

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

OBTENCIÓN DE UN POTENCIAL INGREDIENTE FUNCIONAL A PARTIR DE
Synsepalum dulcificum

POR:

ZEIDY NOELY REYES AMAYA

ANTEPROYECTO DE TESIS



CATACAMAS,

OLANCHO

DICIEMBRE, 2023

OBTENCIÓN DE UN POTENCIAL INGREDIENTE FUNCIONAL A PARTIR DE
Synsepalum dulcificum

POR

ZEIDY NOELY REYES AMAYA

JHUNIOR ABRAHAN MARCIA

Asesor principal:

ANTEPROYECTO DE TESIS

PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA REALIZACIÓN DE PRACTICA PROFESIONAL
SUPERVISADA

CATACAMAS,

OLANCHO

DICIEMBRE, 2023

DEDICATORIA

A mi madre María Candelaria Amaya pues ella fue el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, inculcándome valores de responsabilidad y deseos de superación, en ella tengo mi ejemplo inquebrantable a seguir en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarla cada día más.

A mi padre Filiberto Reyes por haber forjado la persona que soy en la actualidad, muchos de los logros se los debo entre los que se incluye este. Por haberme regalado la mejor herencia que se le puede dar a un hijo; la educación y por cada día motivarme a seguir luchando por mis sueños.

A mis hermanos que siempre me han ayudado y motivarme día a día en este proceso académico, por haber estado a mi lado brindándome su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios por su amor infinito, por darme fuerzas para poder levantarme cada día y no rendirme en esta meta y por permitirme llegar hasta este momento ya que sin su ayuda no lo hubiese logrado.

A mis padres que son el centro fundamental en mi vida, sin su ayuda hubiese sido aún más difícil el poder culminar esta meta, gracias por estar conmigo en cada decisión que he tomado y por todo su amor y apoyo incondicional.

A mi alma mater la Universidad Nacional de Agricultura, por haberme formado como un profesional de calidad y darme la oportunidad de seguir estudiado en una de las mejores universidades, también por haberme permitido conocer personas maravillosas y pasar los mejores momentos de mi vida.

A mis amigos, en especial a Kenia Reyes, gracias por todas esas veces en las que me motivo y acompaño en cada una de las etapas de este camino, por su amistad que es uno de los regalos más grandes que me pudo dar la universidad. A Jeison Ferrera por su apoyo y confianza en mí.

CONTENIDO

DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
LISTA DE TABLAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo General.....	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
III. REVISIÓN DE LITERATURA	12
3.1. <i>Synsepalum dulcificum</i>	12
3.1.1. Origen	12
3.2 Generalidades	13
3.2.1. Clasificación taxonómica <i>Synsepalun dulcificum</i>	13
3.2.2. Hábitat	13
3.2.3. Distribución Geográfica	14
3.3. Propiedades del <i>S. dulcificum</i>	14
3.3.1. Definición de la glucoproteína	14
3.3.2. Miraculina.....	15
3.3.3. Como funciona el efecto.....	15
3.4. Ingredientes funcionales	16
3.5. Componentes funcionales.....	16
3.5.1. Compuestos fenólicos.....	16
3.5.2. Actividad antioxidante.....	17
3.6. Usos	17
3.6.1. Usos alimentarios	17

3.6.2. Usos Medicinales.....	18
3.7. Beneficios en su consumo	18
3.8. Toxicidad del <i>S. dulcificum</i>	19
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
4.1. Descripción del lugar donde se desarrollará la investigación.....	20
4.2. Materiales y equipo.....	20
4.3. Método	20
4.4. Metodología	20
4.4.1. Fase 1	21
4.4.2. Fase 2.....	23
4.4.3. Fase 3.....	25
V. RESULTADOS Y DISCUSION	27
5.1. Propiedades físicas	27
5.1.1. Diámetro longitudinal y polar	27
5.1.2. Peso.....	27
5.2. Propiedades químicas	28
5.2.1. pH	28
5.2.2. Humedad.....	28
5.3. Análisis de actividad antioxidante.....	29
5.4. Análisis de Ácidos fenólicos totales.....	30
VI. CONCLUSIONES	32
VII. RECOMENDACIONES	33
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	34

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Información taxonómica de <i>Synsepalun dulcificum</i>	13
Tabla 2. Concentración de capacidad antioxidante	29
Tabla 3. Concentración de ácidos fenólicos totales.....	30

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Medida de diámetro longitudinal.</i>	<i>21</i>
<i>Figura 2. Medida del diámetro polar.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 3. Medición de pH del fruto de S. dulcificum.</i>	<i>22</i>
<i>Figura 4. Secador utilizado para la determinación de humedad.</i>	<i>23</i>
<i>Figura 5. Adición de metanol al 80%.</i>	<i>24</i>
<i>Figura 6. Diferentes concentraciones.....</i>	<i>24</i>
<i>del polvo de S. dulcificum.....</i>	<i>24</i>
<i>Figura 7 Muestras después de pasar por centrifugación.</i>	<i>25</i>
<i>Figura 8. Mezcla de las muestras</i>	<i>25</i>
<i>Figura 9. Espectrofotómetro y software utilizado.</i>	<i>26</i>
<i>Figura 10. Muestras para actividad de antioxidante</i>	<i>26</i>
<i>Figura 11. Espectrofotómetro y software para leer la absorbancia.....</i>	<i>27</i>
<i>Figura 12. Muestras para ácidos fenólicos totales.</i>	<i>27</i>

Reyes Amaya, Zeidy Noely (2023). Obtención de un potencial ingrediente funcional a partir de *Synsepalum dulcificum*. Trabajo profesional supervisado por tesis de grado ingeniería en Tecnología Alimentaria, facultad de Ciencias Tecnológicas, Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho, Honduras, C.A. 39 pp.

