

# **UNEMI**

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

**REPÚBLICA DEL ECUADOR**

**UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO**

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PREVIO A LA  
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

**MAGÍSTER EN QUÍMICA APLICADA**

**TEMA:**

**ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LA FRUTA  
*Synsepalum dulcificum* Y SU APLICACIÓN COMO EDULCORANTE EN EL TÉ  
DE KOMBUCHA**

**AUTOR**

**ROMERO VÁSQUEZ KATHERINE LISSETTE**

**DIRECTOR TFM:**

**FIALLOS MANUEL ALEJANDRO**

**Milagro, 2022**

## Derechos de autor

**Sr. Dr.**

**Fabrizio Guevara Viejó**

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **KATHERINE LISSETTE ROMERO VÁSQUEZ** en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Química Aplicada**, como aporte a la Línea de Investigación: **Desarrollo local y empresarial** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por

cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, **2 de nov. de 22**

---

**KATHERINE LISSETTE ROMERO VÁSQUEZ**

**CI. 0940816275**

## Aprobación del Director del Trabajo de Titulación

Yo, **Manuel Alejandro Fiallos C.** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por la **Srta. Katherine Lissette Romero Vásquez**, cuyo tema es **ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LA FRUTA *Synsepalum dulcificum* Y SU APLICACIÓN COMO EDULCORANTE EN EL TÉ DE KOMBUCHA**, que aporta a la Línea de Investigación **Desarrollo local y empresarial**, previo a la obtención del Grado **Magíster en Química Aplicada**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 2 de noviembre de 2022

Firmado electrónicamente por:  
**MANUEL  
ALEJANDRO  
FIALLOS  
CARDENAS**

**Manuel Alejandro Fiallos C. Mgtr.**

**C.I. 0919525337**

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**DIRECCIÓN DE POSGRADO**  
**CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA**

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN QUÍMICA APLICADA**, presentado por **ING. ROMERO VASQUEZ KATHERINE LISSETTE**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LA FRUTA MILAGROSA (SYNSEPALUM DULCIFICUM) Y SU APLICACIÓN COMO EDULCORANTE EN EL TÉ DE KOMBUCHA.", las siguientes calificaciones:

TRABAJO DE TITULACION	59.67
DEFENSA ORAL	40.00
<b>PROMEDIO</b>	<b>99.67</b>
<b>EQUIVALENTE</b>	<b>Excelente</b>



firmado electrónicamente por:  
**DELIA DOLORES**  
**NORIEGA VERDUGO**

---

Mgtr. NORIEGA VERDUGO DELIA DOLORES  
**PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL**



firmado electrónicamente por:  
**JUAN DIEGO**  
**VALENZUELA**  
**COBOS**

---

Ph.D. VALENZUELA COBOS JUAN DIEGO  
**VOCAL**



firmado electrónicamente por:  
**FREDDY ANDRES**  
**ESPINOZA**  
**CARRASCO**

---

Mgs. ESPINOZA CARRASCO FREDDY ANDRES  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a mis padres (Ramiro y Lourdes) que son mi fortaleza, han estado conmigo en cada momento; dándome siempre los ánimos para superarme en cada decisión que he tomado en este camino arduo, sólo su presencia me ha ayudado a forjarme en la persona que ahora soy. Me han enseñado a ser un adulto responsable y actuar fuerte bajo presión.

A mis hermanos, familia y amigos, por su gran apoyo incondicional que puedo culminar con mi carrera profesional.

A mi tutor, por sus grandes conocimientos y paciencia que han permitido tener una gran guía para terminar la tesis.

KATHERINE LISSETTE ROMERO VÁSQUEZ

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por tener la oportunidad de conocer a grandes personas en mi vida. Que me han estado, cuando más lo necesita.

A mis padres, Sr. Ing. Ramiro Romero y Sra. Lourdes Vásquez, por ser mis guías y pilares en mi vida, por enseñarme a no rendirme en la vida para encontrar una solución. Y es que, a veces son nuestras decisiones las que muestran lo que somos, mucho más que nuestras habilidades.

A todos mis amigos, y en especial al Ing. Kevin Cedeño, por su paciencia que de manera directa o indirecta me ayudó con mi tesis de titulación.

**KATHERINE LISSETTE ROMERO VÁSQUEZ**

## **RESUMEN**

La presente investigación se centró en analizar las propiedades antioxidantes de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) y se utilizó un diseño centroe simple en la formulación con extractos para aprovechar el beneficio de la fruta al tener un fuerte efecto antioxidante en la lucha contra enfermedades cardiovasculares, resfriados, infecciones y alergias. (Bartoshuk, Gentile, Moskowitz, & Meiselman, 1974), además de su acción de enmascarar los sabores amargos y ácidos a dulce. Para la experimentación se extrajo los componentes activos de la fruta milagrosa utilizando tres solventes: i) agua, ii) alcohol al 90% y iii) metanol; la capacidad inhibidora fue determinado por el método DPPH, en laboratorio AGRORUM y EUROFINS cuyos valores fueron para el agua destilada 78.765%, alcohol al 90%, 94.94% y metanol 75.96% respectivamente; se realizó una curva de calibración en los extractos para obtener la cantidad de proteína (Miraculina) en las muestras y luego ser utilizado como edulcorante para aumentar la aceptabilidad del té de kombucha mediante pruebas organolépticas.

