470	0.005
475	0.005
480	0.005
485	0.005
490	0.005

14/11/12 DDJ. Exo 1.

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:45pm 14Nov12
Nombre Análisis 240912 290 390
Modo de medición Absorbancia
L.O. de inicio 490nm
L.O. final 590nm
Posicionador de Muestras Manual 6
Velocidad de Barrido Turbo
#ID (0=OFF) 7
Impr aut Apag.



ID: 7(3) Noni Maduro (4) Zumo de la fruta Diluido 1/250 Descendente

L. de onda	Abs
490	0.004
495	0.004
500	0.003
505	0.003
510	0.003
515	0.003
520	0.003
525	0.003
530	0.003
535	0.003
540	0.003
545	0.003
550	0.003
555	0.003
560	0.003
565	0.003
570	0.003
575	0.003
580	0.002
585	0.002
590	0.002

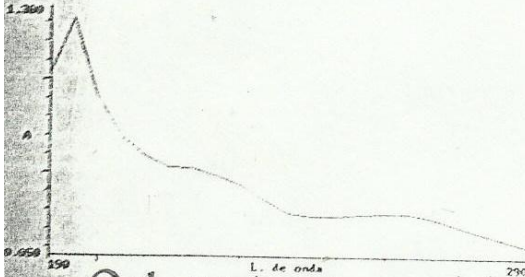
www.bdigital.ve

14/11/12

DDJ Exp 1

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:54pm 14Nov12
Nombre Análisis 240912 290 390
Modo de medición Absorbancia
L.O. de inicio 190nm
L.O. final 290nm
Posicionador de Muestras Manual 6
Velocidad de Barrido Turbo
#ID (0=OFF) 7
Impr aut Apag.



ID: 7 (7) Noni Madero (ci) Zumo de la
fruta Diluido 1/250

L. de onda	Abs
190	1.033
195	1.315
200	0.907
205	0.694
210	0.588
215	0.528
220	0.523
225	0.486
230	0.439
235	0.355
240	0.289
245	0.272
250	0.274
255	0.282
260	0.289
265	0.289
270	0.262
275	0.222
280	0.185
285	0.151
290	0.113

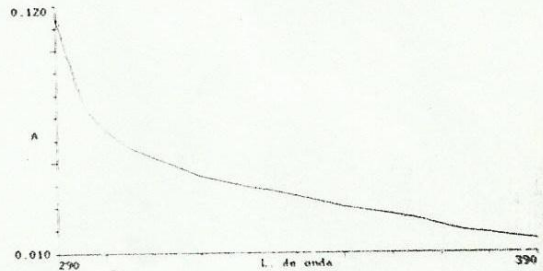
DESCENDENTE ↓

14/11/12

DDJ Exp 1

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:51pm 14Nov12
Nombre Análisis 240912 290 390
Modo de medición Absorbancia
L.O. de inicio 290nm
L.O. final 390nm
Posicionador de Muestras Manual 6
Velocidad de Barrido Turbo
#ID (0=OFF) 7
Impr aut Apag.



ID: 5 (5) Noni Madero (ci) Zumo de la
fruta Diluido 1/250

L. de onda	Abs
290	0.115
295	0.080
300	0.065
305	0.057
310	0.052
315	0.048
320	0.044
325	0.041
330	0.039
335	0.037
340	0.035
345	0.032
350	0.030
355	0.029
360	0.027
365	0.025
370	0.022
375	0.019
380	0.018
385	0.017
390	0.015

DESCENDENTE

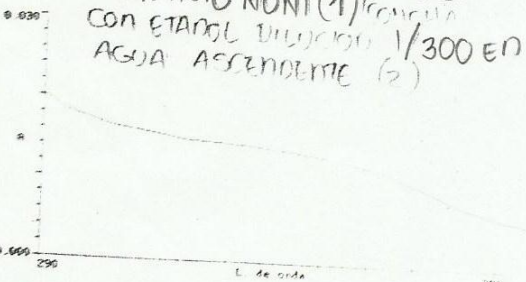
ANEXO B

**Datos originales del Espectro Ascendente y Descendente del Noni Tierno de
San Juan de Lagunillas Dilución 1:300**

www.bdigital.ula.ve

21/02/2013 DAILY-JAE
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 10:22am 21Feb13
 Nombre Análisis 190209 2
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 290nm
 L.O. final 390nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Apag.