RESUMEN

Synsepalum dulcificum, comúnmente conocida como planta milagrosa o miracle berry (ingles) es un arbusto de hoja perenne perteneciente a la familia *Sapotaceae*. La fruta milagrosa se puede utilizar en forma cruda o procesada en la elaboración de alimentos y medicinas o en la industria cosmética como aditivos. En la presente investigación se planteó como objetivo la caracterización física- química y la determinación de compuestos bioactivos del fruto de *Synsepalum dulcificum*, para su aprovechamiento tecnológico en el desarrollo de nuevos productos. El fruto fue recolectado en el centro de enseñanzas Hill Farm ubicada en la Universidad Estatal de Louisiana y posteriormente fue liofilizado para evitar la pérdida de propiedades organolépticas. El análisis de ácidos fenólicos totales y capacidad antioxidante se realizó en el laboratorio de postcosecha y fisiología vegetal de la Universidad Estatal de Louisiana (LSU), mientras que el análisis de diámetro longitudinal y polar, peso, pH y humedad se realizaron en el laboratorio de ciencia de alimentos de LSU, con muestras frescas. Los resultados mostraron que el fruto de *S. dulcificum* tuvo un diámetro longitudinal de 9,93 cm, un diámetro polar de 1,86 cm, un peso de 1,28g en base fresca, un valor de pH de 3,81 en base fresca, una humedad de 80,21%, un contenido de 34,17 mg de ácido gálico/ 100 g de base seca de ácidos fenólicos totales, 523,17 μ m Trolox/ 100g en base seca de capacidad antioxidante. Esta investigación se realizó en la Universidad Estatal de Louisiana (LSU).

Palabras claves: alimentos funcionales, compuestos bioactivos, análisis fisicoquímicos, antioxidantes, ácidos fenólicos.

I. INTRODUCCIÓN

Recientemente, los alimentos funcionales han generado mucha atención entre los consumidores, quienes buscan opciones saludables que les permitan apreciar buenos hábitos de consumo. (Haddad *et al.*, 2020). En la medida que aumenta la búsqueda de productos más saludables, crece también la cantidad de nuevos productos que contienen ingredientes funcionales de origen natural. Son estos los que han experimentado un mayor crecimiento en Europa, donde la *European Food Safety Authority* controla el largo camino que debe recorrer un producto con ingrediente funcional para comprobar el efecto sobre la salud que dice tener (Zhang y Hamauzu 2014).

Synsepalum dulcificum, comúnmente conocida como planta milagrosa, planta de bayas milagrosas, es un arbusto de hoja perenne perteneciente a la familia *Sapotaceae*. La fruta milagrosa se puede utilizar en forma cruda o procesada en la elaboración de alimentos y medicinas o en la industria cosmética como aditivos. Históricamente, la fruta de la planta se conoce como planta milagrosa debido a su propiedad única de modificar el sabor que hace que los comestibles ácidos tengan un sabor dulce. Esta propiedad se le atribuye a la miraculina, una glicoproteína de la fruta, que se une a las células receptoras dulces de la lengua y reprime la retroalimentación de un sabor amargo del cerebro (Du *et al.*, 2014).

Synsepalum dulcificum se ha considerado como un colorante alimentario inminente porque produce un color rojo anaranjado cuando se agrega a una solución de agua carbonatada y azúcar. Fue categorizado como un aditivo por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (Obafemi *et al.*, 2019). Debido a todas las propiedades beneficiosas que esta presenta se plantea, obtener un ingrediente potencialmente funcional del fruto de *Synsepalum dulcificum* para su aprovechamiento tecnológico en el desarrollo de nuevos productos.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Evaluar el potencial funcional del fruto de *Synsepalum dulcificum* para su aprovechamiento tecnológico en el desarrollo de nuevos productos.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar la composición química y física del fruto de *Synsepalum dulcificum* mediante análisis instrumental a escala de laboratorio.
- Extraer el polvo del fruto de *Synsepalum dulcificum* y preparación de muestras específicas para cada uno de los análisis.
- Determinar la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales del fruto.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. *Synsepalum dulcificum*

Synsepalum dulcificum también reconocido como fruta milagrosa o baya milagrosa (Hm et al., 2020). La planta milagrosa se descubrió por primera vez en África occidental y central, específicamente en países como Congo, Ghana y Nigeria (Akinmoladun et al., 2020).

La baya cuando se come hace que los alimentos agrios como los limones tengan un sabor dulce. El efecto suele durar alrededor de media hora, y la potencia disminuye con el tiempo. La planta de la fruta milagrosa pertenece a la familia *Sapotaceae*, autóctona del África occidental tropical y los africanos suelen utilizarla para endulzar el vino de palma agrio. Toda la planta tiene usos medicinales, ya que se utiliza en el tratamiento de las hemorroides y en el tratamiento de la infertilidad masculina (Jeremiah et al., 2015), además de otros beneficios para la salud (Hm et al., 2020).

3.1.1. Origen

El cultivo de la fruta milagrosa fue descubierto en el siglo XVIII por los exploradores, la fruta en la literatura se produjo en 1852 y se denominó "baya milagrosa". En su día, los nativos de África Occidental la consumían y masticaban la "baya milagrosa" para dar un sabor dulce a los alimentos ácidos (Hm et al., 2020).