**Palabras claves:** Edulcorante, actividad antioxidante, té de Kombucha, fruta milagrosa.

## **ABSTRACT**

The present research focused on analyzing the antioxidant properties of miracle fruit (*Synsepalum dulcificum*) and a simple centroid design was used in the formulation with extracts to take advantage of the benefit of the fruit in having a strong antioxidant effect in the fight against cardiovascular diseases, colds, infections, and allergies. (Bartoshuk, Gentile, Moskowitz, & Meiselman, 1974), in addition to its action of masking bitter and acidic to sweet tastes. For the experimentation, the active components of the miracle fruit were extracted using three solvents: i) water, ii) 90% alcohol and iii) methanol; the inhibitory capacity was determined by the DPPH method in AGRORUM and EUROFINS laboratory, whose values were for distilled water 78.765%, 90% alcohol 94.94% and methanol 75.96% respectively; a calibration curve was performed on the extracts to obtain the amount of protein (Miraculin) in the samples and then be used as a sweetener to increase the acceptability of kombucha tea through organoleptic tests.

**Key words:** Sweetener, antioxidant activity, Kombucha tea, miracle fruit.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Árbol robusto <i>Synsepalum dulcificum</i></i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 2. Miraculina, planta <i>S. dulcificum</i></i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 3. Mecanismo de acción de la Miraculina</i>	<b>10</b>
<i>Figura 4. Actividad endulzante</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 5. <i>Kommbucha</i> celulosa</i>	<b>17</b>
<i>Figura 6. Elaboración del té de kombucha</i>	<b>19</b>
<i>Figura 7. Obtención del extracto de la Fruta Milagrosa</i>	<b>23</b>
<i>Figura 8. Gráfica estabilizada ABS vs Tiempo</i>	<b>26</b>
<i>Figura 9. Método Simplex</i>	<b>28</b>
<i>Figura 10. Diseño de centroide simplex para <math>p=3</math> componentes</i>	<b>28</b>
<i>Figura 11. Método Simplex, Iteración</i>	<b>29</b>
<i>Figura 12. Curva de Calibración de la muestra patrón y lectura de absorbancia</i>	<b>31</b>
<i>Figura 13. Curva de calibración en las muestras de pulpa y lectura de absorbancia</i>	<b>31</b>
<i>Figura 14. Curva de actividad antioxidante en muestra "a* "</i>	<b>33</b>
<i>Figura 15. Curva de actividad antioxidante en muestra "b* "</i>	<b>34</b>
<i>Figura 16. Curva de actividad antioxidante en muestra "c* "</i>	<b>35</b>
<i>Figura 17. Sexo de los panelistas encuestados</i>	<b>36</b>
<i>Figura 18. Edad de los panelistas encuestados</i>	<b>37</b>
<i>Figura 19. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 1. ¿Qué tan seguido toma té?</i>	<b>38</b>
<i>Figura 20. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 2. ¿Qué tan dulce prefiere su té?</i>	<b>39</b>

<i>Figura 21. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 3. ¿Qué tipo de endulzante utiliza?</i>	40
<i>Figura 22. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 4. ¿Sabía usted que Ecuador, produce Fruta Milagrosa?</i>	41
<i>Figura 23. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 5. ¿Ha tomado alguna vez, té de Kombucha endulzada con la Fruta Milagrosa?</i>	42
<i>Figura 24. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 6. Sabor del Té</i>	43
<i>Figura 25. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 6. Nivel de olor del Té</i>	44
<i>Figura 26. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 6. Color del Té</i>	45
<i>Figura 27. Fruta Milagrosa (Synsepalum dulcificum)-Milagro</i>	¡Error! Marcador no definido.
<i>Figura 28. Fruta Milagrosa, 1.5 cm de largo – Milagro</i>	¡Error! Marcador no definido.
<i>Figura 29. Fruta Milagrosa- Milagro</i>	54
<i>Figura 30. Té de Kombucha Guayaquil -Qinca Kombucha (sabor ácido) telf. 0984540082</i>	54
<i>Figura 31. Extractos de la fruta Milagrosa – pulpa (agua destilada, alcohol al 90% y metanol)</i>	55
<i>Figura 32. Presencia de DPPH en extractos (agua destilada, alcohol al 90% y metanol)</i>	56
<i>Figura 33. Espectrofotometría Genesys 10 Serie: SN. 2L3M064003</i>	57
<i>Figura 34. Análisis: parámetro proteína de la fruta milagrosa, en Laboratorio AGRORUM en Guayaquil</i>	4
<i>Figura 35. Capacidad antioxidante (TEAC), Laboratorio AGRORUM en Guayaquil</i>	5
<i>Figura 36. Capacidad antioxidante mediante el uso del espectrofotómetro, laboratorio AGRORUM S.A en Guayaquil</i>	6
<i>figura 37. Eurofins, muestra Synsepalum dulcificum</i>	7

## INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Taxonomía Synsepalum dulcificum</i>	7
<i>Tabla 2. Composición de ácidos grasos de la semilla de la "fruta milagrosa" en peso.</i>	8
<i>Tabla 4. Composición porcentual de aminoácidos de la fruta milagrosa</i>	11
<i>Tabla 5. Composición nutricional de la fruta de Synsepalum dulcificum</i>	11
<i>Tabla 3. Estudios in vitro y preclínicos del S. dulcificum</i>	14
<i>Tabla 4.</i>	17
<i>Composición nutricional general del té kombucha</i>	17
<i>Tabla #5. Datos Generales de proveedores de materia prima</i>	21
<i>Tabla 6. Determinación de resultados cuantitativamente en un espectrofotómetro UV</i>	30
<i>Tabla 7. Sexo de los panelistas encuestados</i>	35
<i>Tabla 8. Edad de los panelistas</i>	36
<i>Tabla 9. Evaluación a la pregunta 1: ¿Qué tan seguido toma té?</i>	37
<i>Tabla 10 . Evaluación a la pregunta 2: ¿Qué tan dulce prefiere su té?</i>	38
<i>Tabla 11. Evaluación a la pregunta 3: ¿Qué tipo de endulzante utiliza?</i>	39
<i>Tabla 12. Evaluación a la pregunta 4: ¿Sabía usted que Ecuador, produce Fruta Milagrosa?</i>	40
<i>Tabla 13. Evaluación a la pregunta 5: ¿Ha tomado alguna vez, té de Kombucha endulzada con la Fruta Milagrosa?</i>	41
<i>Tabla 14. Evaluación a la pregunta 6: Relacionada con la pregunta 5. ¿Qué sabor tiene el Té?</i>	42

*Tabla 15. Evaluación a la pregunta 7: Relacionada con la pregunta 5. ¿Qué nivel de olor tiene el Té? 43*

*Tabla 16. Evaluación a la pregunta 8: Relacionada con la pregunta 5. ¿Qué color tiene el Té? 44*

*Tabla # 17. E 1-1 58*

*Tabla #18. E 1-2 59*

*Tabla #19. E 1-3 60*

*Tabla #20. Resultados de los panelistas para evaluar la aceptabilidad sensorial del té de Kombucha endulzada con la fruta milagrosa 2*

## ÍNDICE GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO I</b>	<b>2</b>
<b>EL PROBLEMA</b>	<b>2</b>
<b>1.1.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>2</b>
1.1.1.	2
1.1.2.	3
1.1.3.	4
1.2.	4
1.2.1.	4
1.2.2.	4
1.3.	4
<b>CAPÍTULO II</b>	<b>6</b>
<b>2.1. MARCO TEÓRICO</b>	<b>6</b>
2.1.1. Fruta milagrosa ( <i>Synsepalum dulcificum</i> )	6
2.1.1.2. Taxonomía de la <i>Synsepalum dulcificum</i> .	7
2.1.1.3. Composición de ácidos grasos de la semilla del <i>Synsepalum dulcificum</i>	8
2.1.2.1. Edulcorantes naturales proteicos	8
2.1.2.1.1. Proteína que actúa en el <i>Synsepalum dulcificum</i>	9
2.1.2.1.2. Mecanismo de acción de la miraculina	9
2.1.3. Propiedades nutricionales de la fruta milagrosa	10

2.1.4. Propiedades terapéuticas de la Fruta Milagrosa	11
2.1.4.1. Antocianinas	11
2.1.4.2. Actividad antioxidante	12
2.1.4.3. Actividad endulzante	12
2.1.4.4. Actividad antidiabética	13
2.1.4.5. Actividad anti-tirosinasa	13
2.1.4.7. Actividades hiperuricemia	14
2.1.5. Estudios de métodos de análisis del <i>S. dulcificum</i>	14
2.1.6. Métodos convencionales de extracción	15
2.1.6.1. Extracción asistida por microondas	15
2.1.6.2. Extracción asistida por ultrasonido	16
2.1.6.3. Análisis cromatográfico de gases de esteres metílicos de ácidos grasos (FAMES)	16
2.1.7. Extracción por disolventes	16
2.1.8. Té de kombucha	16
2.1.8.1 Importancia como alimento funcional	17
2.1.8.2 Aporte nutricional y a la salud	17
2.1.8.3 Método de elaboración	18
2.1.8.4 Tipo de sustratos que se han utilizado para la elaboración de té de kombucha	19
2.1.8.5 Métodos de evaluación sensorial, actividad antioxidante.	19
<b><i>CAPÍTULO III</i></b>	<b>21</b>

