



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

Facultad de Ingeniería Química

Carrera Ingeniería Química

TEMA:

**“Determinación de la glucoproteína y sus propiedades en la fruta milagrosa
(*Synsepalum dulcificum*)”**

(Trabajo de Titulación Previa Obtención al Título de Ingeniero Químico)

AUTORA:

Ana Rosa Jouvin Navarrete

TUTORA:

Ing. Sandra Ronquillo Castro. Msc.

Guayaquil, Agosto – 2016

DECLARACION

Yo **ANA JOUVIN NAVARRETE**, declaró bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la **UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

.....

Ana Rosa Jouvin Navarrete

Guayaquil, 29 de agosto del 2016

AVAL DEL TUTOR

Yo, Ing.Qca, Sandra Mirella del Consuelo Ronquillo Castro. MSc, certifico haber **tutelado** el trabajo de titulación: “Determinación de la glucoproteína y sus propiedades en la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*)”, que ha sido desarrollado por la Srta. Ana Rosa Jouvin Navarrete, previa obtención del título de Ingeniero Químico, de acuerdo al REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN PARA EL GRADO DE TERCER NIVEL DE LA UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA.

Atentamente.

Ing. Qca.Sandra Mirella del Consuelo Ronquillo Castro. Msc

AGRADECIMIENTO

A mi familia, por ese apoyo incondicional en mi vida universitaria.

A mi Directora del trabajo de titulación Ing. Sandra Ronquillo Castro, al Ing. Wilfrido Terán Verzola; quienes con su paciencia y amplios conocimientos han hecho posible realizar este trabajo de titulación.

A todos los docentes de la Carrera de Ingeniería Química de la Universidad de Guayaquil, por formarme profesionalmente.

A todos aquellos que de manera directa o indirecta contribuyeron con mi proyecto de vida.

Ana Rosa Jouvin Navarrete

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mi familia por ser parte fundamental en el desarrollo profesional de mi vida.

Ana Rosa Jouvin Navarrete.

ÍNDICE GENERAL

Portada.....	i
Declaración.....	ii
Certificado de Tutor.....	iii
Agradecimiento.....	iv
Dedicatoria.....	v
Introducción.....	1
CAPITULO 1	3
1.1 Tema.....	3
1.2 Planteamiento del problema.....	3
1.3 Formulación del problema.....	4
1.4 Limitación	4
1.5 Alcance de trabajo.....	4
1.6 Objetivos	5
1.7 Idea a defender	5
1.8 Pregunta a contestar	6
1.9 Justificación de la investigación	6

1.10	Hipótesis	7
1.11	Variables de investigación y Operacionalización	7
	Operacionalización	7
CAPÍTULO 2		15
2.1	Antecedentes	15
2.2	Origen	16
2.3	Nombres con que se la identifica a esta fruta en otros países	16
2.4	Linaje de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	18
2.5	Tabla 4 Linaje de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	18
2.6	Plantación	19
2.6.1	Descripción de la Planta	21
2.6.2	Taxonomía	23
Diferencia entre dos especies que llevan frutos milagrosos muy parecidos		23
Definición de la Glucoproteína		25
2.7	Miraculina	25
2.7.1	Como funciona el efecto	25
2.7.2	Zona sobre la que actúa la Glucoproteína miraculina	26

2.8	Composición de la pulpa de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	27
2.9	Clasificación según origen	28
2.10	Estudios sobre la Extracción - Purificación de la miraculina	30
	Identificación y localización de cultivos alrededor del mundo	32
2.11	Localización de los cultivos en el Ecuador.....	36
2.12	Producción Anual de Florecimiento de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	38
2.13	Mecanismo de Obtención de la miraculina para su preservación.	38
2.14	Presentación de comercialización de la fruta.....	40
2.15	Importancia del Potencial de Hidrógeno pH dentro del estudio de la fruta	42
2.16	Grado Brix.....	42
2.17	Análisis de DPPH.....	43
2.18	Método de Biuret.....	43
2.19	Evaluación Sensorial	44
	CAPÍTULO 3	45
3.1	Metodología	45
3.2	Tipo de enfoque metodológico	45
3.3	Métodos y técnica	45

3.4 Equipos, materiales y reactivos.....	47
Ingeniería de Procesos	48
3.5 Diagrama de Flujos	48
3.6 Preparación de la muestra	51
3.7 Elaboración de los extractos	51
Identificación cualitativa de presencia de glucoproteína miraculina en la fruta milagrosa.....	52
3.7.1 Preparación de muestras y estándares	52
3.7.2 Determinación de resultados cuali – cuantitativamente.....	52
3.8 Potencial de Hidrógeno pH	54
3.8.1 Procedimiento para tomar el pH	55
3.9 Determinación de grados °Brix.....	56
3.10 Análisis de DPPH.....	56
3.11 Determinación de inhibición de radicales libres mediante el método DPPH.	58
3.12 Determinación de inhibición de radicales libres mediante el método DPPH.....	59
3.13 Obtención de aceite de semilla de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	76

3.14	Obtención de muestra oleosa a partir de la pulpa y cascara de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	77
3.15	Procedimientos para llevar acabo la evaluación sensorial	77
3.16	Balance de materia de los extractos	78
3.17	Balance para la obtención de aceite de semilla de <i>Synsepalum dulcificum</i>	80
	Análisis estadísticos de los parámetros de la evaluación sensorial	86
	Resultados de los parámetros medidos en la fruta	89
	Conclusiones.....	90
	Recomendaciones.....	91
	Glosario	92
	Referencias	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Variables de la investigación	7
Tabla 2 de Operacionalización	14
Tabla 3 Sinónimos de la fruta.....	17
Tabla 4 Linaje de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	18
Tabla 5 Tabla de componentes de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	27
Tabla 6 Clasificación por su naturaleza proteica	28
Tabla 7 La composición bioquímica básica.....	31
Tabla 8 Países donde se han localizado cultivos del arbusto Fruta Milagrosa.....	32
Tabla 9 Componentes de una tableta de <i>Synsepalum dulcificum</i> de 100g	41
Tabla 10 Métodos Químicos y Físicos	46
Tabla 11 Equipos, materiales y reactivos.....	47
Tabla 12 Curvas de calibración y lectura de Absorbancia	53
Tabla 13 Resultados de pH.....	55
Tabla 14 Resultados de °Brix.....	56
Tabla 15 Resultados de parámetros medidos en la fruta, con diversas muestras.	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.4-1: Planta de <i>Synsepalum dulcificum</i>	20
Figura 2.4-1: Flores bisexuales	22
Figura 2.4-2: Fruto maduro.....	22
Figura 2.4-3: Cosecha de frutos	22
Figura 2.4-1: <i>Synsepalum dulcificum</i>	23
Figura 2.4-2: <i>Synsepalum Subcordatum</i>	24
Figura 2.5-1 : Donde actua la miraculina	26
Figura 2.9-1 :Ubicación da la fruta milagrosa <i>Synsepalum dulcificum</i> en el Ecuador	37
Figura 2.9-2: Ubicación de Jardineras de la fruta milagrosa <i>Synsepalum dulcificum</i> en la provincia del Guayas	37
Figura 2.10-1: Producción Anual de florecimiento de la <i>Synsepalum dulcificum</i> ..	38
Figura 2.11-1 :Productores Internacionales de la <i>Synsepalum dulcificum</i>	39
Figura 2.11-2 Proceso de Obtencion del extracto en Industrias Internacionales..	40
Figura 2.12-1 tabletas de <i>Synsepalum dulcificum</i>	41

RESUMEN

Este proyecto de investigación está enfocado en determinar propiedades de la fruta *Synsepalum dulcificum* conocida como fruta milagrosa para aprovechar la utilidad del fruto; mejorar la producción agrícola, y a la vez la matriz productiva del país. Para la experimentación se aplicó el método Biuret contribuyendo a la identificación colorimétrica de la glucoproteína miraculina, en varios extractos: acuosa, alcohólico, metanolico.El potencial de inhibición o antioxidante del fruto como de sus extractos fue determinado por ensayo de DPPH cuyos valores son superiores al 69,12% y la extracción de aceite de la semilla de la fruta y muestra oleosa por medio extracción solido-líquido y destilación al vacío con un rendimiento de 9,56 % y 0,4 % respectivamente; usando como solvente el alcohol isopropílico. Esta investigación se ha apoyado en la observación, aplicación del método inductivo – deductivo, para describir el comportamiento de la fruta y el experimental para determinar las propiedades, también se ha utilizado la evaluación sensorial para los parámetros organolépticos.

Palabras clave: miraculina, DPPH, Biuret, organolépticos.

ABSTRACTS

This research project is focused in determine properties of the known *Synsepalum dulcificum* fruit as miraculous fruit to make good use of the utility of the fruit , to improve agricultural production , and at the same time the country's productive matrix. For testing the Biuret colorimetric method was applied contributing to the identification miraculin glycoprotein, in several extracts: aqueous, alcoholic, methanolic. The potential inhibition or antioxidant of the fruit as of your extracts was determined by assay of DPPH whose values are higher at 69.12% and the extraction of oil, seed fruit and oil sample by solid-liquid extraction and distillation vacuum with a yield of 9.56% and 0.4% respectively; using isopropyl alcohol as a solvent. This research has been supported in the observation, application of the inductive method – deductive, to describe the behavior of the fruit and experimental to determine the properties, also has been used sensory evaluation to organoleptic parameters.

Key words: miraculina , DPPH, Biuret, organoleptic.

INTRODUCCIÒN

La fruta milagrosa, cuyo nombre científico es (*Synsepalum dulcificum*), perteneciente a la familia (Sapotaceae, Chrysophylloideae), es una fruta poco conocida en el Ecuador. El cultivo de este fruto se encuentra de manera esporádica en distintos sectores del país como la Amazonia, Santo Domingo de los Tsáchilas, Esmeraldas, Milagro y en algunas parcelas de la ciudad de Guayaquil.

Debido al escaso conocimiento que muestra la población referente a su existencia y bondades. Se plantea, dar a conocer algunas de las propiedades y el beneficio que puede ofrecer cada una de las partes del fruto.

En la presente investigación se consideró realizar una recopilación de diversas fuentes bibliográficas permitiendo así indagar los resultados o avances logrados en otros estudios realizados. Luego trabajar en la identificación de los cultivos y fuente de materia prima, la cual permite ejecutar los objetivos planteados.

Para la determinación de algunas propiedades de este fruto, se llevó a cabo el proceso de obtención de extractos con algunos solventes: agua, alcohol, metanol para identificación cualitativa de la presencia de la glucoproteína. Otros análisis: pH, ° Brix, evaluación sensorial, DPPH se realizaron para determinar parámetros necesarios que complementan esta investigación.

La extracción del aceite se obtuvo con el solvente: alcohol isopropílico, también se consideró obtener una muestra oleosa a partir de la pulpa y la cáscara como un subproducto.

CAPITULO 1

1.1 Tema

“Determinación de la glucoproteína y sus propiedades en la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*)”

1.2 Planteamiento del problema

Nuestro país es un escenario perfecto para la conservación de la vida expresándose en una altísima diversidad biológica conocida también como mega diversidad. "Los diecisiete países de mayor diversidad ocupan menos del 10% de la superficie del planeta pero albergan siete de cada diez especies reconocidas.

El Ecuador forma parte de los países con una mega diversidad y una de ellas es la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*), con propiedades beneficiosas pero desconocidas por la población ecuatoriana debido al escaso conocimiento y poca difusión; lo que lleva a proponer una investigación dirigida a la determinación de las propiedades de la fruta cultivada en este país, basada inicialmente en recolección y análisis de datos de investigaciones realizadas en otros países, para con ello, lograr una propuesta de aprovechamiento de sus bondades.

1.3 Formulación del problema

¿Cuáles son las propiedades de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) tanto en su estado natural como en su extracto?

1.4 Limitación

Dada la investigación se utilizó materia prima de las plantaciones de la Empresa Ecuaforestar del sector denominado Luz de América ubicada en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas - Ecuador. Para los análisis y operaciones unitarias requeridas para determinación de las propiedades de la fruta tanto en su estado natural como en extracto acuoso se utilizó el laboratorio de Alimentos y Microbiología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad de Guayaquil, una gran limitación fue la falta de tecnología un equipo para cromatografía.

1.5 Alcance de trabajo

- Elaboración del extracto
- Identificación de la glucoproteína en el extracto
- Medición de parámetros : pH, grados Brix,
- Determinación del porcentaje de inhibición
- Obtención de la muestra oleosa y de aceite

1.6 Objetivos

General:

Determinar las propiedades de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) tanto en su estado natural como su extracto.

Específicos:

1. Identificar de forma cualitativa la presencia de la glucoproteína miraculina en la fruta milagrosa en extracto.
2. Determinar el potencial de hidrógeno, grados Brix en la fruta.
3. Determinar características organolépticas de la fruta.
4. Determinar el porcentaje de inhibición en los extractos.
5. Extraer una muestra oleosa y el aceite.

1.7 Idea a defender

A través de esta investigación identificar que la fruta milagrosa *Synsepalum dulcificum* que es cultivada en el Ecuador tiene un alto poder antioxidante el cual es beneficioso para la respuesta inmunológica del ser humano

1.8 Pregunta a contestar

El color rojo intenso que posee la fruta milagrosa *Synsepalum dulcificum* está relacionado con su poder antioxidante.

1.9 Justificación de la investigación

Ecuador posee una gran variedad de productos agrícolas entre ellos la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) los que son aprovechados en forma directa o en ocasiones de manera indirecta por la industria. Caso novedoso es el esta fruta, la cual presenta características excepcionales y han sido medianamente investigadas en el extranjero, sin embargo, en nuestro país es aún poca conocida.

Una de las características relevantes es la presencia de una glucoproteína llamada miraculina que frente a soluciones ácidas y amargas bloquean dichos receptores en las papilas gustativas dejando una sensación de dulzor en nuestra boca.

Con la finalidad de conocer algunas de las propiedades que posee esta fruta cultivada en el Ecuador se requiere realizar investigaciones que propongan a difundir las propiedades de la fruta y el posible aprovechamiento de este recurso.

1.10 Hipótesis

Por medio de análisis de la fruta milagrosa *Synsepalum dulcificum* cultivada en el Ecuador se logrará obtener aceite, muestra oleosa y determinar la presencia de la glucoproteína miraculina.

1.11 Variables de investigación y Operacionalización

Tabla 1: Variables de la investigación

Variables	Observaciones
Dependientes (y) efecto	Reacción de Biuret , DPPH
Independientes (x) causa	Brix, pH, extracción

Operacionalización

TIPO DE VA RIABLE	NOMBRE	DEFINICIÓN	UNIDADES O ESCALA	INFLUENCIA	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN O MÉTODO USADO	NORMA O METODO
Independiente	pH	Es una medida de la acidez o de la alcalinidad de una sustancia	1 – 14	Grado de potencial de hidrógeno en la fruta	pH METRO	NTE INEN 389)
	Brix	una medida alimentaría que mide el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido	0-100	Detecta si la muestra es rica en edulcorantes.	Refractómetro	NTE INEN 2 337:2008
	Grado de madurez	Normas para asegurar el mínimo aceptable	Textura, olor. sabor	Calidad del producto	--	NTE INEN 1 751:96

		para el consumidor.				
	Color		0 -100 %	Calidad de producto	-	
	Tamaño y peso	Define las características físicas de la fruta, debe de cumplir unos parámetros de control	Centímetros y gramos	Calidad del Producto	Balanzas y vernier	

Dependientes	DPPH	Radical libre sintético para el análisis de la actividad antioxidante en muestras	0- 100 %	Mientras mayor el porcentaje de inhibición mayor efectivo ese el antioxidante	Espectrofotómetro Genesys 10 UV	DPPH
	- <i>Extracto en agua</i>	Se Fundamenta en la remoción o e extracción de un componente soluble (soluto) contenido en un	Extracto S-L -pulpa	Pesado Maceración en refrigeración Filtración homogeneizador		

		sólido mediante un solvente apropiado				
	<i>-Extracto en metanol</i>	Se Fundamenta en la remoción o e extracción de un componente soluble (solute) contenido en un sólido mediante un solvente apropiado	Extracto S-L -pulpa	Pesado Maceración en refrigeración Filtración homogeneizador		
	<i>Extracto en Alcohol</i>	Se Fundamenta en la remoción o e extracción de un	Extracción S- L	Pesado Maceración en refrigeración		

		componente soluble (soluto) contenido en un sólido mediante un solvente apropiado	-pulpa	Filtración homogeneizador		
	Biuret	El Reactivo de Biuret es aquel que detecta la presencia de proteínas, péptidos cortos y otros compuestos con dos o más	-	Detección de proteína en la fruta	Espectrofotómetro Genesys 10 UV	Biuret

		enlaces peptídicos en sustancias de composición desconocida				
	Obtención de Aceite de la semilla de <i>Synsepalum</i> <i>dulcificum</i>	Sustancia grasa de origen, vegetal liquida, insoluble en agua, combustible y generalmente menos densa que el agua.	Secado , Molienda , Tamizado , Extracción sólido-líquido Destilación al vacío	-----		

	Obtención de muestra oleosa a partir de la pulpa y cascara	Que es graso o está grasiento, alimento oleoso. Aceitoso.	Secado , Molienda , Tamizado , Extracción sólido-líquido Destilación al vacío	-----		
--	--	---	---	-------	--	--

Tabla 2 de Operacionalización

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

CAPÍTULO 2

Marco Teórico

2.1 Antecedentes

La fruta milagrosa es conocida desde hace casi tres siglos. El explorador francés Chevalier des Marchais fue quien realizó los primeros registros de ella en 1725, aunque, no hizo ningún intento por registrarle un nombre ni describirla completamente, pero a mediados del siglo XIX es cuando fue identificada y nombrada como *Synsepalum dulcificum*, un miembro de la familia Sapotaceae, pariente del chicozapote (Manilkarazapota), lo que quedó registrado en el Pharmaceutical Journal, Vol. XI publicado en 1852, Dr. WF Daniell, quien fue el que se encargó de nombrarla. (rich, 2010).

Otras publicaciones evidencian avances de estudios realizados a esta fruta, así es el caso de 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. (No., 1992)

Estas investigaciones conllevaron a determinar que la miraculina – macro molécula -provoca el efecto de modificación del sabor. Tiene un peso molecular de 44/000 daltones, pertenece a un grupo prostético que incluye

distintos azúcares, es insípida, pero en un medio ácido presenta un sabor azucarado natural, siendo termolábil y se inactiva a pH ácidos extremos. (PHYSORG, 2011)

2.2 Origen

La fruta milagrosa o baya milagrosa cuyo nombre científico es *Synsepalum dulcificum* es un arbusto tropical originario de Ghana África Occidental, Nigeria y Camerún. Existen registros de cultivos en Florida (E.E.U.U), Taiwán, China, y su presencia en América inicialmente se registra en Puerto Rico.

En el Ecuador existen actualmente dos hectáreas de cultivos de esta planta, cuya ubicación es en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas Km. 23 de la vía a Quevedo - Parroquia Luz de América en el vivero de nombre “Ecuaforestar” de propiedad del ingeniero Diego Tapia.

2.3 Nombres con que se la identifica a esta fruta en otros países

La fruta comúnmente conocida como fruta milagrosa ha sido estudiada desde la década de los ochentas por varios países del mundo, dándosele diferentes nombres dependiendo del lugar de estudio (Biotechnology, 2011).

El nombre científico de esta fruta es: *Synsepalum dulcificum* y algunos nombres comunes son: Milagro de frutas, Magic Berry, Miracle Berry, Miracle Fruit, Miraculous Berry, Sweet Berry. (Plants, 2009)

Tabla 3 Sinónimos de la fruta

Sinónimos
Richadella dulcifica
Richardella dulcifica (Schumach. Y Thonn.) Baehni
Bakerielladulcifica (Schumach&Thonn) basionyn
Pauteriadilcufica (Schumach&Thonn) Baehmi
Sederoxydulcificum (Schumach&Thonn)
Dc. SynsepalumGlycydoraWermham
DulcificumSynsepalum (Schumach. Y Thonn.) Daniell
Vernacular Nombre:
French : Fruit miraculaix
German: Wunderbeere
West Africa: Taami , Asaa, Ledidi

Fuente: (Lim, 2012)

2.4 Linaje de la *Synsepalum dulcificum*

2.5 Tabla 4 Linaje de la *Synsepalum dulcificum*

• Viridiplantae
• Streptophyta
• Tracheophyta
• Streptophyta
• Streptophytina
• Embryophyta
• Spermatophyta
• Magnoliophyta
• Mesangiosperma
• Eudicotyledons
• Gunneridae
• Pentapetalae
• Asterids
• Ericales
• Sapotaceae
• Chrysophylloideae
• Synsepalum

Fuente: (NCBI, 2013)

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

2.6 Plantación

William Francis Whitman y Salvatore junto con otros investigadores fundadores del Consejo Internacional Rare Fruit, con sede en Miami, reconocidos como los primeros en difundir y popularizar la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) en los Estados Unidos.