Históricamente, la fruta de la planta se conoce como planta milagrosa debido a su propiedad única de modificar el sabor que hace que los comestibles ácidos tengan un sabor dulce. El

Dr. Lloyd Beidler, docente en la Universidad Estatal de Florida en Tallahassee, quien en la década de 1950 junto con el Dr. Kenzo Kurihara aisló el principio activo miraculina - que pertenece a la familia de proteínas inhibidor de tripsina tipo Kunitz en 1968 y 1990, cuyos resultados han sido publicados en "Science", vol. 161, 20 de septiembre de 1999. Estas investigaciones conllevaron a determinar que la miraculina – macro molécula -provoca el efecto de modificación del sabor (Njoku *et al.*, 2015).

3.2 Generalidades

3.2.1. Clasificación taxonómica *Synsepalum dulcificum*

Tabla 1. Información taxonómica de *Synsepalum dulcificum*

Reino	Plantae
División	Spermatophyta
Clase	Magnoliophyta
Orden	Magnoliopsida
Familia	Ericales
Genero	Sapotacea
Especie	<i>Synsepalum</i>

Fuente: (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, 2014).

3.2.2. Hábitat

Su hábitat se encuentra dentro y crece idealmente en un ambiente cálido con un clima que varía entre 30-40-C. La planta se ha adaptado a un suelo ligeramente ácido con un pH de 4,5 a 5,8 y produce frutos comestibles después de tres o cuatro años de plantación (Yamamoto

et al., 2006). Ahora se sabe que la planta es propagada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y la Estación Experimental Federal en Puerto Rico. Se adapta mejor a Jamaica, el sur de EE. UU. (mejor en Florida) o Hawai (Inglett y mayo de 1968).

La fruta crece en una sola temporada que va de mayo a septiembre, aunque las bayas se generan durante todo el año. La planta crece lentamente y eventualmente alcanza de seis a quince pies de altura cuando está completamente madura (Akinmoladun *et al.*, 2020).

3.2.3. Distribución Geográfica

Se encuentra en las partes tropicales de África central y occidental, pero posteriormente se ha introducido en otros continentes (Jardines, 2014). *S. dulcificum* se produce y cultiva en grandes cantidades en Taiwán y Japón debido a la característica única de modificación del sabor de la fruta (Xingwei *et al.*, 2016).

3.3. Propiedades del *S. dulcificum*

Su característica es la capacidad de modificar los sabores agrios por sabores dulces (Wong *et al.*, 2011), efecto que es producido por la glicoproteína Miraculina, (Vandaveer, 2004). El efecto de la Miraculina sobre la lengua es brindar una sensación distinta al probar frutas ácidas cambiándola por un sabor dulce, ya que su pulpa altera los receptores del ácido en las papilas gustativas enviando un mensaje al cerebro de que se trata de un sabor dulce (Todd Smith, 2005).

3.3.1. Definición de la glucoproteína

Según Lixicoon, (2016) las glucoproteínas, también llamadas glicoproteínas son redes de polipéptidos con cadenas laterales de sacáridos y unidos entre sí por puentes disulfuro. Estas moléculas poseen alto peso molecular que producen severas reacciones anafilácticas. Encontrándose en las membranas celulares en forma de hormonas y anticuerpos (Navarrete, 2016).

3.3.2. Miraculina

Es una glucoproteína de origen vegetal, en su caracterización se indica que es una N-glicoproteína básica con un peso molecular de 42.000 Da, termolábil, estable en soluciones con pH 3-12 y sensible a pH iguales o inferiores a 2. Siendo empleada para modificar el sabor de ácido a dulce en alimentos ricos en ácidos orgánicos, aunque es insípida, y la adición de (100 µg) de este compuesto puede neutralizar, con una persistencia de 1- 2 h, la sensación ácida de los alimentos, como el zumo de limón (Sukor *et al.*, 2021).

Tiene un peso molecular de 44/000 daltones, pertenece a un grupo prostético que incluye 16 distintos azúcares, es insípida, pero en un medio ácido presenta un sabor azucarado natural, siendo termolábil y se inactiva a pH ácidos extremos (Akinmoladun *et al.*, 2020).

3.3.3. Como funciona el efecto

La glucoproteína humedecida en presencia de una sustancia ácida o agria interactúa con las celdas receptores de sabor ubicadas en la lengua, dándose una reacción química que transmite un mensaje al cerebro provocando una sensación del gusto, con un resultado de un fuerte sabor dulce, y enmascarando completamente los sabores ácidos y amargos alrededor de entre 30 a 60 min. Sin embargo, en ausencia de la acidez no se enlaza con ningún receptor y de esta manera no provoca ningún efecto o sabor. (L. Cevallos, 2007)

La miraculina actúa sobre las papilas gustativas al tener contacto con los receptores del sabor dulce reconocidos como (hT1R2-hT1R3). La saliva hidroliza la glicoproteína, alimentos ácidos continuarían sabor dulce como los receptores (He *et al.* 2015).

3.4. Ingredientes funcionales

Un ingrediente funcional es un componente activo presente en cualquier materia prima agrícola (fruta, hortaliza, cereal, leguminosa, entre otros), que gracias a la tecnología puede ser extraído e incorporado a otros alimentos otorgándoles propiedades benéficas sobre la salud de las personas, previniendo o reduciendo el riesgo de enfermedades (Zhang y Hamauzu 2004).

El gran desafío de las investigaciones científicas es aumentar la expectativa de vida con calidad, y aquí ha entrado a jugar un papel fundamental la alimentación, ya que se ha determinado que la carencia de moléculas específicas facilita el desarrollo de enfermedades, y así surgen los ingredientes funcionales. La penetración de ingredientes extraídos de vegetales dentro de los productos relacionados con confitería, por ejemplo, ha crecido sostenidamente desde 2010, alcanzando un 9.8% en 2014 (O'Regan y Mulvihill 2010).