<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>21</b>
3.1. Ubicación de la Materia Prima “Fruta Milagrosa”	21
3.1.1. Datos Generales	21
3.2. Área y sitio de estudio.	22
3.3. Equipos y Materiales para la extracción de la fruta milagrosa ( <i>Synsepalum dulcificum</i> )	22
3.4. Diagrama de Flujo	23
3.5. Preparación de la muestra	24
3.5.1. Selección de materia prima	24
3.5.2. Despulpado de la Fruta Milagrosa	24
3.6. Elaboración de extracto de la Fruta Milagrosa	25
3.6.1 Extracción por solvente y agua destilada (pulpa)	25
3.6.2 Extracto en alcohol al 90% - (pulpa)	25
3.6.3 Extracto en metanol- (pulpa)	25
3.7. Métodos de análisis de la Fruta Milagrosa	25
3.7.1. Determinación de la inhibición de radicales libres por DPPH	25
3.7.2. Determinación de proteína	26
3.8. Análisis Organolépticos	26
3.8.1 Encuestas	27
3.8.2 Tabulación	27
3.9. Método Simplex para la formulación de una bebida de té de kombucha endulzada con extracto de <i>Synsepalum dulcificum</i>	27

<b><i>CAPÍTULO IV</i></b>	<b>30</b>
<b><i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i></b>	<b>30</b>
4.1 Determinación de resultados cuantitativamente	30
4.1.1 Determinación de la inhibición de los radicales libres por DPPH	32
4.2. Evaluación de la aceptabilidad sensorial del té de Kombucha endulzada con el extracto <i>Synsepalum dulcificum</i>	35
<b><i>CAPITULO V</i></b>	<b>46</b>
5.1. CONCLUSIONES	46
5.2. RECOMENDACIONES	46
<b><i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i></b>	<b>47</b>
<b><i>ANEXOS</i></b>	<b>50</b>

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, la fruta milagrosa, es originaria de África occidental y es conocida científicamente como *Synsepalum dulcificum*, esta fruta termolábil es desconocida en varias ciudades del Ecuador. Se han observado algunos cultivos de esta fruta en diferentes partes del país, específicamente en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, en Esmeraldas, como en viveros aledañas de la ciudad de Milagro y Guayaquil (López, 2016). Se han identificado mediante espectrofotometría los compuestos fenólicos beneficiosos para la salud como flavonoides y antocianos (Quiroz, J; Menéndez, A; Alegría, 2020).

Se plantea en esta investigación, como primer punto se determinará el origen de la materia prima existente en Ecuador (Córdor, 2019), y dar a conocer las características de los antioxidantes en los extractos de la fruta milagrosa, mediante un diseño simplex centrado de la formulación y aceptabilidad de una bebida endulzada con el extracto de la fruta milagrosa. Al disminuir el estrés oxidativo, dan un efecto positivo en la salud al prevenir enfermedades crónicas y a controlar inflamación intestinal, artritis e incluso enfermedades respiratorias como el asma (Quiroz, J; Menéndez, A; Alegría, 2020).

Esta propuesta de investigación consiste en una cuantificación cercana al consumo de edulcorantes no calóricos, y los beneficios de sus propiedades antioxidantes con el té de Kombucha se les han atribuido propiedades antiinflamatorias, anti alérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antivirales o anti carcinogénicas (Navarro, 2016).

Hasta el momento no se ha analizado las propiedades antioxidantes y sensoriales que puede brindar la fruta milagrosa como aditivo en el té de Kombucha. No se han descrito los efectos secundarios, ni la percepción del sabor al mezclarlos lo que creará una grata sorpresa en los consumidores.

Extraer los componentes activos de la fruta milagrosa mediante tres solventes: i) agua, ii) alcohol al 90% y iii) metanol; DPPH para determinar la capacidad antioxidante y luego se utilizará como edulcorante para aumentar la aceptabilidad del té de kombucha.

## CAPITULO I

### EL PROBLEMA

#### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

##### 1.1.1. Problematicación

Actualmente, alrededor de 41 millones de ciudadanos en el mundo mueren por enfermedades no transmisibles (ENT), entre los cuales se incluyen enfermedades como cardiovasculares (ECV), cáncer, enfermedades respiratorias crónicas (ERC), y diabetes. En todo el mundo, alrededor de 18 millones de personas mueren por enfermedades cardiovasculares, 9.01 millones por cáncer, 4 millones por enfermedades respiratorias crónicas (ERC) y 2 millones por diabetes (OPS/OMS, 2018). Así mismo, en Ecuador, las ENT representaron el 53% de las muertes en 2018, según el Instituto Nacional de Estadísticas e Investigaciones (INEC). En el cual, el 48.6% correspondió a ECV, 30% cáncer, 12.4%, diabetes mellitus; y 8.7% enfermedades respiratorias crónicas (MSP, INEC, & OPS, 2018). En este contexto, jefes de Estado y de Gobierno se han comprometido a reducir las cifras por ENT al 33% (OPS, 2014).