Este tipo de plantas debe ser germinado en una turba ácida, más tarde plantada en suelo negro con un pH de 6,4 es de lento crecimiento, a los diez años esta podría alcanzar entre cuatro a cinco pies de altura y depende su desarrollo del lugar donde se cultiva. Se desarrolla en temperaturas cálidas, sensible al frío y de humedad alta, con sombra parcial. (KARP, 2007).

El suelo debe ser bien drenado con agua cada dos días y abonados con micronutrientes. La planta para desarrollarse demora entre tres y cuatro años, para después comenzar a tener un crecimiento rápido, sin embargo, el cultivo de esta planta se da desde la semilla; para poder disfrutar de la primera fruta se debe esperar un año aproximadamente y que esta tenga al menos 1 pie de altura para florecer. (Trees, 2014)

Figura 1 Plantas de *Synsepalum dulcificum*

2 pie de largo



Fuente: Parcela Ubicada en la parte norte de la
provincia del Guayas – Durán

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

2.6.1 Descripción de la Planta

Esta planta es considerada un arbusto de forma piramidal, posee flores bisexuales, de 1/2 pulgadas de color marrones y blancas poco visibles; con hojas axiales de 5mm de largo y proporciona un fruto de forma de ovalada, con un tamaño de 2 - 2.5 cm de color rojo brillante, el cual con el pasar del tiempo se vuelve marrón y pierde poco a poco su pulpa. Este arbusto puede llegar a medir de 4-5 pies de altura, a los diez años, posee una semilla grande cuya cubierta es la pulpa. La mayor producción de frutos se da después de una temporada de lluvias. (Tropicals S. , 2011)

Figura 2: Flores bisexuales

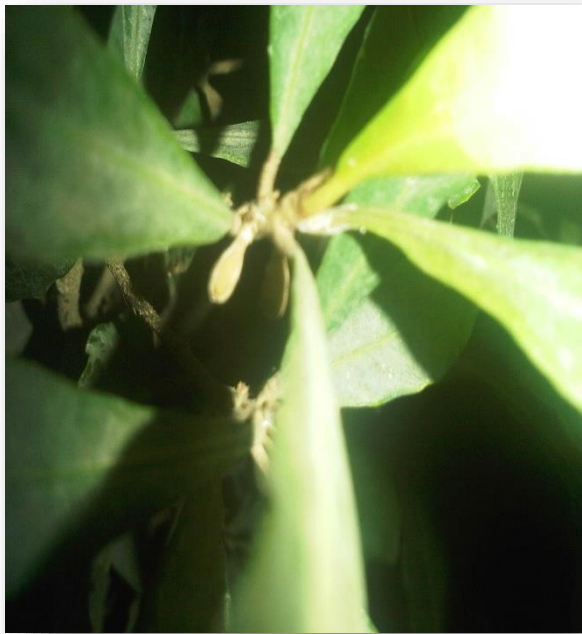


Figura 4: Cosecha de frutos



Figura3: Fruto maduro



Fuente: Parcela Ubicada en la parte norte de la provincia del Guayas – Durán

Elaborado: Ana Jouvin Navarrete

2.6.2 Taxonomia

Clase: Equisetopsida C. Agardh ; **subclase:**
MagnoliidaeNovák ex Tajt ;

<i>Superorden:</i>	AsteranaeTajt.
<i>Orden:</i>	Ericales Bercht. Y J. Presl
<i>Familia:</i>	SapotaceaeJuss.
<i>Género:</i>	SynsepalumDaniell (A. DC.)

Fuente: (GBIF, 2016)

Elaborado: Ana Jouvin Navarrete

DIFERENCIA ENTRE DOS ESPECIES QUE LLEVAN FRUTOS MILAGROSOS MUY PARECIDOS

Synsepalum dulcificum es una planta con crecimiento más lento, y posee hojas más pequeñas y estrechas.

Figura 5 .- *Synsepalum dulcificum*



Fuente: (Tropicals T. , 2007)

Synsepalum subcordatum (Giant Fruta Milagrosa) es una planta pequeña, de hojas grande. Los frutos son ligeramente más grandes que las de *s. dulcificum*, y se producen en cantidad abundante, en especial en los primeros años de vida.

Figura 6: *Synsepalum Subcordatum*



Fuente: (Tropicals T. , 2007)

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.

2.7 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 (meditron ,Inc., 2016).

2.7.1 Como funciona el efecto

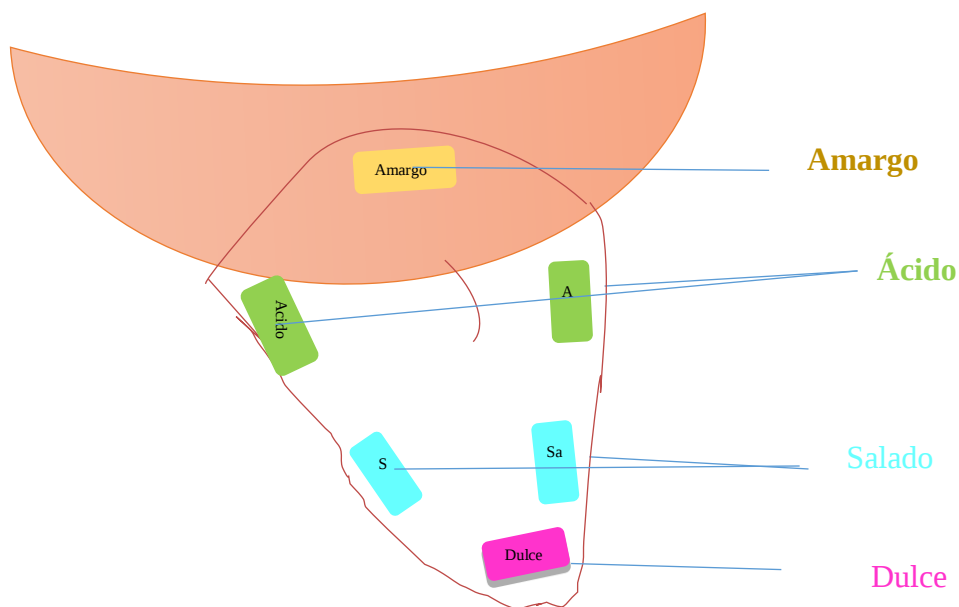
La glucoprotina humedecida en presencia de una sustancia ácida o agria interactúa con las células receptoras de sabor ubicadas en la lengua, dándose una reacción química que transmite un mensaje al cerebro provocando una sensación del gusto, con un resultado de un fuerte sabor

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)

2.7.2 Zona sobre la que actúa la Glucoproteína miraculina

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

Figura 7 : Zona donde actúa la glucoproteína miraculina



Actúa sobre la zona de los ácidos y amargos

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

2.8 Composición de la pulpa de la *Synsepalum dulcificum*

Uno de los principales componentes de esta fruta son los aminoácidos que según: Ames, 1998 (Massey et al., 1998); Haefeli y Glaser, 1990), son una variedad de compuestos biológicamente activos presentes en los alimentos y bebidas, y afectan la calidad de los alimentos, incluyendo sabor; el aroma y el color. Mientras tanto Linskens 1988, indica: que sirven para determinar la autenticidad de jugo de fruta; sin embargo, su uso se complica por la variabilidad natural de las composiciones de la fruta. (Nkwocha Chinelo C., 2014) .

De allí, la importancia de la fruta milagrosa , que posee un alto contenido de ellos convirtiéndose en una buena opción como materia prima para la producción de diversos productos alimenticios, farmacéuticos o como suplementos de dieta, sustentado según lo indica Nkwocha Chinelo C., 2Njoku Obi U. y Ekwueme Florence N en 2014.

Tabla 5 : Tabla de componentes de la *Synsepalum dulcificum*

<i>Triptófano</i>	8,055%
<i>Fenilalanina</i>	1,35%
<i>Isoleucina</i>	0,7%
<i>Metionina</i>	1,05%
<i>Prolina</i>	0,4%
<i>Valina</i>	0,69%

<i>Treonina</i>	1,1%
<i>Histidina</i>	0,4%
<i>Alanina</i>	0,5%
<i>Glutamina,</i>	1,02 %
<i>Ácido glutámic</i>	1,6%
<i>Glicina</i>	0,7%
<i>Serina</i>	0,3%
<i>Arginina</i>	1%
<i>Acido aspártico</i>	0,1%
<i>Asparagina</i>	1,23%
<i>Lisina</i>	0,6%
<i>Leucina</i>	0,6%

Fuente: (Nkwocha Chinelo C., 2014)

2.9 Clasificación según origen

Son varias las formas en las que se han clasificado las sustancias con sabor dulce, edulcorantes y una de ella son los edulcorantes intensos, siendo estos últimos de origen sintéticos y vegetales. Las de origen vegetales se las encuentra de naturales glicosídica y proteica.

En la tabla 6 se muestran las de naturaleza proteica con mayor atención por parte de la comunidad científica.

Tabla 6: Clasificación por su naturaleza proteica

SUSTANCIAS DE

NATURALEZA

CARACTERÍSTICAS

PROTEICA

<i>Taumatina</i>	Es un extracto glucopeptídico de la pulpa del fruto de <i>Thaumatococcus daniellii</i> , planta del África Occidental. El poder edulcorante está comprendido entre 1.400 y 2.200
<i>Monelina</i>	Es una proteína extraída del fruto de <i>Dioscoreophyllum camensense</i> (baya de Nigeria), es una planta trepadora que se encuentra en África y Madagascar, en zonas forestales. El poder edulcorante de la monelina es aproximadamente 2.000 veces el de la sacarosa. Su poder edulcorante es de 1.500 a 3.000. El sabor dulce se prolonga en la boca de 20 minutos a una media hora tras su consumo. Las temperaturas elevadas (>70 °C) y los pH extremos ocasionan una descomposición y una pérdida del poder edulcorante. Esta molécula pierde también su actividad en frío.
<i>Miraculina</i>	Es una glucoproteína extraída del fruto <i>Synsepalum dulcificum</i> (denominado a veces fruto milagro). El sabor de la baya es escaso, pero después de que el fruto se haya mantenido algunos instantes en la boca los sabores más ácidos se perciben como fuertemente dulces.

Fuente: (nutricion, 2005)

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

2.10 Estudios sobre la Extracción - Purificación de la miraculina

Según el estudio realizado por el Dr. Sarroch TheerasilpS y Yoshie Kuriha, la miraculina se extrajo con una solución tampón carbonatado y con otras soluciones de compuestos muy básicos tales como salmina o espermina, donde dichas soluciones hicieron que la miraculina se encuentre más estable en pH ácido y se produzcan extractos incoloros. Mediante un fraccionamiento con Sulfato de Amonio Fraccionamiento-A, CM-Sepharosei - cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad 4B ConA-Sepharose. Los extractos se purificaron por procedimientos que implican dos columnas cromatográficas.

Análisis de la miraculina purificado por SDS-PAGE, HPLC, y un secuenciador de aminoácidos ha indicado que es de alta pureza. (Kurihara)

Un ejemplar de muestra de fruta *Synsepalum dulcificum* fue identificado por el Dr. Fu-Yuan Lu (Departamento de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Chiayi) y se depositó en el Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad Fooyin, Distrito de Kaohsiung, Taiwán, en este estudio del año 2007 se trabajaron con las hojas y con el solvente MeOH* a temperatura ambiente durante 24-48 horas; logrando extraer algunas sustancias por el

método de cromatografía en columna. Estas sustancias feofitina-a, feofitina-b, lupeol, lupenone, lupeol de etilo, y quinona –tocopheryl y una mezcla de sitosterol y estigmasterol fueron encontrados en la planta por primera vez. (Chen, 2010)

Un estudio realizado en Vietnam con la fruta importada desde Taiwán en la ciudad de Vinh Long , en AnBinh Comuna , la ciudad de Vinh Long , donde coinciden que la temperatura de entre 1-4 °C es la adecuada para preservar la fruta *Synsepalum dulcificum* y realizaron en la pulpa la determinación de la composición bioquímica básica, incluyendo: azúcares totales, reducción de azúcares, proteínas, cenizas; contenido de agua, realizados por diversos métodos entre ellos: reactivo de color con Mayer, Wagner, las flavonas , los taninos.

Tabla 7 La composición bioquímica básica

Nombre del ingrediente contenido (g / 100 g en bruto)

Contenido de agua	68.900
azúcares solubles totales	2.385
Contenido de azúcares reductores	404
contenido de proteína	0,104
contenido total de proteínas	1.918
Cenizas	0,998

Fuente: (Trần Danh Thế, 2010)

IDENTIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN DE CULTIVOS

ALREDEDOR DEL MUNDO

Tabla 8 Países donde se han localizado cultivos del arbusto Fruta Milagrosa.

Países	Localizada	Fecha identificación	Publicación de los espécimen <i>Synsepalum dulcificum</i> <u>(Schumach. & Thon</u>
Gabón	1,94S, 9,88E Elevación: 32m	2014	Plucated tropical specimen data cata:100899252
Australia	12,51S, 131,06E	2014	Published in Australia's Virtual Herbarium 1257291855 Cat. CANB 822466.1
Cameroon	5,21N, 13,42E	2014	Published in Tropic's Specimen Data 1258142832 · Cat. 100813353
Congo, Democratic Republic of the	1,83S, 18,17E Elevación: 310m	2012	Published in Tropic's Specimen Data1257812946Cat. 100466149
Ghana	5,65N, 0,18W	2010	Published in Naturalis Biodiversity Center (NL)

			- Botany 1137336771 · Cat. WAG.1840168
Brazil	0,00N, 0,00E Elevación: 9.999m	2009	Published in Naturalis Biodiversity Center (NL) - Botany 1137213941 · Cat. WAG.1k840215
Indonesia		2008	Published in Royal Botanic Garden Edinburgh Herbarium (E)
Singapur	1,31N, 103,82E	2007	Published in Royal Botanic Garden Edinburgh Herbarium (E) 574776398 · Cat. E00290115
Costa Rica	8,65N, 83,18W Elevación: 35m	2007	Published in Plantae of Costa Rica (INBio) 1253895755 · Cat. 4238171
New Zelanda	36,87S, 174,77E	2002	Published in Auckland Museum Botany Collection 1269387034 · Cat. AK301281
Gabón	2,08S, 14,06E	2004	Published in Naturalis Biodiversity Center (NL) – Botany1137339189 · Cat. WAG.1840227
Honduras	14,02N, 87,02W Elevación: 800m	2002	Published in Tropic's Specimen Data 1259763035 · Cat. 2448073

Costa Rica	8,66N, 83,18W Elevación: 100m	2002	Published in Plantae of Costa Rica (INBio) 1253748625 · Cat. 3422574
Puerto Rico	18,21N, 67,14W	1999	Published in NMNH occurrence DwC-A 886748705 · Cat. 3383485.10458568
UnitedStates	39,73N, 104,96W	1999	Published in Kathryn Kalmbach Herbarium 1041322992 · Cat. KHD00003681
Australia	16,37S, 145,32E	1999	Published in Australia's Virtual Herbarium 993483176 · Cat. CANB 530106.1
Ecuador	0,42S, 76,83W Elevación: 250m Bosque húmedo tropical amazónico	1994	Published in Tropics Specimen Data 1261844946 · Cat. 920109
Nigeria	N/A	1994	Published in Herbario Universidad de Antioquia (HUA) 1123919826 · Cat. 98634

China	22,01N, 100,80E	1988	Published in Plant Specimen in Yunnan, China from Herbarium (PE),Institu... 919515732 · Cat. e09ddc1e-b6bf-11e1-8c2f acd112e444a7
French Polynesia	N/A	1982	Published in Bernice P. Bishop Museum 1090286119 · Cat. 493151
Congo, Democratic Republic of the	4,32S, 15,32E	1974	Published in Naturalis Biodiversity Center (NL) - Botany1137355810 · Cat. WAG.1840213
Netherlands		1978	Published in Naturalis Biodiversity Center (NL) - Botany1137154140 · Cat. WAG.1840195
Panamá	9,06N, 79,65W Elevación: 75m	1972	Published in Tropic's Specimen Data 1258989162 · Cat. 1744251
Cameron	4,18N, 11,03E	1970	Published in Naturalis Biodiversity Center (NL) - Botany 1138024835 · Cat. WAG.1840203

Ghana	5,39N, 0,11W	1970	Published in University of Ghana - Ghana Herbarium 621090160 · Cat. 118159
--------------	-----------------	------	--

Fuente: (GBIF. org)

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

2.11 Localización de los cultivos en el Ecuador

El mayor cultivo de este árbol se da en la zona trópica húmeda, en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, en la parroquia rural Luz de América; a una altura de 655 msnm, con temperatura promedio de 22,9°C. Encontrándose dos hectáreas de cultivos alrededor de 800 mil plantas, las cuales son de la empresa Ecuaforestar de propiedad del Ing. Diego Tapia, quien suministra la materia prima para esta investigación. También existen pequeñas jardineras en otras zonas del Ecuador.

En la Figura 8 se observan las zonas de cultivos de esta planta ubicadas en el Ecuador **(Domingo, 2016)** y en la Figura 9: la ubicación de Jardineras de la fruta milagrosa *Synsepalum dulcificum* en la provincia del Guayas



Figura 10 :Ubicación da la fruta milagrosa *Synsepalum dulcificum* en el Ecuador



Figura 11: Ubicación de Jardineras de la fruta milagrosa *Synsepalum dulcificum* en la provincia del Guayas

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

2.12 Producción Anual de Florecimiento de la *Synsepalum dulcificum*

Ecology & Evolutionary Biology Biodiversit y Education & Research Greenhouses de la Universidad de Connecticut, realizó una publicación sobre el florecimiento de esta planta.

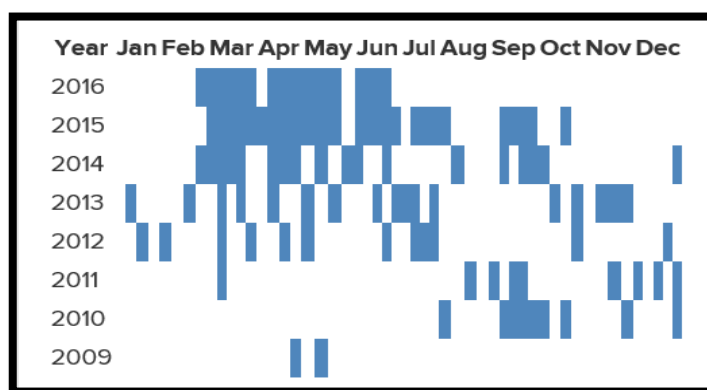


Figura 12: Producción Anual de florecimiento de la *Synsepalum dulcificum*

Fuente: (Connecticut , University)

2.13 Mecanismo de Obtención de la miraculina para su preservación.

La termolabilidad al ser una característica que descompone a la sustancia hace difícil la preservación del fruto y de su principal característica, por ello, para lograr una buena preservación se ha determinado por medio de otras investigaciones, que el proceso indicado es la liofilización.

Las empresas pioneras en la utilización del proceso de liofilización son de China y Taiwán, las cuales se han convertido en las principales exportadoras del polvo de esta fruta. Entre ellas están:

- ✓ Vigorous
- ✓ SenYuh
- ✓ LESEN
- ✓ Changsha Zhongrenbio-tecnología Co.
- ✓ Xian Longze Biotechnology Co., Ltd.
- ✓ Spearsonlimited



Figura 13 :Productores Internacionales de la *Synsepalum dulcificum*



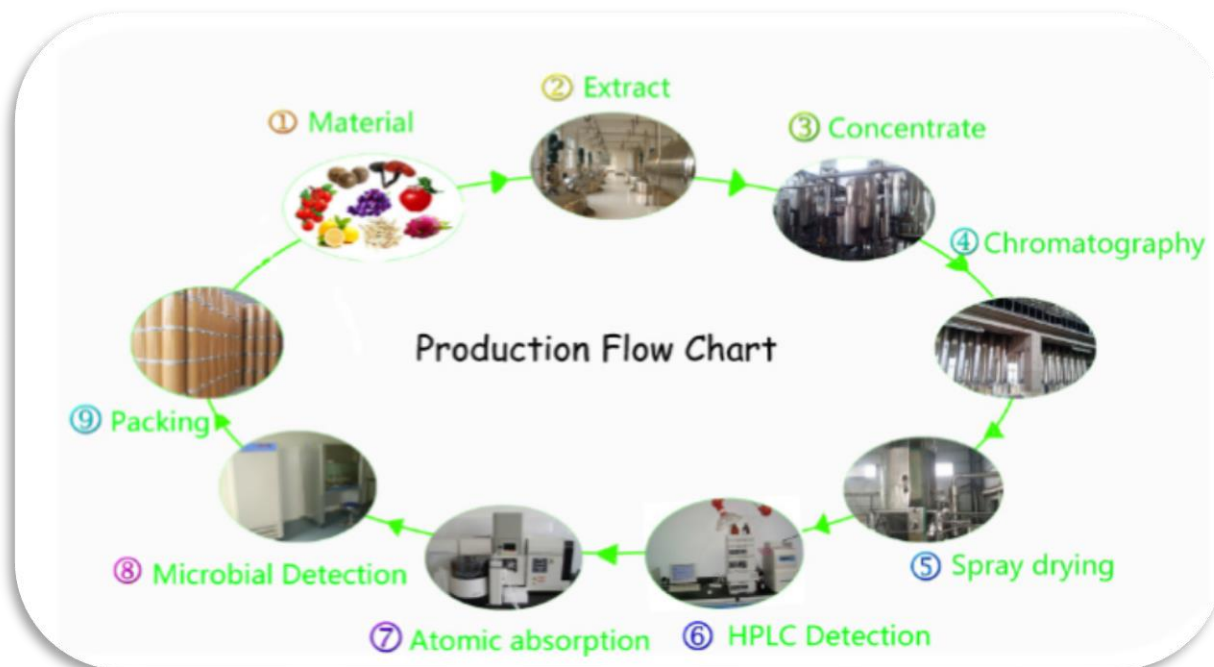


Figura 14 Proceso de Obtención del extracto en Industrias Internacionales

Fuente: (Alibaba, s.f.)