3.5. Componentes funcionales

3.5.1. Compuestos fenólicos

Considerando que la parte comestible de la baya es muy pequeña, el contenido en compuestos fenólicos es muy elevado. Los compuestos fenólicos se concentran principalmente en la piel de la baya (73,79 mg/g), mientras que en la pulpa y en las semillas se han detectado una concentración significativamente menor (32,46 mg/g y 13.52 mg/g respectivamente). El contenido fenólico total, entre la pulpa y la piel de la “fruta milagrosa” es de 625,57 mg/100

g de peso. De todos los compuestos fenólicos encontrados en la baya, se han encontrado principalmente flavonoides y antocianos, los cuales le aportan al fruto una considerable capacidad antioxidante (Carmen Martínez Nicolás 2017).

3.5.2. Actividad antioxidante

Para prevenir algunas enfermedades, es bien reconocida la importancia de la dieta, especialmente con plantas con propiedades antioxidantes. Durante la última década, el interés en los antioxidantes ha aumentado notablemente debido a los efectos protectores relacionados contra diversas enfermedades, incluidas las enfermedades antienviejecimiento, inflamatorias y neurológicas, cardiovasculares y cánceres. Los componentes antioxidantes son esenciales en alimentos y productos cosméticos debido a su capacidad para reducir la degradación de células y órganos mediada por radicales libres en los seres humanos (Wang et al. 2011).

En un estudio realizado por Du et al; (2014), la eficacia de la baya milagrosa para inhibir la oxidación de los ácidos grasos podría reflejar su capacidad antioxidante para estabilizar los lípidos. oxidación. La alta actividad antioxidante de la baya milagrosa podría proporcionar una función promotora de la salud en su aplicación alimentaria, además de la función modificadora del sabor. En general, los resultados obtenidos de este estudio serían útiles para explorar el mecanismo de las funciones de promoción de la salud de la baya milagrosa y proporcionar una posible utilización del extracto de baya milagrosa como ingrediente alimentario con funciones tanto antioxidantes como de modificación del sabor (Du et al. 2014).

3.6. Usos

3.6.1. Usos alimentarios

En Europa, Japón, y Estados Unidos se lo ha usado como sustituto del azúcar en alimentos dirigidos para personas con diabetes y problemas de obesidad (Hill, 2015), puesto que esta fruta tiene la capacidad de mejorar la sensibilidad a la insulina (Chen, 2016). Por sus beneficios, esta fruta es utilizada como materia prima en la industria de la salud (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 2005)

3.6.2. Usos Medicinales

En el área medicinal el Fruto Milagroso es utilizado para pacientes con cáncer que están bajo quimioterapia porque devuelven el sabor de los alimentos en aquellos que experimentan un sabor metálico debido a los efectos de tratamiento También es sustituto del azúcar para diabéticos, reduciendo el consumo de calorías ocasionado por los duces que afectan la salud (Shi et al. 2016).

3.7. Beneficios en su consumo

Entre los beneficios que posee el consumo de la fruta milagrosa son algunos, como por ejemplo es un estimulante para la pérdida de peso ya que actúa como un endulzante natural bajo en calorías, mejora la salud ocular por poseer cantidades pequeñas de Vitamina A, además de ser un excelente fruto que ayuda a aumentar las defensas del cuerpo (Chen et al. 2006).

Pese a que solo posee pequeñas cantidades de Vitamina C, esta estimula la producción de glóbulos blancos que son el agente principal de la defensa del cuerpo. Este fruto posee nutrientes únicos que afectan positivamente en la salud, es capaz de regular los síntomas de la diabetes y previene enfermedades crónicas del colon (Chevez Avilés 2021).

3.8. Toxicidad del *S. dulcificum*

Desde 2013 en Estados Unidos la FAO declara a esta fruta como nuevo alimento como la nueva idea para sustituir el azúcar para personas con diabetes, problemas de peso, entre otras. Presentándose como un cultivo innovador en el campo de la medicina y cuidados para la salud (Marinovich *et al.* 2013).

No se han descrito efectos secundarios en cuanto al consumo de las bayas de *Synsepalum dulcificum*, por lo que se asume que su consumo es seguro, y puede resultar especialmente útil para personas con estados fisiológicos alterados, o simplemente para personas que quieran bajar de peso o mantener una alimentación más baja en azúcares (Menéndez-Rey *et al.* 2021).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Descripción del lugar donde se desarrollará la investigación

El trabajo de investigación se llevó a cabo en la Universidad Estatal de Louisiana (LSU) ubicada en la ciudad de Baton Rouge, estado de Louisiana, Estados Unidos. LSU cuenta con laboratorios especializados para esta investigación en su departamento de ciencias vegetales, ambientales y del suelo, que pertenece al centro de agricultura de la universidad.

4.2. Materiales y equipo

El fruto de *S. dulcificum* fue recolectado en el centro Hill Farm Teaching Facility en el mes de junio del 2023. Posteriormente estos fueron trasladados al laboratorio de análisis fisicoquímicos de la universidad estatal de Louisiana, donde fueron caracterizados físicamente y tratados mediante liofilización para la extracción del polvo del fruto de *S. dulcificum*.

4.3 Método

El método que se utilizó para llevar a cabo esta investigación fue Descriptivo, cuantitativo de orden transversal a escala de laboratorio.

4.4 Metodología

Para el cumplimiento de los objetivos de esta investigación se realizaron tres fases experimentales descritas a continuación.

4.4.1. Fase 1: Caracterización física y química del fruto de *Synsepalum dulcificum*

Se caracterizó la composición física y química del fruto de *Synsepalum dulcificum*, a partir de análisis instrumental a escala de laboratorio.

Propiedades físicas

- **Diámetro longitudinal y polar:** el equipo utilizado fue un Pie de Rey



Figura 1. Medida de diámetro longitudinal.