Este compromiso ha sido plasmado en la agenda para el desarrollo sostenible 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Específicamente al planteado en el ODS 3 “Salud y bienestar”. Sin embargo, las ENT son un gran obstáculo para el cumplimiento de estos compromisos (Argotty, 2019). Algunos alimentos tienen propiedades químicas que pueden ayudar a mejorar la salud al contener antioxidantes exógenos, y éstas pueden ser las hortalizas, legumbres, cereales, frutos secos, semillas, y frutas. En este trabajo de investigación se basa en el estudio “fruta milagrosa”, el nombre científico es *Synsepalum dulcificum* (Hurtado Vidarte & Ortiz Robles, 2020).

La fruta milagrosa es un alimento con capacidad antioxidante, es decir capaz de neutralizar el exceso de radicales libres durante la actividad oxidativa, que se produce en los organismos vivos (Venereo Gutiérrez, 2002). Esta fruta contiene distintos elementos fitoquímicos como (i) Los flavonoides, que tienen poderosos efectos antioxidantes, previenen la formación de coágulos de sangre en las arterias. (Navarro, 2016), (ii) Antocianinas, que son pigmentos vegetales de importancia por su potente acción antioxidante en la lucha contra

enfermedades cardiovasculares, resfriados, infecciones y alergias. (Bartoshuk, Gentile, Moskowitz, & Meiselman, 1974), (iii) La miraculina, además, actúa como una glicoproteína encargada de enmascarar el amargor y la acidez; En algunos casos, la percepción del gusto se restablece en pacientes que reciben quimioterapia. (Navarro, 2016) y, (iv) Anti-tirosinasa, capaces de catalizar la producción de melanina al usar el tallo de la fruta (Casañola-Martín et al., 2013). Además, se considera que posee un efecto antidiabético, mejorando la resistencia a la insulina (Badui Dergal, 2013).

Así mismo, la hoja de la “fruta milagrosa” tiene características como alto valor nutritivo, bajo contenido de azúcares simples, estas sustancias se derivan de la fruta y su cáscara para ayudar a prevenir la oxidación de las lipoproteínas (colesterol LDL-malo) y con ella la acumulación de colesterol en las arterias conocida como aterosclerosis, que provoca un infarto (Pamplona, 2003).

Ecuador es reconocido por ser un país megadiverso de factores geológicos, biogeográficos, ecológicos y de desarrollo; desde entonces, debido a su posición geográfica, se encuentra en el cinturón tropical de la tierra y, por esta razón, hace que los rayos del sol carguen una mayor cantidad de energía, obteniendo en su territorio el 10 % de todas las plantas del planeta. (Baldeón, 2021). En la producción de esta fruta, muy pocos agricultores la cultivan, ya que no todos los suelos son aptos para el crecimiento de esta fruta tropical. (López, 2016). El primer pionero en este tipo de cultivo fue ECUAFORESTAR, ubicada a 23km en Quevedo, en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas con un total de 8000 árboles en producción, manteniendo cerca de 50000 árboles en diferentes viveros.(Tapia, D; Ibarra, 2018). Y en otra ciudad como El Carmen, en zonas de los Valles-Quito, Quinindé-Esmeralda En mercados como Japón, E.E.U.U. Los países europeos han mostrado cierto interés en la comercialización de esta fruta tropical, debido a sus propiedades farmacológicas como la actividad antioxidante, beneficiosa para el ser humano (Guerrero, 2014; Tapia, 2014; Alarcón, 2014).

### **1.1.2. Delimitación del problema**

¿Cómo contribuyen al té de Kombucha los antioxidantes de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*), cultivada en Ecuador?

¿Cómo afectara el extracto de la fruta milagrosa en la preparación del té de kombucha?

### 1.1.3. Formulación del problema

¿Las propiedades antioxidantes del té de Kombucha endulzado con el extracto de la fruta milagrosa, podría usarse como alimento funcional para tratar ciertas enfermedades no transmisibles (ENT)?

## 1.2.OBJETIVOS

### 1.2.1. Objetivo General

Analizar las propiedades antioxidantes de la fruta *Synsepalum dulcificum* y su aplicación como edulcorante en el té kombucha.

### 1.2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar las propiedades antioxidantes de extractos de fruta milagrosa por espectrofotómetro de UV.
- Formular una bebida de té de Kombucha endulzada con extracto de *S. dulcificum*, mediante diseño simplex centroide.
- Evaluar la aceptabilidad sensorial del té de Kombucha y extracto de *S. dulcificum*, mediante análisis organoléptico.