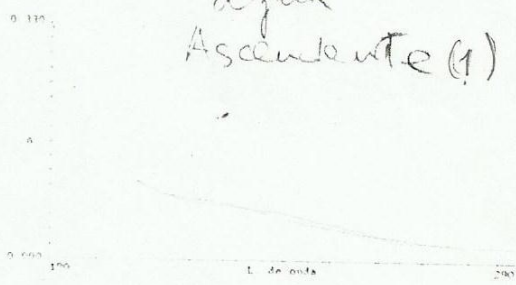


ID: 7

L. de onda	Abs
290	0.020
295	0.018
300	0.017
305	0.017
310	0.016
315	0.016
320	0.015
325	0.015
330	0.015
335	0.014
340	0.014
345	0.014
350	0.013
355	0.013
360	0.012
365	0.011
370	0.010
375	0.008
380	0.007
385	0.006
390	0.006

21-02-2013 DAILY-JAE

AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001
 EXTRACTO NONI 1 (con agua)
 Barrido de Exploración 10:20am 21Feb13
 Nombre Análisis Con 190209 2
 Modo de medición Estánd Absorbancia
 L.O. de inicio 190nm
 L.O. final Dilución 290nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut 1/300 en agua Ascendente (1) Apag.

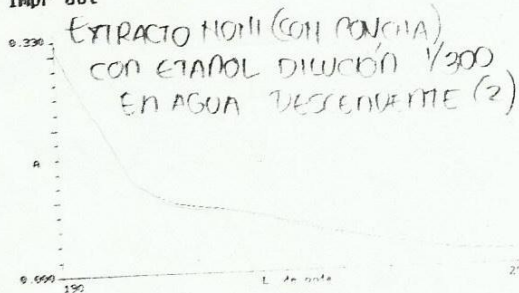


ID: 8

L. de onda	Abs
190	0.318
195	0.246
200	0.170
205	0.129
210	0.106
215	0.090
220	0.084
225	0.081
230	0.075
235	0.066
240	0.058
245	0.051
250	0.045
255	0.039
260	0.034
265	0.030
270	0.026
275	0.023
280	0.021
285	0.021
290	0.020

21/02/2013 Muestra 2
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 10:27am 21Feb13
 Nombre Análisis 190209 1
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 190nm
 L.O. final 290nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Apag.



ID: 7

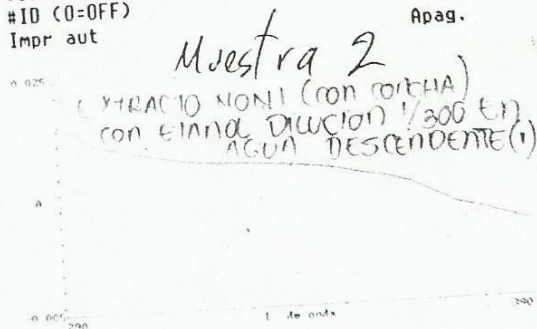
L. de onda	Abs
190	0.317
195	0.248
200	0.169
205	0.128
210	0.108
215	0.094
220	0.090
225	0.086
230	0.080
235	0.071
240	0.062
245	0.055
250	0.049
255	0.043
260	0.037
265	0.033
270	0.027
275	0.023
280	0.021
285	0.020
290	0.019

21/02/13

DARLY
 JAEL

AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 10:24am 21Feb13
 Nombre Análisis 190209 2
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 290nm
 L.O. final 390nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Turbo
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Apag.



