



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS, FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL FRUTO MILAGROSO (*Synsepalum Dulcificum*) PARA APLICACIONES AGROINDUSTRIALES.

AUTOR

Yoselyn Fernanda Córdor Soto

AÑO

2019



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS, FÍSICOS Y  
QUÍMICOS DEL FRUTO MILAGROSO (*Synsepalum Dulcificum*) PARA  
APLICACIONES AGROINDUSTRIALES.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Ingeniería Agroindustrial y de Alimentos

Profesor Guía  
Ms. Pablo Santiago Moncayo Moncayo

Autora  
Yoselyn Fernanda Cóndor Soto

Año  
201920

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

"Declaro haber dirigido el trabajo, Caracterización de compuestos bioactivos, físicos y químicos del fruto milagroso (*Synsepalum dulcificum*) para aplicaciones agroindustriales, a través de reuniones periódicas con el estudiante Yoselyn Fernanda Córdor Soto en el semestre 201920, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

---

Pablo Santiago Moncayo Moncayo  
Máster en dirección de operaciones y seguridad industrial  
CI: 1712367505

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR**

"Declaro haber revisado este trabajo, Caracterización de compuestos bioactivos, físicos y químicos del fruto milagroso (*Synsepalum dulcificum*) para aplicaciones agroindustriales, de Yoselyn Fernanda Cóndor Soto, en el semestre 201920, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

---

Katiuska Ferbel Alexandrino de Freitas  
Doctorado en Ingeniería Química y del Medio Ambiente  
CI:1758666109

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE**

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

---

Yoselyn Fernanda Cóndor Soto

CI: 1725026882

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por darme la vida y sabiduría a lo largo de mis estudios. A mi familia que siempre me dio su apoyo y consejos durante todo este tiempo. A mi tutor por haberme compartido sus conocimientos durante toda mi carrera.

## **DEDICATORIA**

A mis padres por sus consejos, paciencia, amor y enseñanzas en cada momento. A mi hermana por su apoyo incondicional. A mis abuelos que me dieron la oportunidad de formarme en esta prestigiosa universidad. A esa persona especial en mi vida que supo aconsejarme, guiarme y ayudarme día a día. A todos mis familiares, amigos y profesores que me apoyaron con sus valiosos consejos para culminar esta etapa de mi vida.

## RESUMEN

La fruta milagrosa, también conocida como miracle berry, sweet berry (inglés), fruit miraculeux (francés), fruta-do-milagre (portugués), wunderbeere (alemán) y frutto miracroso (italiano), es un arbusto originario de África occidental que produce bayas rojas las cuales presentan una glucoproteína llamada miraculina que tiene la capacidad de modificar un sabor ácido en dulce. Esta glucoproteína puede ser utilizada como aditivo dentro de las industrias de medicina o alimentos. En la presente investigación se tuvo como objetivo la caracterización de compuestos bioactivos, físicos y químicos del fruto milagroso (*Synsepalum dulcificum*) para aplicaciones agroindustriales. Este fruto se recolectó de la hacienda Ecuaforestar ubicada en la Unión provincia de Esmeraldas y posteriormente fue liofilizado para evitar la pérdida de propiedades organolépticas. El análisis de polifenoles, capacidad antioxidante, flavonoides, antocianinas, carotenoides, azúcares totales, humedad y proteína se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), mientras que el análisis de diámetro longitudinal, diámetro polar, peso, pH, humedad, grasa y fibra se realizaron en los laboratorios de la Universidad de las Américas (UDLA) con muestra fresca. Los resultados mostraron que el fruto milagroso tuvo un diámetro longitudinal de 9,93 cm, un diámetro polar de 1,86 cm, un peso de 1,28 g en base fresca, un valor de pH de 3,81 en base fresca, una acidez de 0,41 en base fresca, una humedad de 83,37% en base fresca, un contenido de 34,64 mg ácido gálico/g en base seca de polifenoles totales, 477,32  $\mu\text{m}$  Trolox/g en base seca de capacidad antioxidante, 12 mg catequina/g en base seca de flavonoides, 2,86 mg cianidina 3-glucosido cloruro/g en base seca de antocianinas, 70,70  $\mu\text{g/g}$  en base seca de carotenoides, 8,79% en base seca de proteína, 3% en base fresca de fibra, 45,65% en base seca de azúcares totales y 0,66% en base fresca de grasa.



## ABSTRACT

The miraculous fruit, also known as miracle berry, sweet berry (English), fruit miraculeux (French), fruit-do-milagre (Portuguese), wunderbeere (German) and frutto miracroso (Italian), is a shrub native to West Africa that produces red berries which have a glycoprotein called miraculin that has the ability to modify an acid taste in sweet. This glycoprotein can be used as an additive within the medicine or food industries. In the present investigation, the objective was the characterization of bioactive, physical and chemical compounds of the miraculous fruit (*Synsepalum dulcificum*) for agroindustrial applications. This fruit was collected from the Ecuaforestar farm located in the Union province of Esmeraldas and later it was lyophilized to avoid the loss of organoleptic properties. The analysis of polyphenols, antioxidant capacity, flavonoids, anthocyanins, carotenoids, total sugars, moisture and protein was carried out in the Department of Nutrition and Quality of the National Institute of Agricultural Research (INIAP), while the analysis of longitudinal diameter, polar diameter, weight, pH, moisture, fat and fiber were made in the laboratories of the University of the Americas (UDLA) with fresh sample. The results showed that the miraculous fruit had a longitudinal diameter of 9.93 cm, a polar diameter of 1.86 cm, a weight of 1.28 g in fresh base, a pH value of 3.81 in fresh base, an acidity of 0.41 in fresh base, a humidity of 83.37% in fresh base, a content of 34.64 mg gallic acid / g in dry base of total polyphenols, 477.32  $\mu\text{m}$  Trolox / g in dry base of antioxidant capacity, 12 mg catechin / g on dry flavonoid base, 2.86 mg cyanidin 3-glucoside chloride / g on dry basis of anthocyanins, 70.70  $\mu\text{g}$  / g on dry basis of carotenoids, 8.79% on dry basis of protein, 3% on fresh fiber basis, 45.65% on dry basis of total sugars and 0.66% on fresh base of fat.

# ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| 1. INTRODUCCIÓN .....                                | 1  |
| 2. OBJETIVOS .....                                   | 2  |
| 2.1 Objetivo General .....                           | 2  |
| 2.2 Objetivos Específicos .....                      | 2  |
| 3. MARCO TEÓRICO .....                               | 2  |
| 3.1 Fruto milagroso.....                             | 2  |
| 3.1.1 Origen e historia .....                        | 3  |
| 3.2 Propiedades del fruto milagroso .....            | 4  |
| 3.2.1 Características físicas.....                   | 4  |
| 3.2.2 Características químicas.....                  | 4  |
| 3.2.2.1 pH y acidez.....                             | 5  |
| 3.2.2.2 Humedad.....                                 | 5  |
| 3.3 Compuestos bioactivos .....                      | 6  |
| 3.3.1 Polifenoles .....                              | 7  |
| 3.3.2 Flavonoides .....                              | 8  |
| 3.3.3 Capacidad antioxidante .....                   | 10 |
| 3.3.4 Antocianinas .....                             | 12 |
| 3.3.5 Carotenoides .....                             | 14 |
| 3.4. Proteínas .....                                 | 14 |
| 3.5 Fibra.....                                       | 15 |
| 3.6 Azúcares totales .....                           | 16 |
| 3.7 Grasa .....                                      | 17 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS .....                        | 17 |
| 4.1 Materiales .....                                 | 17 |
| 4.1.1 Localización y preparación de la muestra ..... | 17 |
| 4.2 Métodos .....                                    | 18 |
| 4.2.1 Propiedades Físicas .....                      | 18 |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| 4.2.1.1   | Diámetro longitudinal .....                           | 18        |
| 4.2.1.2   | Diámetro polar .....                                  | 18        |
| 4.2.1.3   | Peso .....  | 19        |
| 4.2.2     | Propiedades Químicas.....                             | 20        |
| 4.2.2.1   | Determinación de acidez .....                         | 20        |
| 4.2.2.2   | Determinación de pH .....                             | 21        |
| 4.2.2.3   | Determinación de Humedad PS (parcialmente seco) ..... | 22        |
| 4.2.3     | Compuestos bioactivos.....                            | 24        |
| 4.2.3.1   | Extracción de la muestra .....                        | 24        |
| 4.2.3.2   | Determinación de polifenoles totales .....            | 25        |
| 4.2.3.3   | Determinación de capacidad antioxidante .....         | 27        |
| 4.2.3.4   | Determinación de flavonoides.....                     | 29        |
| 4.2.3.5   | Determinación de antocianinas.....                    | 30        |
| 4.2.3.5.1 | Extracción de la muestra .....                        | 31        |
| 4.2.3.6   | Determinación de carotenoides totales.....            | 33        |
| 4.2.4     | Determinación de proteína.....                        | 35        |
| 4.2.5     | Determinación de fibra.....                           | 37        |
| 4.2.6     | Determinación de azúcares totales .....               | 39        |
| 4.2.6.1   | Extracción de muestra: .....                          | 40        |
| 4.2.7     | Determinación de grasa.....                           | 42        |
| <b>5.</b> | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>                    | <b>44</b> |
| 5.1       | Propiedades físicas .....                             | 44        |
| 5.1.1     | Diámetro longitudinal .....                           | 44        |
| 5.1.2     | Diámetro polar .....                                  | 45        |
| 5.1.3     | Peso .....  | 46        |
| 5.2       | Propiedades químicas.....                             | 46        |
| 5.2.1     | Acidez titulable .....                                | 46        |
| 5.2.3     | pH.....   | 48        |
| 5.2.4     | Humedad .....   | 48        |
| 5.3       | Compuestos Bioactivos.....                            | 49        |
| 5.3.1     | Polifenoles totales.....                              | 49        |

|   |    |
|---|----|
| 5.3.2 Capacidad antioxidante .....      | 51 |
| 5.3.3 Flavonoides .....                 | 52 |
| 5.3.4 Antocianinas .....                | 53 |
| 5.3.5 Carotenoides .....                | 54 |
| 5.4 Proteína .....                      | 56 |
| 5.5 Fibra.....                          | 56 |
| 5.6 Azúcares totales .....              | 57 |
| 5.7 Grasas .....                        | 58 |
| 6. Conclusiones y Recomendaciones ..... | 60 |
| 6.1 Conclusiones .....                  | 60 |
| 6.2 Recomendaciones.....                | 60 |
| REFERENCIAS .....                       | 62 |
| ANEXOS .....                            | 68 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1. Clasificación de Componentes Bioactivos. ....                                 | 6  |
| Tabla 2. Principales fuentes alimenticias de polifenoles. ....                         | 8  |
| Tabla 3. Grupos de flavonoides. ....   | 9  |
| Tabla 4. Tipos de antioxidantes y fuentes alimenticias ....                            | 11 |
| Tabla 5. Antocianinas comunes. ....  | 13 |
| Tabla 6. Resultados del diámetro longitudinal. ....                                    | 45 |
| Tabla 7. Resultados del diámetro polar. ....   | 45 |
| Tabla 8. Resultados obtenidos en peso. ....  | 46 |
| Tabla 9. Resultados de acidez titulable en peso fresco. ....                           | 47 |
| Tabla 10. Acidez de frutos rojos. ....   | 47 |
| Tabla 11. Resultados de pH en peso fresco. ....  | 48 |
| Tabla 12. Resultados del porcentaje de humedad en base fresca. ....                    | 49 |
| Tabla 13. Resultados de polifenoles totales expresados en base seca. ....              | 50 |
| Tabla 14. Resultados de capacidad antioxidante expresados en base seca. ...            | 51 |
| Tabla 15. Resultados de flavonoides expresados en base seca. ....                      | 52 |
| Tabla 16. Resultados de antocianinas expresados en base seca. ....                     | 53 |
| Tabla 17. Resultados de carotenoides expresados en base seca y<br>en base fresca. .... | 55 |
| Tabla 18. Resultados de proteína expresados en base seca. ....                         | 56 |
| Tabla 19. Resultados de fibra expresados en base fresca. ....                          | 57 |
| Tabla 20. Resultados de azúcares totales expresados en base seca. ....                 | 58 |
| Tabla 21. Resultados de grasa expresados en base fresca. ....                          | 59 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Planta de fruto milagroso. ....  | 3  |
| Figura 2. Baya del fruto milagroso.....  | 4  |
| Figura 3. Mecanismo de acción de los antioxidantes. ....                                   | 11 |
| Figura 4. Antocianinas comunes en la naturaleza. ....                                      | 12 |
| Figura 5. Medida del diámetro longitudinal. ....   | 18 |
| Figura 6. Medida del diámetro polar. ....  | 19 |
| Figura 7. Pesaje del fruto milagroso. ....   | 19 |
| Figura 8. Procedimiento para determinar la acidez. ....                                    | 21 |
| Figura 9. Procedimiento para medir el pH. ....   | 22 |
| Figura 10. Procedimiento para determinación de Humedad. ....                               | 23 |
| Figura 11. Extracción por triplicado de la muestra.....                                    | 25 |
| Figura 12. Procedimiento para determinación de polifenoles. ....                           | 26 |
| Figura 13. Procedimiento para determinación de capacidad antioxidante. ....                | 28 |
| Figura 14. Procedimiento para determinación de flavonoides. ....                           | 30 |
| Figura 15. Extracción de la muestra para determinación de antocianinas: ....               | 32 |
| Figura 16. Procedimiento para determinación de carotenoides. ....                          | 34 |
| Figura 17. Equipo digestor para determinación de proteína. ....                            | 36 |
| Figura 18. Procedimiento para determinación de fibra. ....                                 | 39 |
| Figura 19. Extracción de muestra para la determinación de azúcares totales. ....           | 41 |
| Figura 20. Procedimiento para determinar azúcares totales.....                             | 42 |
| Figura 21. Procedimiento para la extracción de grasa.....                                  | 44 |
| Figura 22. Cambio de coloración de las muestras por presencia de<br>grupos fenólicos. .... | 50 |
| Figura 23. Extracción de muestra liofilizada del fruto milagroso. ....                     | 54 |

## 1. INTRODUCCIÓN

El fruto milagroso, con nombre científico *Synsepalum Dulcificum*, es una planta poco conocida en el Ecuador, originaria de África occidental, la cual produce bayas alargadas de color rojizo que presentan una delgada capa de pulpa comestible que le rodea a la semilla (Chen, TL Abdullah, NAP Abdullah, & SA Hassan, 2012), las cuales poseen una glicoproteína denominada miraculina que puede hacer que la comida ácida presente un sabor dulce mientras ésta no tenga sabor (Wong & M. Kern, 2011).

Actualmente, se pretende su uso en aplicaciones agroindustriales, por ser un sustituto del azúcar blanca, debido a su poder endulzante natural, el cual no descompone los niveles de glucosa ni afecta al organismo de las personas que lo consuman, como pueden ser diabéticos o personas con obesidad (Ecuaforestar, 2017).

Por otro lado, esta fruta no sólo ayuda a disminuir el consumo de azúcar, sino también, es una solución para las personas con cáncer, ya que elimina el sabor metálico que producen los alimentos por efectos de las quimioterapias. Por ello, los hermanos TIETIG descubrieron estas propiedades del fruto y crearon una fundación llamada Miracle fruit farm en donde crearon pastillas para dar solución al sin sabor de las comidas de pacientes con cáncer y de tal manera brindarles ciertos nutrientes y aumentar su apetito (López, 2018).