Figura 2. Medida del diámetro polar.

- **Peso**

Se pesó la fruta fresca con una balanza analítica Mettler AE 166, este procedimiento se debe realizar mínimo a tres frutos.



Figura 3. Pesaje del fruto de S. dulcificum.

➤ **Propiedades químicas**

▪ **Determinación de pH**

Procedimiento

1. Pesar 1 g de muestra fresca.
2. Con la ayuda de un mortero machacar la muestra, colocarla en el vaso de precipitación y añadir 100 ml de agua destilada
3. Mezclar y medir el pH con la ayuda del potenciómetro.

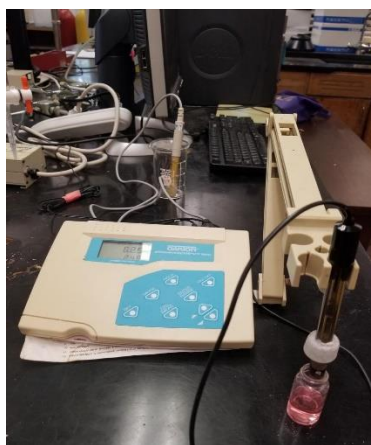


Figura 3. Medición de pH del fruto de S. dulcificum.

▪ **Determinación de Humedad**

La determinación de la humedad del fruto de *S. dulcificum* se realizó en el laboratorio de ciencias de alimentos siguiendo el método de U. Florida (1970).

Procedimiento

1. Pesar una bandeja de aluminio vacía, luego añadirle 2g de muestra fresca y volver a pesarla.
2. Llevar la muestra al secador a 105 °C durante 12 horas.
3. Sacar los recipientes con la muestra, dejarlos enfriar y luego pesarlos.
4. Determinar la cantidad de humedad presente en la muestra.



Figura 4. Secador utilizado para la determinación de humedad.

4.4.2. Fase 2: Extracción del polvo y preparación de muestras.

Se extrajo el polvo del fruto y se prepararon las muestras para análisis de Actividad antioxidante y contenido de ácidos fenólicos totales.

Extracción del polvo de *S. dulcificum*

Los frutos frescos fueron llevados al laboratorio de ciencia de alimentos, donde fueron liofilizados, en este proceso se elimina el agua presente en el fruto para conservación y evitar que este pierda ciertas propiedades organolépticas. Con la ayuda de un mortero se molieron cada uno de los frutos hasta obtener el polvo.

Preparación de muestras

- Las muestras se prepararon en diferentes concentraciones, estas muestras servirán para realizar los análisis de antioxidantes y también los análisis de ácidos fenólicos. Con las siguientes disoluciones:
- 0.05g de polvo de *S. dulcificum* + 10 ml de metanol al 80%
- 0.1g de polvo de *S. dulcificum* + 10 ml de metanol al 80%
- 0.3g de polvo de *S. dulcificum* + 10 ml de metanol al 80%
- Se mezclaron las muestras y se llevaron a centrifugar por 15 minutos a 5000 rpm.



Figura 5. Diferentes concentraciones del polvo de *S. dulcificum*.



Figura 6. Adición de metanol al 80%.

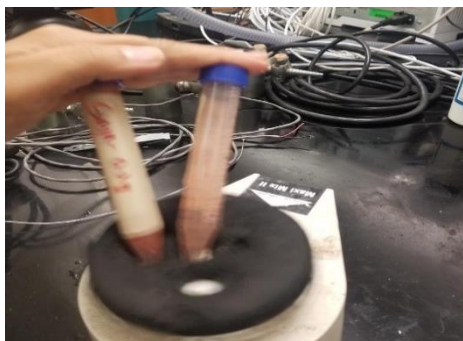


Figura 7. Mezcla de las muestras.



Figura 8. Muestras después de pasar por centrifugación.

4.4.3. Fase 3: Determinar la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales del fruto de *S. dulcificum*.

Actividad antioxidante

Para la actividad antioxidante se utilizó el método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) propuesto por Blois en 1958, consiste en un método de captación de radicales libres muy usado para determinar la actividad antioxidante de frutas (zumos), verduras, café, entre otros. Su fundamento se basa en la aceptación de un electrón o átomo de hidrógeno por la molécula 1,1-difenil-2-picrilhidrazina, que en solución en metanol es de color violeta intenso (Benitez, 2020).

Con las muestras ya preparadas se realizó la siguiente mezcla para poder analizar la actividad de antioxidantes:

- Se tomó 0.5 ml del extracto del fruto de *S. dulcificum* + 1 ml de metanol al 80% + 0.5 ml de DPPH (0,04 mm)
- Se mezclaron las muestras por dos minutos y se llevaron a Incubar en un lugar oscuro por 30 min.
- Después de 30 minutos se leyó la absorción a 520 nm usando el espectrofotómetro. Se utilizo el software PerkimElmer Lambda 35.

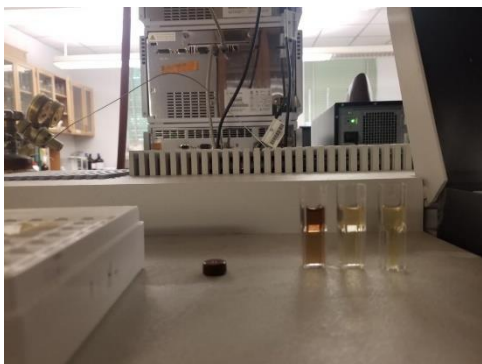


Figura 9. Muestras para actividad de antioxidante

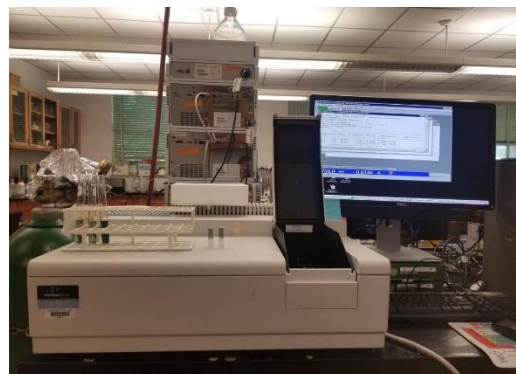


Figura 10. Espectrofotómetro y software utilizado.