2.14 Presentación de comercialización de la fruta.

Tabla 9 Componentes de una tableta de *Synsepalum dulcificum* de 100g



Fuente: (YUH, s.f.)

Figura 15 tabletas de *Synsepalum dulcificum*

Elaborado: Ana Jouvin Navarrete

Calorías	389 kcal
Proteína	3.11 g
Grasa	0.45 g
Grasa saturada	0.17 g
Grasas trans	0 g
Carbohidratos	93.03 g
Na	33.8 g
Humedad	0.68 g
Fibra	2.13 g
Ceniza	2.73 g
Ca	59.9 mg
Fe	1.16 mg
Vitamina C	107 mg
Vitamina K1	10.5 mg
Ácido cítrico	7.52 g
Ácido Oxálico	0.82 g
Ácido Málico	1.67 g
Ácido succinic	0.82 g

2.15 Importancia del Potencial de Hidrógeno pH dentro del estudio de la fruta

El valor del Potencial de Hidrógeno (pH) se define como la medición de la actividad de los iones hidrógeno en una solución electrolítica. (GIMM, 2015)

El pH es uno de los procedimientos más importantes en el análisis químico, cuya función en las proteínas del sabor como neoculin y miraculin que les permite exhibir su dulzor dependiendo de él. Neoculin es ligeramente dulce a un pH de 7 y muy dulce a un pH inferior, mientras que miraculin no es dulce a un pH de 7, pero es dulce a pH más bajo. (Ayako , y otros)

La fruta expuesta a un pH por encima de 12,0 o por debajo de 2,5 a temperatura ambiente la actividad de la modificadora de la miraculina se reduce. En cambio si el pH se mantiene a temperatura -14, la actividad de la miraculina se mantiene por un periodo de alrededor de tres meses.

2.16 Grado Brix

El estado de madurez de la fruta milagrosa, es decir el contenido de azúcares presentes en ella; se determinó por medio de un refractómetro que permite la medición de los grados Brix el cual reporta el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido. 1 °Brix correspondería a un índice de refracción de una solución de sacarosa en agua al 1%.

$1\text{ °Brix} \approx 1,3345\text{ nD} \approx 1.0039\text{ SG20/20}$

2.17 Análisis de DPPH

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece, el cual es medido a través del espectrofotómetro y es utilizado para la determinación de los parámetros para propiedades antioxidantes. Los resultados del ensayo DPPH se han presentado de diferentes maneras. Los estudios muestran resultados como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria (IC₅₀), definido como la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH. (Rosales, 2006)

2.18 Método de Biuret

Es un método colorimétrico que permite la identificación de proteínas y enlaces peptídicos. El ensayo de proteínas de Biuret contiene iones de cobre en una solución básica, se une con los enlaces peptídicos formando un complejo de color violeta (Biuret) cuya intensidad de color depende de la concentración de proteínas, precipitando la reacción a una coloración amarilla para la no presencia de proteínas.

Para evidenciar la presencia de la glucoproteína se utilizó el espectrofotómetro que es un equipo que ayuda a determinar cuantitativamente lo determinado por el método anterior y como resultado

se obtiene un color azul producto de la unión de los iones de cobre con el grupo amida.

2.19 Evaluación Sensorial

La identificación y medición de las propiedades sensoriales es factor esencial que utiliza pruebas orientadas al producto en este caso a la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*). Las impresiones sensoriales de los consumidores de alimentos comienzan con la selección de alimentos la cual está determinada por los sentidos de la vista, olfato, tacto y gusto. En este caso las evaluaciones sensoriales con panelistas no entrenados. Está constituida por dos partes: el análisis sensorial y el análisis estadístico. El primero tiene por finalidad recabar correctamente las percepciones de un jurado o panel de evaluadores (parte subjetiva) y el segundo, transforma y analiza los datos (parte objetiva).

CAPÍTULO 3

3.1 Metodología

La investigación se ha realizado a través de fuentes bibliográficas nacionales e internacionales con base de datos físicos y digitales para recabar la información necesaria sobre el origen de la materia prima- objeto de este estudio, descripción botánica y gráfica, ciclo de maduración; zonas de crecimiento. También se ha requerido para la realización de las pruebas de determinación de propiedades la metodología experimental.

3.2 Tipo de enfoque metodológico

Esta investigación tiene un enfoque descriptiva - experimental debido a que logra identificar características o propiedades importantes, y describir los efectos generados por la manipulación de cierta variable, pero a partir de la exploración con recopilación de información de interés, por medio de trabajos tecnológicos, tesis de grado, revistas científicas, libros, así como información in situ que permite orientar y dar una respuesta al problema antes planteado.

3.3 Métodos y técnica

Se han utilizado métodos experimentales físicos y químicos, así como la técnica de análisis de evaluación sensorial. En la tabla que se presenta a continuación se detallan los métodos y técnicas aplicados.

Tabla 10 Métodos Químicos y Físicos

pH		AOAC19TH 942.15
°Brix		AOAC19TH 981.12
Métodos Químicos		
Método DPPH		Capacidad inhibidora del antioxidante
Método de cuantitativo Biuret		Medición de la glucoproteína
Obtención de Aceite de la Semilla		Método físico / Soxhlet + Rotavapor
Obtención de muestra Oleosa		Método físico / Soxhlet + Rotavapor
Análisis Organoléptico		
Color	Grado de madurez	Sabor
Olor		Textura

Elaborado por autor: Ana Jouvin Navarrete

3.4 Equipos, materiales y reactivos

Tabla 11 Equipos, materiales y reactivos

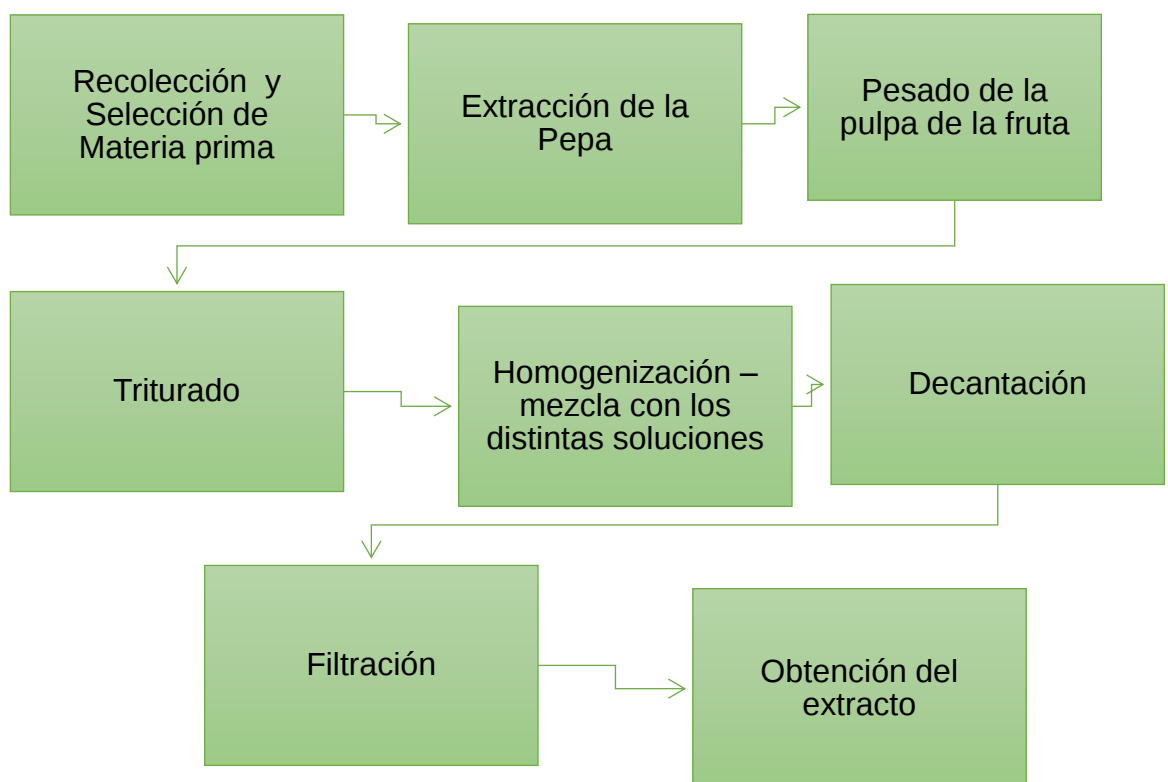
Equipos y materiales		Reactivos
pH - metro = medición del potencial de hidrogeno		Agua destilada
Refractómetro = medición de °Brix		Metanol
Espectrofotómetro Genesys 10 uv = espectrofotometría		Alcohol etílico
Balanza = pesar		Solución de DPPH
Cápsula de porcelana	Secador de bandeja de vacío	Albumina 20%
Pizeta	Equipo de Soxhlet=Extracción	Alcohol Isopropílico
Micro pipetas	Rotavapor= Destilación al vacío	H ₂ SO ₄
Cubeta de plástico = espectrofotómetro		NaOH
Congelador = mantener fruto fresco	Papel filtro = filtrar	Tartrato de sodio y potasio (KNaC ₄ O ₆ -4H ₂ O)
Matraz aforado de 10 ml	Mortero	Cu SO ₄
Pipeta graduada	Bomba de vacío	Alcohol metílico grado reactivo

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

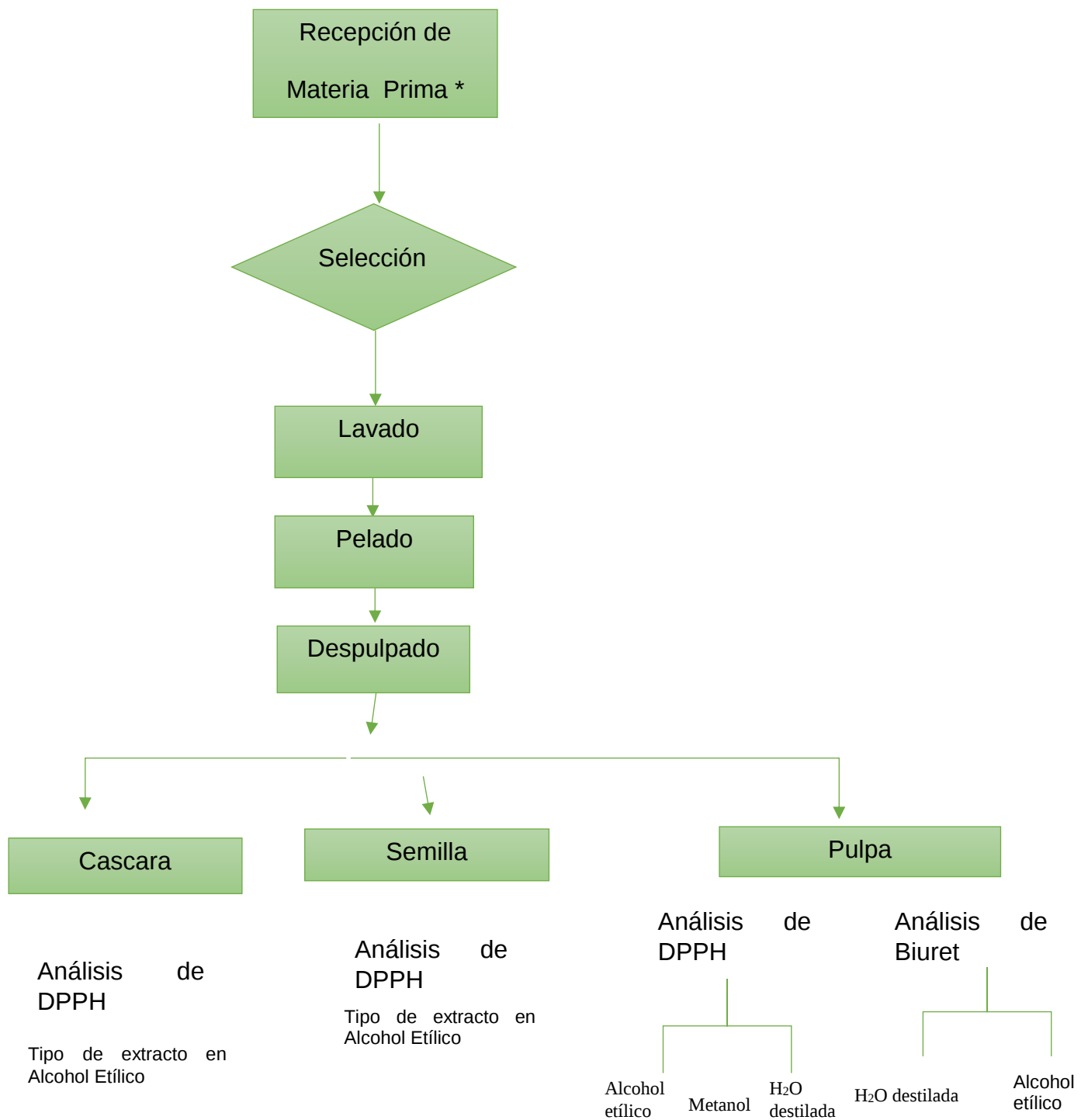
INGENIERÍA DE PROCESOS

3.5 Diagrama de Flujos

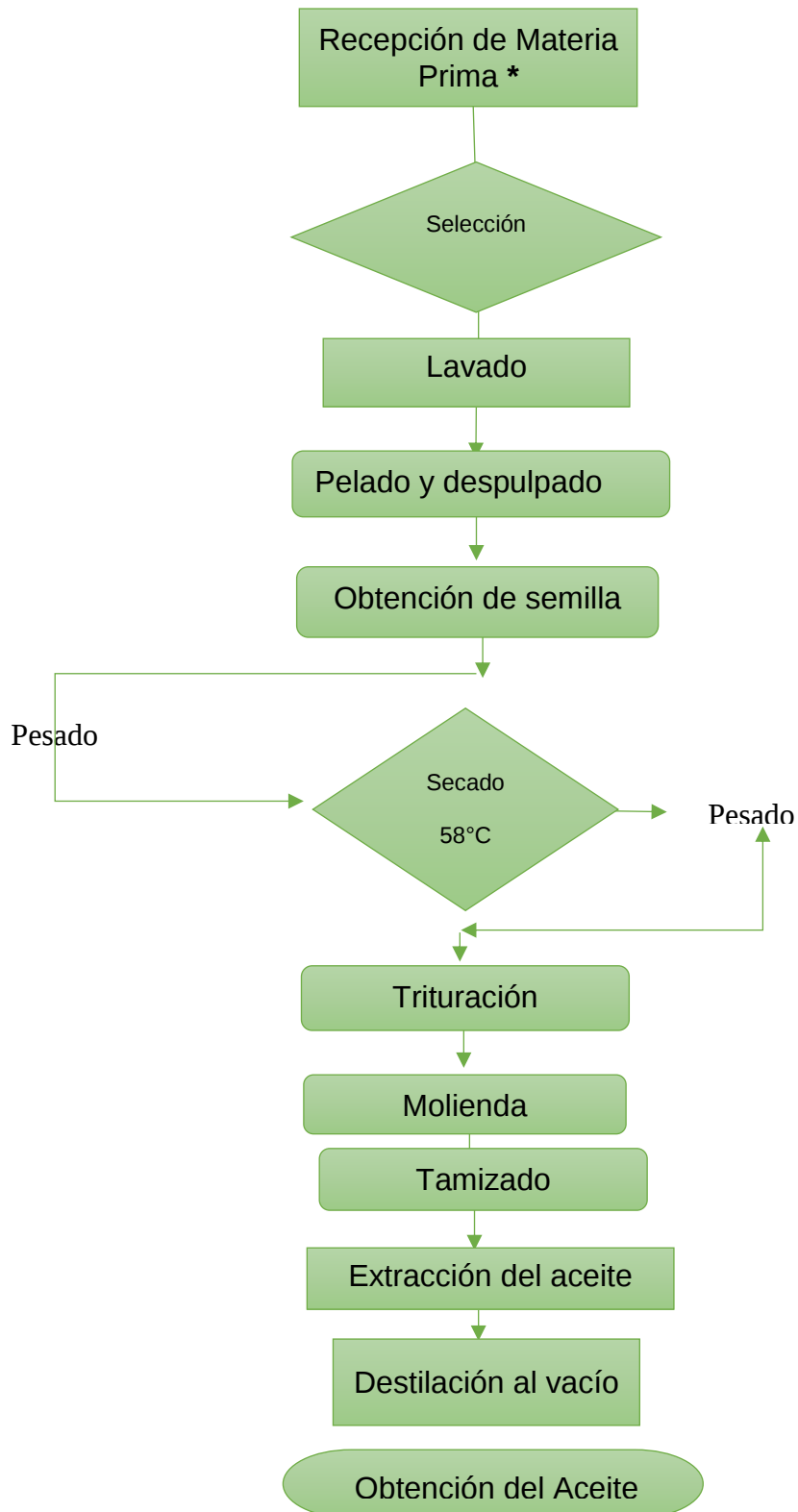
3.5-1 Obtención de extracto



3.5-2 Análisis de DPPH y Biuret



3.5-3 Para obtención de aceite de la semilla de la fruta milagrosa.



3.6 Preparación de la muestra

Se selecciona la materia prima considerando el índice de madurez y daños por agentes externos, luego se lava por el método de inmersión en poca agua, para proceder a secar con un lienzo; y posterior a ello realizar el pelado y despulpado; permitiendo obtener la semilla, cáscara y pulpa.

3.7 Elaboración de los extractos

Dependiendo de la parte de la fruta a utilizar, se prepararon diferentes mezclas para cada uno de los extractos.

Extracto en disolvente – agua destilada (pulpa)

Se selecciona la materia prima (pulpa) 2.8 g, se adiciona 25 ml de agua destilada y se procede a homogeniza para luego realizar la maceración, se hace una decantación, y luego la filtración por medio de un matraz Erlenmeyer con papel filtro.

Extracto en alcohol (semilla, pulpa, cáscara)

El proceso antes descrito se repite, considerando uno para cada muestra y cuyo disolvente en este caso es alcohol etílico.

Extracto en metanol (pulpa)

El proceso utilizado para la obtención del extracto en disolvente es el aplicado en este caso, pero para ello se trabaja con el disolvente metanol.

IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA DE PRESENCIA DE GLUCOPROTEÍNA MIRACULINA EN LA FRUTA MILAGROSA

En esta investigación se utilizó el método de Biuret, por ser colorimétrico y facilitar la identificación de proteínas y enlaces peptídicos de forma cualitativa.

3.7.1 Preparación de muestras y estándares

Se Preparó una serie de estándares de proteína y se tiene calibrado el espectrofotómetro GENESYS 10uv para realizar la curva de calibración.

1. Preparamos las muestras desconocidas 0,5 ml de cada una.
2. Añadir 2,5 ml de reactivo de Biuret a cada muestra y del patrón, mezclar y dejar actuar durante 30 minutos a temperatura ambiente
3. Transferir las muestras a cubetas y leer la absorbancia a 540 nm frente al blanco en el equipo de espectrofotometría GENESYS 10uv.

3.7.2 Determinación de resultados cuali – cuantitativamente.

1. Cuando el reactivo de Biuret y la proteína se precipita nos da una coloración violeta reacción positiva y si el precipitado pasa de azul una coloración amarilla la reacción es negativa por la no presencia de proteínas.