Tradicionalmente verduras y frutas con colores intensos y llamativos son reconocidos como alimentos saludables dentro de la dieta diaria por tener varios componentes como son los pigmentos denominados antocianinas, las cuales reducen el riesgo de enfermedades (Lin & CY Tang, 2007), los antioxidantes, los cuales presentan ciertos efectos específicos en la salud como dar valor nutritivo a los alimentos y mejorar su la calidad, y ciertos compuestos fenólicos presentes en verduras, frutas, semillas, cortezas los cuales forman parte de la dieta diaria (Dudonne, X. Vitrac, P. Coutiere, M. Woillez, & J.-M. Merillon, 2009).

Además, es importante caracterizar al fruto milagroso por el potencial en la salud que éste posee. Por eso, la presente investigación tiene como objetivo dar a conocer ciertas propiedades físicas y químicas (diámetro longitudinal, diámetro polar, peso, pH, acidez y humedad), ciertos compuestos bioactivos (polifenoles, capacidad antioxidante, flavonoides, antocianinas y carotenoides), así como también el contenido de fibra cruda, proteína, grasa y azúcares totales que se encuentran en el fruto de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. Para esto se emplean diversos métodos y análisis de obtención.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

- Caracterizar los compuestos bioactivos, físicos y químicos del fruto milagroso (*Synsepalum dulcificum*) para aplicaciones agroindustriales.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Evaluar la composición física y química en el fruto milagroso de la localidad de la Unión provincia de Esmeraldas.
- Identificar los compuestos bioactivos del fruto milagroso en la localidad de la Unión provincia de Esmeraldas.
- Cuantificar el contenido de las proteínas del fruto milagroso.

## **3. MARCO TEÓRICO**

### **3.1 Fruto milagroso (*Synsepalum dulcificum*)**

El fruto milagroso científicamente se denomina *Synsepalum dulcificum* o también es conocido como “baya milagrosa”, “magic berry”, “fruta mágica”, es un arbusto que produce una baya alargada entre 3-4 cm de longitud de color rojo la cual, al ser consumida, hace que alimentos ácidos tengan una sensación de dulzor debido a la miraculina (Tapia, 2014).





*Figura 1.* Planta de fruto milagroso.

Tomado de (Yañez, 2015)

### **3.1.1 Origen e historia**

El fruto milagroso es una planta originaria del Oeste de África, a pesar que corresponde a una familia de planta originaria de América. Este fruto es conocido desde 1725, y ha sido introducido en diversos países como el Congo y diversos distritos del golfo de Guinea, hallado cerca de la costa. Se dio a conocer en Europa a comienzos del siglo XVII y, posteriormente, en América, en Puerto Rico y existen registros de cultivos en Florida (Tapia, 2014).

Según Antonio Mora, agrónomo, este fruto es pariente del zapote por su parentesco en la semilla. En ciertos lugares, como estados unidos, este fruto ha comenzado a comercializarse de tal manera que una unidad tiene un costo de \$2. Varios científicos han comenzado a descubrir ciertos posibles usos de este fruto, como, por ejemplo, usarlo como una posible alternativa para la dieta de personas diabéticas. En este sentido, en la Universidad EARTH (Escuela de Agricultura de la Región del Trópico Húmedo) se realizó un estudio en el 2007, en donde se estima el uso de miraculina como un edulcorante natural (La Nación, 2011).

El fruto milagroso ha sido usado en África occidental desde aproximadamente el siglo XVII, cuando fue descubierto por el europeo explorador llamado Chevalier

des Marchais, en donde observaba que tribus locales comían estas bayas generalmente con cerveza, vino fermentado, pan agrio, es decir, toda la comida amarga, y también añadían estas bayas a sus comidas para mejorar su sabor gracias a su glicoproteína llamada miraculina (Tapia, 2014).

## **3.2 Propiedades del fruto milagroso**

### **3.2.1 Características físicas**

El fruto milagroso (*Synsepalum dulcificum*) es un arbusto ovalado o piramidal de 3 a 5 m de altura que crece en climas cálidos y húmedos con un pH <5.8. Este fruto produce bayas o frutos alargados dulces de color rojizo de aproximadamente 2 a 2.5 cm de largo, dos veces al año (al inicio y al final de la época invernal). Tiene follaje perenne de 5-10 cm de largo y 2,7 cm de ancho color verde oscuro, posee flores blancas o marrones durante todo el año y florece de 30 a 45 días (Tropicals, 2019).



*Figura 2.* Baya del fruto milagroso.

Tomado de (Pietro, s.f.)

### **3.2.2 Características químicas**

Generalmente, la fruta posee azúcares, lo cual le proporciona un sabor dulce característico. Sin embargo, las bayas de la fruta milagrosa no son muy dulces, sino que éstas poseen una glicoproteína llamada miraculina la cual tiene la función de volver dulce a los alimentos ácidos después de ingerirlos durante 60 minutos, ya que la miraculina enlaza las papilas gustativas y enmascara los sabores amargos y ácidos. La cantidad de agua que contiene es del 65,33%, la pulpa no contiene nada de grasa, el contenido de azúcares simples es bajo, por ello sirve para ser usada en pacientes con obesidad o diabetes, la composición de glúcidos es del 22,5%, la proporción de monosacáridos es alrededor de 5,6% entre ellos glucosa, ribosa, galactosa y arabinosa. En cuanto a aminoácidos, presenta en mayor cantidad glicina 9,8%, valina 8%, lisina 7,9%, ácido aspártico 11,3% y ácido glutámico 9,2%. Además, este fruto posee una fibra alimentaria de 12,5 mg/100 g de peso fresco y también vitamina A (37,4 mg) y C (40,1 mg/100 g de peso fresco) (Martínez, Periago, & Navarro, 2016).

### **3.2.2.1 pH y acidez**

El pH ayuda a controlar la cantidad de microorganismos en un alimento. Un pH bajo indica un medio ácido, en donde los microorganismos no logran sobrevivir. Por otra parte, la acidez es la que va a dar una sensación agradable o no al paladar de las personas, es decir, a una acidez mayor a 4 g/l empieza a tener un sabor muy ácido el alimento (Redagrícola, 2017).

### **3.2.2.2 Humedad**

La humedad es un paso importante para analizar alimentos porque permite comparar valores, convertir a valores de humedad en base seca y base fresca (Masson, s.f.). La cantidad de humedad en un alimento es un indicador de estabilidad del producto. La mayoría de productos alimenticios tienen cierta cantidad de agua, como yogurt (80-90%), leche (88%), carnes (60-75%) y productos secos (12%) (Valderrama, s.f.).

### 3.3 Compuestos bioactivos

Se denominan compuestos bioactivos aquellas sustancias presentes en bajas cantidades en alimentos como verduras, frutas, aceites, granos y nueces. Estos compuestos deben ser diferenciados por tres aspectos como son sus acciones, su función y sus beneficios (Herrera, David, & Maira, 2014).

Los compuestos bioactivos no son nutrientes, pero si son esenciales ya que tienen un efecto beneficioso en la salud de las personas por lo que previenen, o reducen, el riesgo de ciertas enfermedades. Dentro de su clasificación química se encuentran los polifenoles, carotenoides, lignanos, terpenos, flavonoides, antocianinas, etc. (Martínez E. , s.f.).

Se han realizado ciertos estudios científicos para clasificar a estos compuestos presentes en los alimentos de acuerdo a como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1.

*Clasificación de Componentes Bioactivos.*

| CATEGORÍA   | SUBCLASE            |                          | ALIMENTO                                 | COLOR          |
|---|---------------------|--------------------------|--|----------------|
| <b>Fenoles:</b><br>flavonoides,<br>antocianinas,<br>Isoflavonas,<br>ácidos<br>gálicos | <b>Flavonoides</b>  | Flavonas,<br>isoflavonas | Papaya,<br>melocotón,<br>naranja         | Naranja        |
|   |                     | Antocianinas             | Zanahorias,<br>cebollas,<br>frutos rojos | Morado<br>Azul |
| <b>Terpenos:</b><br>Carotenoides,<br>limonoides                                       | <b>Carotenoides</b> | Carotenos                | Calabaza,<br>zanahoria                   | Naranja        |
|   |                     |                          | Tomate,<br>col, rábano,<br>frutos rojos  | Rojo           |

|                                       |                       |                              |                                  |        |
|---------------------------------------|-----------------------|------------------------------|----------------------------------|--------|
|                                       |                       | Xantofilas                   | Lechuga,<br>aguacate,<br>manzana | Verde  |
| <b>Tioles:</b><br>contienen<br>azúfre | <b>Glucosinolatos</b> | Isocianatos<br>y sulforafano | Brócoli, col,<br>nabo            | Verde  |
|                                       | <b>Súlfidos</b>       |                              | Ajo,<br>cebollín,<br>puerro.     | Blanco |

Adaptado de (Barragán, 2011)

### 3.3.1 Polifenoles

Los polifenoles son compuestos que se encuentran presentes de manera natural en las plantas con propiedades antioxidantes. No son nutrientes esenciales, pero cumplen ciertas funciones como, por ejemplo, prevenir la diabetes, enfermedades cardiovasculares y degenerativas. Existen alrededor de 80.000 polifenoles, los cuales están presentes en diversos alimentos como vegetales, frutas, té, vino, aceites y chocolate, siendo los que más se destacan por su elevado contenido de polifenoles el cacao, vino y té (Quiñones, M, & A, 2012).

Al tener propiedades antioxidantes, protegen a las células del cuerpo contra radicales libres y, por ello, controlan la rapidez con la que se envejece. Son los encargados de dar colores llamativos a bayas, vegetales y frutas, además de favorecer su sabor, amargura, aroma y estabilidad oxidativa y en las plantas protegen contra patógenos, daño oxidativo, radiación ultravioleta y condiciones climáticas. Los polifenoles cumplen ciertas propiedades en el cuerpo humano como: combatir radicales libres y reducir envejecimiento, combatir células cancerígenas, proteger la piel de radiación ultravioleta, disminuir inflamación, regular niveles de azúcar y proteger el sistema cardiovascular (Mercola, 2015). Los polifenoles poseen una estructura con dos anillos aromáticos cada uno con un anillo aromático hidroxil y conectado a un enlace de carbono con oxígeno unido a dos anillos A y B para formar un tercer anillo C (González M. , 2011).

Los polifenoles se encuentran presentes en varias fuentes alimenticias como se muestra en la Tabla 2. Además, son los antioxidantes principales en una dieta donde su ingesta es 10 veces mayor a la vitamina C y 100 veces mayor a la vitamina E o carotenoides.

Tabla 2.

*Principales fuentes alimenticias de polifenoles.*

| <b>Principales fuentes alimentarias</b>   |
|---|
| Berries de color azul, rojo y púrpura, uvas rojas y moradas, vino tinto y manzana roja.   |
| Catequinas: Cacao, té verde, berries, uvas, manzanas.<br>Teaflavinas,<br>tearubiginas: Té negro y Oolong.<br>Proantocianidinas: Manzanas, cacao, berries, vino tinto, uvas rojas. |
| Frutos cítricos (limón, naranja, pomelos).  |
| Cebollín, cebolla amarilla, col, berries, té, manzana, brócoli.   |
| Tomillo, perejil, ají, apio, orégano.   |
| Alimentos de soja, soja, leguminosas.   |

Tomado de (Corchón, s.f.)

### 3.3.2 Flavonoides

Son pigmentos naturales presentes en vegetales, frutas, semillas y vinos, los cuales dan protección al organismo de los daños provocados por agentes oxidantes. Estas sustancias protectoras no pueden ser producidas por el organismo humano, por lo que se obtienen mediante suplementos o alimentación. Se conoce que estos compuestos fueron descubiertos en 1930 por Nobel Szent - György, el cual aisló de la cáscara de limón una sustancia llamada citrina la cual se encargaba de la permeabilidad de los capilares. A los flavonoides se los llamó vitamina P por su permeabilidad y vitamina C porque se comprobó que tenían ciertas propiedades de esta vitamina. Sin embargo, la veracidad de que los flavonoides fueran vitaminas P y C, no se confirmó por lo que su denominación fue negada en el año 1950. Según estudios realizados, se estima que estos compuestos son poco biodisponibles y su valor de ingesta se estima que sea 23 mg/día (Martínez Flórez, González Gallego, Culebras, & Tuñón, 2002). Los flavonoides, poseen una estructura básica compuesta de difenilpropano ( $C_6 - C_3 - C_6$ ) y formado por un heterociclo oxigenado. Generalmente son hidrosolubles, por lo que están unidos a azúcares. Son metabolizados en el hígado y en el tracto intestinal y sus concentraciones máximas son después de 1 a 3 horas de haberlos consumido. Los flavonoides tienen diversas funciones como inhibir la proliferación celular, poseen actividad antialérgica y antibiótica, son antiinflamatorios y antioxidantes (Gil Á. , 2010). Estos compuestos se pueden dividir en 6 grupos, los cuales se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3.

*Grupos de flavonoides.*

| <b>GRUPO</b>       | <b>ORIGEN</b>                                      |
|--------------------|--|
| <b>Flavonas</b>    | Apio, perejil, tomillo                             |
| <b>Flavonoides</b> | Manzanas, col rizada, cebollas, cerezas, bayas, té |
| <b>Flavanonas</b>  | Ciruelas secas y cítricos                          |

|                       |                              |
|-----------------------|------------------------------|
| <b>Flavanoles</b>     | Té verde, chocolate, manzana |
| <b>Antocianidinas</b> | Bayas, uvas                  |
| <b>Isoflavonas</b>    | Soja, leguminosas            |

Adaptado de (Gil Á. , 2010)

### 3.3.3 Capacidad antioxidante

La actividad antioxidante, es la capacidad que tiene una sustancia para retrasar, o inhibir, la degradación oxidativa (peroxidación lipídica) por lo que un antioxidante actúa por la capacidad de reaccionar con radicales libres. Sin embargo, se debe diferenciar entre actividad antioxidante y actividad estabilizadora de radicales libres. La actividad antioxidante se encarga de medir la degradación oxidativa, mientras que la actividad estabilizadora, está expresada por la reactividad de un antioxidante frente a radicales libres. Por lo tanto, una actividad de radicales libres no siempre tiene relación con una elevada capacidad antioxidante ya que ciertos compuestos fenólicos tienen alta actividad a los radicales libres, pero expresan moderada actividad antioxidante (Londoño, s.f.). Los antioxidantes son aquellos que previenen la oxidación en presencia de oxígeno. Éstos se dividen en dos categorías: sintéticos y naturales. Los antioxidantes sintéticos están compuestos por estructuras fenólicas mientras que los antioxidantes naturales son compuestos por fenólicos, nitrogenados o carotenoides (Muñoz Juárez & Dra. Gutiérrez, s.f.).

Arrete Lacalle (2007), indica que los mecanismos de acción son antioxidantes preventivos, ya que evitan la formación de nuevos radicales libres (RL), los cuales se producen en el cuerpo humano por reacciones químicas que generan moléculas con pérdidas de electrones, como se muestra en la Figura 3. Estos radicales libres pueden combinarse y dañar a otras moléculas. La fuente natural



de los antioxidantes son vitamina E, carotenoides, licopeno, polifenoles, vitamina C y selenio que, según su naturaleza fotoquímica, pueden ser solubles o no (Coba , Mayacu Tivi, & Vidari, 2010).

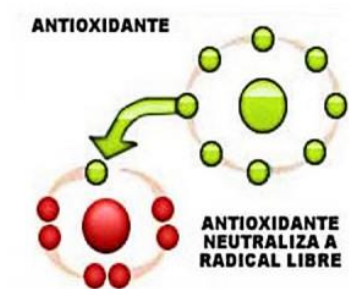


Figura 3. Mecanismo de acción de los antioxidantes.