## 1.3. JUSTIFICACIÓN

La tendencia a buscar soluciones alternativas que ayuden a la salud, como el campo de estudio de la biomedicina, productos naturales, cosméticos, entre otros. De acuerdo, con la Organización Internacional del Azúcar (ISA) con sede en Londres, que es el único órgano intergubernamental, declaró que el uso de edulcorantes en los últimos años muestra un alto nivel de aumento en comparación con el aumento en el consumo de azúcares comunes (Faizah, 1992).

Muchos cultivos se cultivan en Ecuador, incluida la fruta milagrosa, que pertenece a la familia de las Sapotáceas y oriunda de África occidental (Achigan-Dako et al., 2015). Esta fruta, contiene distintos compuestos bioquímicos de interés para el sector de la salud y la industria alimenticia (Rubén, 2010); (Cámbar, 1997); (de Cedrón et al., 2020); (Reyes & Durán, 2008). Estos compuestos incluyen (i) Miraculina, esta biomolécula en algunos casos restaura la percepción del gusto en pacientes sometidos a tratamientos de quimioterapia (Chang-Chih, I-Min, & Juei-Tang, 2006), (ii) Elementos fitoquímicos, como flavonoides, antocianinas, los cuales contienen anti-tirosinasa, capaz de catalizar la producción de melanina (Navarro, 2016), así también un efecto antidiabético, debido a que mejora la resistencia a la insulina por su alto contenido de compuestos bioactivos, como ácidos fenólicos y flavonoides (Inglett & Chen, 2011).

La finalidad de este trabajo de investigación es dar a conocer las propiedades de esta fruta cultivada en Ecuador y su posible aprovechamiento como aditivo alimentario y en el sector de la salud y maquillaje. Que cumplan con la norma vigente relacionados con este tipo de fruta tropical (Córdor, 2019).

## CAPÍTULO II

### 2.1. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1. Fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*)

##### 2.1.1.1. Antecedentes

Es una planta frutal originario de África, descubierta por el explorador europeo Chevalier des Marchais en 1725 (Martínez, Periago, & Navarro, 2016). Es una fruta tropical de la familia Sapotáceas (Terán, 2015). Es arbusto ramificado, de crecimiento lento hasta 4 metros de altura, con ramas que se extienden hasta 1 metros (Tapia, D; Ibarra, 2018); se cultiva especialmente en climas cálidos y húmedos, tierras bajas, sobre suelos ácidos (pH 4.5 – 5.8) (Córdor, 2019). Con un promedio de 30 a 50 frutas por árbol que se da cada 3 meses a 20-28°C. (Todd, 2005). La tasa de crecimiento es lenta, la producción comienza a partir de los 3 años y alcanza la madurez en unos 10 años en condiciones naturales ricas en materia orgánica. Es un árbol verde con flores blancas todo el año; al final de cada temporada de lluvias, produce la fruta distintiva alargadas y de forma ovoide a oblonga, de 1cm de ancho, 2-2.5 cm de largo, caída axial, cáliz ovado, de color rojo oscuro gradualmente. (Morales, 2020; Guerrero, 2014; Tchokponhoué et al., 2020; Córdor, 2019 ).

En Ecuador se han realizado ensayos sobre la producción de *Synsepalum dulcificum* en diferentes climas, los valles de Santo Domingo, El Carmen, Quito y Quinindé. Los resultados en esta zona fueron asombrosos ante la presencia de suelos arenosos y de fuerte luz y humedales, que se encuentran en los subtrópicos, ya que en la Sierra no da frutos. Se reproduce en los valles donde vive, pero no da fruto. (Marmolejo & Alfonso, 2021).



### 2.1.1.2. Taxonomía de la *Synsepalum dulcificum*.

A continuación, la taxonomía del *Synsepalum dulcificum* fue detallado en 1843 por John Lindley un naturalista y botánico británico; en la revista botánica “*Edward’s Botanical Register*”.

**Tabla 1.** Taxonomía *Synsepalum dulcificum*

	Descripción
Reino	Plantae
Rama	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Sapotaceae
Género	<i>Synsepalum</i>
Especie	<i>Synsepalum dulcificum</i>

Nota: Descripción de la taxonomía del *Synsepalum dulcificum*, tomado de (Pérez, Medina, & Uribe, 2015).

### 2.1.1.3. Composición de ácidos grasos de la semilla del *Synsepalum dulcificum*

Los compuestos fenólicos que se encuentran en la fruta milagrosa. consulte la Tabla 2. Se han encontrado flavonoides y antocianinas, que proporcionan antioxidantes a la fruta, atribuyendo propiedades farmacológicas. (Navarro, 2016).

**Tabla 2.** Composición de ácidos grasos de la semilla de la "fruta milagrosa" en peso.

Ácidos grasos	%
Ácidos grasos saturados	41.40
Ácido palmítico	33.40
Ácido esteárico	7.00
Ácidos grasos insaturados	52.70
Ácido oleico	37.20
Ácido linoleico	14.20
Ácido linolénico	1.10
Ácido láurico	0.60
Ácido araquidónico	0.20
Ácidos grasos monoinsaturados	37.40
Ácidos grasos poliinsaturados	15.30

Nota: Porcentaje de ácidos grasos presente en peso seco de la semilla, tomado de Martínez-Nicolás et al (2016).