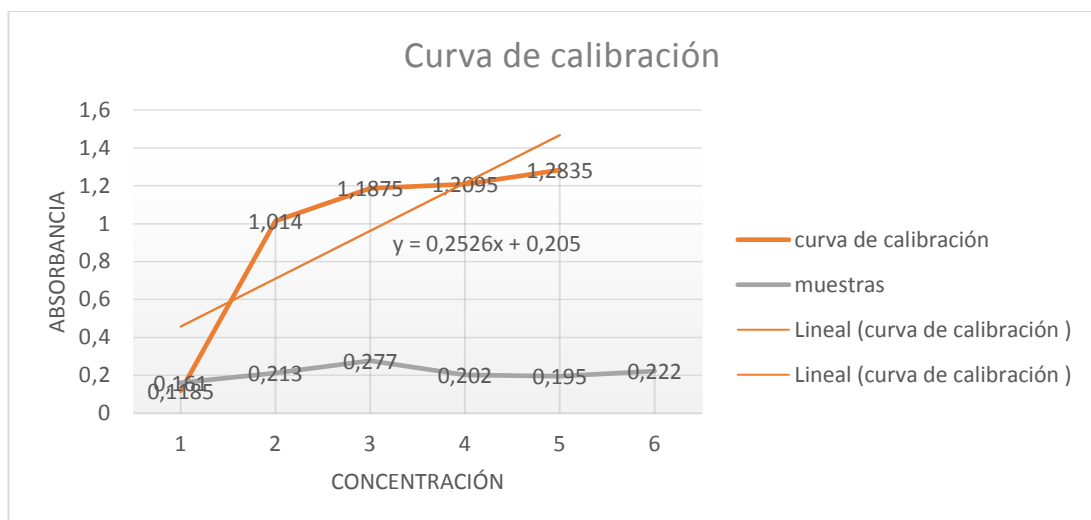
2. Se determina cuantitativamente en el espectrofotómetro la cantidad de proteína presente en cada uno de los extractos.
3. Se representa la curva estándar
4. Se realiza el cálculo de las concentraciones de proteínas en las muestras.
5. Se realiza por medio de la ecuación de la recta la determinación de los valores de “x” y se obtiene la cantidad de proteína o enlaces peptídicos en las muestras.

Tabla 12 Curvas de calibración y lectura de Absorbancia

Reactivos				Absorbancia	lectura de la proteína	
Tubos	Estandar 20 mg	H2O	Reactivo de Biuret	A_{545nm}	mg	Coloración
blanco	0 μ l	100 μ l	1 ml	0,1185		
1	25 μ l	75 μ l	1 ml	1,014		
2	50 μ l	50 μ l	1 ml	1,1875		
3	75 μ l	25 μ l	1 ml	1,2095		
4	100 μ l	0 μ l	1 ml	1,2835		
muestras						
a*	100 μ l	0 μ l	1 ml	0,161	0,174	-
b*	100 μ l	0 μ l	1 ml	0,213	0,0316	+
c*	100 μ l	0 μ l	1 ml	0,277	0,02771	+
d*	100 μ l	0 μ l	1 ml	0,202	0,285	+
e*	100 μ l	0 μ l	1 ml	0,195	-0,03958	-
f*	100 μ l	0 μ l	1 ml	0,222	0,067	+

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

* Identificación de muestras
a= pulpa agua destilada
b= pulpa en alcohol
c=pulpa en metanol(muestra vieja)
d= pulpa en metanol (nueva)
e=pepa en alcohol
f=cascara en alcohol



Grafica 1 Curva de calibración y lectura de la absorbancia

La curva patrón se realizó con una muestra de albumina humana al 20% dando una ecuación de la recta, y a partir de ella se determina la concentración de proteína de la muestra incógnita (fruta milagrosa), cuya lectura de absorbancia deben estar dentro del rango de la lectura de la absorbancia de muestra patrón; así como se muestran los resultados en la gráfica 1.

Al agregar el reactivo de Biuret a las muestras incógnitas se observó la presencia de una reacción de tonalidad violeta tenue, la cual no se presentó en todas ellas sino en cuatro de un total de seis. Lo que indica la presencia de proteína o enlaces peptídicos en la fruta milagrosa para las reacciones que manifestaron esa coloración. Ver tabla 13 y Anexo B4, B5, B6.

3.8 Potencial de Hidrógeno pH

3.8.1 Procedimiento para tomar el pH

Para determinar el potencial de hidrógeno se utilizó un pH-metro digital, se consideró 5 ml de muestra a temperatura de 15 a 20 °C, implantando el electrodo del potenciómetro en la muestra, para obtener la medición.

El registro del valor de lectura del pH de cada muestra se presenta en la tabla 14.

Tabla 13 De resultados de pH

<i>pH de la fruta natural</i>	4
<i>pH del extracto en agua (pulpa)</i>	1.7
<i>pH del extracto en alcohol (pulpa)</i>	2.3
<i>pH del extracto en metanol (cascara)</i>	2.9
<i>pH del extracto en alcohol (semilla)</i>	4
<i>pH del extracto de alcohol(cascara)</i>	3.2

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

El nivel de acidez de esta fruta es ácido, el cual depende del solvente con se realice la mezcla y la temperatura de la muestra. Ver Anexo B3

3.9 Determinación de grados °Brix

El nivel de azúcar expresado como la concentración de sacarosa de una muestra se correlaciona con la cantidad de sólidos solubles, y para medir estos grados se trabajó con un refractómetro portátil, colocando una o dos gotas de la muestra sobre el prisma

Las muestras deben estar a 20°C. y el instrumento direccionado hacia una fuente de luz, para proceder a realizar la lectura de las diferentes muestras.

Ver Tabla 14 los resultados del ensayo. Ver anexo B2

Tabla 14 De resultados de °Brix

°Brix de la fruta milagrosa	10.8
°Brix del extracto en agua (pulpa)	1
°Brix del extracto en alcohol (pulpa)	15
°Brix del extracto en metanol (cascara)	6
°Brix del extracto de alcohol(cascara)	15

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

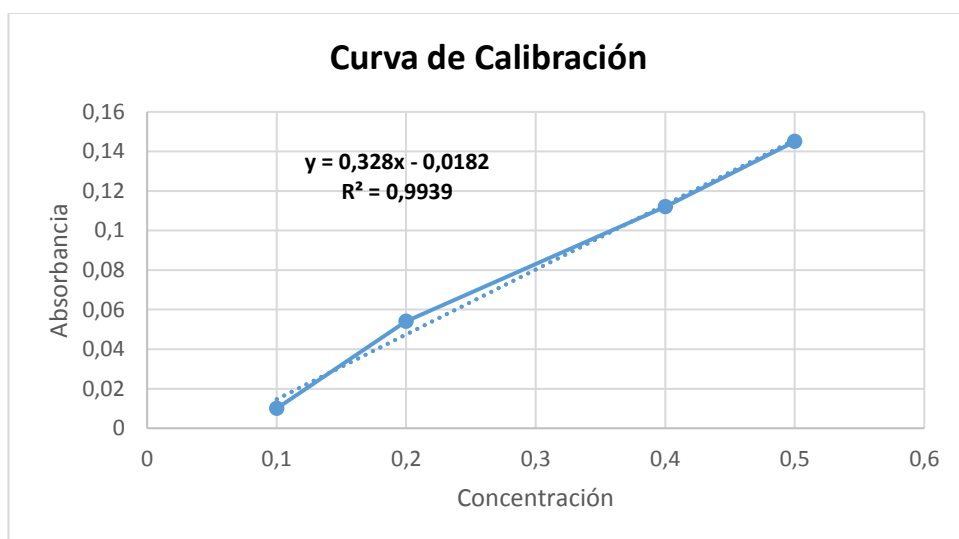
La Tabla 15 se muestra un grado Brix de 10.8 de la fruta milagrosa, pero este nivel puede variar dependiendo de la temperatura, del tiempo de almacenamiento, y del disolvente utilizado, verificado en esta investigación.

3.10 Análisis de DPPH

Este método de análisis ha permitido determinar la capacidad antioxidante de la fruta de investigación en diferentes partes. Entre ellas:

- Pulpa
- Semilla
- Cascara

La calibración de espectrofometría es relevante para la obtención de resultados de calidad, para ello se procede a preparar las diferentes diluciones de los reactivos que participaran en la calibración del equipo y una vez conectado el espectrofotómetro en la computadora y tener listo el equipo para la calibración; se procede a realizar la curva estándar para DPPH.

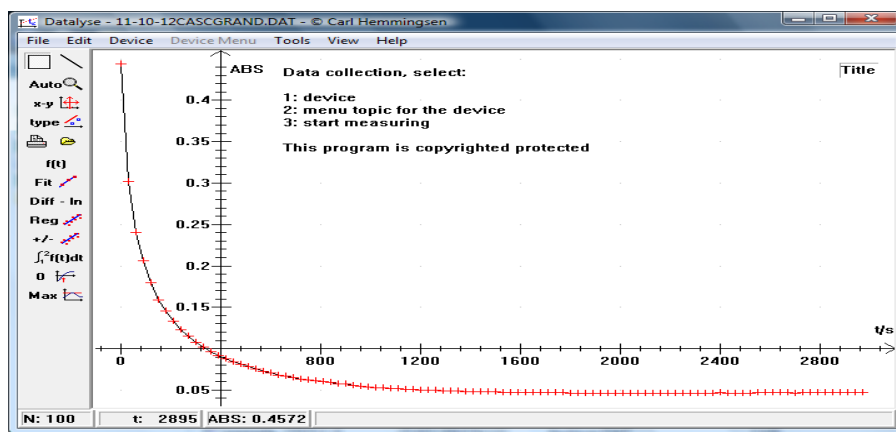


La curva de calibración se aplicó para determinar la degradación del DPPH por acción del antioxidante

3.11 Determinación de inhibición de radicales libres mediante el método DPPH.

- Un parámetro necesario a considerar es el tiempo. En cada muestra se utilizó 2 ml. DPPH y 15 minutos.
- Utilizando las cubetas como soporte de la muestra se consigue determinar el poder de inhibición del extracto de la fruta, a través del espectrofotómetro.
- Se observa en la gráfica la curva de detección de actividad antioxidante es decir el absorbancia vs el tiempo.

Grafica1: Gráfica estabilizada



3.12 Determinación de inhibición de radicales libres mediante el método DPPH.

$$\%Inhibición = \left(\frac{abs_i - abs_f}{abs_i} \right) \times 100$$

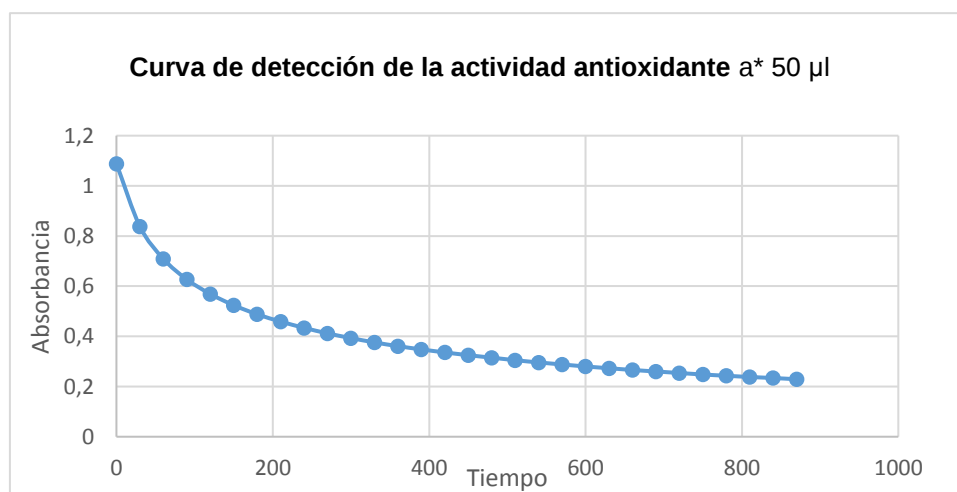
Muestra *a (50 µl) de DPPH

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f)/abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,088 - 0,229)/1.088] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 78,95220588 \% \text{ ver anexo C1- 1}$$

* Identificación de muestras
a= pulpa agua destilada
b= pulpa en alcohol
c=pulpa en metanol(muestra vieja)
d= pulpa en metanol (nueva)
e=pepa en alcohol
f=cascara en alcohol



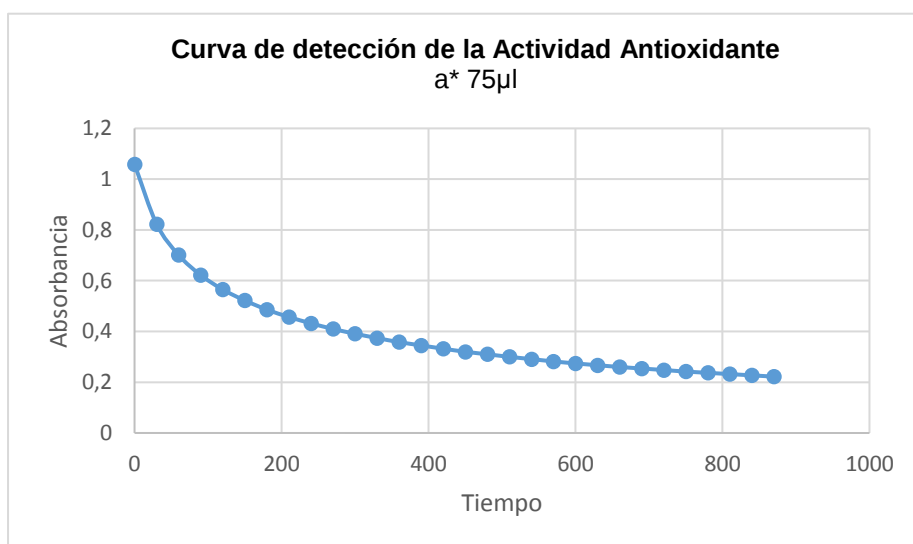
Grafica 2 Curva de detección de la Actividad Antioxidante a* 50 µl

Muestra *a (75 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f)/abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,058 - 0,222)/ 1,058] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 79,01701323\% \text{ ver anexo C1- 1}$$



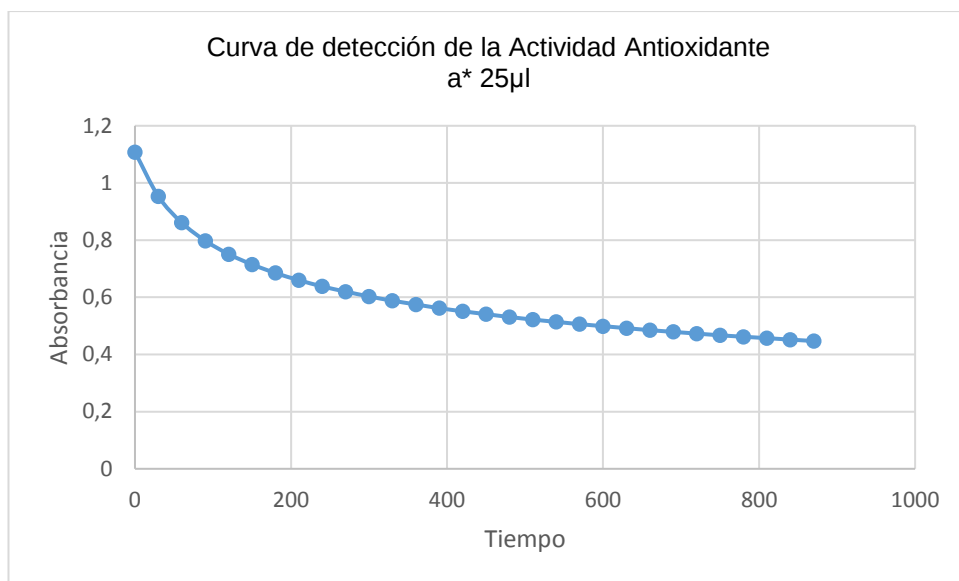
Grafica 3 Curva de detección de la Actividad Antioxidante a* 75µl

Muestra *a (25 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f)/abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,108 - 0,447)/ 1,108] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 59,6570397 \% \text{ ver anexo C1- 1}$$



Grafica 4 Curva de detección de la Actividad Antioxidante a* 25µl

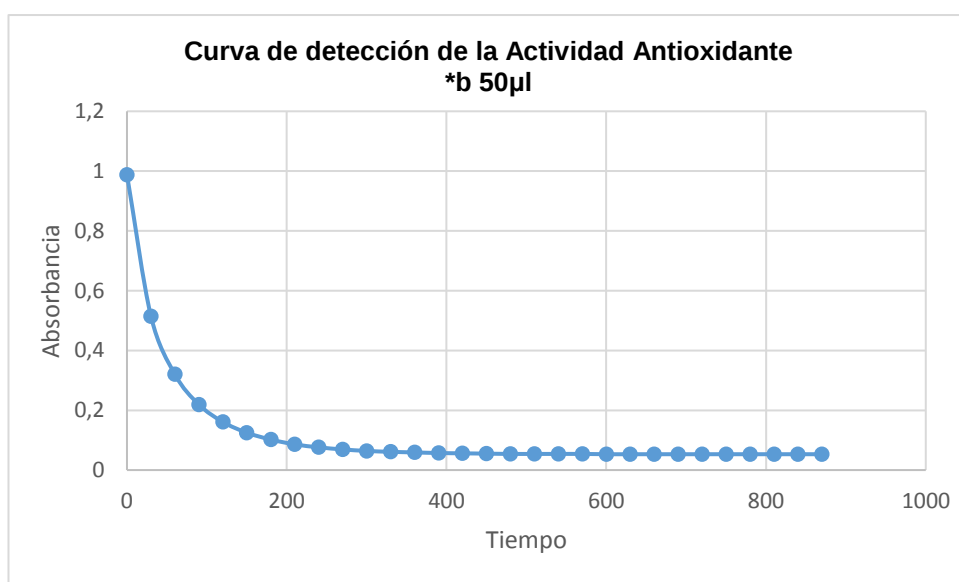
Considerando la muestra (a) con varios µl de DPPH dio un alto poder de inhibición del 79,01701323% para la corrida con 75 µl. Ver anexo 2: C1-1

Muestra *b (50 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f)/abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(0,987-0,053)/0,987] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 94,6301925 \% \text{ ver anexo 2: C1- 2}$$



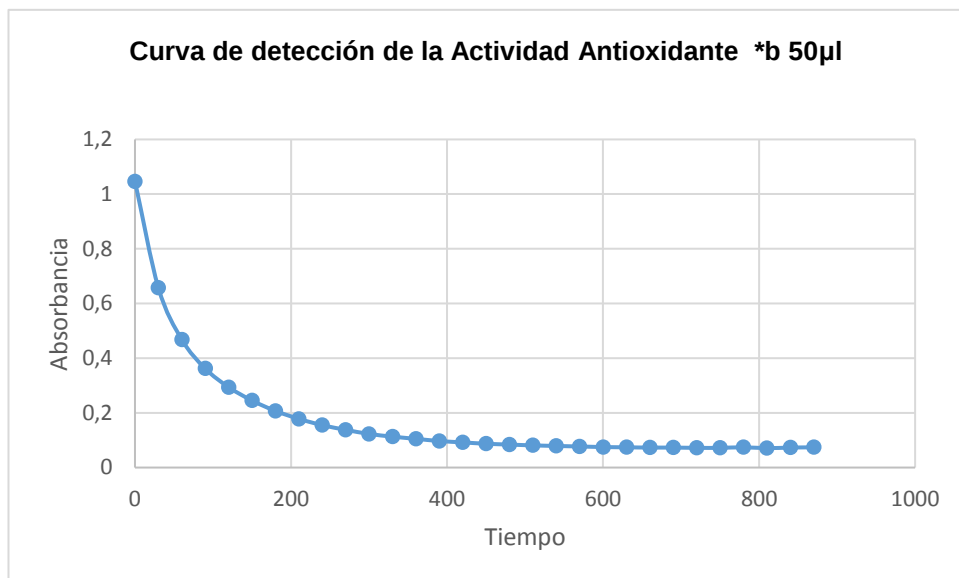
Grafica 5 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *b 50µl

Muestra *b (25 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f)/abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,046-0,074)/ 1,046] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 92,9254302 \% \text{ ver anexo 2: C1- 2}$$