Tomado de (Nerea, 2015)

Existen varios alimentos ricos en antioxidantes, como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4.

*Tipos de antioxidantes y fuentes alimenticias*

| <b>Tipo de Antioxidante</b>    | <b>Fuente alimenticia</b>                                    |
|--------------------------------|--|
| Vitamina C                     | Frutos cítricos (naranja, mandarina, pomelo.), manzana       |
| Vitamina C , sulforafano       | Brócoli  |
| Carotenoide                    | Tomate   |
| Beta-caroteno (pro-vitamina A) | Zanahoria  |
| Polifenoles y flavonoides      | Uvas   |
| Flavonoides                    | Frutos rojos (fresas, arándanos, moras, frambuesas, cerezas) |
| Polifenoles                    | Té verde   |
| Flavonoide                     | Chocolate amargo, alcachofa                                  |

|   |                     |
|---|---------------------|
| Resveratrol, flavonoides, taninos                       | Vino tinto          |
| Vitamina E, polifenoles, betacarotenos                  | Aceites vegetales   |
| Vitamina A y carotenoides                               | Lácteos y huevos    |
| Vitamina E, ácido fólico, flavonoides, ácidos fenólicos | Cereales integrales |

Tomado de (Nerea, 2015)

### 3.3.4 Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles responsables del color rojo, azul o morado de flores, tallos, hojas y frutos (González, 2011). Las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas. Están formadas por una aglicona (antocianidina) unida por un azúcar mediante un enlace glucosídico. Existen aproximadamente 635 antocianinas. Entre las más frecuentes está la cianidina, delphinidina, pelargonidina, petunidina y peonidina, así como se puede observar en la Figura 4 (Castañeda & Guerrero, 2015).

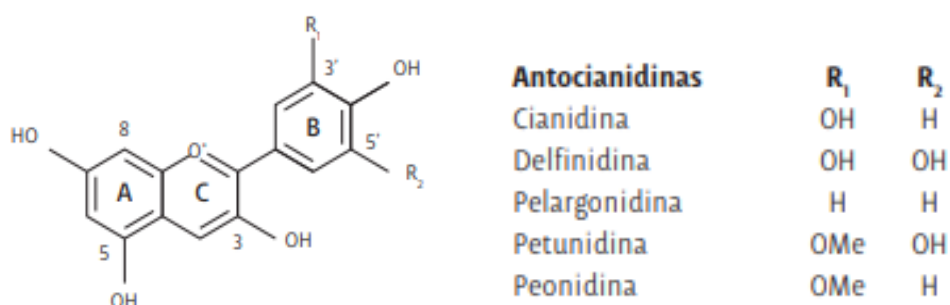


Figura 4. Antocianinas comunes en la naturaleza.

Tomado de (Castañeda & Guerrero, 2015).

Existen 5 antocianinas comunes con diversas estructuras y coloración, como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5.

*Antocianinas comunes.*

| <b>Antocianinas comunes</b>          | <b>Variaciones estructurales</b>                                | <b>Responsables del color</b> |
|--------------------------------------|---|-------------------------------|
| Pelargonidina                        | Posee dos sustituyentes hidrógenos responsables del color rojo. | Rojo                          |
| Cianidina                            | Tiene un sustituyente hidroxilo y un hidrógeno                  | Magenta                       |
| Delfinidina                          | Tiene dos sustituyentes hidroxilo                               | Azul                          |
| Petunidina<br>Cianidina<br>Peonidina | Se encuentran basadas en la delfinidina                         | Azul                          |

Adaptado de (Castañeda & Guerrero, 2015)

Las antocianinas pueden confundirse con carotenoides debido a que los dos compuestos son los encargados de dar color a hojas y flores, pero se diferencian porque los carotenoides dan únicamente color rojo, anaranjado o amarillo y no son solubles en agua porque éstos se encuentran unidos a las proteínas de los cloroplastos (EcuRed, s.f.).

Las antocianinas cumplen ciertas funciones en la planta como protección contra efectos ultravioletas, contaminación microbiana y viral, atracción de polinizadores para dispersión de semillas (Astrid, 2008).

### 3.3.5 Carotenoides

Son un grupo de compuestos denominados fuente básica de pigmentos en las plantas los cuales dan principalmente el color amarillo, anaranjado o rojo en tejidos no fotosintéticos y sintéticos. Existen, aproximadamente, 750 tipos de carotenoides. Sin embargo, los más estudiados son licopeno,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno y xantofilas la luteína, zeaxantina y criptoxantina. Sin embargo, cada año surgen nuevos componentes. Estos pigmentos se pueden obtener a partir de alimentos de origen animal. Se encuentran en ciertas frutas como ésteres de ácidos grasos, los cuales se hidrolizan en el lumen intestinal. Se dice que el tratamiento con calor y la homogeneización de los alimentos elevan la cantidad de carotenoides absorbibles. Los carotenoides, una vez absorbidos, son metabolizados. Por ejemplo, el  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -caroteno, los cuales se denominan provitamina A y presentan ciertos anillos carbonados que se rompen mediante la oxidación para formar retinoides. Dentro de su estructura se pueden dividir en dos grupos, como xantofilas y carotenos, con estructuras hidrocarbonadas, las cuales tienen en su estructura carbonada ciertos grupos como carboxi, hidroxilo, metoxi. Según estudios realizados por Gil 2010, en localidades donde el consumo de carotenoides es elevado, se estima que este compuesto puede asociarse con la disminución de ciertas enfermedades como: tipos de cáncer y degeneración muscular. Entre los carotenoides más estudiados se muestra que el  $\beta$ -caroteno, además de ser un antioxidante y anticancerígeno, puede elevar la función inmunitaria, además que el  $\beta$ -caroteno combinado con vitamina E, A, o sólo, eleva la mortalidad e incidencia de cáncer de pulmón en fumadores, mientras que el  $\beta$ -caroteno combinado con vitamina E y C, en bajas dosis, produce una defensa al riesgo de cáncer en fumadores. Pese a estos dos escenarios, se pretende que el  $\beta$ -caroteno previene enfermedades y su efecto va a depender de la dosis suministrada (Gil Á. , 2010).

### 3.4. Proteínas

Las proteínas son la unión de varios aminoácidos de manera lineal unidos por enlaces peptídicos. El orden de estos aminoácidos varía por el código genético

de las personas. Además, son nutrientes esenciales que pueden ser adquiridas por medio de los alimentos ya que el organismo requiere de éstas para su funcionamiento. Las proteínas aportan 4 calorías por gramo, similar a los hidratos de carbono, pero con la diferencia que éstas no aportan energía. Generalmente se estima que su consumo sea de 40 a 60 g diario, pero esto varía según el estado de salud o la edad de la persona (Alimente, 2018).

La unión de aminoácidos proporciona otras proteínas en el organismo y existen 20 aminoácidos, los cuales se deben tener en cuenta en la alimentación ya que son esenciales para las proteínas. Existen distintos tipos de aminoácidos:

- Esenciales: son aquellos que el organismo no los produce por si solo y deben ser obtenidos por medio de los alimentos. Dentro de ellos existen 8 tipos como leucina, fenilalanina, lisina, treonina, valina, triptófano, isoleucina y metionina.
- No esenciales: aquellos que el organismo puede sintetizar como prolina, alanina, glutamato, prolina, tirosina, serina y cisteína.

Todas las proteínas están compuestas por C-H-O-N (carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno) y se estiman que abarcan la mitad del peso de los tejidos del organismo, participan en los procesos biológicos y se encuentran en las células del cuerpo. Además, son esenciales para el crecimiento por su contenido de nitrógeno. Ayudan en el transporte de ciertos gases por medio de la sangre como dióxido de carbono y oxígeno. Son necesarias para reparar o formar otros tejidos, huesos o músculos, llevan ciertos nutrientes como lípidos, minerales o proteínas, son reguladoras y, otras, son defensivas por la formación de anticuerpos para frenar una enfermedad (Safont, 2019).

### **3.5 Fibra**

Las fibras son compuestos formados por polisacáridos, que no son lignina ni almidones, las cuales se encuentran presentes en verduras, frutas, leguminosas, semillas y granos (Pak, s.f.). La fibra es cierta parte de los alimentos que no

puede ser absorbida o digerida por nuestro cuerpo, pero tiene un papel fundamental en la dieta diaria y se estima que su consumo sea de 20-30 g/día (Clinic, s.f.).

Existen dos tipos de fibra, la fibra soluble, que es aquella que se encuentra presente en pulpas, cáscara, hojas, frutas, vegetales y cebada, y la fibra insoluble, que es aquella que se encuentra en cereales, trigo, pan integral, legumbres, verduras (apio) y frutas. La fibra soluble es fermentada por bacterias presentes en el colón, lo cual favorece el crecimiento de la flora intestinal. Tiene elevada cantidad de agua, lo que permite la formación de una solución viscosa en el intestino por lo que hace a la digestión más lenta. Por otro lado, la fibra insoluble tiene la capacidad de absorber agua, estimulando así, el tránsito intestinal favoreciendo su evacuación. Es decir, esta fibra es aquella que previene el estreñimiento (Amadin, 2013).

### **3.6 Azúcares totales**

Los azúcares son hidratos de carbono que aportan 4 Kcalorías/g. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el consumo de azúcar es 10 g por día, es decir, aproximadamente el 5% de la ingesta calórica (Gil P. , 2015).

Una molécula de azúcar está compuesta por átomos de oxígeno, carbono e hidrógeno, es decir, es un carbohidrato simple. Además, los azúcares son una fuente de energía importante para los organismos (Uriarte, 2018).

Dentro de los carbohidratos, los azúcares simples establecen unidades, las cuales forman moléculas de carbohidratos mayores como el almidón. Los encargados de dar dulzor a los alimentos son los azúcares simples. La cantidad de azúcares totales decreta la categoría de un alimento y el sabor final, aunque éste último depende de la temperatura de consumo, la mezcla y el tipo de azúcares (Microlab, s.f.).

### **3.7 Grasa**

Las grasas, o lípidos, son sustancias insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos como metanol y cloroformo. Están presentes en fuentes vegetales o animales, y son compuestas por triglicéridos, los cuales son ésteres de una molécula de glicerina con tres ácidos grasos (Sanz, s.f.).

Se denominan grasas, los aceites, ciertas vitaminas y hormonas, así como también componentes no proteicos de las membranas. Tanto en animales como plantas, los ácidos grasos predominantes son los ácidos oleico, linoleico, esteárico y palmítico. La mayoría de estos ácidos grasos poseen un número par de átomos de carbono. Generalmente, la mitad de las grasas de animales y plantas con insaturadas (tienen doble enlace) y continuamente poliinsaturados (tienen dobles o más enlaces) (Gimondi, Mas, & Mikkels, 2007).

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Materiales**

#### **4.1.1 Localización y preparación de la muestra**

La investigación se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP – LSAIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias) de la estación de Santa Catalina, el cual se encuentra ubicado en el cantón Mejía, Panamericana Sur Km 1 Cutuglagua, y en la Universidad de las Américas, en donde se procedió a la determinación de características físicas y químicas, compuestos bioactivos, además de azúcares, proteína, fibra y grasa.

El fruto obtenido se recolectó de la hacienda Ecuaforestar, ubicada en la Unión provincia de Esmeraldas, el cual pasó por un proceso de liofilización, en donde se elimina el agua presente en el fruto para conservación y evitar que éste pierda ciertas propiedades organolépticas.

Tanto para determinar las propiedades físicas (diámetro polar, diámetro longitudinal y peso) como las propiedades químicas (acidez, pH y humedad) se necesitó el fruto fresco.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Propiedades Físicas

Para la determinación de propiedades físicas del fruto milagroso se siguió los procedimientos utilizados en la Universidad de las Américas.

#### 4.2.1.1 Diámetro longitudinal

##### Equipos y materiales

- Pie de rey.

##### Procedimiento:

1. Tomar la fruta fresca.
2. Con ayuda del pie de rey medir el diámetro longitudinal (Figura 5).
3. Reportar resultados.
4. Realizar este procedimiento a 3 frutos.



Figura 5. Medida del diámetro longitudinal.

#### 4.2.1.2 Diámetro polar

##### Equipos y materiales



- Pie de rey.

**Procedimiento:**

1. Tomar la fruta fresca.
2. Con ayuda del pie de rey medir el diámetro polar (Figura 6).
3. Reportar resultados.
4. Realizar este procedimiento a 3 frutos.



Figura 6. Medida del diámetro polar.

**4.2.1.3 Peso****Equipos y materiales**

- Balanza analítica.

**Procedimiento:**

1. Tomar la fruta fresca y pesarla (Figura 7).
2. Realizar este procedimiento a 3 frutos.



Figura 7. Pesaje del fruto milagroso.

## 4.2.2 Propiedades Químicas

### 4.2.2.1 Determinación de acidez

Para la determinación de acidez presente en el fruto milagroso se siguió el procedimiento utilizado en la Universidad de las Américas, en donde se utilizó el método de (Nielsen, 2003).

#### Equipos y Materiales

- Balanza analítica.
- Matraz Erlenmeyer.
- Desechables de pesaje.
- Mortero.
- Equipo de titulación.
- Probeta.

#### Reactivos

- Fenolftaleína 0.1%.
- Alcohol.
- KOH 0.0025 N.

#### Procedimiento

1. Pesar 1 g de muestra fresca.
2. Colocar en el matraz Erlenmeyer y añadir 25 ml de alcohol.
3. Adicionar 1 gota de fenolftaleína 0.1%.
4. Llevar el matraz al equipo de titulación para empezar a titular con KOH 0.0025 N hasta que la muestra tenga un cambio de coloración (Figura 8a y 8b).
5. Calcular el índice de acidez.

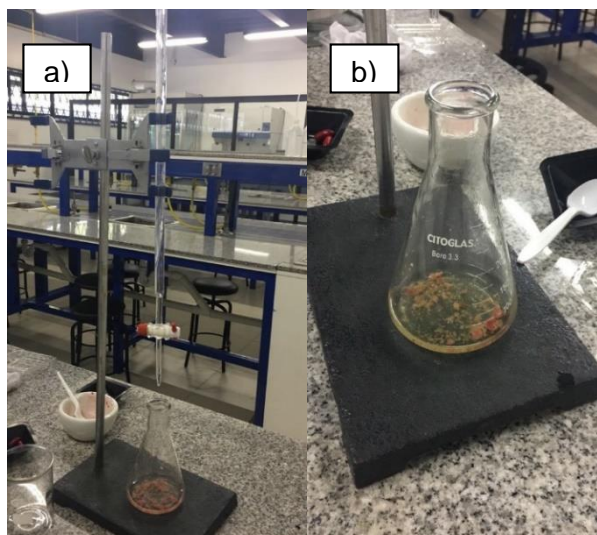


Figura 8. Procedimiento para determinar la acidez.

- a) equipo de titulación  
b) cambio de coloración en muestra.

### Cálculo

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{56.1 * N * V}{p}$$

Ecuación 1

Cálculo del índice de acidez

Donde:

N= Normalidad de KOH

V= Volumen usado de KOH

p= Peso de la fruta

### 4.2.2.2 Determinación de pH

Para la determinación de pH en el fruto milagroso se siguió el procedimiento utilizado en la Universidad de las Américas.

### Equipos y Materiales

- Vasos de precipitación.

- Balanza analítica.
- Desechables de pesaje.
- Mortero.
- Probeta.
- Potenciómetro.

### Reactivos

- Agua destilada.