#### 2.1.2.1. Edulcorantes naturales proteicos

Para un edulcorante natural que reemplaza a la sacarosa común, se han identificado varias proteínas que pueden alterar la percepción del sabor en dulzor, y estas son las taumatinas, la mabinlina, brazeína, pentadina, monelina y la curculina. Y la miraculina no tiene sabor y puede alterar tanto el dulzor como el amargor. (Badui, 2006).

### 2.1.2.1.1. Proteína que actúa en el *Synsepalum dulcificum*

La miraculina en sí no es dulce (Kinghorn et al., 2010), es tetraedro (24.6 kDa), que es una mezcla de cuatro monómeros agrupados en un dímero. Dentro de cada dímero, dos glicoproteínas mágicas se unen mediante un puente disulfuro intramolecular. Se concluyó que la miraculina presenta una cadena polipeptídica de 42000 – 44000Da, compuesta por 191 residuos de aminoácidos. Y constituida por 473 aminoácidos. Y actúa como modificadora del gusto (Rubén, 2010).

Es una proteína llamada glicoproteína y se encuentran localizada en la pulpa de la fruta *Synsepalum dulcificum*, que tiene la actividad de enmascarar el sabor ácido de los dulces después de comer. En la estructura de la proteína, se pueden unir algunos carbohidratos como xilosa, fructosa y manosa. (Navarro, 2016).



### 2.1.2.1.2. Mecanismo de acción de la miraculina

La miraculina (MCL), tras la exposición oral, se une a los receptores gustativas, y éstas alteran su función enmascarando un sabor amargo con una sensación dulce en el tiempo. Durante 30 minutos (Liqing, Yixiao, Xiumei, Witoon, & Zhimin, 2014), se localizaron los receptores gustativos activos (hT1R2-hT1R3), aunque los mecanismos moleculares que regulan el gusto siguen sin estar claros (Cedrón et al., 2020; Córdor, 2019)). Mediante un sistema análisis

celular. El MCL parece unirse a hT1R2-hT1R3 como inhibidor a pH neutro, alterando así la función biológica del activador a pH ácido.(Navarro, 2016).

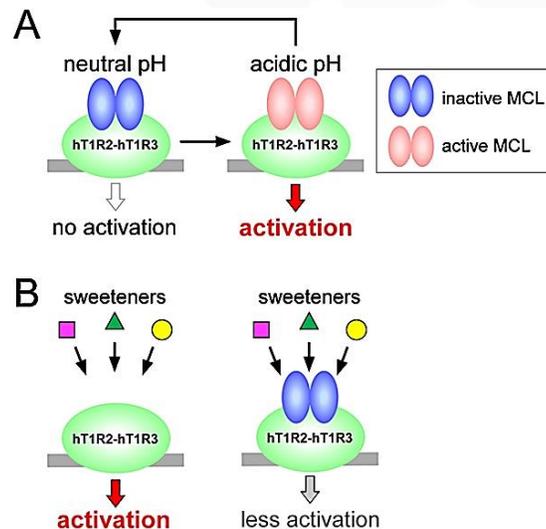


Figura 3. Mecanismo de acción de la Miraculina

### 2.1.3. Propiedades nutricionales de la fruta milagrosa

Según Navarro, (2016), la fruta milagrosa contiene aminoácidos, y una glicoproteína llamada Miraculina de PM 44000 da y por el gran tamaño de las semillas, contiene una pequeña parte comestible. El contenido de agua del residuo es aproximadamente del 65,3% y no contiene grasa. El contenido de azúcar simple es muy bajo y adecuado para pacientes diabéticos y obesos. La composición de carbohidratos es 22,5%, el monosacárido es 5,6%, de los cuales glucosa, ribosa, arabinosa, galactosa y ramnosa. Se encontraron compuestos fenólicos en las vainas (73,79 mg / g), mientras que se encontraron en la pulpa y semillas en concentraciones más bajas (32,46 mg / g y 13,52 mg / g). El contenido total de compuestos fenólicos en la pulpa y la cáscara de la fruta milagrosa es de 625,57 mg / 100 g de peso.

**Table 4.** Composición porcentual de aminoácidos de la fruta milagrosa

glicina	10.00	serina	6.10
alanina	6.30	treonina	6.10
valina	8.00	cistina	2.30
leucina	6.50	tirosina	3.60
isoleucina	4.70	lisina	7.90
prolina	6.00	arginina	4.70
fenilalanina	5.00	histidina	1.80
ácido glutámico	9.20	ácido aspartámico	11.30

Nota: Esta fruta milagrosa contiene varios aminoácidos, posee una glicoproteína llamada Miraculina, tomado por (Tapia, D; Ibarra, 2018).