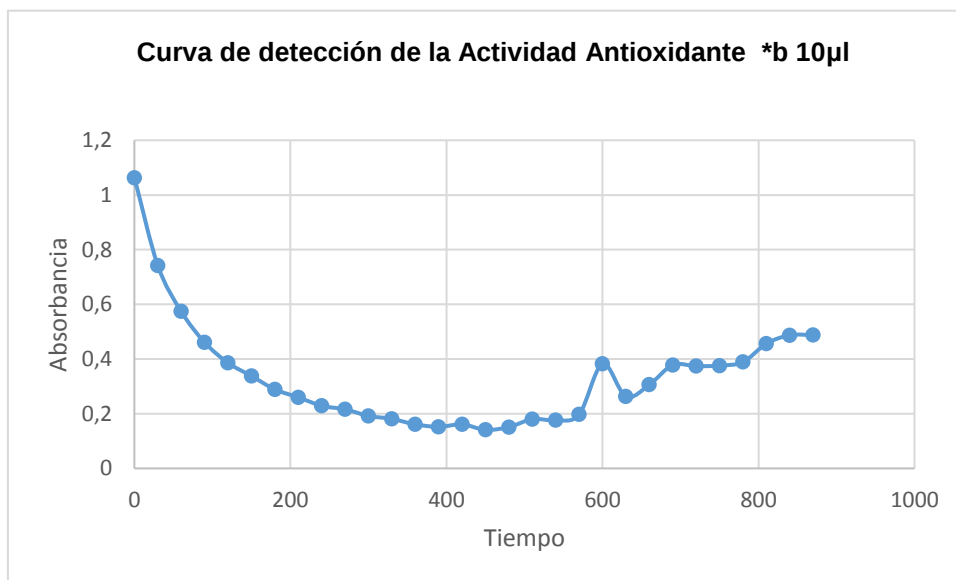
Grafica 6 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *b 50µl

Muestra *b (10 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f)/abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,063 - 0,488)/ 1,063] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 54,0921919 \% \text{ ver anexo 2: C1- 2}$$



Grafica 7 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *b 50µl

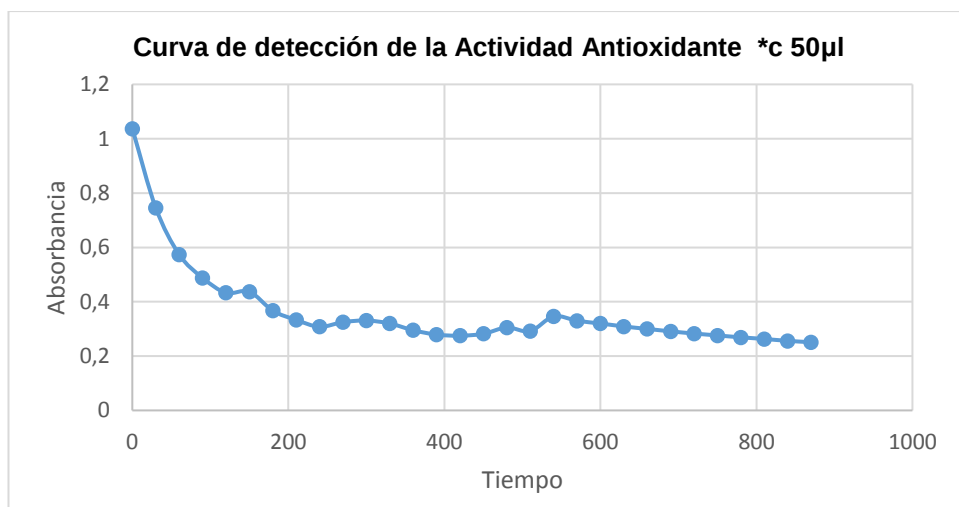
En las corridas realizadas con la muestra (b) la que mostró mayor porcentaje de inhibición es la de 50 µl con un % de 94,6301925. Ver anexo 2: C1- 2

Muestra *c (50 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,037 - 0,251) / 1,037] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 75,7955641 \% \text{ ver anexo 2: C1- 3}$$



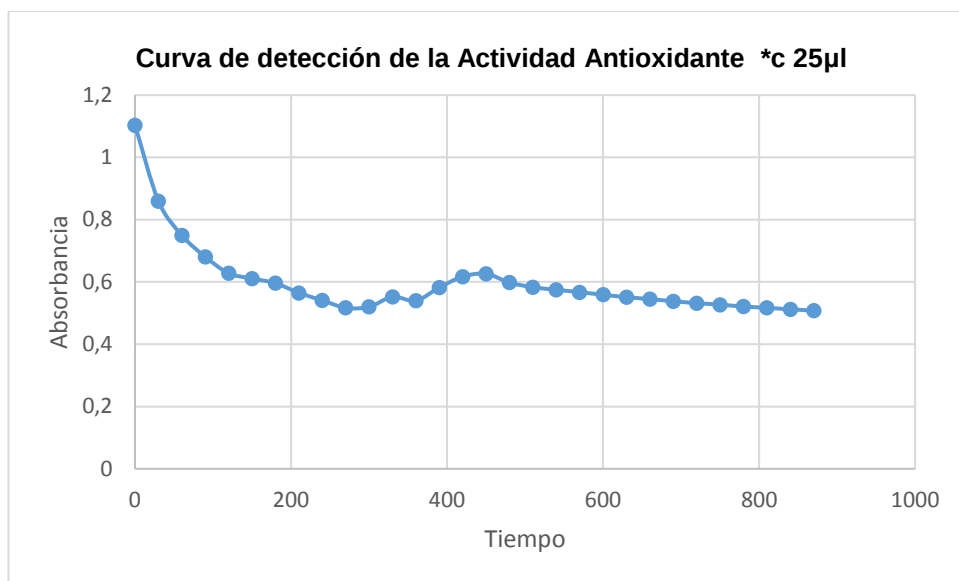
Grafica 8 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *c 50µl

Muestra *c (25 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,103 - 0,508) / 1,103] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 53,9437897 \% \text{ ver anexo 2: C1- 3}$$



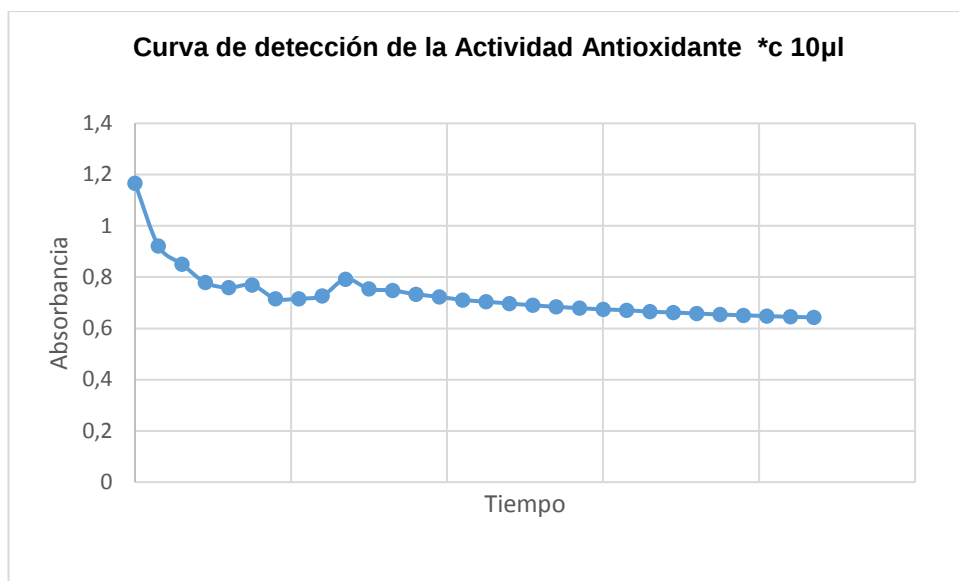
Grafica 9 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *c 25µl

Muestra *c (10 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,166 - 0,643) / 1,166] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 44,8542024 \% \text{ ver anexo 2: C1- 2}$$



Grafica 10 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *c 10µl

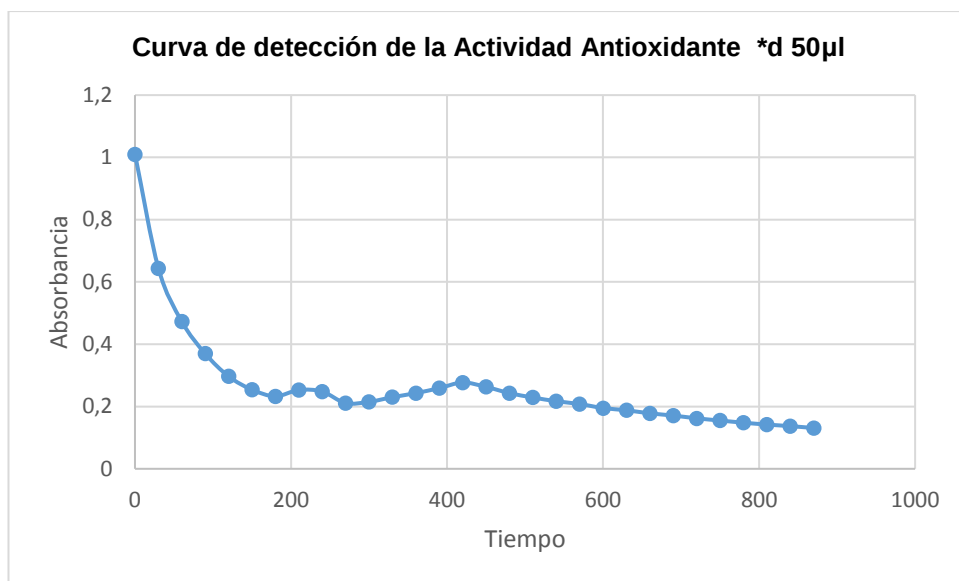
En la muestra (c) se observa que la corrida realizada con 50 µl. Da un % de 75,7955641. Ver anexo 2: C1- 3

Muestra *d (50 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f)/abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,01 - 0,131)/ 1,01] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 87,029703 \% \text{ ver anexo 2: C1- 4}$$



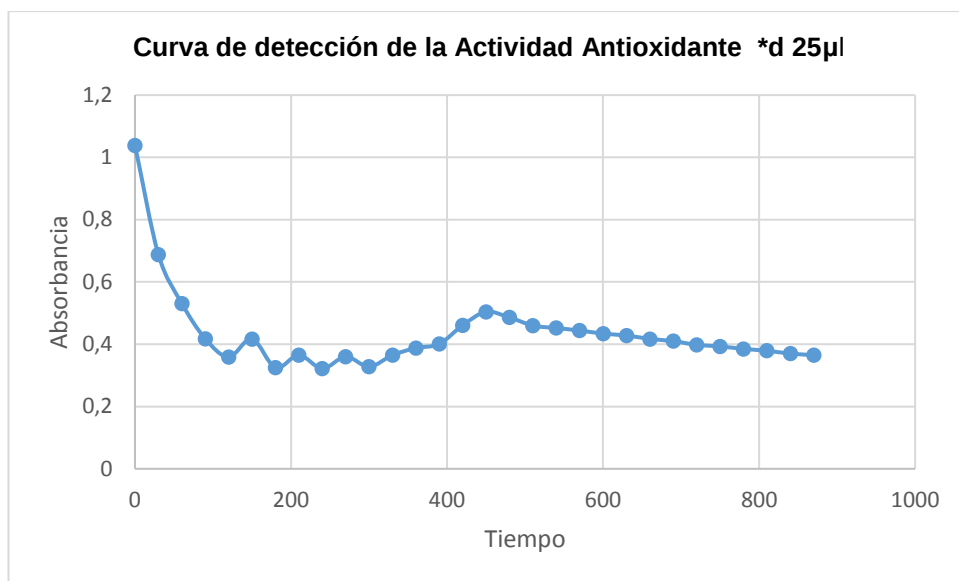
Grafica 11 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *d 50µl

Muestra *d (25 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,038 - 0,365) / 1,038] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 64,8362235 \% \text{ ver anexo 2: C1- 4}$$



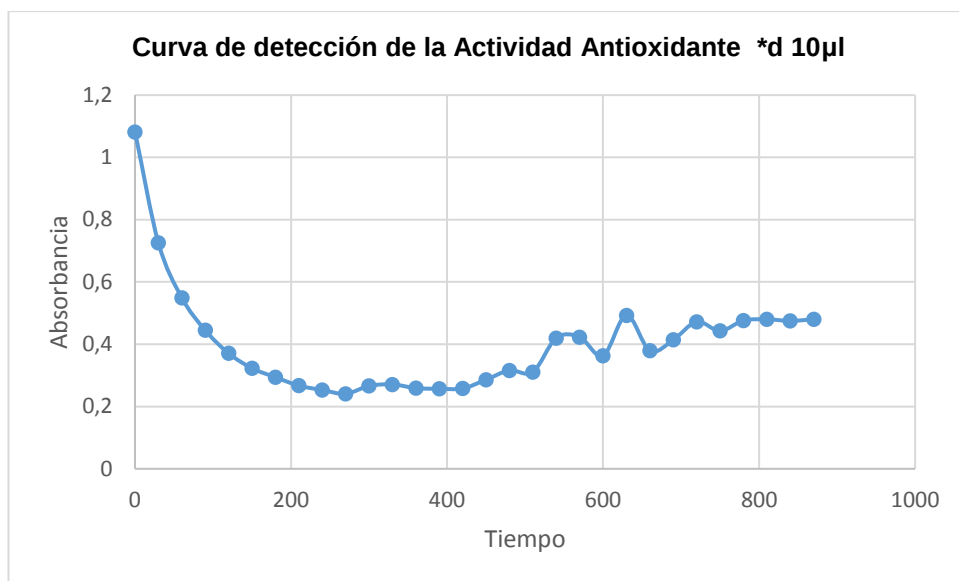
Grafica 12 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *d 25µl

Muestra *d (10 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_r) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,082 - 0,48) / 1,082] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 55.6377079 \% \text{ ver anexo 2: C1- 4}$$



Grafica 13 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *d 10µl

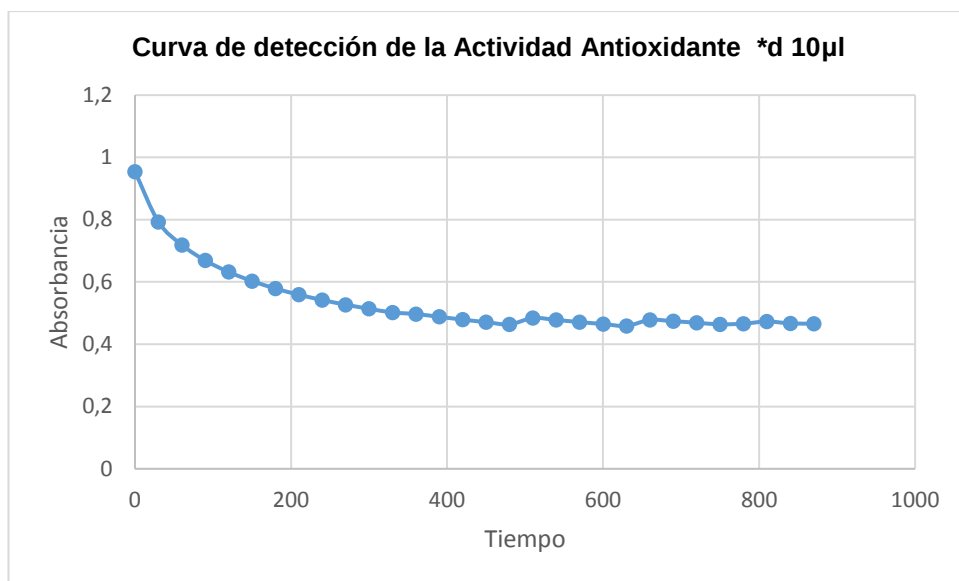
Para la muestra (d) se considera que la realizada con 50 µl. Fue la de mejor rendimiento de inhibición porque dio un 87,029703 %. Ver anexo 2: C1- 2

Muestra *e (50 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(0,954 - 0,466) / 0,954] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 51,1530398 \%$$



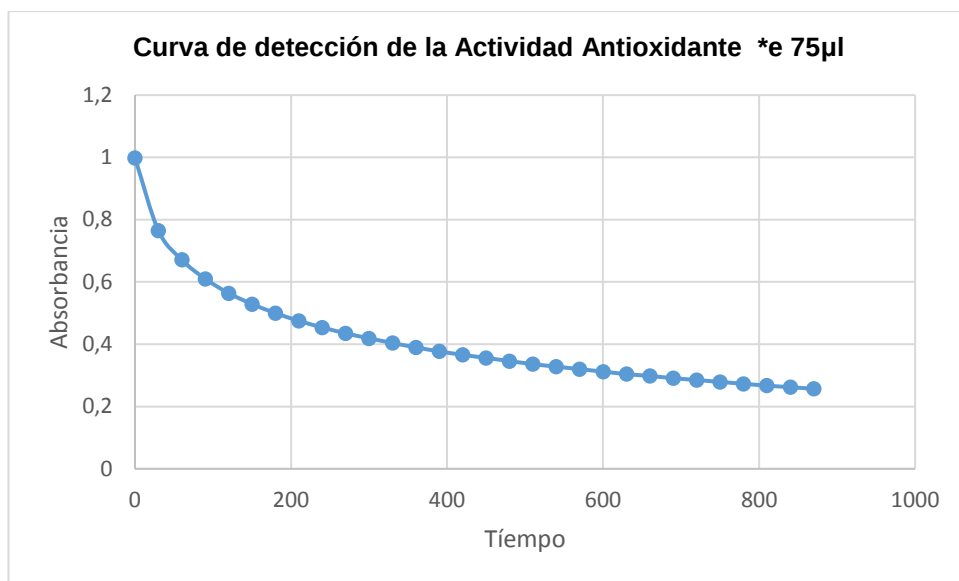
Grafica 14 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *d 10µl

Muestra *e (75 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(0,998 - 0,257) / 0,998] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 74,248497\% \text{ ver anexo 2: C1- 5}$$



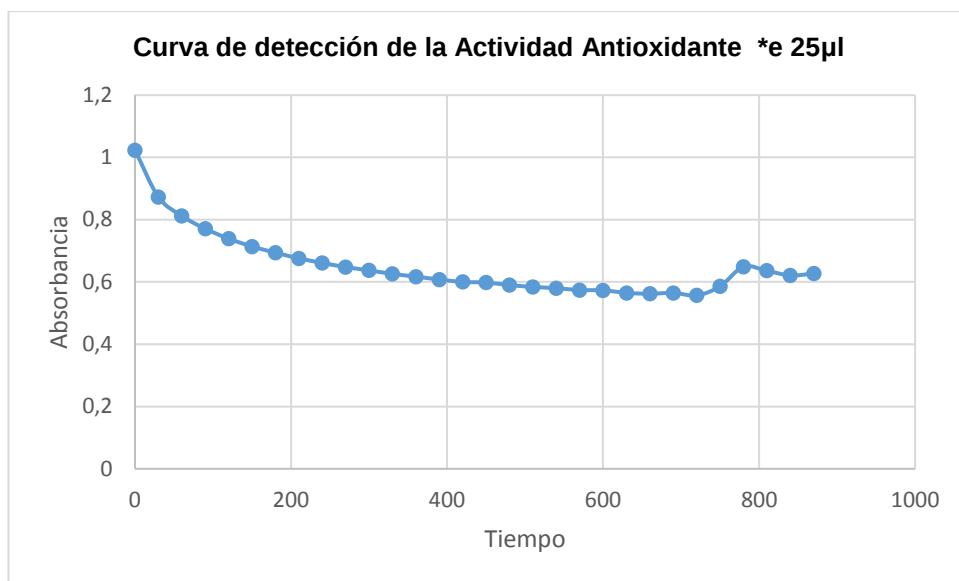
Grafica 15 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *e 75µl

Muestra *e (25 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,023 - 0,627) / 1,023] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 38,7096774 \% \text{ ver anexo 2: C1- 5}$$



Grafica 16 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *e 25µl

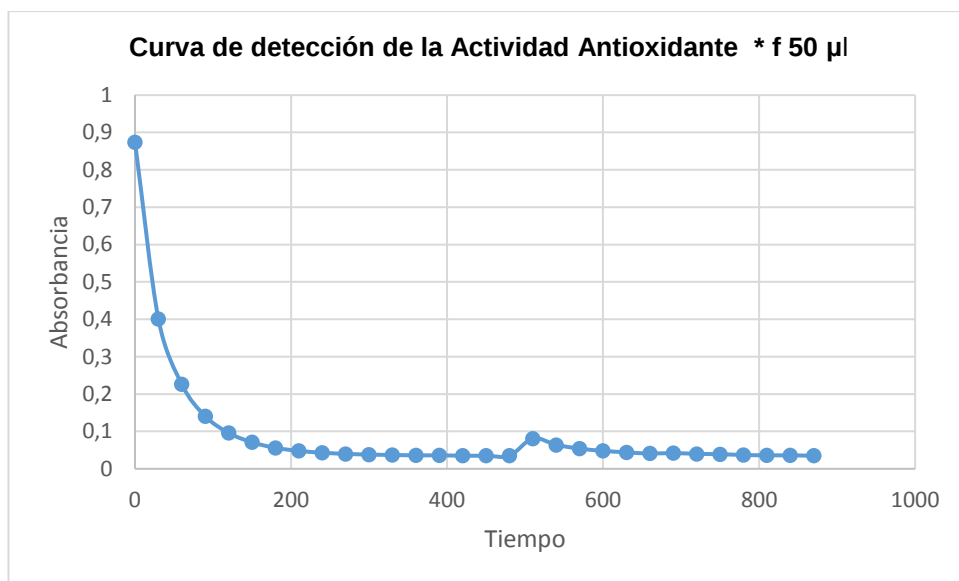
Para la muestra (e) se considera que la realizada con 75 µl. Fue la de mejor rendimiento de inhibición porque dio un 74,248497% ver anexo 2: C1- 5