### Procedimiento

1. Pesar 1 g de muestra fresca.
2. Machacar la muestra, colocar en el vaso de precipitación y añadir 100 ml de agua destilada (Figura 9a).
3. Mezclar y medir el pH con ayuda del potenciómetro (Figura 9b).

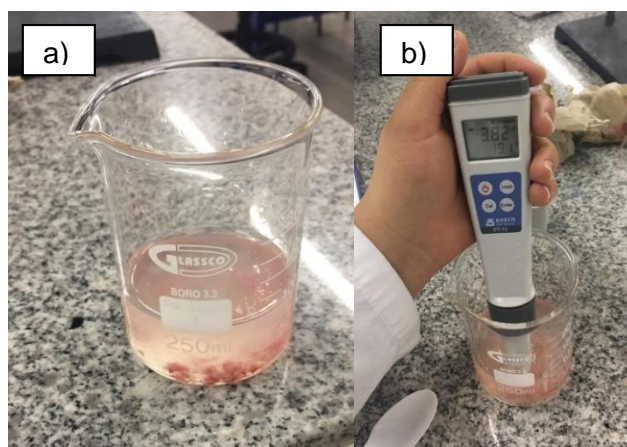


Figura 9. Procedimiento para medir el pH.

- a) mezcla de muestra  
b) medida de pH.

#### 4.2.2.3 Determinación de Humedad PS (parcialmente seco)

La determinación de humedad presente en el fruto milagroso se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de U. Florida (1970). La humedad de la muestra se pierde por la volatilización principalmente

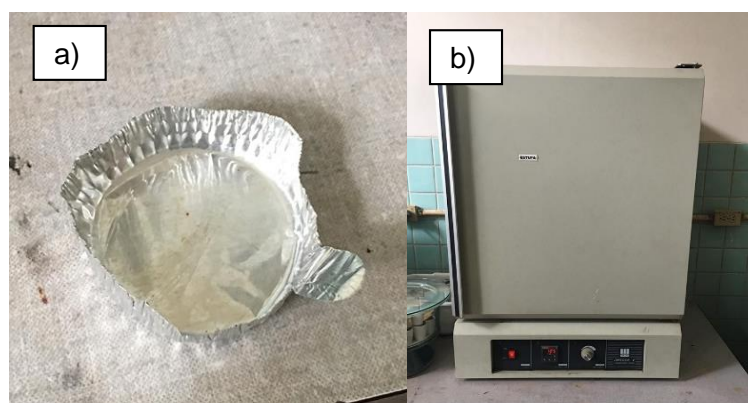
por el calor. La cantidad de material residual después de ser eliminada la humedad constituye materia seca.

### Equipos y Materiales

- Lata de aluminio.
- Estufa.
- Pinza metálica.
- Balanza analítica.
- Espátula.
- Desecador.

### Procedimiento

1. Pesar una lata de aluminio vacía y notar el peso.
2. Pesar en la lata de aluminio 2 g de la muestra fresca.
3. Llevar la muestra a la estufa a 105°C durante 12 horas.
4. Sacar los recipientes con la muestra y dejarlos enfriar en un desecador.
5. Pesar los recipientes enfriados.
6. Determinar la cantidad de humedad presente en la muestra.



*Figura 10.* Procedimiento para determinación de Humedad.

- a) lata de aluminio.  
b) estufa para determinar la humedad.

## Cálculo

$$\%H = \frac{Prms - Pr}{Prmh - Pr} * 100$$

Cálculo del % de Humedad

Ecuación 2

Donde:

%H= Porcentaje de humedad

Prms= Peso del recipiente más la muestra seca

Pr= Peso del recipiente

Prmh= Peso del recipiente más la muestra húmeda

### 4.2.3 Compuestos bioactivos

Para la determinación de polifenoles, capacidad antioxidante y flavonoides, se procedió a realizar una extracción de la muestra del fruto milagroso liofilizado siguiendo el método de Gallegos José (2012) como se detalla a continuación.

#### Equipos y Materiales

- Ultrasonido.
- Mezclador.
- Centrífuga.
- Balones 25 ml.

#### Reactivos

- Solución extractora (Acetona: Agua: Ac. Fórmico) **(70:30:0,1)**.

#### 4.2.3.1 Extracción de la muestra

1. Pesar 0,3 g de la muestra liofilizada en 3 tubos plásticos.

2. Añadir 5 ml de solución extractora (Acetona: Agua: Ac. Fórmico) **(70:30:0.1)**.
3. Tapar los tubos y agitar, durante 5 minutos, en el agitador.
4. Llevar las muestras al ultrasonido por 10 minutos.
5. Llevar las muestras a la centrifuga por 10 minutos.
6. Pasar sólo la parte líquida a un balón de 25 ml y volver a repetir todo el procedimiento desde el punto 2, por 3 veces más.

En total se realizó cuatro extracciones, a cada uno de los 3 tubos plásticos por triplicado, como se muestra en la Figura 11.



*Figura 11.* Extracción por triplicado de la muestra.

#### **4.2.3.2 Determinación de polifenoles totales**

La determinación de polifenoles presente en el fruto milagroso se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Cross, Villeneuve y Vincent (junio 1982), el cual tiene una reacción colorimétrica azul por el reactivo Folin & Ciocalteu, como se muestra en la Figura 12, para luego ser cuantificada en el espectrofotómetro con una longitud de onda de 760 nm.

#### **Equipos y Materiales**

- Micro pipeta.
- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Baño maría.

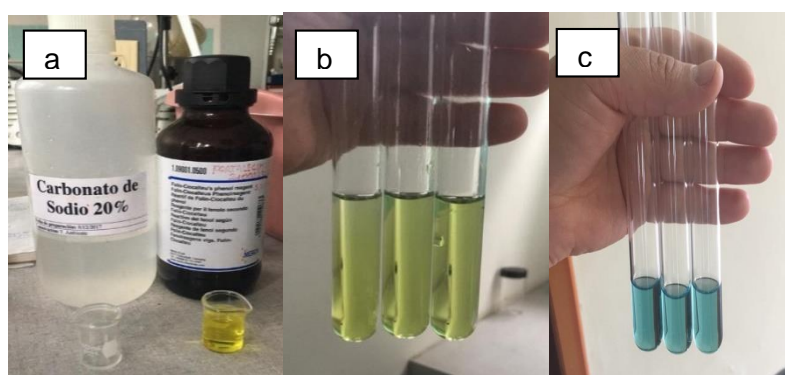
- Agitador vortex.
- Balanza analítica.
- Tubos de ensayo.

### Reactivos

- Agua bidestilada.
- Reactivo Folin & Ciocalteu.
- Solución carbonato de sodio al 20%.
- Ácido gálico monohidratado, sigma G 8647.

### Procedimiento

- Una vez obtenida la extracción, que se realizó anteriormente en el punto 4.2.3.1, realizar un factor de dilución 5.
- De la dilución, tomar 1 ml en un tubo de ensayo, añadir 6 ml de agua bidestilada y 1 ml del reactivo Folin & Ciocalteu.
- Esperar tres minutos y añadir 2 ml de la solución carbonato de sodio al 20%.
- Agitar en el vortex y llevar los tubos a baño maría por 2 minutos a 40°C.
- Llevar la muestra al espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 760 nm.
- Determinar la cantidad de polifenoles en la muestra.



*Figura 12.* Procedimiento para determinación de polifenoles.

- a) reactivos.  
b) presencia de grupos fenólicos.  
c) reacción colorimétrica azul.



## Cálculo

$$\frac{mg}{g} \text{ Ácido Gálico} = \frac{a * b * d * f}{p}$$

Determinación de polifenoles

Ecuación 3

Donde:

a = Concentración de ácido gálico obtenido a partir de la curva de calibración

(mg/L)

b = Volumen del extracto (1 mL)

d = Factor de dilución (5)

f = Factor para transformar unidades de volumen (f = 0.001)

p = Peso de muestra (g)

### 4.2.3.3 Determinación de capacidad antioxidante

La determinación de capacidad antioxidante en el fruto milagroso se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP, siguiendo el método de Henríquez, Aliaga, & Lissi, (2002) y de Re, Pellegrini, & Proteggente. (s.f) Este método permite medir la habilidad del antioxidante para estabilizar el catión radical ABTS<sup>+</sup>. Este radical es generado por enzimas (mioglobina, peroxidasa), o químicamente, el cual presenta cambios de absorción a 414, 645, 734 y 815 nm.

#### Equipos y Materiales

- Micro pipeta.
- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Agitador vortex.
- Balanza analítica.
- Tubos de ensayo.

#### Reactivos

- Agua bidestilada.

- Solución ABTS
- Persulfato de potasio).
- Solución amortiguadora de fosfatos pH 7,4 (fosfato sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico).

### Procedimiento

- Preparar la solución activada ABTS<sup>+</sup> un día antes del análisis con una relación 1:1 (2 ml de la solución ABTS con 2 ml de persulfato de potasio) en un frasco ámbar.
- Diluir la solución activada ABTS<sup>+</sup> con buffer fosfato hasta llegar a una absorbancia de 1,1 con una longitud de onda 734 nm.
- Con la misma extracción de la muestra que se realizó anteriormente, según el punto 4.2.3.1, se realiza un factor de dilución 100.
- Tomar 200  $\mu$ L de la muestra diluida y añadir 3800  $\mu$ L de solución ABTS<sup>+</sup> con la absorbancia de 1,1 en un tubo de ensayo (Figura 13a).
- Agitar los tubos y dejar reposar por 45 minutos.
- Medir la absorbancia de cada muestra con una longitud de onda de 734 nm (Figura 13b).
- Finalmente, calcular la absorbancia de las muestras.

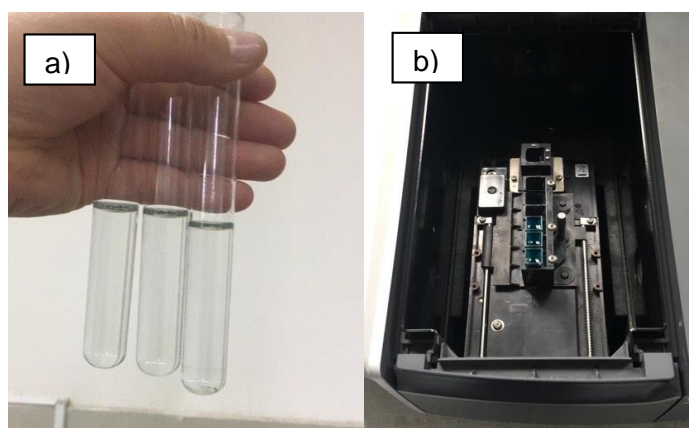


Figura 13. Procedimiento para determinación de capacidad antioxidante.

- a) Preparación de la muestra.
- b) lectura de la absorbancia.

## Cálculos

$$\text{ABS}_{\text{muestra y/o patrón trólox}} = \text{ABS}_{\text{solución de trabajo inicial}} - \text{ABS}_{\text{muestra 45 min}} - \text{ABS}_{\text{blanco}}$$

Determinación de la Absorbancia Neta

Ecuación 4

### 4.2.3.4 Determinación de flavonoides

La determinación de flavonoides presente en el fruto milagroso se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Salamanca, Correa, & Principal, 2007, el cual describe que los flavonoides son compuestos que contienen aproximadamente tres hidroxilos fenólicos, lo cual hace que su reactividad y clasificación se facilite frente al tricloruro de aluminio. Al reaccionar el cloruro de aluminio con los flavonoides se forma un color rosa en medio básico.

#### Equipos y Materiales

- Micro pipeta.
- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Baño maría.
- Agitador vortex.
- Balanza analítica.
- Tubos de ensayo.

#### Reactivos

- Agua bidestilada.
- Nitrito de sodio al 5%.
- Cloruro de aluminio al 10%.
- NaOH 1N.

#### Procedimiento

- Con la misma extracción de la muestra que se realizó anteriormente, según el punto 4.2.3.1, se realiza un factor de dilución 5 (Figura 14a).
- Coger 1 mL de la muestra diluida y añadir 4 ml de agua bidestilada y mezclar.
- Agregar 0,3 mL de nitrito de sodio al 5%, agitar en el vortex y esperar 5 minutos.
- Añadir 0,3 mL de cloruro de aluminio al 10% y esperar 5 min.
- Adicionar 2mL de NaOH 1N en donde la solución cambia de amarillo a rosado.
- Aforar con agua destilada hasta 10 ml y mezclar la muestra.
- Llevar las muestras al espectrofotómetro para medir la absorbancia con una longitud de onda de 490 nm.



Figura 14. Procedimiento para determinación de flavonoides.

- a) muestra diluida  
b) reactivos

#### 4.2.3.5 Determinación de antocianinas

La determinación de antocianinas presente en el fruto milagroso se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Rapisarda, Fanella y Maccarone (2000), el cual nos da como principio que las antocianinas son los pigmentos responsables de dar el color rojo a ciertas frutas. Las antocianinas sufren cambios en su estructura cuando el pH varía, es decir,

cuando están a pH 1,0 presentan alta coloración de oxonium con forma flavonoide y cuando están a pH 4,5 tienen menos color y predominan en forma de carbinol.

### **Equipos y Materiales**

- Micro pipeta.
- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Agitador vortex.
- Balanza analítica.
- Tubos plásticos.
- Agitador.
- Ultrasonido.
- Centrífuga.
- Balones aforados.

### **Reactivos**

- Solución buffer pH 1,0.
- Solución buffer pH 4,5.

Para la determinación de antocianinas, se debe realizar primero una extracción de la muestra, como se detalla a continuación.

#### **4.2.3.5.1 Extracción de la muestra**

1. Pesar 0,2 g de la muestra liofilizada en tubos plásticos.
2. Añadir 10 ml de buffer pH 1,0.
3. Tapar los tubos y agitar durante 5 minutos en el agitador.
4. Llevar las muestras al ultrasonido por 10 minutos.
5. Llevar las muestras a la centrifuga por 10 minutos.
6. Pasar sólo la parte líquida a un balón de 25 ml y volver a repetir todo el procedimiento desde el punto 2 por 3 veces más.

7. Realizar el mismo procedimiento desde el punto 1 con la solución buffer pH 4,5 por 3 veces más.

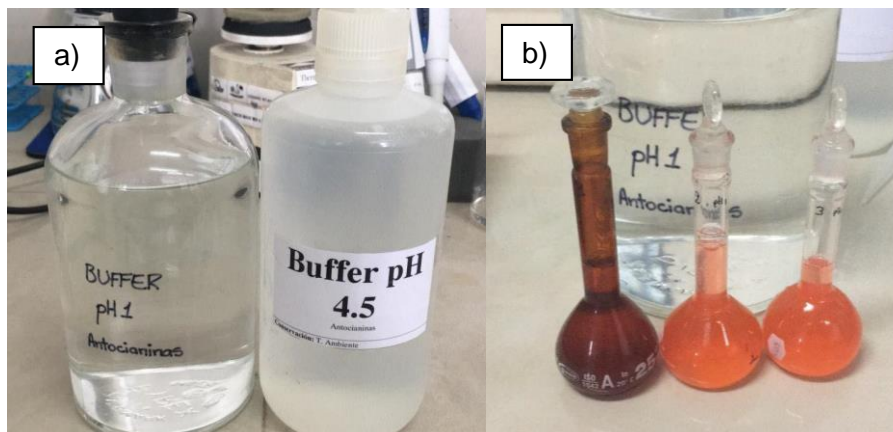


Figura 15. Extracción de la muestra para determinación de antocianinas:

- a) buffer pH 1 y pH 4,5.  
b) extracción de muestras.