ID: 8

L. de onda	Abs
290	0.018
295	0.017
300	0.016
305	0.015
310	0.014
315	0.014
320	0.013
325	0.013
330	0.013
335	0.013
340	0.013
345	0.012
350	0.012
355	0.011
360	0.011
365	0.010
370	0.008
375	0.007
380	0.006
385	0.005
390	0.004

ANEXO C

**Datos originales del espectro ascendente y descendente del Noni Tierno de
San Juan de Lagunillas Sin Diluir**

www.bdigital.ula.ve

21/02/13 M1
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 10:47am 21Feb13
 Nombre Análisis 190209 1
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 590nm
 L.O. final 690nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Lento
 #ID (0=OFF) EXTRACTO NONII 1 Apag.
 Impr aut (CON RONCHA) SIN RONCHA
 0.560 ASCENDENTE (1)



ID: 7

.. de onda	Abs
590	0.428
591	0.428
592	0.427
593	0.427
594	0.427
595	0.427
596	0.427
597	0.427
598	0.428
599	0.427
600	0.428
601	0.428
602	0.429
603	0.430
604	0.432
605	0.432
606	0.433
607	0.432
608	0.431
609	0.430
610	0.430
611	0.430
612	0.429
613	0.428
614	0.427
615	0.427
616	0.425
617	0.424
618	0.424
619	0.423
620	0.422
621	0.422
622	0.422
623	0.423
624	0.423
625	0.422

626	0.420
627	0.418
628	0.415
629	0.413
630	0.411
631	0.409
632	0.407
633	0.406
634	0.405
635	0.404
636	0.405
637	0.405
638	0.406
639	0.408
640	0.410
641	0.413
642	0.416
643	0.418
644	0.420
645	0.423
646	0.426
647	0.430
648	0.434
649	0.438
650	0.443
651	0.448
652	0.455
653	0.462
654	0.468
655	0.477
656	0.487
657	0.499
658	0.511
659	0.523
660	0.532
661	0.540
662	0.545
663	0.547
664	0.545
665	0.543
666	0.538
667	0.531
668	0.524
669	0.515
670	0.506
671	0.498
672	0.488
673	0.477
674	0.466
675	0.455
676	0.443
677	0.430
678	0.418
679	0.405
680	0.393
681	0.383
682	0.374
683	0.365
684	0.359
685	0.354
686	0.350
687	0.347
688	0.345
689	0.344
690	0.343

21/02/12

AJUSTE PARAMETROS
GENESYS 10 Bio v1.000 ZP1H181001

Barrido de Exploración 10:54am 21Feb13
Nombre Análisis 190209 1
Modo de medición Absorbancia
L.O. de inicio 690nm
L.O. final 790nm
Posicionador de Muestras Manual 6
Velocidad de Barrido Lento
#ID (0=OFF) 7
Impr aut EXTRACTION NONI 7 Adag.

0.295 (con concha) SIM DILUIR.
ASCENDENTE (2)

0.230

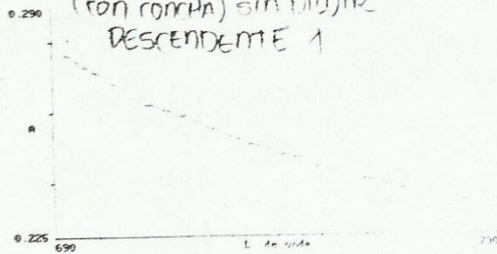
ID: 7

L. de onda	Abs
690	0.288
691	0.286
692	0.283
693	0.280
694	0.280
695	0.280
696	0.280
697	0.280
698	0.280
699	0.280
700	0.278
701	0.277
702	0.274
703	0.275
704	0.275
705	0.278
706	0.279
707	0.280
708	0.279
709	0.280
710	0.278
711	0.276
712	0.274
713	0.272
714	0.273
715	0.275
716	0.275
717	0.272
718	0.269
719	0.266
720	0.264
721	0.262
722	0.263
723	0.265
724	0.264
725	0.265