Muestra *f (50 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f)/abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(0,874 - 0,035)/ 0,874] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 95,9954233 \% \text{ ver anexo 2: C1- 6}$$



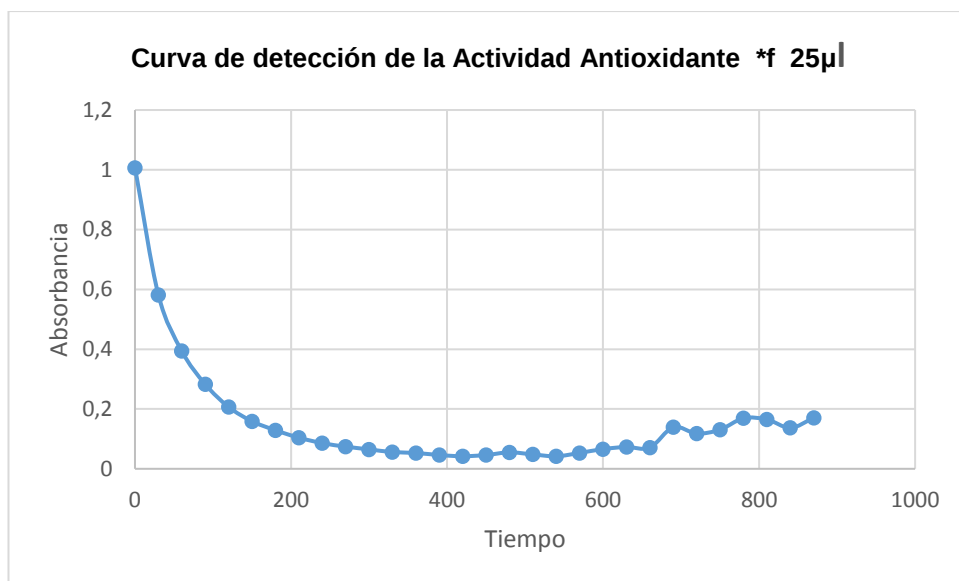
Grafica 17 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *f 50µl

Muestra *f (25 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(1,007 - 0,17) / 1,007] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 83,1181728 \% \text{ ver anexo 2: C1- 6}$$



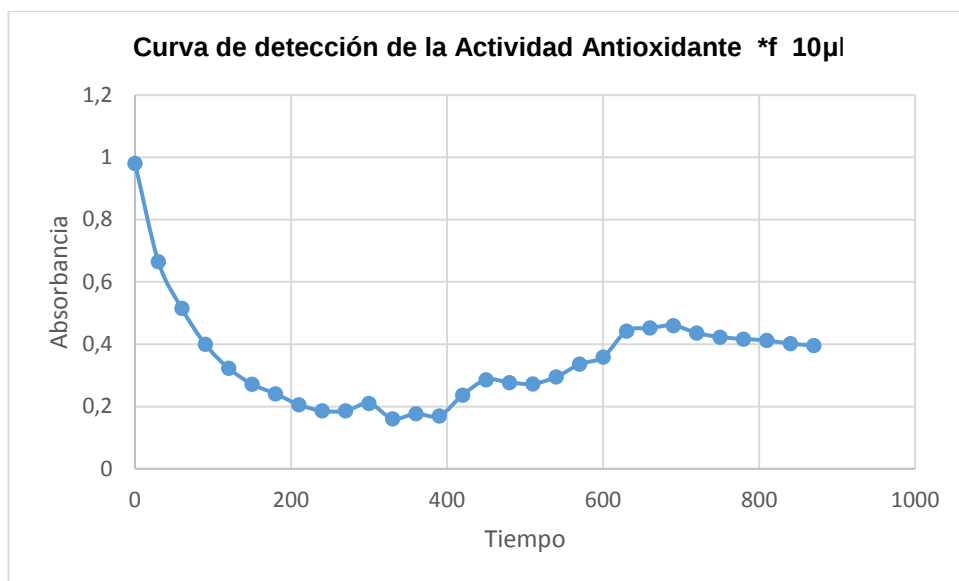
Grafica 18 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *f 25µl

Muestra *f (10 µl)

$$\% \text{ Inhibición} = [(abs_i - abs_f) / abs_i] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = [(0,981 - 0,396) / 0,981] * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 59,6330275 \% \text{ ver anexo 2: C1- 6}$$



Grafica 19 Curva de detección de la Actividad Antioxidante *f 10µl

Para la muestra (f) la de mayor rendimiento en porcentaje de inhibición es la de 50 µl y 95,9954233 %. Ver anexo 2: C1- 6

3.13 Obtención de aceite de semilla de la *Synsepalum dulcificum*

La muestra debe ser previamente secada y triturada. Ver anexo C5

El equipo utilizado es el Soxhlet, se empleó 11.5 g de semilla de *Synsepalum dulcificum*, con 150 ml de alcohol isopropílico. La extracción tardó 45 min.

Se obtiene aceite con alcohol isopropílico, cuya mezcla requiere ser filtrada y sometida a destilación al vacío en el equipo de rota vapor, a una temperatura de 83°C, a 70rpm y presión de 0.5 bares. Se obtiene aceite con rendimiento de 9.5% (ver anexo III figuras de rota vapor) y anexo C7

3.14 Obtención de muestra oleosa a partir de la pulpa y cascara de la *Synsepalum dulcificum*

Por proceso de extracción en la pulpa y cascara se obtuvo una muestra oleosa. Para ello, se trabajó con 7.6 g de pulpa y cascara previo secado y triturado. Ver anexo C6. Se utilizó el equipo Soxhlet para la extracción con solvente alcohol isopropílico, tardando 45 min y filtrar la mezcla para luego realizar destilación al vacío en el equipo de rotavapor con alcohol isopropílico a una temperatura de 83°C, a 70 rpm, a presión de trabajo de 0.5 bares. Ver anexo C8.9. El producto final tiene un rendimiento de 0,4% (ver anexo III figuras de rotavapor).

3.15 Procedimientos para llevar a cabo la evaluación sensorial

Se consideró la evaluación sensorial debido a que los panelistas son personas no entrenadas. Se realizó con 20 panelistas estudiantes de la Facultad de Ingeniería Química), los cuales evaluaron las características de la fruta en base a las siguientes consideraciones Ver anexo D1

1. La escala de medición que se utiliza análisis de características. (olor, sabor, textura, color).
2. Para esto se elaboró el instrumento (encuesta) que permita recolectar los datos para el informe final
 - Adecuación del área de degustación
 - Breve capacitación de los panelistas sobre cómo llenar la encuesta
 - Tabulación y análisis de los datos recolectados. Ver anexo D2

3.16 Balance de materia de los extractos



* Identificación de muestras
a= pulpa agua destilada
b= pulpa en alcohol
c=pulpa en metanol(muestra vieja)
d= pulpa en metanol (nueva)
e=pepa en alcohol
f=cascara en alcohol

Para cada uno de los extractos no entraron la misma cantidad de muestra:

$$E = S$$

Extracto con muestra con alcohol: a*

Muestra (pulpa) + H₂O+ Peso del Frasco = Peso total

$$2.5g + 25 g + 38 g = 65.5 g$$

$$65 g = 65 g$$

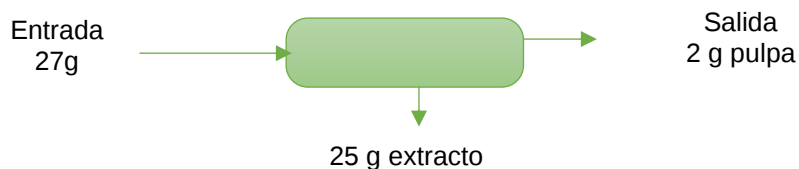
Peso del frasco – Peso total = Peso muestra

$$38 g - 65.5 = 27.5 g$$

Se realizó una decantación muestra:

$$27.5 - 0.5 = 27g$$

Se filtra el extracto



Extracto con muestra con alcohol: b*

Muestra (pulpa) +alcohol + Peso del Frasco = Peso total

$$2.5g + 25 g + 38 g = 65.5 g$$

$$65 g = 65 g$$

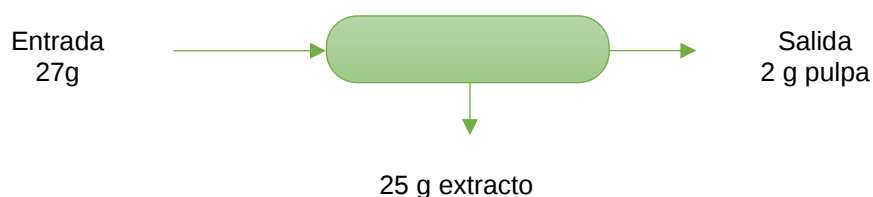
Peso del frasco – Peso total = Peso muestra

$$38 g - 65.5 = 27.5 g$$

Se realizó una decantación muestra:

$$27.5 - 0.5 = 27g$$

Se filtra el extracto



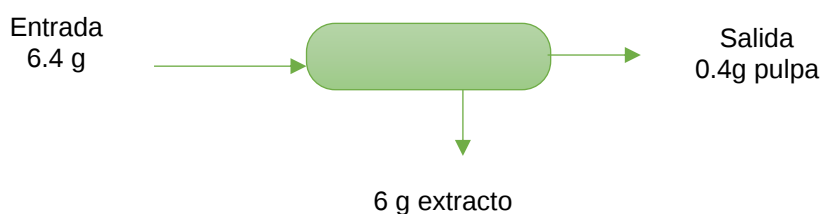
Extracto con muestra con metanol: c*

$$\text{Muestra (pulpa)} + \text{metanol} + \text{Peso del Frasco} = \text{Peso total} \quad 0.8 \text{ g} + 8 \text{ g} + 38 \text{ g} = 46.8 \text{ g}$$
$$46.8 \text{ g} = 46.8 \text{ g}$$

$$\text{Peso del frasco} - \text{Peso total} = \text{Peso muestra} \quad 38 \text{ g} - 46.8 = 8.8 \text{ g}$$

$$\text{Se realizó una decantación muestra:} \quad 8.8 \text{ g} - 2.4 \text{ g} = 6.4 \text{ g}$$

Se filtra el extracto



Extracto con muestra con alcohol: e*

$$\text{Muestra (semilla)} + \text{alcohol} + \text{peso del frasco} = \text{peso total} \quad 5 \text{ g} + 50 \text{ g} + 194 \text{ g} = 249 \text{ g}$$
$$249 \text{ g} = 249 \text{ g}$$

$$\text{Peso del frasco} - \text{peso total} = \text{peso muestra} \quad 194 \text{ g} - 249 \text{ g} = 55 \text{ g}$$

$$\text{Se realizó una decantación muestra:} \quad 55 \text{ g} - 5 \text{ g} = 50 \text{ g}$$

Se filtra el extracto



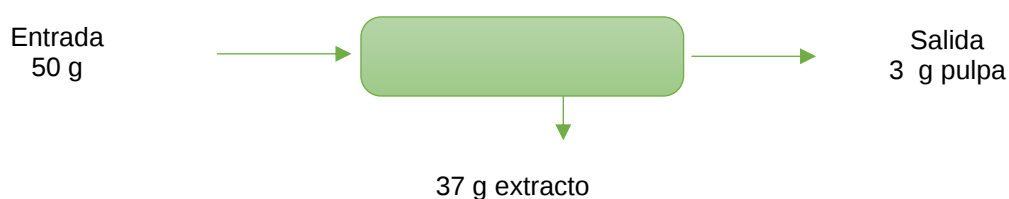
Extracto con muestra con alcohol: d*

Muestra (cascara) + alcohol + Peso del Frasco = Peso total $5\text{ g} + 50\text{ g} + 194\text{ g} = 249\text{ g}$
 $249\text{ g} = 249\text{ g}$

Peso del frasco – Peso total = Peso muestra $194\text{ g} - 249\text{ g} = 55\text{ g}$

Se realizó una decantación muestra: $55\text{ g} - 5\text{ g} = 50\text{ g}$

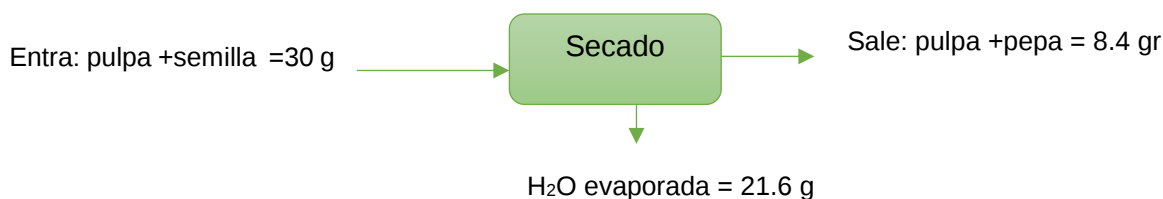
Se filtra el extracto



3.17 Balance para la obtención de aceite de semilla de *Synsepalum dulcificum*

Para la realizar la extracción de aceite primero se debe tener materia prima seca para lo cual procedemos a un proceso de secado durante un periodo de 24 horas a una temperatura de 58°C tomamos dos tipos de muestras:

1 muestra: pulpa +semilla



Peso inicial de la (muestra #1) = Peso final de la (muestra #1) + Peso de agua evaporada

$$30\text{ g} = 8.4\text{ g} + 21.6\text{ g}$$

$$30\text{g} = 30\text{g}$$

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{Peso inicial semilla} - \text{Peso final semilla seca}}{\text{Peso inicial semilla}} \times 100$$

$$\% \text{Humedad} = \frac{30g - 8.4g}{30g} \times 100$$

$$\% \text{Humedad} = 72 \%$$

Cálculo de la cantidad de agua muestra # 1

$$P_{H_2O} = P_{\text{semilla}} \times \frac{\% \text{Humedad}}{100}$$

Donde:

P_{H_2O} = peso de agua antes del proceso de secado.

$P_{\text{muestra \# 1}}$ = peso inicial de la muestra # 1 (pulpa y pepa).

Resolución:

$$P_{H_2O} = 30 \text{ g} \times \frac{72}{100}$$

$$P_{H_2O} = 21.6 \text{ g}$$

Cálculo de la humedad en base seca

$$X_{bs} = \frac{P_{H_2O}}{P_{\text{sólido seco}}}$$

Donde:

X_{bs} : humedad en base seca

P_{H_2O} : Peso del agua en el sólido

$P_{\text{sólido seco}}$: Peso del sólido seco

$$X_{bs} = \frac{21.6g}{8.4g}$$

$$X_{bs} = 2.5\%$$

Muestra # 2 (pulpa + cascara + semilla)



Peso inicial de la (muestra #1) = Peso final de la (muestra #1) + Peso de agua evaporada

$$51.1 \text{ g} = 12.2 \text{ g} + 38.9 \text{ g}$$

$$51.1 \text{ g} = 51.1 \text{ g}$$

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{Peso inicial semilla} - \text{Peso final semilla seca}}{\text{Peso inicial semilla}} \times 100$$

$$\% \text{Humedad} = \frac{51.1 \text{ g} - 12.2 \text{ g}}{51.1 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{Humedad} = 76.12 \%$$

Cálculo de la cantidad de agua muestra # 1

$$P_{H_2O} = P_{\text{semilla}} \times \frac{\% \text{Humedad}}{100}$$

Donde:

P_{H_2O} = peso de agua antes del proceso de secado.

$P_{\text{muestra \# 1}}$ = peso inicial de la muestra # 1 (pulpa y pepa).

Resolución:

$$P_{H_2O} = 51.1 \text{ g} * \frac{76.12}{100}$$

$$P_{H_2O} = 38.9 \text{ g}$$

Cálculo de la humedad en base seca

$$X_{bs} = \frac{P_{H_2O}}{P_{\text{sólido seco}}}$$

Donde:

X_{bs}: humedad en base seca

P_{H₂O}: Peso del agua en el sólido

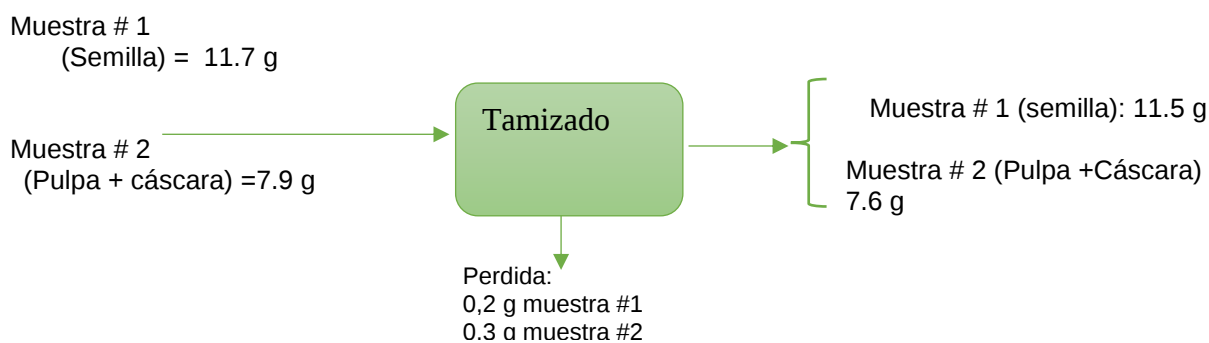
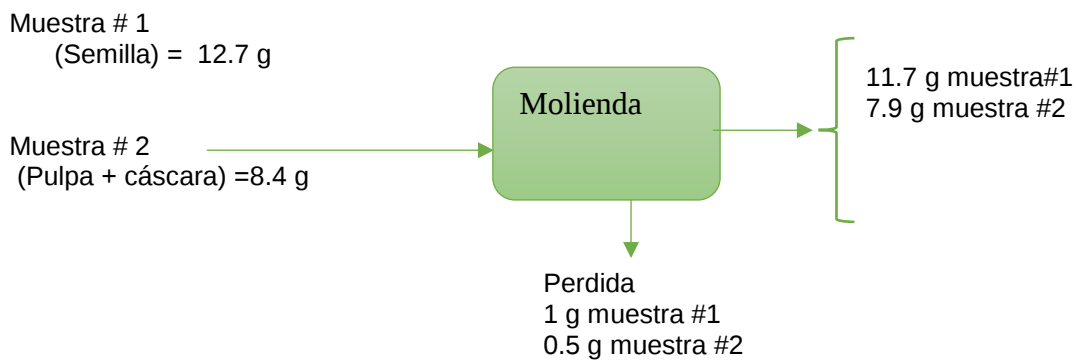
P_{sólido seco}: Peso del sólido seco

$$X_{bs} = \frac{38.9 \text{ g}}{12.2 \text{ g}}$$

$$X_{bs} = 3.18\%$$

Una vez que tenemos nuestras muestras ya seca, procedemos a separar, una muestra de solo semilla, y otra de solo cascara + pulpa.