### Procedimiento para determinación de antocianinas

- Realizar un factor de dilución 5 en las extracciones con solución buffer pH 1,0.
- Las extracciones con solución buffer pH 4,5 no necesitan dilución.
- Llevar las muestras al espectrofotómetro para medir las absorbancias a 510 nm y 700 nm.

### Cálculo

$$\text{Antocianinas totales} \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{A}{\epsilon * b} * \frac{Vt}{Pm} PM * 100$$

Determinación de antocianinas

Ecuación 5

Donde:

A= Diferencia de absorbancia entre pH 1,0 y 4,5.

$\epsilon$  = Coeficiente de absortividad ( $24825 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

b= Ancho de la celda (1 cm)

Vt= Volumen total (25 ml)

Pm = Peso de la muestra (0.2 g)

PM= Peso molecular de cyanidin-3-glucoside chloride ( $484,82 \text{ g/mol}$ )

#### 4.2.3.6 Determinación de carotenoides totales

La determinación de carotenoides totales presente en el fruto milagroso se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Leong y Oey (2012).

#### Equipos y Materiales

- Micro pipeta.
- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Balanza analítica.
- Pipetas Pasteur.
- Balones aforados 25ml.
- Tubos de vidrio para centrífuga.
- Agitador.
- Ultrasonido.
- Centrífuga.

#### Reactivos

- $\text{CaCl}_2$ .
- Solución de extracción (50% Hexano, 25% Etanol, 25% Acetona, 0,1% BHT).

## Procedimiento

1. Pesar 0,2 g de muestra liofilizada en tubos de vidrio.
2. Añadir 5 ml de la solución extracción.
3. Adicionar 0,5 g de  $\text{CaCl}_2$  y agitar 5 minutos.
4. Llevar las muestras al ultrasonido por 10 minutos (Figura 16a).
5. Llevar las muestras a la centrifuga por 10 minutos.
6. Añadir 2 ml de agua a los tubos para separar la fase orgánica y acuosa.
7. Retirar la fase orgánica con ayuda de pipetas Pasteur (Figura 16b), pasar a un balón aforado de 25 ml y desechar fase acuosa (Figura 16c).
8. Volver a repetir el procedimiento desde el punto 2 según los ciclos de extracción determinados en el método (4 ciclos de extracción).
9. Llevar las muestras al espectrofotómetro para medir la absorbancia a 450 nm.

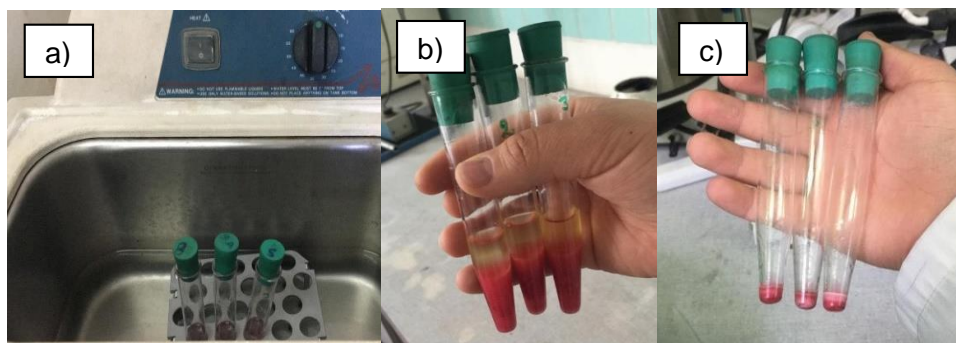


Figura 16. Procedimiento para determinación de carotenoides.

- a) ultrasonido.  
b) fase orgánica.  
c) fase acuosa.

## Cálculo

$$CT = \frac{A * V * 10^{-3} * WM * 10^6}{\epsilon * b * PM}$$

Ecuación 6

Determinación del contenido de carotenoides

Donde:



CT= Contenido de carotenoides totales en  $\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

A= Absorbancia

$\epsilon$ = Coeficiente de absortividad del  $\beta$  caroteno en  $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$

b= Ancho de la celda en cm

V= Volumen total en mL

PM= Peso de la muestra en g

WM= Masa molecular del  $\beta$  caroteno en  $\text{g/mol}$  (536.8726  $\text{g/mol}$ )

#### 4.2.4 Determinación de proteína

Para la determinación de proteína presente en el fruto milagroso se siguió el procedimiento utilizado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP.

#### Equipos y Materiales

- Tubo de digestión.
- Papel bond tarado.
- Equipo analizador de proteína FOSS Kjeltect<sup>TM</sup> 8400.
- Balanza.

#### Reactivos

- Ácido sulfúrico.
- Pastillas catalizadoras.
- Solución receptora (ácido bórico al 4%).
- Solución alcalina (hidróxido de sodio al 50 % y agua destilada).
- Ácido clorhídrico al 0,3135 N.
- Indicador mixto conformado de rojo de metilo y verde de bromocresol.

#### Procedimiento

Para la obtención de proteína se procedió a tomar la muestra liofilizada de fruto milagroso y, a continuación, se realizó el siguiente procedimiento.

a) Digestión

- Llevar a la balanza la muestra liofilizada, pesar 1 g, colocarlo en un papel bond tarado y posteriormente doblado hasta formar un paquete pequeño.
- Depositar en el tubo digestor con 20 ml de ácido sulfúrico y 2 pastillas catalizadoras.
- Dejar la muestra en el digestor a 400°C, durante aproximadamente 1 hora, (Figura 17) o hasta observar que la solución presente un color verdoso, lo cual nos determina que se logró eliminar la materia orgánica en su totalidad.
- Sacar los tubos del digestor y dejar enfriar.

b) Determinación

- Una vez fríos los tubos, se deben colocar en el equipo analizador de proteína (FOSS Kjeltec™ 8400).
- Posteriormente, añadir 40 ml de solución receptora (ácido bórico al 4%, en combinación del indicador mixto conformado de rojo de metilo y verde de bromocresol) y adicionar la solución alcalina de hidróxido de sodio al 50% y 40 ml de agua destilada.
- Finalmente, el equipo titula con ácido clorhídrico al 0,3135 N y los resultados son proporcionados por el equipo.



*Figura 17.* Equipo digestor para determinación de proteína.

#### 4.2.5 Determinación de fibra

Para la determinación de fibra cruda presente en el fruto milagroso se siguió el procedimiento utilizado en la Universidad de las Américas.

#### Equipos y Materiales

- Digestor de fibra (enzimático).
- Digestor de fibra (unidad de filtración).
- Vaso de precipitación 250 ml.
- Crisol.
- Papel aluminio.
- Agitadores.
- Balanza.
- Mufla.
- Termómetro.
- Potenciómetro.
- Mortero y pistilo.

#### Reactivos

- Buffer de fosfato.
- 100  $\mu$ L alfa-amilasa.
- Agua destilada.
- Solución: NaOH 0275N.
- 100  $\mu$ L proteasa.
- 200  $\mu$ L de solución alfa-aminoglucosidasa.
- Etanol.
- Celita.
- Solución: HCl 0325 N.

#### Procedimiento

Para la obtención de fibra cruda se procedió a tomar muestra fresca de fruto milagroso y se siguieron los siguientes pasos

1. Pesar 1 g de muestra fresca.
2. Triturar la muestra.
3. Colocar en un vaso de precipitación 50 ml de buffer fosfato (0.08M pH 6.0), 1 g de muestra, 100  $\mu$ L de alfa-amilasa, añadir un agitador
4. Tapar con papel aluminio y llevar al digestor de fibra (enzimático) a 90°C por 30 minutos.
5. Dejar enfriar a temperatura ambiente y medir el pH.
6. Regular el pH hasta 6.5 – 7.5 con la solución NaOH.
7. Colocar en el vaso de precipitación 100  $\mu$ L proteasa, tapar con papel aluminio y llevar al digestor de fibra (enzimático) a 60°C por 30 minutos (Figura 18a).
8. Dejar enfriar a temperatura ambiente y medir el pH.
9. Regular el pH hasta 4.5 - 5 con la solución HCl.
10. Colocar en el vaso de precipitación 200  $\mu$ L de alfa-aminoglucosidasa, tapar con papel aluminio y llevar al digestor de fibra (enzimático) a 60°C por 30 minutos.
11. Añadir 200 ml de etanol en el vaso de precipitación.
12. Colocar 1 g de celita en el crisol y llevar a la mufla a 350°C por 6 minutos.
13. Subir a 480°C por 6 minutos, 550°C por 6 minutos para mantener el peso constante y pesar el crisol (Figura 18c).
14. Llevar el crisol al digestor de fibra (unidad de filtración) y colocar la muestra para su filtración al vacío (Figura 18b).
15. Finalmente, pasar el crisol a la mufla, aproximadamente una hora, para eliminar la cantidad de humedad presente en la muestra.
16. Pesar el crisol para determinar la cantidad de fibra cruda (Figura 18c).



Figura 18. Procedimiento para determinación de fibra.

- a) digestor de fibra.
- b) unidad de filtración.
- c) mufla.

### Cálculo

$$\%Fibra = \frac{Pcs - Pcc}{Pm} * 100$$

Determinación de fibra

Ecuación 7

Donde:

Pcs= Peso crisol seco

Pcc= Peso crisol después de incinerar

Pm= Peso muestra

#### 4.2.6 Determinación de azúcares totales

La determinación de azúcares totales presente en el fruto milagroso se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Antrona de Dubois, M. Hamilton J.K. (1956). La Antrona es aquella que reacciona con aldopentosas y hexosas con el fin de obtener un color azul – verdoso con un máximo de absorbancia de 625 nm. Cuando una proteína posee presencia de triptófano, ésta da un color rojo y puede detener la reacción. Este método usado

es sensible, por lo que permite dosificar concentraciones de azúcares de 0 a 50 mg/L, y por esta sensibilidad es necesario realizar diluciones en la muestra que se va analizar.

### **Materiales y Equipos**

- Balanza Analítica.
- Baño María.
- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Reverberos.
- Embudos.
- Porta embudos.
- Erlenmeyer.
- Papel filtro.
- Balones aforados.
- Tubos de ensayo.
- Pipetas.

### **Reactivos**

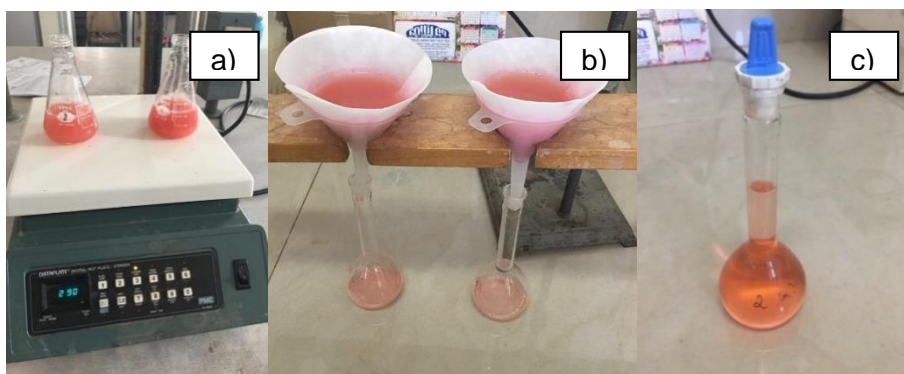
- **Solución de Antrona:** 100 mg de Antrona + 50 ml ácido sulfúrico concentrado.
- **Solución estándar de glucosa 50 mg/L**  
Pesar 0.5 g glucosa ( $C_6H_{12}O_6$ ).  
Disolver y aforar a 100 ml con agua destilada.  
Tomar 1 ml y diluir a 100 ml.
- **Ácido sulfúrico concentrado  $H_2SO_4$ :** concentración 95-97%.

Para la determinación de azúcares totales, se debe realizar primero una extracción de la muestra, cómo se detalla a continuación, y se muestra en la Figura 19.

#### **4.2.6.1 Extracción de muestra:**

1. Pesar 1 g de muestra liofilizada.

2. Colocar la muestra anteriormente pesada + 75 ml de agua bidestilada en un vaso de precipitación.
3. Agitar la mezcla durante 1 hora (Figura 19a).
4. Filtrar la muestra con ayuda de porta embudos y papel filtro cualitativo (Figura 19b).
5. Aforar la muestra en un balón de 100 ml (Figura 19c).
6. Se realizó 3 repeticiones de una sola muestra.



*Figura 19.* Extracción de muestra para la determinación de azúcares totales.

- a) agitación de la muestra.  
b) filtrado.  
c) aforado de la muestra.

#### **Procedimiento para determinar azúcares totales:**

- Una vez aforado el extracto se debe realizar un factor de dilución 100.
- De la dilución, tomar 1,25 ml de muestra, y añadir 2,5 ml del reactivo de Antrona en un tubo de ensayo (Figura 20a).
- Agitar la mezcla y colocar en baño maría 10 min (Figura 20b).
- Dejar enfriar los tubos de ensayo 10 minutos y agitar.
- Finalmente, leer la absorbancia a 625 nm para proceder a realizar el cálculo.

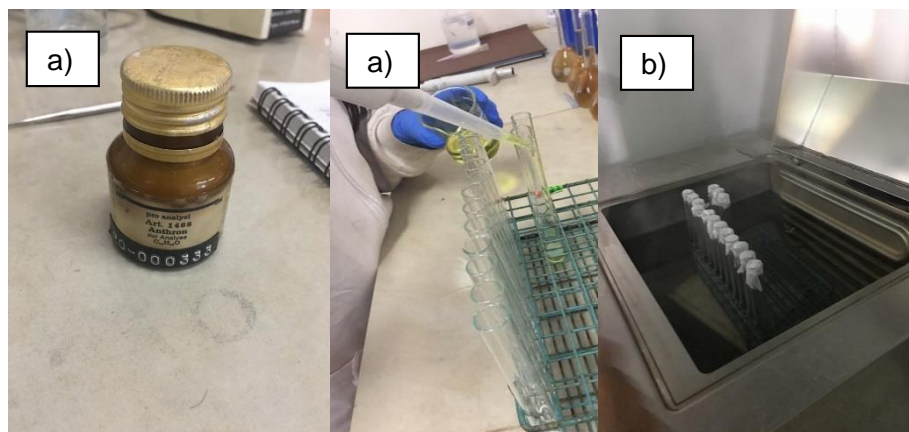


Figura 20. Procedimiento para determinar azúcares totales.

- a) adición de Antrona.  
b) muestras en baño maría.

### Cálculo

$$\% \text{ Azúcares totales} = \frac{LR \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) * V(\text{ml}) * FD * 10^{-6} \left( \frac{\text{g}}{\mu\text{g}} \right)}{Pm(\text{g})} * 100$$

Determinación de azúcares totales

Ecuación 8

Donde:

LR= Concentración obtenida de la curva de calibración

V= Volumen final

FD= Factor de dilución

Pm= Peso de la muestra

#### 4.2.7 Determinación de grasa

Para la extracción de grasa se siguió el procedimiento de la Universidad de las Américas en donde se utilizó el Método de Soxhlet (James, 1999).

#### Equipos y Materiales

- Cartucho de celulosa.



- Algodón.
- Mortero y pistilo.
- Balón aforado.
- Soxhlet.
- Balanza analítica.
- Placa calefactora.

### **Reactivos**

- Éter etílico.

### **Procedimiento**

Para la obtención de grasa se procedió a tomar muestra fresca de fruto milagroso:

1. Armar el equipo extractor Soxhlet.
2. Pesar 3 g de fruta fresca.
3. Triturar la muestra.
4. Pasar la muestra triturada al cartucho de celulosa y taparlo con algodón.
5. Conectar el matraz al extractor y colocar el cartucho con la muestra en el equipo.
6. Agregar el disolvente (éter etílico).
7. Calentar el balón con la placa calefactora.
8. Una vez extraída la grasa, retirar el disolvente, el cartucho y matraz.
9. Pesar el matraz.
10. Calcular el porcentaje de grasa.