726	0.266
727	0.268
728	0.269
729	0.266
730	0.262
731	0.259
732	0.256
733	0.253
734	0.252
735	0.254
736	0.255
737	0.253
738	0.251
739	0.252
740	0.255
741	0.255
742	0.253
743	0.253
744	0.253
745	0.252
746	0.250
747	0.248
748	0.248
749	0.246
750	0.247
751	0.249
752	0.252
753	0.256
754	0.256
755	0.254
756	0.252
757	0.250
758	0.251
759	0.250
760	0.251
761	0.250
762	0.249
763	0.246
764	0.243
765	0.247
766	0.251
767	0.252
768	0.253
769	0.250
770	0.250
771	0.246
772	0.245
773	0.247
774	0.247
775	0.247
776	0.243
777	0.240
778	0.239
779	0.239
780	0.239
781	0.241
782	0.242
783	0.242
784	0.239
785	0.238
786	0.240
787	0.239
788	0.238
789	0.237
790	0.237

M2 21/02/2013 TAP14
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 ZP1H181001

Barrido de Exploración 10:57am 21Feb13
 Nombre Análisis 190209 1
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 690nm
 L.O. final 790nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Lento
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut EXTRACTO N°11 1 Apag.
 (CON COMPA) SIN DILUIR
 DESCENDIENTE 1



ID: 8

L. de onda	Abs
690	0.280
691	0.279
692	0.278
693	0.276
694	0.276
695	0.275
696	0.274
697	0.273
698	0.273
699	0.271
700	0.271
701	0.270
702	0.269
703	0.268
704	0.268
705	0.267
706	0.266
707	0.266
708	0.264
709	0.263
710	0.262
711	0.262
712	0.262
713	0.262
714	0.261
715	0.261
716	0.260
717	0.260
718	0.259
719	0.259
720	0.259
721	0.258
722	0.257
723	0.257
724	0.256

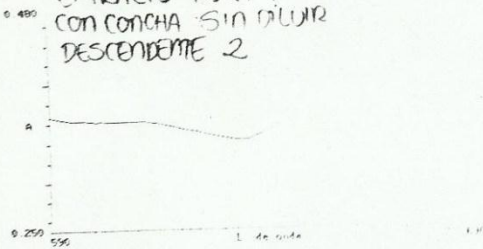
725	0.256
726	0.255
727	0.255
728	0.254
729	0.253
730	0.253
731	0.252
732	0.252
733	0.252
734	0.251
735	0.251
736	0.250
737	0.250
738	0.249
739	0.249
740	0.249
741	0.248
742	0.248
743	0.248
744	0.247
745	0.247
746	0.247
747	0.246
748	0.246
749	0.244
750	0.244
751	0.244
752	0.243
753	0.243
754	0.242
755	0.242
756	0.242
757	0.241
758	0.241
759	0.240
760	0.240
761	0.240
762	0.240
763	0.240
764	0.239
765	0.239
766	0.239
767	0.239
768	0.238
769	0.238
770	0.239
771	0.238
772	0.237
773	0.238
774	0.237
775	0.237
776	0.236
777	0.236
778	0.236
779	0.236
780	0.234
781	0.235
782	0.234
783	0.234
784	0.234
785	0.233
786	0.234
787	0.233
788	0.233
789	0.232
790	0.231

21/02/2013
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

JARLY
 JAEL

Barrido de Exploración 11:03am 21Feb13
 Nombre Análisis 190209 1
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 590nm
 L.O. final 690nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Lento
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut Apag.

EXTRACTO MONI 1
 CON CONCHA SIN DILUIR
 DESCENDENTE 2



ID: 7

L. de onda	Abs
590	0.368
591	0.366
592	0.365
593	0.365
594	0.364
595	0.363
596	0.363
597	0.363
598	0.363
599	0.362
600	0.362
601	0.361
602	0.362
603	0.361
604	0.361
605	0.361
606	0.361
607	0.361
608	0.361
609	0.361
610	0.361
611	0.361
612	0.361
613	0.360
614	0.360
615	0.359
616	0.357
617	0.357
618	0.356
619	0.355
620	0.354
621	0.353
622	0.352
623	0.351
624	0.350
625	0.349