Después de un proceso de molienda y tamizado del total de la muestra lo que se obtuvo fue lo siguiente:



Se obtuvo 11.5 g de semilla con la cual se va hacer la obtención de aceite de semilla de *Synsepalum dulcificum*, en el cual veremos el rendimiento de aceite por gramo de semilla, para la obtención de este se realizó la extracción en el soxhlet y el rotavapor Heidolph a una presión de 0.5 bar 83 °C tiempo de 15 min cuyo solvente fue alcohol isopropílico: Ver anexo C9

$$\% \text{ Redimiento} = \frac{\text{Peso aceite obtenido}}{\text{Peso de muestra}} * 100$$

$$\% \text{ Redimiento} = \frac{1.1\text{g}}{11.5\text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = \mathbf{9,56\%}$$

Así mismo con la muestra que obtuvimos de pulpa y cascara 7.6 g se realizó la obtención de la muestra oleosa de la *Synsepalum dulcificum*, en el cual veremos el rendimiento que muestra oleosa por gramo de pulpa y cascara, para la obtención de este se realizó la extracción en el soxhlet y el rotavapor Heidolph a una presión de 0.5 bar 83 °C tiempo de 15 min cuyo solvente fue el alcohol isopropílico: Ver anexo C9

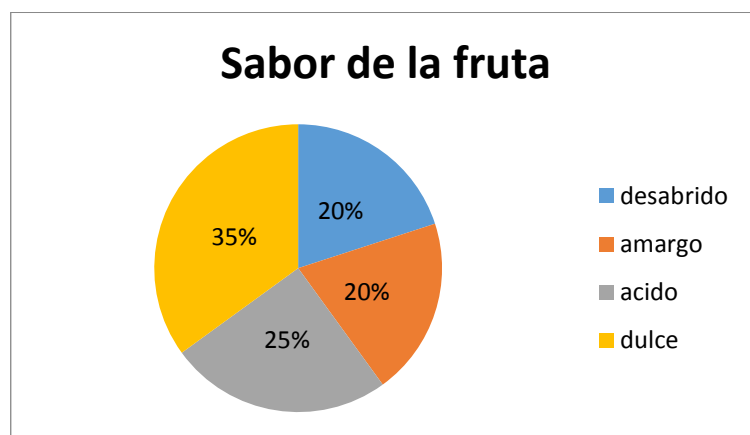
$$\% \text{ Redimiento} = \frac{\text{Peso aceite obtenido}}{\text{Peso de muestra}} * 100$$

$$\% \text{ Redimiento} = \frac{3\text{ g}}{7.5\text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = \mathbf{0.4 \%}$$

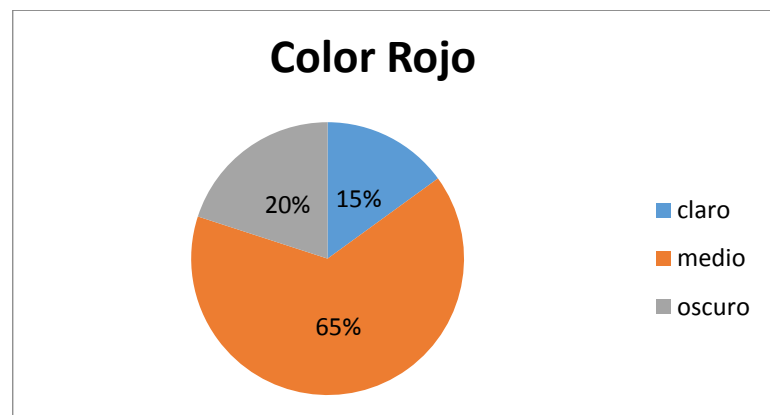
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS PARÁMETROS DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL

Sabor de la fruta milagrosa:



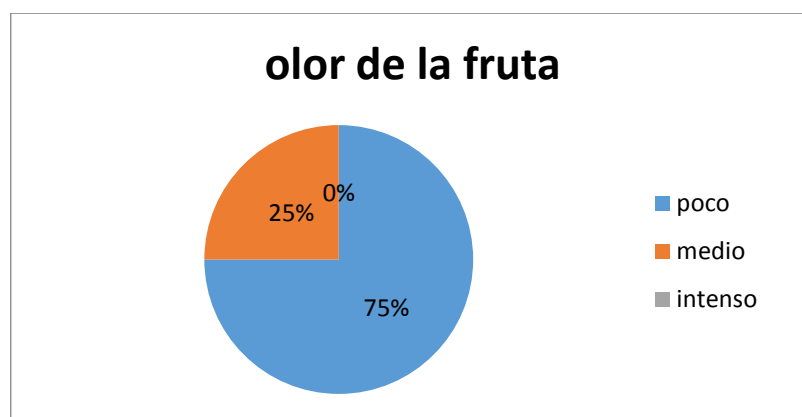
Esta encuesta se desarrolló con 20 panelistas se evaluó el sabor de la fruta un 35 % de los encuestados considero que la fruta tiene un sabor dulce por sí sola, mientras que un 25 % la considero ácida. Ver anexo D1 y D2

Evaluación de color de la fruta rojo:



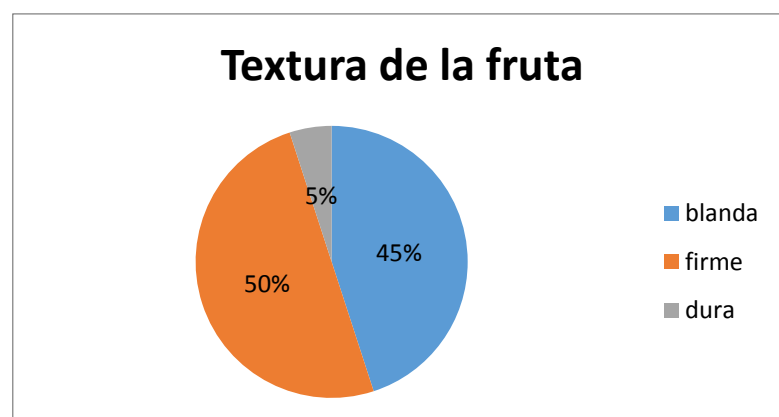
La fruta tiene un color rojo cuya tonalidad fue definida por nuestros evaluadores que consideraron que la tonalidad de la fruta era un rojo medio con un 65%

Evaluación de olor de la fruta:



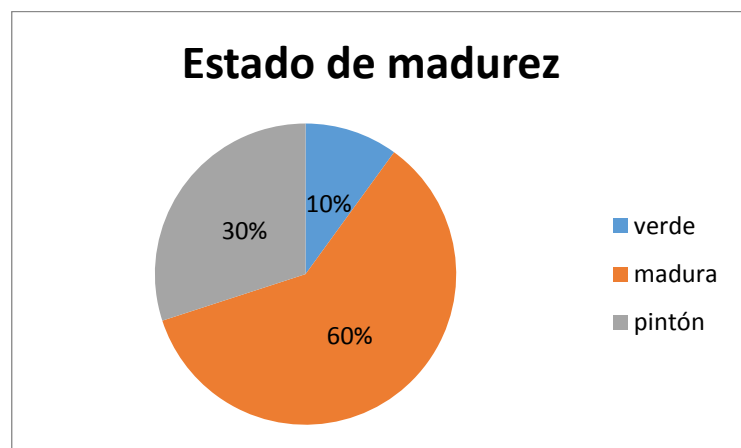
Olor el 75% de los evaluadores consideraron que la fruta no posee poco olor

Evaluación de textura de la fruta:



Textura de la fruta el 50% de los evaluadores considero que la fruta posee una textura firme.

Evaluación de estado de madurez de la fruta:



Considerada como una fruta cuyo estado de madurez era madura

RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS MEDIDOS EN LA FRUTA

Tabla 15 Resultados de parámetros medidos en la fruta, con diversas muestras.

pH de la fruta	2,8
°Brix de la fruta	10
Promedio de DPPH en extractos	69,12 %
% de colorimetría (Biuret)	0,285 %
Aceite de semilla	9,5% rendimiento
Muestra oleosa	0.4% rendimiento

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

CONCLUSIONES

1. Se observó una tonalidad tenue en todos los extractos usados para el análisis y cuyo resultado fue mejor con el disolvente metanol, dando un color con mayor firmeza, evidenciando así la presencia de glucoproteína – miraculina a través del método de la colorimetría.

2. Los parámetros analizados en la fruta Milagrosa *Synsepalum dulcificum* en cuanto al nivel de acidez es 4.0 y al ° Brix 10.8. El pH y los °Brix cambian dependiendo del disolvente con el que se trabaje ya sea agua, metanol, alcohol. El rango de pH varía entre 1.7 y 4.0.

Para los extractos se determinaron grados Brix entre 1 y 15, siendo 1.0 para el disolvente agua y 15 para el alcohol.

En la prueba de análisis organoléptica con la fruta madura se consideraron los parámetros: color, sabor, olor, textura y estado de madurez de la fruta. La mayor parte de las personas determinaron que el sabor de la fruta es dulce por si sola en estado de madurez, la coloración es un rojo medio, no posee olor, de textura firme.

3. El porcentaje de inhibición promedio en los extractos es de 69.12.

Entre la cáscara, la pulpa y la pepa, es la cáscara la que presenta un mayor porcentaje de inhibición con un 95.99 en 50 ul con alcohol, luego la pulpa con un porcentaje de 94.63 con alcohol en 50 Ul., no obstante la pepa presenta un porcentaje menor con 38,70 en el extracto con alcohol en 25 ul.

4. A partir de la cáscara de la fruta se logró obtener una muestra oleosa y con éxito la obtención del aceite a partir de la semilla a través de extracción sólido – líquido y destilación al vacío.

RECOMENDACIONES

1. Se considera mantener en congelación (-14 °C) la fruta para evitar la desnaturalización de la glicoproteína por ser una fruta termolábil y así aumentar la vida útil.
2. A partir de la obtención del aceite de la semilla se puede realizar otros análisis que permitan conocer propiedades y bondades de este.
3. El fruto podría ser deshidratado para mostrarla en presentación de bocado y aprovechar su propiedad antioxidante.
4. Se podría liofilizar la fruta, por ello se recomienda que para futuras investigaciones implementar un equipo de liofilización dentro de las instalaciones de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad de Guayaquil y por ende debe ser comprarlo por la institución.
5. A partir de los datos obtenidos en esta investigación se considera relevante que otros investigadores continúen con más pruebas que permita su aplicación a nivel industrial.

GLOSARIO

CM-Sepharosei.-Sephadex es una marca comercial de gel de dextrano reticulado utilizado para la filtración en gel. Se fabrica normalmente en una forma de perlas y más comúnmente utilizado para las columnas de filtración en gel. Variando el grado de reticulación, las propiedades de fraccionamiento del gel pueden ser alterados. Estos filtración en gel altamente especializado y medios cromatográficos están compuestas de perlas macroscópicas sintéticamente derivados de polisacárido, dextrano.

MEOH.-Es la abreviatura de un compuesto químico llamado metanol o alcohol etílico.

Termolábil.- sustancia que se descompone o se desnaturaliza por el calor, perdiendo, generalmente, su actividad.

Salmina.- Proteína sencilla que se encuentra en el esperma del salmón.

REFERENCIAS

- Alibaba. (s.f.). *Alibaba* . Obtenido de <http://spanish.alibaba.com/product-gs/gmp-manufacturer-miracle-fruit-extract-10-1-synsepalum-dulcificum-extract-50-polysaccharides-synsepalum-dulcificum-60450526257.html>
- Ayako , k., Tsuchiyaa, A., Ken-ichiro, N., Keisuke , I., Tohru , T., Akiko , S.-I., . . . Keiko , A. (s.f.). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* . Obtenido de <http://www.pnas.org/content/108/40/16819#aff-1>
- Biotechnology, P. b. (10 de septiembre de 2011). *nature.com*. Obtenido de http://blogs.nature.com/news/2011/09/miracle_fruit_surrenders_its_s.html
- Centre, W. C. (2013). 'Synsepalum glycydora. *Lista Roja de especies amenazadas de la UICN 2010*.
- Chen, C. Y. (7 de Julio de 2010). Chemical constituents from the leaves of Synsepalum dulcificum. *Spring Link*, 46(3), 495. doi:10.1007/s10600-010-9658-6
- Connecticut , University. (2016). Ecology & Evolutionary Biology Biodiversity Education & Research Greenhouses. *CONNECTICUT, UNIVERSITY OF* , 1-2. Obtenido de <http://florawww.eeb.uconn.edu/199900066.html>

didacti, i. (2016). *id didacti.com* . Obtenido de <http://www.ld-didactic.de/software/524221es/Content/ExperimentExamples/Chemistry/InorganicChemistry/pHFoodstuff.htm>

Domingo, G. S. (03 de 05 de 2016). Obtenido de <http://www.santodomingo.gob.ec/index.php/la-ciudad/situacion.html>

Echeverria, G., Graell, J., Lopez , L., & Lara , I. (6 de 7 de 2008). La calidad Organoléptica de la fruta. *Hornicultura Internacional*, 26-36. Obtenido de <http://www.horticom.com/pd/imagenes/69/363/69363.pdf>

ELOY L. MANDRILE*, G. M. (sep de 2014). *Asociación Cultural y la educación digital* . Obtenido de <http://www.acuedi.org/doc/6852/endulzantes-de-origen-vegetal-itaumatina-monellina-miraculina-glicirricina-estevisido-y-hernandulcina.html>

Garden, F. T. (31 de Mayo de 2007). *Fairchild Tropical Botanic Garden* . Obtenido de <http://www.fairchildgarden.org/events-community-outreach/events-details/artmid/486/userid/1/articleid/502/bill-whitman-longtime-fruit-expert-and-supporter-of-fairchild-passes-away>

GBIF. (2016). *Global Biodiversity Information Facility* . Obtenido de <http://www.gbif.org/species/113602999>

- GBIF. org. (2016). *Global Biodiversity Information Facility*. Obtenido de
Global Biodiversity Information Facility:
http://www.gbif.org/occurrence/search?taxon_key=2886039&GEOREFERENCEDATASET_KEY.offset=10&offset=0
- GIMM. (2015). *quimiconet.com* . Obtenido de
<http://www.quimiconet.com/articulos/medicion-del-ph-en-la-industria-alimentaria-3814617.htm>
- Herbarium, V. (2003). *The William F. Whitman Tropical Fruit Pavilion*.
Obtenido de
<http://www.virtualherbarium.org/tropicalfruit/WhitmanFruitPavilion.html>
- Kurihara, Y. T. (1988). *NCBI-National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine*. Obtenido de
<http://www.jbc.org/content/263/23/11536.long>
- L. Cevallos, S. A. (27 de junio de 2007). ESTUDIO DE LA FRUTA MILAGROSA (*Synsepalum dulcificum* Daniell) COMO POSIBLE EDULCORANTE NATURA. Costa Rica , Limon , Las mercedes de Guácimo .
- Lim, T. (19 de noviembre de 2012). *Springer link* . (E. M. Plants, Ed.)
Obtenido de http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-007-5628-1_26
- Lixicoon. (2016). *Lixicoon* . Obtenido de <http://lexicoon.org/es/glicoproteina>

Logges. (2015). *Easy Growing Instructions for the Miracle Berry Plant Synsepalum dulcificum "Miracle Fruit"* . Obtenido de <https://www.logees.com/media/care/pdf/Synsepalum.pdf>

meditron ,Inc. (2016). Obtenido de http://www.espatentes.com/pdf/0390172_A1.pdf

NCBI. (2013). *The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information.* Obtenido de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=3743>

Nkwocha Chinelo C., 2. O. (april de 2014). *IOSR Journals International Organitation of Scientific Research.* Obtenido de IOSR Journals International Organitation of Scientific Research: <http://iosrjournals.org/iosr-jpbs/papers/Vol9-issue2/Version-5/E09252529.pdf>

No., N. d. (abril de 1992). *THE OLD SWEET LIME TRICK.* Obtenido de <http://www.quisqualis.com/mirfrtdmc1b.html>

nutricion, a. y. (2005). *alimentacion y nutricion* . Obtenido de http://www.alimentacionynutricion.org/es/index.php?mod=content_detail&id=99

PHYSORG. (27 de SEPTIEMBRE de 2011). Obtenido de <http://phys.org/news/2011-09-uncover-secrets-miracle-fruit.html>

- Plants, G. (25 de 02 de 2009). *Global Plants* . Obtenido de <http://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.specimen.ifan15277?searchUri=qtype%3Dall%26query%3DSynsepalum%2Bdulcificum>
- R.H, C. (6 de July de 1973). *US National Library of Medicine National Institutes of Health*. Obtenido de publiMed.gov : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4714290>
- rich, a. (2010). Obtenido de www.deepdyve.com/lp/elsevier/antioxidant-rich-phytochemicals-in-miracle-berry-synsepalum-dulcificum-xZkZG1exTK?articleList=%2Fsearch%3Fquery%3DSynsepalum%2Bdulcificum
- Rosales, A. R. (2006). *Universidad de las Palmas de Gran Canaria , España* . Obtenido de http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-3.pdf
- Trần Danh Thế, V. V. (mayo de 14 de 2010). BƯỚC ĐẦU TRỒNG THỬ NGHIỆM VÀ TÁCH CHIẾT HOẠT CHẤT MIRACULIN. *Science & Technology Development*, 13, 54-61. Recuperado el 6 de 5 de 2016, de <http://www.vjol.info/index.php/JSTD/article/view/2914/2868>
- Trees, P. F. (2014). Obtenido de <http://www.miraclefruit.info/>
- Tropicals, S. (2011). *Synsepalum dulcificum 'Miracle Fruit'*. Obtenido de <http://stokestropicals.plants.com/Synsepalum-dulcificum-Miracle-Fruit-P232.aspx>

Tropicals, T. (23 de enero de 2007). *Tropicals, Top*. Obtenido de Everyday

Miracle - Grow the Dream!:

https://toptropicals.com/html/toptropicals/plant_wk/synsepalum.htm

Van Atta, & Marian. (1991). Growing and Using Exotic Foods. *Pineapple Press*.

Whitman, W. (2015). How to Grow Your Miracle Fruit.

www.ld-didactic.de. (2016). *ld-didactic*. Obtenido de <http://www.ld-didactic.de/software/524221es/Content/ExperimentExamples/Chemistry/InorganicChemistry/pHFoodstuff.htm>

YUH, S. (s.f.). *SEN YUH*. Obtenido de <http://www.pcstore.com.tw/senyuh/M06446817.htm>

ANEXOS

Anexo: A1 planta y el fruto (*Synsepalum dulcificum*)



Fuente: Parcela Ubicada en la parte norte de la provincia del Guayas –

Durán

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo: A2 Recepción de materia prima



Fuente: Parcela Ubicada en la parte norte de la provincia del Guayas –

Durán

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo: A3

Preparación de materia prima



Fuente: Ecuaforestar

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Lavado



Fuente: Ecuaforestar

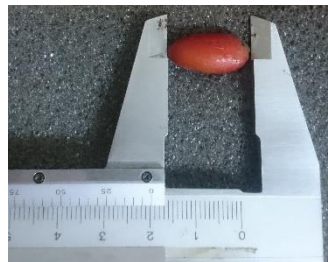
Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo: B1

Vernier



Medición de tamaño de la fruta



Color: Rojo

Peso: 0.9 --1.0 g

Mide: 2 cm

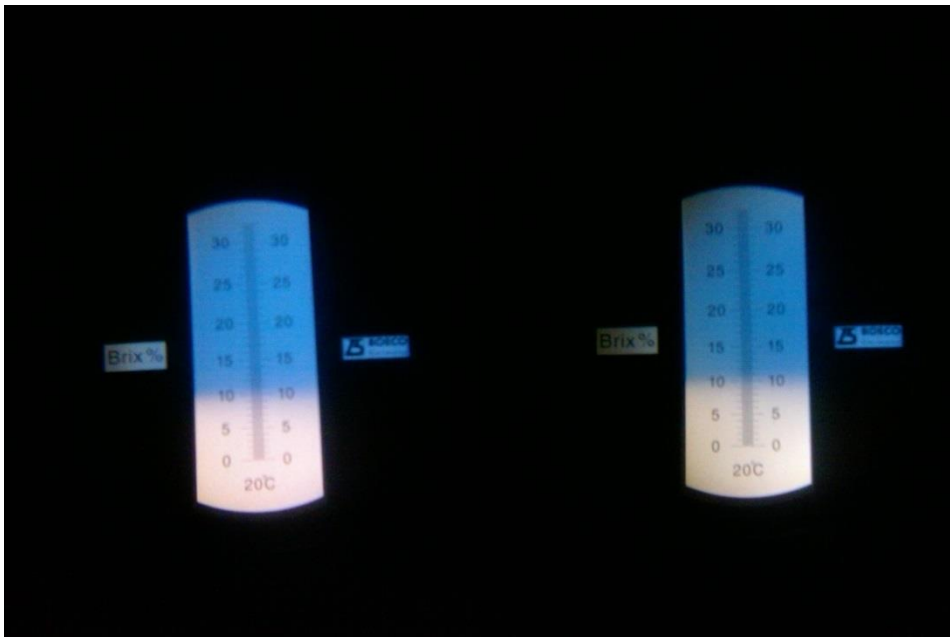
Fuente: Ecuaforestar- Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing.