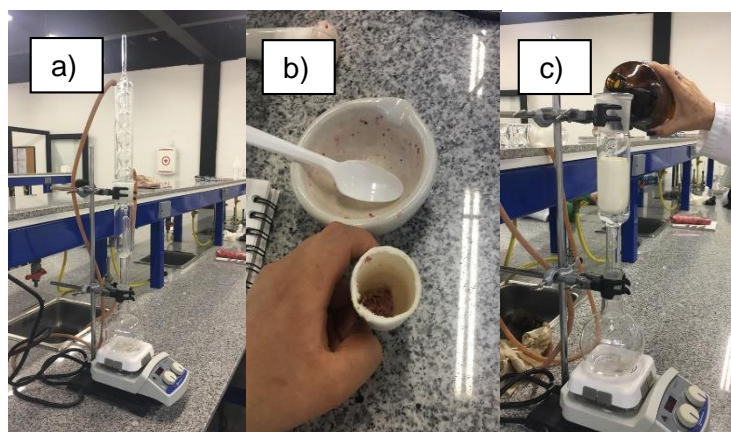


Figura 21. Procedimiento para la extracción de grasa.

- a) equipo extractor Soxhlet.
- b) muestra en cartucho de celulosa.
- c) adición del disolvente.

### Cálculo:

$$\%Grasa = \frac{Pvr - Pv}{Pm} * 100$$

Determinación de grasa

Ecuación 9

Donde:

Pvr= Peso del recipiente + residuo

Pm= Peso de la muestra

Pv= Peso del recipiente limpio

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Propiedades físicas

#### 5.1.1 Diámetro longitudinal

La determinación del diámetro longitudinal se realizó por triplicado siguiendo el procedimiento de la Universidad de las Américas descrito en el punto 4.2.1.1, en

donde se obtuvo un resultado promedio de 9,3 mm (0,93 cm) como se puede observar en la Tabla 6. Este resultado es cercano al obtenido por (Pietro, s.f.), en donde dice que los frutos de color rojo brillante en su madurez presentan un diámetro longitudinal (ancho) de 1 cm.

Tabla 6.

*Resultados del diámetro longitudinal.*

| <b>Muestra (fruto fresco)</b> | <b>Medida (mm)</b> | <b>Medida (cm)</b> |
|-------------------------------|--------------------|--------------------|
| 1                             | 10                 | 1                  |
| 2                             | 10                 | 1                  |
| 3                             | 8                  | 0,8                |
| <b>Promedio</b>               | <b>9,3</b>         | <b>0,93</b>        |

### 5.1.2 Diámetro polar

Se realizó la medición del diámetro polar por triplicado siguiendo el método de la Universidad de las Américas descrito en el punto 4.2.1.2, en donde se obtuvo como resultado un promedio de 18.67 mm (1.86 cm) (Tabla 7).

Tabla 7.

*Resultados del diámetro polar.*

| <b>Muestra (fruto fresco)</b> | <b>Medida (mm)</b> | <b>Medida (cm)</b> |
|-------------------------------|--------------------|--------------------|
| 1                             | 20                 | 2                  |
| 2                             | 18                 | 1.8                |
| 3                             | 18                 | 1.8                |
| <b>Promedio</b>               | <b>18.67</b>       | <b>1.86</b>        |

El diámetro polar de la muestra analizada de la Unión tiene como resultado 1,86 cm, a diferencia del resultado obtenido en la Universidad Regional Autónoma de

los Andes (Terán, 2015), en donde la baya ovalada de fruto milagroso mide, aproximadamente, 3 cm, mientras que el resultado obtenido en la Universidad de Guayaquil (Jouvin, 2016) da un tamaño de 2-2.5 cm para el fruto de forma ovalada. Según (Pietro, s.f.), los frutos dentro de su madurez presentan aproximadamente un diámetro polar de 2 cm, dando como conclusión que puede existir cierta variación en su medida debido a ciertos factores edafoclimáticos.

### 5.1.3 Peso

La determinación del peso del fruto milagroso se realizó en la Universidad de las Américas, como se explica en el punto 4.2.1.3, dando como resultado un peso promedio de 1,28 g (Tabla 8).

Tabla 8.

*Resultados obtenidos en peso.*

| <b>Muestra (fruto fresco)</b> | <b>Peso (g)</b> | <b>Promedio (g)</b> |
|-------------------------------|-----------------|---------------------|
| 1                             | 1,43            | 1,28                |
| 2                             | 1,21            |                     |
| 3                             | 1,21            |                     |

## 5.2 Propiedades químicas

### 5.2.1 Acidez titulable

La determinación de acidez se realizó en la Universidad de las Américas mediante el método de Nielsen, 2000, como se explica en el punto 4.2.2.1, dando como resultado una acidez promedio de 0,60% (Tabla 9).

Tabla 9.

*Resultados de acidez titulable en peso fresco.*

| <b>Muestra<br/>(fruto fresco)</b> | <b>Acidez (%) en<br/>base fresca</b> | <b>Promedio (%) en<br/>base fresca</b> |
|-----------------------------------|--------------------------------------|--|
| 1                                 | 0,63                                 | 0,60                                   |
| 2                                 | 0,59                                 |  |

La acidez obtenida fue comparada con otros frutos rojos para determinar si existen diferencias o semejanzas entre ellos. El resultado de esta comparación se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10.

*Acidez de frutos rojos.*

| <b>FRUTO</b>                                     | <b>Acidez<br/>(%)</b> | <b>Referencia</b>  |
|--|-----------------------|--|
| <b>Fruto milagroso</b>                           | 0,60                  | Presente trabajo   |
| Arándano azul<br>( <i>Vaccinium corymbosum</i> ) | 0,65                  | (González M. ,<br>2006)                                  |
| Mora ( <i>Rubus</i> sp)                          | 0,70                  |  |
| Fresa ( <i>Fragaria</i> sp)                      | 1,01                  |  |
| Cereza (Sonata)                                  | 1,02                  | (Díaz, Valero,<br>Castillo, Martínez, &<br>Zapata, 2013) |
| Frambuesa  | 1,92                  | (Yanez, 2013)  |

Como podemos observar en la Tabla 10, el porcentaje de acidez de frutos rojos se encuentra en un rango de 0,65% a 1,92%, mientras que el del fruto milagroso es menor (0,65%). Según la Universidad Austral de Chile, (PINTO, C, 2007), la acidez titulable indica el porcentaje de ácidos orgánicos presentes en el fruto. Por lo cual, cada fruta tiene un ácido orgánico predominante y es allí donde

existen ciertas diferencias, pero los más abundantes son ácido málico y ácido cítrico.

### 5.2.3 pH

La medición de pH se realizó en la Universidad de las Américas siguiendo el procedimiento descrito en el punto 4.2.2.2 en donde se obtuvo un pH promedio de 3,81 (Tabla 11), a diferencia del resultado obtenido en la Universidad de Guayaquil (Jouvin, 2016), que fue de pH 4. El valor de pH puede variar debido a diferentes factores, como, por ejemplo, el solvente (agua, alcohol, etanol) utilizado para la mezcla, la temperatura en que se encontraba la muestra y la parte del fruto que se usó. Además, el pH es una característica importante con respecto a la maduración del fruto debido a que si éste se encuentra en su óptimo grado de madurez, el pH es alto, pero al progresar su maduración, éste disminuye lo cual puede ser otro factor que influye en esta medición.

Tabla 11.

*Resultados de pH en peso fresco.*

| <b>Muestra<br/>(fruto fresco)</b> | <b>pH<br/>en base fresca</b> | <b>Promedio<br/>en base fresca</b> |
|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| 1                                 | 3.80                         | 3.81                               |
| 2                                 | 3.82                         |                                    |

### 5.2.4 Humedad

El porcentaje de humedad de la muestra liofilizada del fruto milagroso se realizó por duplicado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP, siguiendo el método de la Universidad de Florida (1970) descrito en el punto 4.2.2.4. Para determinar la humedad se realizó el proceso por duplicado. Los resultados se pueden observar en la Tabla 12.

Tabla 12.

*Resultados del porcentaje de humedad en base fresca.*

| <b>Muestra<br/>(fruto fresco)</b> | <b>Peso de<br/>materia fresca</b> | <b>% Humedad<br/>base fresca</b> | <b>% Promedio<br/>base fresca</b> |
|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1                                 | 16,42                             | 83,58                            | 83,37                             |
| 2                                 | 16,83                             | 83,17                            |                                   |

La muestra liofilizada que se analizó de la hacienda Ecuaforestar presentó una humedad promedio de 83,37% en base fresca, utilizando cáscara y baya, mediante el procedimiento del departamento de Nutrición y Calidad del INIAP, en donde se somete la muestra fresca de 2g, a una temperatura de 105°C por 12 horas. En comparación con el estudio de (Njoku & Ekwueme, 2014), en el cual la pulpa proviene de Uke estado de Anambra, Nigeria, la humedad promedio fue de 59,55% utilizando la pulpa y sometiendo a 110°C con 1,5 a 2 g de muestra. Además, Inglett y Chen realizaron estudios en Estados Unidos donde se estima que la humedad del fruto fresco es 65,33%. Se concluye que los datos varían según el método utilizado, la cantidad de muestra usada y la parte analizada de la baya, como en este caso, existe más humedad en cáscara y pulpa que únicamente en la pulpa. Según (Frazier y Wwstoff, 1978), el contenido de humedad presente en una fruta es el índice de actividad de agua, la cual es una medida de contaminación microbiana, ya que, si la fruta presenta mucha humedad, ésta puede tener un corto plazo de vida útil.

### **5.3 Compuestos Bioactivos**

#### **5.3.1 Polifenoles totales**

Los polifenoles totales se realizaron por triplicado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Cross, E., Villeneuve, F., Vincent J.C (1982), descrito en el punto 4.2.3.2, y dando como resultado un

promedio de 34,64 mg ácido gálico/g, en base seca, como se observa en la Tabla 13.

Tabla 13.

*Resultados de polifenoles totales expresados en base seca.*

| Factor de Dilución<br>(FD): 5 | Muestra | Concentración<br>(mg ácido gálico/g)<br>en base seca | Promedio<br>base seca |
|-------------------------------|---------|--|-----------------------|
|                               | 1       | 34,35  | 34,64                 |
|                               | 2       | 34,29  |                       |
|                               | 3       | 35,27  |                       |

Para la cuantificación de polifenoles se realizó un factor de dilución 5 debido a la alta coloración que presentó la extracción de la muestra, para que, de esta manera, se pueda leer la absorbancia dentro de la curva de calibración, como se indica en el Anexo 1.

Para determinar la cantidad de compuestos fenólicos se utilizó el reactivo Folin & Ciocalteu, el cual torna de color azul a las muestras, para luego éstas ser cuantificadas en el espectrofotómetro UV-VIS, como se muestra en la Figura 22.



*Figura 22.* Cambio de coloración de las muestras por presencia de grupos fenólicos.



La muestra liofilizada de la hacienda Ecuaforestar tuvo una cantidad de polifenoles de 34,64 mg ácido gálico/g en base seca, de pulpa y cáscara, semejante a los resultados reportados por Inglett y Chen (2011) de 33,58 mg ácido gálico/g en base seca. Por otro lado, (He, y otros, 2016) reportan un contenido total de polifenoles en pulpa de 32,46 mg ácido gálico/g en base seca. Así, se puede concluir, que esta diferencia conseguida puede ser por la etapa de maduración del fruto, variedad de fruta, ciertas pérdidas durante la extracción de la muestra o según la parte del fruto que se utilizó para su análisis ya que, según estudios (He, y otros, 2016), se estima que existe mayor cantidad de polifenoles en la cáscara a diferencia de la pulpa.

### 5.3.2 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se realizó por triplicado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Henríquez, C., Aliaga, C., & Lissi, E (Julio 2002), descrito en el punto 4.2.3.3 y dando como resultado un promedio de 477,32  $\mu\text{m Trolox/g}$  en base seca, como se observa en la Tabla 14.

Tabla 14.

*Resultados de capacidad antioxidante expresados en base seca.*

| Factor de dilución<br>(FD): 100 | Muestra | Concentración<br>( $\mu\text{m Trolox/g}$ ) en base<br>seca | Promedio<br>base<br>seca |
|---------------------------------|---------|---|--------------------------|
|                                 | 1       | 523,27  | 477,32                   |
|                                 | 2       | 438,89  |                          |
|                                 | 3       | 469,79  |                          |

Para la cuantificación de capacidad antioxidante, se realizó un factor de dilución 100 por la coloración que presentó la extracción de la muestra, para que de esta manera se pueda leer la absorbancia dentro de la curva de calibración, como se indica en el Anexo 2.

El contenido de capacidad antioxidante presente en la muestra liofilizada de la hacienda Ecuaforestar es 477,32  $\mu\text{m Trolox}/100\text{ g}$  en base seca, de cáscara y pulpa, en comparación con el estudio realizado por (He, y otros, 2016) en donde el contenido de antioxidantes que puede tener la piel y la pulpa fue de 457,3  $\mu\text{m Trolox}/100\text{ g}$  en base seca, por lo que la fruta milagrosa es una gran fuente de antioxidantes, a diferencia de ciertas frutas estudiadas por Vasco et al. (2008) como es el tomate (310  $\mu\text{m Trolox}/100\text{ g}$ ), fruta de la pasión (50  $\mu\text{m Trolox}/100\text{ g}$ ), entre otras. Dando como conclusión que, entre las dos comparaciones, los resultados son obtenidos de cáscara y pulpa, pero estos varían debido a factores edafoclimáticos o la madurez de la baya.

### 5.3.3 Flavonoides

La determinación de flavonoides se realizó por triplicado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP, siguiendo el método de Salamanca Grosso, Correa Carvajal, & Principal, 2007, descrito en el punto 4.2.3.4 y dando como resultado un promedio de 12 mg catequina/g en base seca, como se observa en la Tabla 15.

Tabla 15.

*Resultados de flavonoides expresados en base seca.*

| <b>Factor de Dilución<br/>(FD): 5</b> | <b>Muestra</b> | <b>Concentración<br/>(mg catequina/g) en<br/>base seca</b> | <b>Promedio<br/>base<br/>seca</b> |
|---------------------------------------|----------------|--|-----------------------------------|
|                                       | 1              | 11,75  | 12                                |
|                                       | 2              | 11,31  |                                   |
|                                       | 3              | 12,94  |                                   |

Para la cuantificación de flavonoides, se realizó un factor de dilución 5 para que de esta manera se pueda leer la absorbancia dentro de la curva de calibración, como se indica en el Anexo 3.

Se obtuvo que la cantidad promedio de flavonoides presentes en la muestra liofilizada de la hacienda de Ecuaforestar es 12 mg catequina/g en cáscara y pulpa, mientras que estudios realizados en la estación experimental agrícola de Massachusetts, Amherst dan como resultado 9 mg catequina/100g en base seca presentes en la pulpa y 3,8 mg catequina/100 g base seca presentes en la semilla. Estos resultados varían debido a la parte de la baya analizada. Es por ello que la muestra de Ecuaforestar presenta un valor más elevado ya que se utilizó cáscara y pulpa mientras que en Massachusetts se analizó por separado. Sin embargo, se concluye que la mayor cantidad de flavonoides se encuentran presentes en la pulpa de la fruta milagrosa.