Contenido de fenoles totales

Para determinar el contenido de fenoles totales se utilizó el método espectrofotométrico desarrollado por FOLIN y CIOCALTEAU para la determinación de fenoles totales, se fundamenta en su carácter reductor y es el más empleado. Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 765 nm. Los resultados se expresan en mg de ácido gálico por 100 g de pulpa de frutos (Antezana, 2018).

Con las muestras ya preparadas se preparó la siguiente mezcla para el análisis de ácidos fenólicos totales:

- Se tomó 0.5g del extracto del fruto de *S. dulcificum* + 8ml de agua destilada+ 0.5 ml de Folin & Ciocalteu's phenol reagent + después de tres minutos agregar 1ml de $NaCo_3$.
- La mezcla se llevó a Incubar en un lugar oscuro por 2 horas.
- Después de transcurridas las dos horas se leyó la absorción a 765 nm usando el espectrofotómetro. Se utilizo el software PerkimElmer Lambda 35.

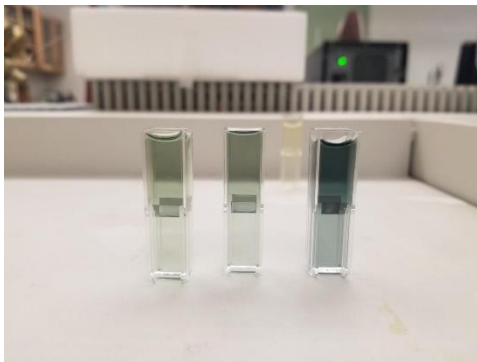


Figura 11. Muestras para ácidos fenólicos totales.

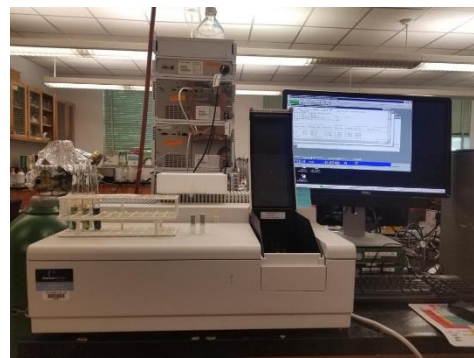


Figura 12. Espectrofotómetro y software para leer la absorbancia.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. Propiedades físicas

5.1.1. Diámetro longitudinal y polar

La determinación del diámetro longitudinal y polar se realizó por triplicado, siguiendo el procedimiento y metodología del laboratorio de postcosecha y fisiología vegetal de la universidad Estatal de Louisiana, en donde se obtuvo un resultado promedio de 9,1 mm (0,91 cm) para el diámetro longitudinal. Este resultado es cercano al obtenido por (Chevez Avilés, LW. 2021) en donde menciona que los frutos de color rojo brillante en su madurez presentan un diámetro longitudinal de 1 cm. Por otro lado, el diámetro polar obtuvo como resultado un promedio de 16.89 mm (1.68 cm). Según (Pietro, s.f.), los frutos dentro de su madurez presentan aproximadamente un diámetro polar de 2 cm.

5.1.2. Peso

La determinación del peso del fruto de *Synsepalum dulcificum* se realizó en el laboratorio de postcosecha y fisiología, dando como resultado un peso promedio de 1,28 g entre los tres frutos que fueron pesados.

5.2. Propiedades químicas

5.2.1. pH

La medición de pH se realizó en los laboratorios de postcosecha y fisiología siguiendo el procedimiento descrito en el punto 4.4.1 en donde se obtuvo un pH promedio de 3,81. El valor de pH puede variar debido a diferentes factores, como, por ejemplo, el solvente utilizado para la mezcla, la temperatura en que se encontraba la muestra y la parte del fruto que se utilizó (Chevez Avilés, LW. 2021). Además, el pH es una característica importante con respecto a la maduración del fruto debido a que si este se encuentra en su óptimo grado de madurez, el pH será alto, pero al progresar su madurez este disminuye, lo cual puede ser otro factor que influye en esta medición.

5.2.2. Humedad

El porcentaje de Humedad de la muestra del fruto de *S. dulcificum* que fueron previamente liofilizadas, se realizó en el laboratorio de ciencias de alimentos siguiendo el procedimiento del apartado, 4.4.2, para determinar la humedad se realizó un proceso por triplicado. Los resultados obtenidos presentaron un promedio de 83,37% en base fresca, utilizando cascara y pulpa, mediante el procedimiento del laboratorio de ciencias de alimentos en donde se somete la muestra fresca de 2g, a una temperatura de 105°C por 12 horas. En comparación con un estudio realizado por Njoku y Ekwueme en 2014, en el cual la humedad promedio fue de 59,55% utilizando la pulpa y sometiendo a 110°C con 1.5g de muestra. Así mismo, Inglett y Chen realizaron estudios en Estados Unidos donde se estima que la humedad del fruto fresco es de 65,33%. Por lo tanto, se puede deducir que los datos varían según el método utilizado, la cantidad de muestra que sea utilizada y la parte analizada de la baya. Según (Frazier y Wurstoff, 1978), el contenido de humedad presente en una fruta es el índice de actividad de agua, por lo que si la fruta presenta mucha humedad, ésta puede tener un corto plazo de vida útil.