Química Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo: B2

Medición de grados brix



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo: B3

Medición de pH



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo B4



Extractos (Agua, alcohol, metanol)

Pulpa, semilla y cascara

* Identificación de muestras
a= pulpa agua destilada
b= pulpa en alcohol
c=pulpa en metanol(muestra vieja)
d= pulpa en metanol (nueva)
e=pepa en alcohol
f=cascara en alcohol

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo B5

Análisis de Biuret

Micro pipetas



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Albumina Humana 20%



Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Reactivo de Biuret



Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

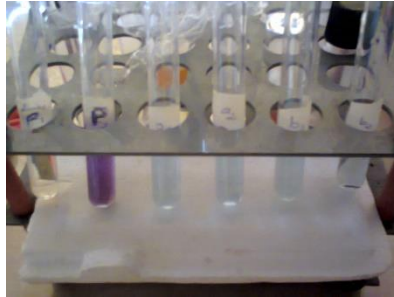
Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Anexo B6

Análisis de determinación de glucoproteína





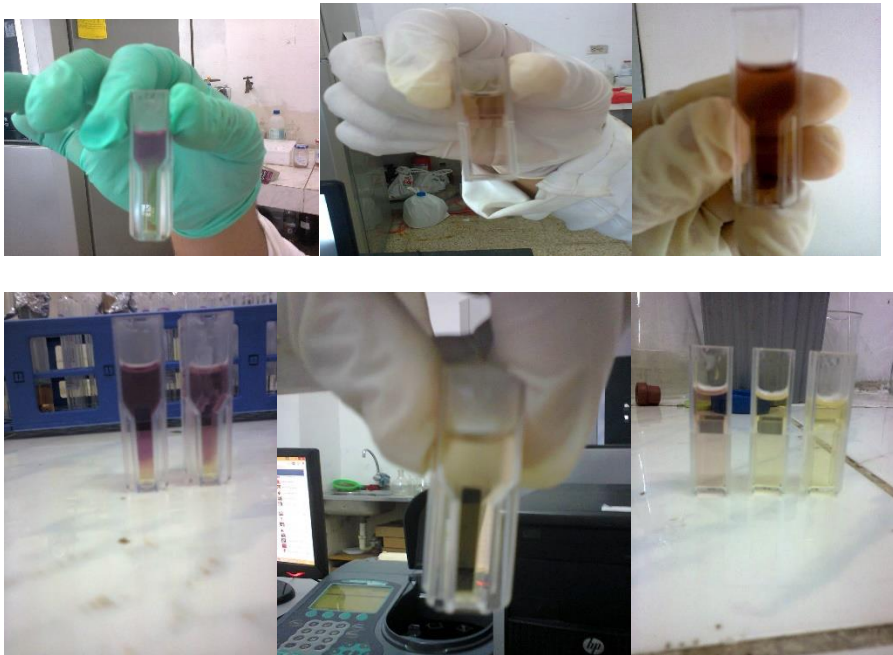
Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo B7

Análisis de DPPH en los extractos



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo 2: C1

TABLAS DE DATOS DEL DPPH

Muestra a* (pulpa en agua destilada 50ul)
%inhibición =78.95% ANEXO C1- 1

muestra:	(a) pulpa con agua destilada	
	volumen	50 µl
	t/s	ABS
1	0,053	1,088
2	30,054	0,838
3	60,054	0,709
4	90,054	0,627
5	120,055	0,569
6	150,052	0,524
7	180,055	0,488
8	210,055	0,459
9	240,054	0,434
10	270,054	0,412
11	300,054	0,393
12	330,054	0,376
13	360,054	0,361
14	390,054	0,348
15	420,052	0,336
16	450,054	0,325
17	480,054	0,315
18	510,055	0,305
19	540,054	0,296
20	570,055	0,288
21	600,055	0,28
22	630,055	0,273
23	660,053	0,266
24	690,053	0,26
25	720,053	0,254
26	750,053	0,248
27	780,054	0,243
28	810,052	0,238
29	840,055	0,234
30	870,053	0,229

Muestra a*(pulpa en destilada 75 ul)
% inhibición = 79.017% Anexo C1- 1

muestra:	(a) pulpa con agua destilada	
	volumen	75 µl
	t/s	ABS
1	0,058	1,058
2	30,058	0,823
3	60,054	0,701
4	90,056	0,622
5	120,057	0,565
6	150,055	0,522
7	180,055	0,486
8	210,057	0,457
9	240,058	0,432
10	270,054	0,41
11	300,055	0,391
12	330,056	0,374
13	360,059	0,358
14	390,055	0,345
15	420,056	0,332
16	450,058	0,32
17	480,056	0,31
18	510,054	0,3
19	540,055	0,291
20	570,054	0,282
21	600,055	0,274
22	630,056	0,267
23	660,058	0,26
24	690,056	0,254
25	720,059	0,248
26	750,058	0,242
27	780,055	0,237
28	810,057	0,232
29	840,056	0,227
30	870,055	0,222

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Muestra a* (pulpa en agua destilada 25 ul)
%inhibición =59.65 % ANEXO C1- 1

muestra:	(a) pulpa con agua destilada	
volumen	25µl	
	t/s	ABS
1	0,062	1,108
2	30,002	0,953
3	60	0,861
4	90,001	0,798
5	120,002	0,751
6	150,001	0,715
7	180,001	0,685
8	210,002	0,66
9	240,002	0,638
10	270,002	0,62
11	300	0,603
12	330,001	0,588
13	360	0,575
14	390,001	0,562
15	420	0,551
16	450	0,541
17	480,002	0,531
18	510,001	0,522
19	540,002	0,514
20	570,002	0,506
21	600,001	0,499
22	630,003	0,492
23	660,002	0,485
24	690,002	0,479
25	720,002	0,473
26	750,003	0,467
27	780,001	0,462
28	810,001	0,457
29	840,001	0,452
30	870	0,447

Muestra b* (pulpa en alcohol 50ul)
%inhibición=94.63% ANEXO C1- 2

muestra:	(b) pulpa con alcohol 90 %	
volumen	50 µl	
	t/s	ABS
1	0,061	0,987
2	30,062	0,514
3	60	0,32
4	90,06	0,219
5	120,063	0,161
6	150	0,125
7	180,063	0,102
8	210	0,086
9	240,062	0,076
10	270,06	0,069
11	300,063	0,064
12	330,063	0,061
13	360,062	0,059
14	390,061	0,057
15	420,001	0,056
16	450	0,055
17	480,063	0,054
18	510,062	0,054
19	540,001	0,054
20	570,062	0,054
21	600,063	0,053
22	630,061	0,053
23	660,001	0,053
24	690	0,053
25	720,061	0,053
26	750	0,053
27	780,062	0,053
28	810,062	0,053
29	840	0,053
30	870	0,053

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Nava

Muestra b* (pulpa en alcohol 25 ul)
%inhibición =92.92 % ANEXO C1- 2

muestra:	(b) pulpa con alcohol 90 %	
volumen	25µl	
	t/s	ABS
1	0,06	1,046
2	30,061	0,657
3	60,059	0,468
4	90,058	0,362
5	120,061	0,294
6	150,06	0,245
7	180,058	0,207
8	210,061	0,178
9	240,059	0,155
10	270,06	0,138
11	300,06	0,123
12	330,06	0,113
13	360,059	0,105
14	390,059	0,097
15	420,059	0,092
16	450,06	0,087
17	480,059	0,084
18	510,059	0,081
19	540,059	0,079
20	570,059	0,077
21	600,06	0,075
22	630,059	0,074
23	660,061	0,073
24	690,061	0,073
25	720,059	0,072
26	750,058	0,072
27	780,059	0,074
28	810,058	0,071
29	840,058	0,073
30	870,059	0,074

Muestra b* (pulpa en alcohol 10 ul)
%inhibición =54.091 % ANEXO C1- 2

muestra:	(b) pulpa con alcohol 90 %	
volumen	10µl	
	t/s	ABS
1	0,061	1,063
2	30,06	0,742
3	60,06	0,574
4	90,061	0,461
5	120,058	0,386
6	150,06	0,338
7	180,06	0,289
8	210,061	0,26
9	240,059	0,229
10	270,059	0,216
11	300,059	0,192
12	330,06	0,181
13	360,058	0,161
14	390,059	0,152
15	420,06	0,161
16	450,058	0,141
17	480,058	0,151
18	510,059	0,18
19	540,059	0,176
20	570,06	0,197
21	600,059	0,382
22	630,059	0,263
23	660,06	0,306
24	690,061	0,378
25	720,059	0,374
26	750,06	0,376
27	780,058	0,389
28	810,059	0,456
29	840,061	0,487
30	870,06	0,488

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Muestra c* (pulpa en metanol 50 ul)
%inhibición =75.79 % ANEXO C1- 3

muestra:	(c) pulpa en metanol	
volumen	50µl	
	t/s	ABS
1	0,053	1,037
2	30,053	0,746
3	60,055	0,574
4	90,055	0,488
5	120,053	0,433
6	150,052	0,437
7	180,053	0,367
8	210,053	0,333
9	240,052	0,308
10	270,052	0,325
11	300,055	0,331
12	330,052	0,32
13	360,053	0,295
14	390,052	0,279
15	420,053	0,275
16	450,052	0,282
17	480,052	0,305
18	510,053	0,292
19	540,052	0,346
20	570,054	0,33
21	600,052	0,32
22	630,052	0,309
23	660,055	0,3
24	690,054	0,291
25	720,053	0,283
26	750,052	0,276
27	780,053	0,269
28	810,054	0,263
29	840,054	0,256
30	870,055	0,251

Muestra c* (pulpa en metanol 25 ul)
%inhibición =54.94 % ANEXO C1- 3

muestra:	(c) pulpa en metanol	
volumen	25µl	
	t/s	ABS
1	0,057	1,103
2	30,057	0,86
3	60,057	0,75
4	90,057	0,681
5	120,057	0,628
6	150,059	0,611
7	180,059	0,596
8	210,057	0,565
9	240,058	0,541
10	270,057	0,517
11	300,057	0,52
12	330,058	0,552
13	360,059	0,54
14	390,057	0,582
15	420,06	0,617
16	450,059	0,626
17	480,06	0,598
18	510,06	0,583
19	540,06	0,575
20	570,057	0,567
21	600,057	0,559
22	630,057	0,551
23	660,057	0,545
24	690,059	0,538
25	720,059	0,532
26	750,059	0,527
27	780,059	0,521
28	810,057	0,517
29	840,057	0,512
30	870,059	0,508

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Muestra c* (pulpa en metanol 10 ul)
%inhibición =44.85 % ANEXO C1- 3

muestra:	(c) pulpa en metanol	
volumen	10µl	
	t/s	ABS
1	0,062	1,166
2	30,06	0,922
3	60,061	0,851
4	90,059	0,779
5	120,061	0,759
6	150,06	0,769
7	180,061	0,716
8	210,06	0,716
9	240,06	0,727
10	270,061	0,792
11	300,06	0,754
12	330,062	0,748
13	360,061	0,733
14	390,061	0,723
15	420,061	0,711
16	450,061	0,704
17	480,061	0,697
18	510,059	0,69
19	540,06	0,684
20	570,06	0,679
21	600,06	0,674
22	630,062	0,671
23	660,061	0,665
24	690,059	0,662
25	720,06	0,658
26	750,062	0,654
27	780,062	0,651
28	810,061	0,648
29	840,06	0,645
30	870,061	0,643

Muestra d* (pulpa en metanol 50 ul)
%inhibición =87.029 % ANEXO C1- 4

muestra:	(d) pulpa en metanol	
volumen	50µl	
	t/s	ABS
1	0,058	1,01
2	30,059	0,644
3	60,06	0,473
4	90,011	0,37
5	120,011	0,297
6	150,012	0,254
7	180,012	0,233
8	210,013	0,253
9	240,013	0,248
10	270,013	0,211
11	300,012	0,215
12	330,012	0,23
13	360,043	0,243
14	390,043	0,259
15	420,043	0,277
16	450,044	0,263
17	480,045	0,243
18	510,043	0,229
19	540,043	0,217
20	570,043	0,208
21	600,045	0,195
22	630,045	0,188
23	660,043	0,178
24	690,042	0,171
25	720,045	0,162
26	750,042	0,155
27	780,043	0,148
28	810,043	0,142
29	840,042	0,137
30	870,043	0,131

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Muestra d* (pulpa en metanol 25 ul)
%inhibición =64.83 % ANEXO C1- 4

muestra:	(d) pulpa en metanol	
volumen	25µl	
	t/s	ABS
1	0,057	1,038
2	30,057	0,688
3	60,055	0,531
4	90,057	0,418
5	120,058	0,359
6	150,056	0,417
7	180,055	0,325
8	210,055	0,365
9	240,058	0,322
10	270,056	0,36
11	300,057	0,328
12	330,057	0,365
13	360,056	0,388
14	390,056	0,401
15	420,056	0,461
16	450,056	0,504
17	480,056	0,486
18	510,057	0,46
19	540,057	0,452
20	570,056	0,444
21	600,056	0,434
22	630,056	0,428
23	660,058	0,417
24	690,056	0,41
25	720,056	0,398
26	750,057	0,393
27	780,056	0,385
28	810,057	0,379
29	840,057	0,37
30	870,055	0,365

Muestra d* (pulpa en metanol 10 ul)
%inhibición =55.63 % ANEXO C1- 4

muestra:	(d) pulpa en metanol	
volumen	10µl	
	t/s	ABS
1	0,061	1,082
2	30,001	0,726
3	60,063	0,549
4	90,001	0,445
5	120	0,371
6	150	0,323
7	180,063	0,294
8	210,015	0,267
9	240,016	0,253
10	270,017	0,241
11	300,014	0,266
12	330,016	0,271
13	360,016	0,259
14	390,014	0,257
15	420,016	0,258
16	450,017	0,286
17	480,015	0,316
18	510,016	0,311
19	540,016	0,42
20	570,016	0,423
21	600,014	0,363
22	630,016	0,493
23	660,015	0,379
24	690,016	0,414
25	720,014	0,472
26	750,016	0,443
27	780,014	0,476
28	810,014	0,48
29	840,015	0,475
30	870,015	0,48

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Muestra e* (semilla en alcohol 75 ul)
%inhibición =51.15 % ANEXO C1- 5

muestra:	(e) semilla en alcohol	
volumen	75µl	
	t/s	ABS
1	0,054	0,998
2	30,056	0,765
3	60,054	0,671
4	90,054	0,61
5	120,053	0,564
6	150,053	0,529
7	180,053	0,5
8	210,054	0,475
9	240,054	0,454
10	270,056	0,435
11	300,053	0,419
12	330,055	0,404
13	360,056	0,39
14	390,054	0,377
15	420,054	0,366
16	450,054	0,356
17	480,055	0,346
18	510,055	0,336
19	540,054	0,328
20	570,056	0,32
21	600,054	0,312
22	630,053	0,304
23	660,054	0,298
24	690,055	0,291
25	720,054	0,285
26	750,053	0,279
27	780,055	0,273
28	810,056	0,267
29	840,056	0,262
30	870,056	0,257

Muestra e* (semilla en alcohol 50 ul)
%inhibición =64.83 % ANEXO C1- 5

muestra:	(e) semilla en alcohol	
volumen	50µl	
	t/s	ABS
1	0,061	0,954
2	30,06	0,793
3	60,06	0,719
4	90,06	0,669
5	120,059	0,632
6	150,061	0,603
7	180,061	0,579
8	210,059	0,559
9	240,06	0,542
10	270,06	0,527
11	300,061	0,514
12	330,059	0,502
13	360,059	0,497
14	390,06	0,488
15	420,06	0,479
16	450,06	0,471
17	480,061	0,464
18	510,061	0,484
19	540,06	0,478
20	570,059	0,471
21	600,06	0,465
22	630,061	0,459
23	660,059	0,478
24	690,06	0,474
25	720,06	0,469
26	750,06	0,464
27	780,061	0,466
28	810,06	0,473
29	840,061	0,467
30	870,059	0,466

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Muestra e* (semilla en alcohol 25 ul)
%inhibición =38.70 % ANEXO C1- 5

muestra:	(e) semilla en alcohol	
volumen	25µl	
	t/s	ABS
1	0,063	1,023
2	30,001	0,873
3	60	0,812
4	90	0,771
5	120,002	0,739
6	150,063	0,714
7	180,002	0,694
8	210,002	0,676
9	240,002	0,661
10	270,001	0,648
11	300	0,637
12	330	0,626
13	360,001	0,617
14	390,002	0,608
15	420	0,6
16	450,001	0,598
17	480	0,59
18	510,002	0,584
19	540	0,58
20	570,001	0,574
21	600,002	0,573
22	630,001	0,565
23	660,001	0,562
24	690	0,565
25	720,002	0,557
26	750,002	0,586
27	780,002	0,649
28	810,046	0,636
29	840,018	0,621
30	870,048	0,627

Muestra f* (cascara en alcohol 50 ul)
%inhibición =95.99 % ANEXO C1- 6

muestra:	(f) cascara en alcohol	
volumen	50µl	
	t/s	ABS
1	0,059	0,874
2	30,016	0,401
3	60,015	0,226
4	90,015	0,141
5	120,013	0,096
6	150,013	0,071
7	180,013	0,056
8	210,014	0,048
9	240,016	0,043
10	270,014	0,04
11	300,013	0,038
12	330,015	0,037
13	360,015	0,036
14	390,013	0,036
15	420,014	0,035
16	450,015	0,035
17	480,013	0,035
18	510,013	0,081
19	540,015	0,064
20	570,013	0,054
21	600,014	0,048
22	630,014	0,044
23	660,014	0,041
24	690,017	0,042
25	720,014	0,04
26	750,013	0,039
27	780,013	0,037
28	810,014	0,036
29	840,014	0,036
30	870,015	0,035

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Muestra f* (cascara en alcohol 25 ul)
%inhibición =83.11 % ANEXO C1- 6

muestra:	(f) cascara en alcohol	
volumen	25µl	
	t/s	ABS
1	0,062	1,007
2	30	0,582
3	60,002	0,394
4	90	0,283
5	120,001	0,207
6	150,003	0,159
7	180,001	0,129
8	210,003	0,104
9	240,001	0,086
10	270,062	0,074
11	300,002	0,065
12	330,003	0,056
13	360	0,053
14	390,003	0,046
15	420,001	0,042
16	450,001	0,046
17	480,002	0,055
18	510,002	0,048
19	540,001	0,042
20	570,001	0,053
21	600	0,066
22	630,001	0,073
23	660,001	0,071
24	690,002	0,139
25	720,001	0,118
26	750,001	0,131
27	780	0,169
28	810,064	0,165
29	840,002	0,137
30	870,004	0,17

Muestra f* (cascara en alcohol 10ul)
%inhibición =83.11 % ANEXO C1- 6

muestra:	(f) cascara en alcohol	
volumen	10µl	
	t/s	ABS
1	0,058	0,981
2	30,06	0,665
3	60,058	0,515
4	90,06	0,4
5	120,06	0,323
6	150,059	0,272
7	180,06	0,241
8	210,058	0,206
9	240,061	0,186
10	270,061	0,186
11	300,06	0,21
12	330,06	0,161
13	360,059	0,177
14	390,06	0,17
15	420,061	0,237
16	450,059	0,286
17	480,061	0,277
18	510,058	0,273
19	540,061	0,295
20	570,059	0,336
21	600,059	0,359
22	630,059	0,442
23	660,059	0,452
24	690,059	0,46
25	720,058	0,436
26	750,058	0,423
27	780,058	0,417
28	810,059	0,412
29	840,061	0,402
30	870,059	0,396

Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo C2

Preparación de muestras para obtención de aceite y muestra oleosa

Fruta fresca



Fuente: Ecuaforestar - Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing.

Química Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo C3

Proceso de secado

Secador de bandeja



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo C4

Fruta seca



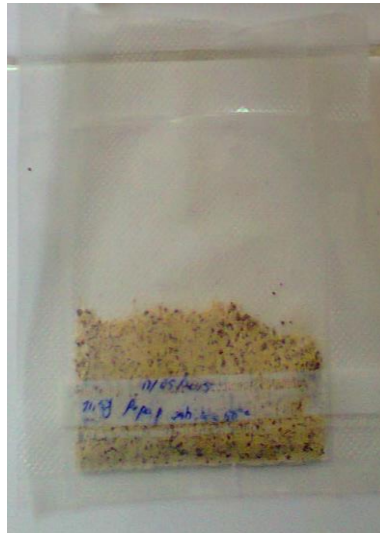
Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo C5

Polvo de semilla



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo C6

Polvo de la semilla y cascara



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo C7

Extracción de aceite de la semilla y muestra oleosa de la (cascara y pulpa)



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo C8

Proceso de extracción en el rotavapor



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

ANEXO C9



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo D1

Encuesta para evaluación sensorial de la fruta

Nombre:

Fecha:

Lugar:

A los panelistas se les pide evaluar una muestra de fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) para lo cual se solicita que se evalúe los atributos sabor, color, olor, textura, estado de madurez de la fruta.

Parámetros

Evaluación

4	3	2	1
desabrido	amargo	ácido	dulce

Sabor:

desabrido	
amargo	
ácido	
dulce	

Color

claro	
medio	
oscuro	

3	2	1
oscuro	medio	claro

Olor

Poco	
medio	
intenso	

3	2	1
intenso	medio	poco

Textura

blanda	
firme	
dura	

3	2	1
dura	firme	blanda

Estado de madurez:



verde	
pintón	
madura	

3	2	1
madura	pintón	verde

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete

Anexo D2

Evaluación sensorial



Fuente: Laboratorio de Microbiología Facultad de Ing. Química

Universidad de Guayaquil

Elaborado por: Ana Jouvin Navarrete