#### 5.3.4 Antocianinas

La determinación de antocianinas se realizó por triplicado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Rapisarda, P; Fanella, F; Maccarone, E, descrito en el punto 4.2.3.5, y dando como resultado un promedio de 2,86 mg cianidina 3- glucosido cloruro/g en base seca (Tabla 16).

Tabla 16.

*Resultados de antocianinas expresados en base seca.*

| Factor de Dilución<br>(FD): 1 y 5 | Muestra | Concentración<br>(mg cianidina 3-<br>glucosido cloruro/g) en<br>base seca | Promedio<br>(mg/g)<br>base seca | Promedio<br>(mg/100g)<br>base seca |
|-----------------------------------|---------|---|---------------------------------|------------------------------------|
|                                   | 1       | 2,78  | 2,86                            | 28,6                               |
|                                   | 2       | 2,88  |                                 |                                    |
|                                   | 3       | 2,91  |                                 |                                    |

Para su cuantificación, se realizó una nueva extracción, como se muestra en el punto 4.2.3.5.1, en donde se utilizó un factor de dilución 1 para las muestras con buffer 4,5, en donde existe una baja coloración por la presencia de carbinol y un

factor de dilución 5, para las muestras con buffer pH 1, ya que la extracción presentó una coloración intensa por la presencia de oxonium en forma flavonoide (Rapisarda, P; Fanella, F; Maccarone, E, 200), como se muestra en la Figura 23.



*Figura 23.* Extracción de muestra liofilizada del fruto milagroso.

- a) buffer pH.
- b) pH 4.5.
- c) factor de dilución 5.

La cuantificación de antocianinas de la muestra liofilizada de la hacienda Ecuaforestar dio como resultado 28,6 mg/100g en base seca, en pulpa y cáscara, en comparación con los estudios realizados por los investigadores (He, y otros, 2016), en donde obtuvieron un contenido total de antocianinas de 11,4 mg/100 g base seca en la piel. Este contenido es similar al descrito por el investigador Buckmire y Francis (1976) de 14,3mg/100 g en base seca, el cual afirma que la principal composición de la antocianina en fruto milagroso es la cianidina-3-monogalactosida, la cual aportó con el 70,7% del pigmento. Los resultados obtenidos varían porque en la muestra de la Unión se analizó antocianinas presentes en la cáscara y pulpa mientras que los otros estudios únicamente se centran en el análisis de la cáscara de la baya, por lo cual se concluye que la pulpa de la baya también posee antocianinas.

### 5.3.5 Carotenoides

La determinación de carotenoides se realizó por triplicado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Leong y Oey (2012) descrito en el punto 4.2.3.6 y dando como resultado un promedio de 70,70  $\mu\text{g/g}$  en base seca y 58,95  $\mu\text{g/g}$  en base fresca como se observa en la Tabla 17.

Tabla 17.

*Resultados de carotenoides expresados en base seca y en base fresca.*

| Factor de Dilución<br>(FD): 0 | Muestra | Concentración<br>( $\mu\text{g/g}$ ) en base<br>seca | Promedio<br>base seca | Promedio<br>base fresca |
|-------------------------------|---------|--|-----------------------|-------------------------|
|                               | 1       | 64,08  | 70,70                 | 58,95                   |
|                               | 2       | 77,16  |                       |                         |
|                               | 3       | 70,87  |                       |                         |

Para la cuantificación de carotenoides se realizó una extracción de la muestra liofilizada como se muestra en el punto 4.2.3.6, para posteriormente medir la absorbancia de cada una de las muestras.

La cantidad de carotenoides presentes en el fruto milagroso liofilizado de la Unión es 58,95  $\mu\text{g/g}$  en base fresca, a diferencia de los datos obtenidos por la investigación de (Du, Shen, Zhang, Prinyawiwatkul, & Xu, 2014), donde se detectó 40  $\mu\text{g/g}$  de carotenoides base fresca, los cuales son los encargados de dar esa coloración característica amarilla, naranja o roja de ciertas frutas. Las diferencias de estos resultados se deben a los factores edafoclimáticos en la que fue cultivado el fruto milagroso y la parte del fruto utilizado para su análisis. Como es el caso de los resultados de la Unión de la hacienda Ecuaforestar, en donde se usó la cáscara y la pulpa de la fruta, mientras que en la investigación de (Du, Shen, Zhang, Prinyawiwatkul, & Xu, 2014) se utilizó sólo la pulpa.

## 5.4 Proteína

La determinación de proteína se realizó por duplicado utilizando la muestra liofilizada en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP, descrito en el punto 4.2.4, dando como resultado un promedio de 8,79% de proteína en base seca (Tabla 18).

Tabla 18.

*Resultados de proteína expresados en base seca.*

| <b>Muestra</b> | <b>% Proteína<br/>base seca</b> | <b>Promedio (%)<br/>base seca</b> |
|----------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 1              | 8,64                            | 8,79                              |
| 2              | 8,95                            |                                   |

El porcentaje de proteína obtenido en el fruto milagroso de la Unión fue 8,79% en base seca, de pulpa y cáscara, en comparación con los estudios realizados en la Universidad de Obafemi Awolo (Olaitan, 2015), en donde se reporta que la cantidad de proteína es 9,47% en base seca. Dando como conclusión que estos valores presentan ciertas diferencias significativas ya que en los dos análisis no se utilizó las mismas partes del fruto y también se estima que cierta variabilidad se debe a los factores edafoclimáticos en que fue cultivada la fruta.

## 5.5 Fibra

La determinación de fibra se realizó en la Universidad de las Américas descrito en el punto 4.2.5, y dando como resultado un promedio de 3% de fibra en base fresca (Tabla 19).

Tabla 19.

*Resultados de fibra expresados en base fresca.*

| <b>Muestra</b> | <b>Peso Inicial en base fresca</b> | <b>Peso final en base fresca</b> | <b>% fibra en base fresca</b> |
|----------------|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 1              | 30,74                              | 30,71                            | 3                             |

El porcentaje de fibra que se obtuvo en el fruto milagroso de la Unión fue 3% en pulpa y cáscara, en comparación con los estudios realizados en la Universidad de Obafemi Awolo (Olaitan, 2015), donde se reporta que la cantidad de fibra en base fresca es 0,66% en semilla. Según un estudio realizado por el investigador (Ekwueme, 2014), en el fruto milagroso proveniente de Uke en el estado de Anambra, Nigeria, la cantidad de fibra en base fresca es 6,24% en semilla y piel. Cabe recalcar que los dos resultados obtenidos varían en comparación a la muestra de la Unión debido a factores edafoclimáticos y según la parte analizada del fruto, ya que en el fruto milagroso de la Unión se utilizó la pulpa y la cáscara mientras que en las otras investigaciones se utilizó únicamente pulpa o la semilla.

## **5.6 Azúcares totales**

La determinación de azúcares totales se realizó por triplicado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP siguiendo el método de Antrona de Dubois, M. Hamilton J.K. (1956), descrito en el punto 4.2.6, y dando como resultado un promedio de 45,65 % en base seca (Tabla 20).

Para la cuantificación de azúcares totales, se realizó una extracción de la muestra liofilizada, como se muestra en el punto 4.2.6.1, y un factor de dilución 100 para poder leer la absorbancia dentro de la curva de calibración, como se indica en el Anexo 4.

Tabla 20.

*Resultados de azúcares totales expresados en base seca.*

| Factor de Dilución<br>(FD): 100 | Muestra | Concentración<br>(mg/g) en base<br>seca | Concentración<br>(g/100g) en base<br>seca | Promedio<br>(%) en base<br>seca |
|---------------------------------|---------|---|---|---------------------------------|
|                                 | 1       | 449,5                                   | 44,95                                     | 45,65                           |
|                                 | 2       | 459,3                                   | 45,93                                     |                                 |
|                                 | 3       | 460,8                                   | 46,08                                     |                                 |

La cuantificación de azúcares totales presentes en la muestra liofilizada de la Unión es 45,65 g/100g en base seca de pulpa y cáscara. Según los resultados de (He, y otros, 2016), el contenido total de azúcares es 56g/100g en base seca de cáscara, pulpa y semilla. Según (HINTS, 2017) el azúcar presenta cierta relación con características de la fruta y no necesariamente porque el sabor de una fruta debe ser dulce se la considera de una excelente calidad. Los carbohidratos se acumulan en las frutas durante su maduración en forma de almidón y, según como la fruta madure, este almidón se convierte en azúcar por lo cual a esta característica se la toma como otro parámetro para medir la madurez de los frutos y para determinar cierta variabilidad en los resultados obtenidos. Se concluye que existe una variación en los resultados debido a la madurez en la que se encontraba el fruto, la parte de la baya analizada y factores edafoclimáticos.

### 5.7 Grasas

La determinación de grasa en fruto fresco se realizó en la Universidad de las Américas siguiendo el método de Soxhlet (James, 1999) descrito en el punto 4.2.7. y dando como resultado un promedio de 0,66% de fibra en base fresca (Tabla 21).



Tabla 21.

*Resultados de grasa expresados en base fresca.*

| <b>Muestra</b> | <b>Peso Inicial</b> | <b>Peso final</b> | <b>%Grasa<br/>en base fresca</b> |
|----------------|---------------------|-------------------|----------------------------------|
| 1              | 164,41              | 165,02            | 0,66                             |

El porcentaje de grasa presente en la muestra analizada de la Unión es 0,66% en base fresca, en la cual se utilizó la cáscara y pulpa de la baya, a diferencia de los investigadores (He, y otros, 2016) quienes reportan 0% de grasa en fruta fresca, ya que ellos utilizaron únicamente la carne de la baya. Según estudios realizados en la Universidad de Nigeria, se reporta 3,26% de grasa en peso seco utilizando el mismo método de extracción con cascara, pulpa y semilla. Se puede concluir que el contenido de grasa en la baya varía según los factores edafoclimáticos y la parte de la baya que se va a utilizar para su extracción.

## **6. Conclusiones y Recomendaciones**

### **6.1 Conclusiones**

Se analizó ciertas propiedades físico – químicas de la fruta milagrosa para tener un completo conocimiento de la fruta. Dentro de estos análisis se determinó el diámetro longitudinal (0,93 cm), diámetro polar (1,86 cm), peso (1,28 g), pH (3,81), acidez (0,41%) y humedad (83,37%).

En el análisis de la muestra de la Unión (Hacienda Ecuaforestar) se determinó que el fruto milagroso presenta los siguientes compuestos bioactivos: polifenoles totales 34,64 mg ácido gálico/g, capacidad antioxidante 477,32  $\mu$ m Trolox/g, flavonoides 12 mg catequina/g, antocianinas 2,86 mg cianidina 3-glucosido cloruro/g, carotenoides 70,70  $\mu$ g/g, todos los valores expresados en base seca.

Se identificó que el fruto milagroso presenta un 8,79% en base seca en proteína, 3% en base fresca de fibra, 45,65% en base seca de azúcares totales y 0,66% en base fresca de grasa.

Debido a su alta capacidad antioxidante, este fruto puede ser usado como un suplemento para la salud humana.

Este fruto, como potencial alimentario, funciona en la dieta para pacientes con obesidad y diabetes porque el contenido de azúcar es bajo.

### **6.2 Recomendaciones**

Realizar investigaciones en las cuales se utilice la semilla del fruto debido a que ésta también puede tener propiedades beneficiosas para el ser humano.

Después del estudio realizado, y conociendo los compuestos principales, se recomienda introducir al fruto milagroso dentro de productos alimenticios

potencialmente como un ingrediente principal, no solamente para reemplazar a los antioxidantes sintéticos por su elevado contenido, sino por su fibra, proteína, azúcares totales que pueden mejorar la dieta de personas y prevenir ciertas enfermedades como, por ejemplo, cáncer, diabetes y obesidad, que actualmente se presentan en el país y su índice se eleva año tras año.

## REFERENCIAS

- Alimente.elconfidencial. (s.f). Recuperado el 1 de Junio del 2019 de [https://www.alimente.elconfidencial.com/nutricion/2018-02-27/proteinas-aminoacidos-para-que-sirven\\_1522540/](https://www.alimente.elconfidencial.com/nutricion/2018-02-27/proteinas-aminoacidos-para-que-sirven_1522540/)
- Amadin. (s.f). Alimentación y salud. Recuperado el 5 de Abril del 2019 de <http://amadin.com/que-es-la-fibra-y-que-aporta-a-nuestro-organismo/>
- AOAC INTERNATIONAL. (2006). *Official Methods of Analysis* (18th ed.). (W. Horwitz, & G. Latimer, Edits.) Estados Unidos .
- Astrid, G. (2008). *Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos*. Recuperado el 15 de Marzo del 2019 de <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v13n3/v13n3a2.pdf>
- Barragán, P. (2011). *Potencial saludable de sustancias bioactivas*. Recuperado el 25 de Junio del 2019 de <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis560.pdf>
- Calvo, M. (s.f.). *Bioquímica de los Alimentos*. Recuperado el 15 de Junio del 2019 de <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/pigmentos/carotenoides.html>
- Castañeda , A., & Guerrero, J. (2015). *Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: antocianinas*. Universidad de las Américas Puebla. Recuperado el 18 de Junio del 2019 de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2016/05/TSIA-9-Castaneda-Sanchez-et-al-2015.pdf>
- Chen, X., TL Abdullah, NAP Abdullah, & SA Hassan. (2012). *Respuesta de enraizamiento de los esquejes de madera blanda de la fruta milagrosa ( Synsepalum dulcificum ) afectados por el ácido indol butírico*. *ScienceDirect*.
- Clinic, M. (s.f.). Recuperado el 25 de Marzo del 2019 de <https://www.mayoclinic.org/es-es/healthy-lifestyle/nutrition-and-healthy-eating/in-depth/fiber/art-20043983>
- Coba , P., Mayacu Tivi, L., & Vidari, G. (2010). *Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género Oryctanthus*. Recuperado el 17 de Abril del 2019 de <http://www.redalyc.org/html/4760/476047395004/>
- Corchón, L. A. (s.f.). *Los Polifenoles*. Recuperado el 3 de Julio del 2019 de <https://www.asturnatura.com/articulos/nutricion/energia-nutrientes-componentes-dieta/aditivos-polifenoles.php>
- Díaz, H., Valero, D., Castillo, S., Martínez, D., & Zapata, P. (2013). *Horticultura*. Recuperado el 10 de Junio del 2019 de <http://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/104103-Evolucion-parametros-calidad-durante-desarrollo-cereza-arbol-diferencias-entre-variedades.html>