5.3. Análisis de actividad antioxidante

La capacidad antioxidante se realizó por triplicado a diferentes concentraciones del extracto del fruto de *S. dulcificum*, en el laboratorio de análisis Fisicoquímicos de la Universidad Estatal de Louisiana, siguiendo la metodología del doctor a cargo (David Picha), descrito en el punto 4,3,2 .Las concentraciones de antioxidantes totales se calcularon y expresaron en TEAC, es decir, actividad equivalente a trolox y dando como resultado los siguientes valores: a una concentración de 0.03g , se obtuvo un valor de 434,17 $\mu\text{m Trolox/ 100g}$ en base seca, con una concentración de 0.1g se obtuvo un valor de 485,81 $\mu\text{m Trolox/ 100g}$, y en una concentración de 0.5 se obtuvo un valor de 523,27 $\mu\text{m Trolox/ 100g}$

Tabla 2. Concentración de capacidad antioxidante

Muestra (Concentración del extracto)	Concentración de antioxidantes totales ($\mu\text{m Trolox/ 100g}$ en base seca)
0.03	434,17
0.1	485,81
0.5	523,27

El contenido del análisis de la capacidad de antioxidantes totales presente en la muestra liofilizada, de cáscara y pulpa fue mayor en una concentración de 0.5 con un valor de 523,27 $\mu\text{m Trolox/ 100g}$ en base seca, esto debido a que a mayor concentración del extracto, la absorbancia es mayor y por lo tanto también la concentración de antioxidantes, en comparación con un estudio realizado por Chen en 2016, en donde el contenido de antioxidantes de la pulpa y cascara reportado fue de 457,3 $\mu\text{m Trolox/ 100g}$ en base seca, se puede deducir que el fruto de *S. dulcificum* es una gran fuente de antioxidantes, a diferencia de otras frutas estudiadas por Vasco *et al.* (2008), como el tomate (310 $\mu\text{m Trolox/ 100g}$), maracuyá (50 $\mu\text{m Trolox/ 100g}$), entre otras.

5.4. Análisis de Ácidos fenólicos totales

El análisis de ácidos fenólicos totales se realizó por triplicado en diferentes concentraciones del extracto del fruto de *S. dulcificum*, en el laboratorio de análisis Fisicoquímicos de la Universidad Estatal de Louisiana, siguiendo la metodología del doctor a cargo (David Picha), descrito en el punto 4.3.3. El contenido de ácidos fenólicos totales fue calculado y expresado en mg de ácido gálico por 100 g de pulpa de frutos y dando como resultado los siguientes valores: a una concentración de 0.03g, se obtuvo un valor de 34,08 mg ácido gálico/ 100g de pulpa del fruto, con una concentración de 0.1g se obtuvo un valor de 35,25 mg ácido gálico/ 100g de pulpa del fruto., y en una concentración de 0.5 se obtuvo un valor de 38,27 mg ácido gálico/ 100g de pulpa del fruto.

Tabla 3. Concentración de ácidos fenólicos totales.

Muestra (Concentración del extracto)	Concentración de Ácidos fenólicos totales (mg ácido gálico/ 100g de pulpa del fruto)
0.03	32,08
0.1	32,11
0.5	34,17

Para determinar la cantidad de compuestos fenólicos se utilizó el reactivo Folin & Ciocalteu, el cual cambia de color azul las muestras, esto debido a la presencia de grupos fenólicos presentes en la muestra a analizar.

El contenido del análisis de ácidos fenólicos totales presente en la muestra liofilizada, de cáscara y pulpa fue mayor en una concentración de 0.5 del extracto del fruto de *S. dulcificum*, obteniendo un valor de 34, 17 mg ácido gálico/ 100g de pulpa del fruto, esto debido a que a mayor concentración del extracto, la absorbancia y por lo tanto la concentración de antioxidantes es mayor. Este valor es semejante a los resultados presentados por Inglett y

Chen (2011) de 33,58m mg ácido gálico/ 100g en base seca. Por lo tanto, se puede decir que esta diferencia demostrada podría ser por la etapa de maduración del fruto, ciertas pérdidas durante la extracción de la muestra o dependiendo de la parte del fruto que se haya utilizado ya que, según He, *et al.* (2016), se estima que existe mayor cantidad de fenoles totales en la cáscara a diferencia de la pulpa.

VI. CONCLUSIONES

Se analizó ciertas propiedades Fisicoquímicas del fruto de *S. dulcificum*, esto para tener una más información acerca de la fruta, dentro de estos análisis se determinó el diámetro longitudinal y polar, el peso, pH y el porcentaje de humedad.

El polvo del fruto de *S. dulcificum* se extrajo primeramente pasando por un proceso de liofilización para luego ser macerado, de esta manera no se pierden las propiedades organolépticas, además es necesario que el método de extracción sea el adecuado para que los análisis posteriores sean más eficaces.

En el análisis de compuestos bioactivos, se determinó que el fruto de *S. dulcificum* presenta compuestos como Fenoles totales y capacidad antioxidante, los valores obtenidos de estos compuestos bioactivos fueron mayores en comparación con estudios realizados a otras frutas por lo que este fruto tiene un potencial funcional para ser utilizado en la industria alimentaria como un suplemento para la salud humana debido a que uno de los compuestos principales que este fruto posee son los antioxidantes por lo que se puede mejorar la dieta de las personas y ayudar a la prevención de enfermedades.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones en las cuales se utilice la semilla del fruto debido a que gran parte de la fruta está compuesta por esta parte y también puede tener propiedades beneficiosas para el ser humano.