626	0.348
627	0.347
628	0.346
629	0.345
630	0.344
631	0.343
632	0.342
633	0.342
634	0.342
635	0.342
636	0.342
637	0.343
638	0.345
639	0.347
640	0.349
641	0.352
642	0.354
643	0.357
644	0.360
645	0.363
646	0.366
647	0.369
648	0.370
649	0.375
650	0.379
651	0.384
652	0.389
653	0.394
654	0.401
655	0.409
656	0.418
657	0.429
658	0.442
659	0.452
660	0.461
661	0.468
662	0.472
663	0.473
664	0.472
665	0.468
666	0.463
667	0.456
668	0.448
669	0.440
670	0.430
671	0.422
672	0.411
673	0.400
674	0.389
675	0.377
676	0.364
677	0.352
678	0.340
679	0.326
680	0.314
681	0.304
682	0.294
683	0.286
684	0.279
685	0.274
686	0.270
687	0.267
688	0.264
689	0.263
690	0.262

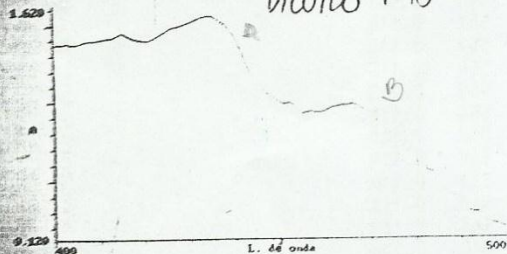
ANEXO D

**Datos originales del espectro ascendente de las Hojas del Noni de San Juan
de Lagunillas**

www.bdigital.ula.ve

11/03/13 TESIS: JAEL Y DARLY
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:15pm 11Mar13
 Nombre Análisis 201112 rap1
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 400nm
 L.O. final 500nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Lento
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut EXTRACTO DE HOJA NONI Apag.
 DIVUIDO 1:10

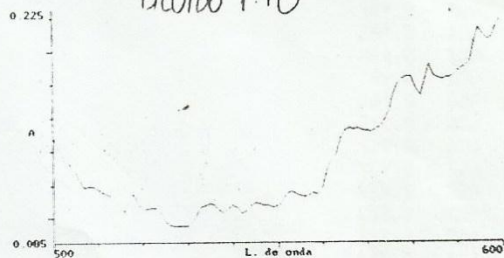


ID: 7

L. de onda	Abs
400	1.369
401	1.375
402	1.374
403	1.378
404	1.374
405	1.373
406	1.382
407	1.390
408	1.398
409	1.398
410	1.403
411	1.410
412	1.412
413	1.414
414	1.432
415	1.447
416	1.437
417	1.417
418	1.407
419	1.400
420	1.396
421	1.397
422	1.409
423	1.423
424	1.441
425	1.461
426	1.482
427	1.486
428	1.493
429	1.504
430	1.515
431	1.527
432	1.537
433	1.550
434	1.553
435	1.550

11/03/13 TESIS: JAEL Y DARLY
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:24pm 11Mar13
 Nombre Análisis 201112 rap1
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 500nm
 L.O. final 600nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Lento
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut EXTRACTO HOJA NONI Apag.
 DIVUIDO 1:10



ID: 7

L. de onda	Abs
500	0.148
501	0.143
502	0.138
503	0.134
504	0.132
505	0.128
506	0.124
507	0.119
508	0.119
509	0.119
510	0.118
511	0.116
512	0.114
513	0.113
514	0.110
515	0.106
516	0.104
517	0.111
518	0.114
519	0.108
520	0.104
521	0.106
522	0.106
523	0.106
524	0.103
525	0.098
526	0.095
527	0.095
528	0.095
529	0.095
530	0.095
531	0.098
532	0.102
533	0.106
534	0.107
535	0.108