- Du, L., Shen, Y., Zhang, X., Prinyawiwatkul, W., & Xu, Z. (2014). *Fitoquímicos ricos en antioxidantes en la baya milagrosa ( Synsepalum dulcificum ) y la actividad antioxidante de sus extractos*. Recuperado el 5 de Mayo del 2019 de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613019407>
- Dudonne, S., X. Vitrac, P. Coutiere, M. Woillez, & J.-M. Merillon. (2009). *Estudio comparativo de las propiedades antioxidantes y el contenido fenólico total de 30 extractos de plantas de interés industrial mediante ensayos de DPPH, ABTS, FRAP, SOD y ORAC*. Recuperado el 22 de Julio del 2019 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19199445>
- Ecuaforestar. (2017). Recuperado el 11 de Junio del 2019 de <https://ecuaforestar.com/EcuRed>. (s.f.). Recuperado el 4 de Agosto del 2019 de <https://www.ecured.cu/Antocianinas>
- Ekwueme, O. N. (2014). *Proximate and micronutrient analyses of synsepalum dulcificum pulp*. Recuperado el 2 de Marzo del 2019 de <http://www.scirj.org/papers-0114/scirj-P011488.pdf>
- Gil, Á. (2010). *Tratado de nutrición: composición y calidad nutritiva*. Madrid, España: Medica Panamericana.
- Gil, P. (2015). Recuperado el 22 de Abril del 2019 de <https://palomagil.com/que-son-los-azucres-fructosa-hidrato/>
- Gimondi, M., Mas, E., & Mikkels, K. (2007). *Fundamentos de bioquímica*. España: Editorial Médica Panamericana S.A.
- González, M. (2011). *Antocianinas*. Recuperado el 25 de Marzo del 2019 de <https://quimica.laguia2000.com/elementos-quimicos/antocianinas>
- González, M. (2006). *Vinodefruta.com*. Recuperado el 30 de Junio del 2019 de [http://www.vinodefruta.com/tabla\\_acid\\_ss.htm](http://www.vinodefruta.com/tabla_acid_ss.htm)
- González, M. (2011). Recuperado el 8 de Marzo del 2019 de <https://quimica.laguia2000.com/enlaces-quimicos/polifenoles>
- He, Z., Shun Tan, J., Abbasiliasi, S., Ming Lai, O., Joon Tam, Y., & B Ariff, A. ( 2016). *Fitoquímicos, propiedades nutricionales y propiedades antioxidantes de la fruta milagrosa Synsepalum dulcificum*. Recuperado el 7 de Marzo del 2019 de <https://www-sciencedirect.com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/science/article/pii/S0926669016301789?via%3Dihub#bib0070>
- Herrera, F., David, B., & Maira, S. (2014). *Nutrición Hospitalaria. Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías*. Recuperado el 3 de

- Mayo del 2019 de <https://www.monaconatureencyclopedia.com/synsepalum-dulcificum/?lang=es>
- HINTS, H. (2017). *Química en la fruta*. Recuperado el 17 de Mayo del 2019 de <https://www.hannachile.com/blog/post/qu%C3%ADmica-en-la-fruta>
- Jeremiah, O. J. (2015). *Composición proximal y mineral de la semilla de Synsepalum Dulcificum*. Recuperado el 2 de Mayo del 2019 de [https://www.researchgate.net/publication/332072410\\_Proximate\\_and\\_Mineral\\_Composition\\_of\\_Synsepalum\\_Dulcificum\\_Seed](https://www.researchgate.net/publication/332072410_Proximate_and_Mineral_Composition_of_Synsepalum_Dulcificum_Seed)
- Jouvin, A. R. (Agosto de 2016). *“Determinación de la glucoproteína y sus propiedades en la fruta milagrosa*. Recuperado el 4 de Marzo del 2019 de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/18113/1/401-1211%20-%20Determinacion%20de%20la%20glucoproteina%20y%20sus%20propiedades.pdf>
- La Nación. (2011). Recuperado el 1 de Mayo del 2019 de <https://www.nacion.com/archivo/una-broma-al-paladar/CWAJMFXFINDNIS6J57BH53HBU/story/>
- Lin, J., & CY Tang. (2007). *Determinación de los contenidos fenólicos y flavonoides totales en frutas y verduras seleccionadas: así como sus efectos estimulantes sobre la proliferación de esplenocitos de ratón*. Recuperado el 15 de Mayo del 2019 de [https://www.researchgate.net/publication/222221379\\_Determination\\_of\\_total\\_phenolic\\_and\\_flavonoid\\_contents\\_in\\_selected\\_fruits\\_and\\_vegetables\\_as\\_well\\_as\\_their\\_stimulatory\\_effects\\_on\\_mouse\\_splenoocyte\\_proliferation](https://www.researchgate.net/publication/222221379_Determination_of_total_phenolic_and_flavonoid_contents_in_selected_fruits_and_vegetables_as_well_as_their_stimulatory_effects_on_mouse_splenoocyte_proliferation)
- Londoño, J. (s.f.). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. Recuperado el 2 de Abril del 2019 de <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.%20129-162.pdf>
- López, M. (2018). Recuperado el 8 de Mayo del 2019 de <https://agronegocios.uniandes.edu.co/2018/05/08/fruta-milagrosa-convierte-lo-acido-en-dulce/>
- Martínez Flórez, S., González Gallego, J., Culebras, J., & Tuñón, M. (2002). *Nutrición Hospitalaria*. Recuperado el 6 de Mayo del 2019 de <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

- Martínez, C., Periago, J., & Navarro, I. (2016). *Revelando el secreto de la fruta milagrosa*. Recuperado el 2 de Junio del 2019 de [http://www.renc.es/imagenes/auxiliar/files/RENC\\_2016\\_4\\_04.pdf](http://www.renc.es/imagenes/auxiliar/files/RENC_2016_4_04.pdf)
- Martínez, E. (s.f.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Recuperado el 13 de Mayo del 2019 de <https://www.alanrevista.org/ediciones/2015/suplemento-1/art-47/>
- Masson, L. (s.f.). *FAO. Metodos analiticos para la determinacion de humedad, alcohol, energia, materia grasa y colesterol en alimentos*. Recuperado el 5 de Marzo del 2019 de <http://www.fao.org/3/ah833s/ah833s16.htm>
- Mercola. (2015). Recuperado 6 de Junio del 2019 de <https://articulos.mercola.com/sitios/articulos/archivo/2015/12/14/beneficios-de-los-polifenoles.aspx>
- Microlab. (s.f.). *Azúcares totales*. Recuperado 10 de Mayo del 2019 de <http://www.microlabindustrial.com/parametros/moleculas-biologicas/88/azucars-totales>
- Muñoz Juárez, M., & Dra. Gutiérrez, A. (s.f.). *Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol*. Recuperado el 4 de Mayo del 2019 de <https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2008/7VeranoUAQ/14MunozJuarez.pdf>
- Nerea, D. (Octubre de 2015). *Antioxidantes: Claves para evitar el cáncer y favorecer la longevidad*. Recuperado el 8 de Junio del 2019 de <https://suplementos.guru/antioxidantes-cancer-longevidad/>
- Njoku, O., & Ekwueme, F. (2014). *Proximate and micronutrient analyses of synsepalum dulcificum pulp*. Recuperado el 26 de Mayo del 2019 de <http://www.stuartxchange.org/MiracleFruit>
- Olaitan, J. (Marzo de 2015). *Composición proximal y mineral de la semilla de Synsepalum Dulcificum*. Recuperado el 17 de Mayo del 2019 de [https://www.researchgate.net/publication/332072410\\_Proximate\\_and\\_Mineral\\_Composition\\_of\\_Synsepalum\\_Dulcificum\\_Seed](https://www.researchgate.net/publication/332072410_Proximate_and_Mineral_Composition_of_Synsepalum_Dulcificum_Seed)
- Pak, N. (s.f.). *FAO. Analisis de fibra dietetica*. Recuperado el 28 de Mayo del 2019 de <http://www.fao.org/3/AH833S18.htm>
- Pietro, P. (s.f.). *Monaco Nature Encyclopedia*. Recuperado el 6 de Marzo del 2019 de <https://www.monaconatureencyclopedia.com/synsepalum-dulcificum/?lang=es>
- PINTO, C. M. (2007). *Descripción del desarrollo vegetativo y de las características físicas y químicas de los frutos*. Recuperado el 30 de Abril del 2019 de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fap657d/doc/fap657d.pdf>

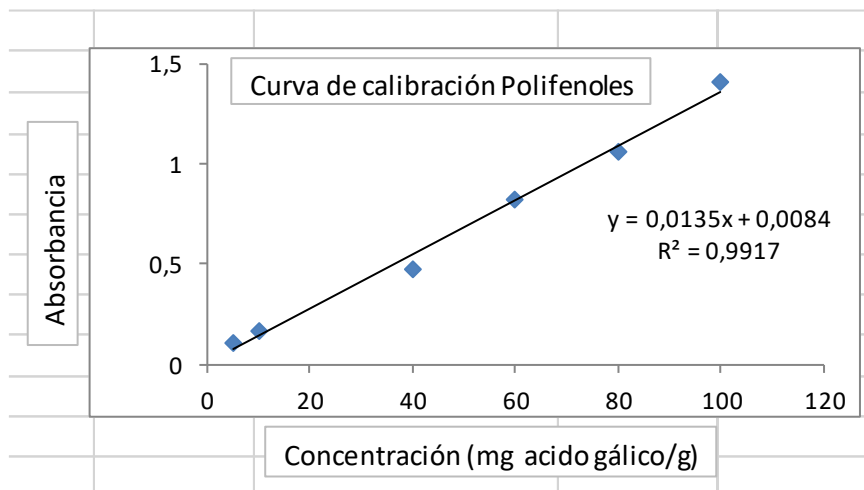
- Quiñones, M., M., M., & A., A. (2012). *Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular*. Recuperado el 25 de Mayo del 2019 de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112012000100009](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009)
- R. Buckmire, & F. Francis. (1976). *Antocianinas y flavonoles de fruta milagrosa, Synsepalum dulcificum*, Schum. Recuperado el 3 de Junio del 2019 de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1976.tb01172.x>
- RA Moyer, K. H. (2002). *Antocianinas, compuestos fenólicos y antioxidantes en diversas frutas pequeñas: Vaccinium, Rubus y Ribes*. Recuperado el 6 de Junio del 2019 de <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf011062r>
- Redagícola. (2017). Recuperado el 28 de Mayo del 2019 de <http://www.redagricola.com/cl/acidez-la-fruta/>
- Safont, N. (Marzo de 2019). Recuperado el 1 de Junio del 2019 de <https://www.aboutespanol.com/que-son-las-proteinas-1088608>
- Sanz, A. (s.f.). *Química Orgánica Industrial*. Recuperado el 29 de Abril del 2019 de <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-02.php>
- Serrano Agüero, C. (s.f.). *Densidad de las frutas*. Recuperado el 27 de Mayo del 2019 de <https://docplayer.es/86401712-Densidad-de-las-frutas.html>
- Tapia, V. (2014). Recuperado el 3 de Junio del 2019 de [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11921/1/58184\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11921/1/58184_1.pdf)
- Terán, J. (2015). *Transformación de la baya roja (syncephalum dulcificum) y su aplicación alimentaria para mejorar la salud humana*. Recuperado el 1 de Junio del 2019 de <https://www.45.238.216.13/ojs/index.php/mikarimin/article/download/321/175>
- Tropicals. (2019). Recuperado el 7 de Mayo del 2019 de [https://toptropicals.com/html/toptropicals/plant\\_wk/synsepalum.htm](https://toptropicals.com/html/toptropicals/plant_wk/synsepalum.htm)
- Uriarte, J. (2018). *Azúcares*. Recuperado el 4 de Junio del 2019 de <https://www.caracteristicas.co/azucares/>
- Valderrama, T. (s.f.). *Determinación de Humedad en Frutas*. Recuperado el 26 de Abril de <https://es.scribd.com/document/361404024/Determinacion-de-Humedad-en-Frutas>
- Yanez, D. (2013). *Elaboración de láminas de frambuesa*. Recuperado el 3 de Mayo del 2019 de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fay.24e/doc/fay.24e.pdf>
- Yañez, A. (2015). *Gastroactitud. Esperando a la fruta milagrosa, la miraculina*. Recuperado el 28 de Mayo del 2019 de



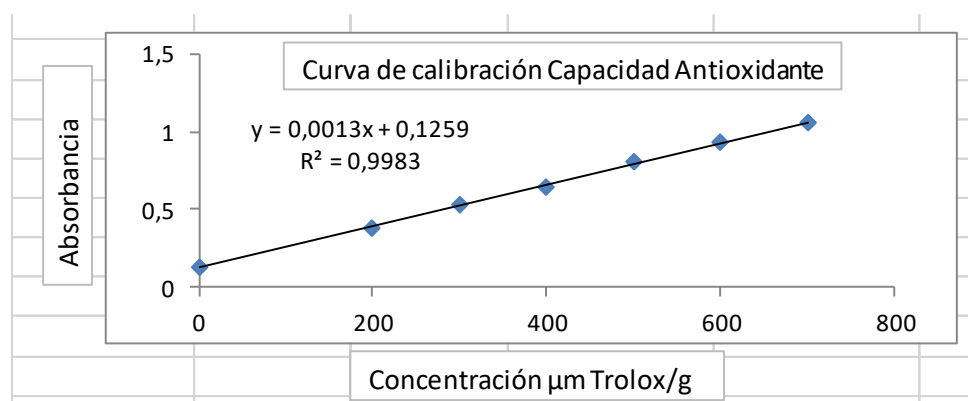
<https://www.gastroactitud.com/pista/esperando-a-la-fruta-milagrosa-la-miraculina/>

Zita, A. (s.f.). *Ciencia y salud*. Recuperado el 5 de Abril del 2019 de <https://www.significados.com/densidad/>

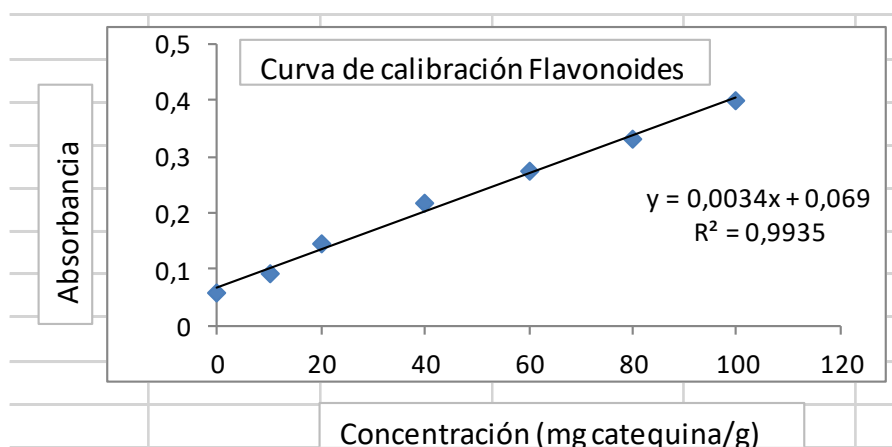
## **ANEXOS**



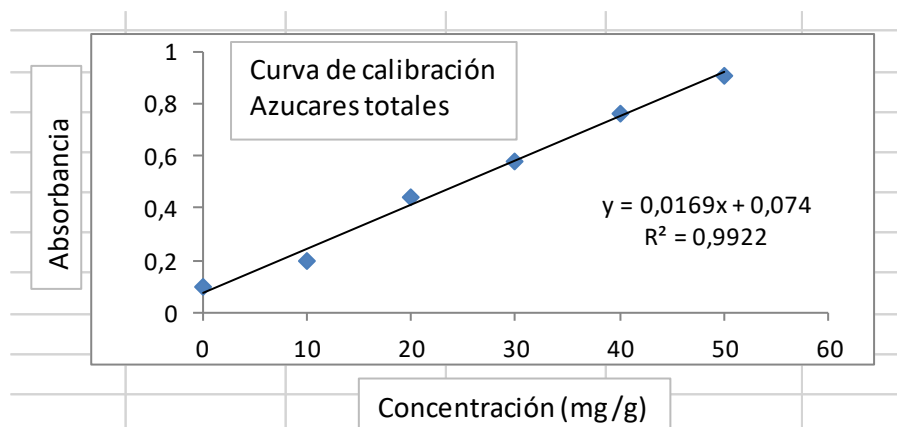
**Anexo 1.** Curva de calibración de Polifenoles totales



**Anexo 2.** Curva de calibración de Capacidad antioxidante



**Anexo 3.** Curva de calibración de Flavonoides



**Anexo 4.** Curva de calibración de Azúcares totales