Realizar estudios sobre los azúcares que esta planta posee, ya que gracias a la glicoproteína que presenta enmascara los sabores amargo y agrio convirtiéndolos en dulces por lo que se podría utilizar en las dietas para pacientes con obesidad y diabetes,

Después del estudio realizado se recomienda introducir el fruto de *S. dulcificum* dentro de productos alimenticios potencialmente como un ingrediente funcional ya que entre los compuestos bioactivos principales que presenta este fruto están los antioxidantes que juegan un papel importante en la prevención de enfermedades.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Akinmoladun, AC; Adetuyi, AR; Komolafe, K; Oguntibeju, OO. 2020. Nutritional benefits, phytochemical constituents, ethnomedicinal uses and biological properties of Miracle fruit plant (*Synsepalum dulcificum* Shumach. & Thonn. Daniell). *Heliyon* 6(12):e05837. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05837>.

Carmen Martínez Nicolás, MJP, Inmaculada Navarro,-. 2017. Revelando el secreto de la fruta milagrosa. *REVISTA ESPAÑOLA DE NUTRICION COMUNITARIA* (4). DOI: <https://doi.org/10.14642/RENC.2016.22.4.5154>.

Chen, C-C; Liu, I-M; Cheng, J-T. 2006. Improvement of insulin resistance by miracle fruit (*Synsepalum dulcificum*) in fructose-rich chow-fed rats. *Phytotherapy Research* 20(11):987-992. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.1919>.

Chevez Avilés, LW. 2021. Desarrollo de un producto a base de la maceración de la fruta milagrosa (*SYNSEPALUM DULCIFICUM*) para su aplicación en la coctelería (en línea) (En accepted: 2022-02-14t16:29:45z). . Consultado 28 abr. 2022. Disponible en <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/58443>.

Du, L; Shen, Y; Zhang, X; Prinyawiwatkul, W; Xu, Z. 2014. Antioxidant-rich phytochemicals in miracle berry (*Synsepalum dulcificum*) and antioxidant activity of its extracts. *Food Chemistry* 153:279-284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.072>.

Haddad, SG; Mohammad, M; Raafat, K; Saleh, FA. 2020. Antihyperglycemic and hepatoprotective properties of miracle fruit (*Synsepalum dulcificum*) compared to aspartame in alloxan-induced diabetic mice. *Journal of Integrative Medicine* 18(6):514-521. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joim.2020.09.001>.

He, Z; Tan, JS; Lai, OM; Ariff, AB. 2015. Optimization of conditions for the single step IMAC purification of miraculin from *Synsepalum dulcificum*. Food Chemistry 181:19-24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.166>.

Hm, S; Suresh, J; Lakshmi, H. 2020. *Synsepalum Dulcificum*: A Review. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences 10:4208-4213.

Marinovich, M; Galli, CL; Bosetti, C; Gallus, S; La Vecchia, C. 2013. Aspartame, low-calorie sweeteners and disease: Regulatory safety and epidemiological issues. Food and Chemical Toxicology 60:109-115. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.040>.

Menéndez-Rey, A; González-Martos, R; Ye, P; Quiroz-Troncoso, J; Alegría-Aravena, N; Sánchez-Díez, M; Maestu-Unturbe, C; Bensadon-Naeder, L; Ramírez-Castillejo, C. 2021. Quantification of lectins in *Synsepalum dulcificum* and comparison with reference foods. Food Chemistry 352:129341. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129341>.

Navarrete, ARJ. 2016. (Trabajo de Titulación Previa Obtención al Título de Ingeniero Químico). :142.

Njoku, NE; Ubbaonu, CN; Alagbaoso, SO; Eluchie, CN; Umelo, MC. 2015. Amino acid profile and oxidizable vitamin content of *Synsepalum dulcificum* berry (miracle fruit) pulp. Food Science & Nutrition 3(3):252-256. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.213>.

Obafemi, TO; Olaleye, MT; Akinmoladun, AC. 2019. Antidiabetic property of miracle fruit plant (*Synsepalum dulcificum* Shumach. & Thonn. Daniell) leaf extracts in fructose-fed streptozotocin-injected rats via anti-inflammatory activity and inhibition of carbohydrate metabolizing enzymes. Journal of Ethnopharmacology 244:112124. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112124>.

O'Regan, J; Mulvihill, DM. 2010. Sodium caseinate–maltodextrin conjugate hydrolysates: Preparation, characterisation and some functional properties. Food Chemistry 123(1):21-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.115>.

Shi, Y-C; Lin, K-S; Jhai, Y-F; Lee, B-H; Han, Y; Cui, Z; Hsu, W-H; Wu, S-C. 2016. Miracle Fruit (*Synsepalum dulcificum*) Exhibits as a Novel Anti-Hyperuricaemia Agent. *Molecules* 21(2):140. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21020140>.

Sukor, NF; Jusoh, R; Kamarudin, NS. 2021. Enhanced extraction of *Synsepalum dulcificum* (Miracle Fruit) leaves using green ultrasonication–hydrodistillation method. *Materials Today: Proceedings* 41:65-71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.11.1008>.

Wang, H-M; Chou, Y-T; Hong, Z-L; Chen, H-A; Chang, Y-C; Yang, W-L; Chang, H-C; Mai, C-T; Chen, C-Y. 2011. Bioconstituents from stems of *Synsepalum dulcificum* Daniell (Sapotaceae) inhibit human melanoma proliferation, reduce mushroom tyrosinase activity and have antioxidant properties. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 42(2):204-211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.05.008>.

Zhang, D; Hamazu, Y. 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry* 88(4):503-509. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.065>.