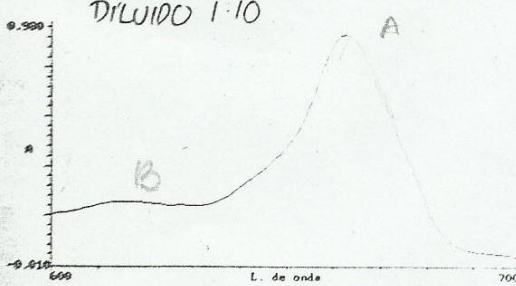
436 1.539
437 1.520
438 1.496
439 1.463
440 1.423
441 1.360
442 1.297
443 1.222
444 1.167
445 1.118
446 1.087
447 1.060
448 1.039
449 1.016
450 0.997
451 0.986
452 0.990
453 0.981
454 0.944
455 0.923
456 0.927
457 0.932
458 0.929
459 0.928
460 0.936
461 0.951
462 0.965
463 0.969
464 0.972
465 0.973
466 0.976
467 0.971
468 0.959
469 0.938
470 0.916
471 0.886
472 0.862
473 0.895
474 0.804
475 0.780
476 0.753
477 0.725
478 0.696
479 0.670
480 0.639
481 0.602
482 0.567
483 0.550
484 0.543
485 0.512
486 0.475
487 0.441
488 0.410
489 0.387
490 0.354
491 0.320
492 0.293
493 0.285
494 0.286
495 0.267
496 0.235
497 0.215
498 0.207
499 0.199
500 0.186

536 0.108
537 0.105
538 0.103
539 0.105
540 0.107
541 0.106
542 0.103
543 0.104
544 0.107
545 0.109
546 0.108
547 0.107
548 0.107
549 0.107
550 0.107
551 0.109
552 0.114
553 0.116
554 0.115
555 0.113
556 0.112
557 0.113
558 0.114
559 0.114
560 0.118
561 0.128
562 0.134
563 0.138
564 0.146
565 0.152
566 0.153
567 0.153
568 0.153
569 0.152
570 0.152
571 0.151
572 0.153
573 0.154
574 0.157
575 0.164
576 0.174
577 0.180
578 0.183
579 0.185
580 0.184
581 0.177
582 0.173
583 0.182
584 0.192
585 0.185
586 0.183
587 0.183
588 0.184
589 0.184
590 0.187
591 0.189
592 0.191
593 0.193
594 0.205
595 0.213
596 0.209
597 0.206
598 0.208
599 0.215
600 0.219

www.bdigital.una.ac.cr

11/03/13 TESIS JAEL Y DARIO
 AJUSTE PARAMETROS
 GENESYS 10 Bio v1.000 2P1H181001

Barrido de Exploración 12:32pm 11Mar13
 Nombre Análisis 201112 rap1
 Modo de medición Absorbancia
 L.O. de inicio 600nm
 L.O. final 700nm
 Posicionador de Muestras Manual 6
 Velocidad de Barrido Lento
 #ID (0=OFF) 7
 Impr aut EXTRACTO DE HOJA NONI Apag.



ID: 7

L. de onda	Abs
600	0.205
601	0.208
602	0.209
603	0.212
604	0.214
605	0.217
606	0.221
607	0.228
608	0.234
609	0.238
610	0.244
611	0.249
612	0.252
613	0.254
614	0.255
615	0.255
616	0.255
617	0.255
618	0.255
619	0.254
620	0.253
621	0.251
622	0.249
623	0.247
624	0.244
625	0.242
626	0.241
627	0.243
628	0.242
629	0.240
630	0.240
631	0.240
632	0.240
633	0.242
634	0.248
635	0.255

636	0.263
637	0.272
638	0.284
639	0.297
640	0.314
641	0.329
642	0.343
643	0.356
644	0.368
645	0.384
646	0.400
647	0.415
648	0.434
649	0.451
650	0.473
651	0.496
652	0.524
653	0.550
654	0.587
655	0.634
656	0.684
657	0.739
658	0.792
659	0.840
660	0.879
661	0.912
662	0.932
663	0.935
664	0.925
665	0.907
666	0.883
667	0.852
668	0.813
669	0.772
670	0.727
671	0.690
672	0.645
673	0.595
674	0.545
675	0.495
676	0.445
677	0.397
678	0.346
679	0.297
680	0.248
681	0.202
682	0.164
683	0.134
684	0.110
685	0.095
686	0.081
687	0.071
688	0.063
689	0.057
690	0.053
691	0.050
692	0.048
693	0.045
694	0.045
695	0.043
696	0.041
697	0.039
698	0.036
699	0.032
700	0.030