**Tabla 5.** Composición nutricional de la fruta de *Synsepalum dulcificum*

Composición nutricional	g/100g de PF*
agua	64.30
grasa	0.00
carbohidratos	22.50
monosacáridos	5.60
fibra dietética	12.50
vitamina a	37.30
vitamina c	40.10
cenizas	1.00
compuestos fenólicos totales	625.57

Nota: Contenido de la pulpa de la fruta milagrosa, tomado por (Navarro, 2016).  
PF\*: peso fresco

## **2.1.4. Propiedades terapéuticas de la Fruta Milagrosa**

### **2.1.4.1. Antocianinas**

Se encuentra en el reino vegetal en forma de glucósidos y tiene un característico color rojo brillante. La ingesta diaria estimada de antocianinas está entre 180 y 215 mg, mientras que la ingesta de otros flavonoides como la quercetina es de solo 20 a 25 mg / día. (Badui Dergal, 2013).

Los estudios epidemiológicos confirman que el consumo de antocianinas reduce los riesgos asociados con enfermedades cardiovasculares, diabetes, artritis y cáncer debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. (Li-Shu & Stoner, 2008).

Según (Inglett & Chen, 2011), es posible aislar e identificar pigmentos de antocianina y flavonol, como cianuro-3-monogalactósido, cianuro-3-monoglucósido, cianidina-3-monoarabinósido, delfinidina-3-monogalactósido, y delfinidina-3-monoarabinósido por cromatografía y espectroscopia.

### **2.1.4.2. Actividad antioxidante**

Se ha estudiado el contenido de fenol y flavonoides y la actividad antioxidante de la fruta milagrosa, la cáscara, la pulpa y las semillas. En particular, el contenido de fenol en la piel es tres veces mayor que el de la pulpa y cuatro veces mayor que el de las semillas. Las semillas contribuyen en un 56% a la actividad antioxidante (Cóndor, 2019). Este estudio indica que la fruta *S. dulcificum*, no solo es una fuente en mascarador de sabor, también una fuente de actividad antioxidante para aplicaciones alimentarias funcionales. (Inglett & Chen, n.d.). Su contenido en flavonoides le confiere propiedades beneficiosas para la salud, como una adecuada permeabilidad capilar en el sistema circulatorio, antiinflamatorio, neuro protector, cancerígeno y de prevención de enfermedades infecciosas y virales, como los resfriados (Badui, 2006).

Según (Inglett & Chen, 2011), los componentes antioxidantes de los alimentos pueden reducir la degradación de los radicales libres y los tejidos del organismo. Resulta que los antioxidantes naturales se encuentran en todas las plantas, microorganismos, hongos y tejidos animales. (Guerrero, 2014).

### 2.1.4.3. Actividad endulzante

La fruta milagrosa oculta el amargor y el disgusto ácido por las frutas y los alimentos a través de las papilas gustativas, ya que descomponen las glicoproteínas, dándoles un sabor dulce y salado. (Tapia Alarcón, 2014).

Como proteína baja en calorías de origen natural, se utiliza como edulcorante, potenciador del sabor y suplementos alimenticios para animales. (Chen et al., 2009).



### 2.1.4.4. Actividad antidiabética

Según (Córdor, 2019), un estudio taiwanés confirmó su capacidad para actuar como agente antidiabético, ya que aumenta la inmunidad del paciente cuando se usa como adyuvante. (Obafemi et al., 2017). La fruta milagrosa reduce el amargor y suaviza el paladar, útil para pacientes con cáncer al eliminar el sabor metálico. (Navarro, 2016). Secuela al recibir un tratamiento de quimioterapia (López, 2016). Contienen un azúcar llamado glucosamina, que contiene un componente estructural que el cuerpo necesita para producir la molécula. Los glicosaminoglicanos especializados que se encuentran en el cartílago mejoran la sensibilidad a la insulina. (CEVALLOS et al., 2007).

### 2.1.4.5. Actividad anti-tirosinasa

En la pulpa extraída de la planta de *S. dulcificum*, los extractos de frutos de metanol y cloroformo mostraron actividad anti-tirosinasa, lo que fue confirmado en pruebas in

vitro. De los 13 compuestos aislados del tallo de una fruta milagrosa, se encontraron (+)-syringaresinol ( $C_{22}H_{26}O_8$ ) y (+)-epi-syringaresinol 4'-O-beta-D-glucopyranoside ( $C_{28}H_{36}O_{13}$ ) mostraron actividad inhibidora en la proliferación del melanoma humano (Tapia Alarcón, 2014).

Según (Chen et al., 2009), se han encontrado algunas propiedades biológicamente activas en el *Synsepalum dulcificum*, a saber, inhibición de tirosinasa y antioxidantes. El segundo tipo se aplica en el tratamiento de enfermedades cutáneas de hiperpigmentación como pecas, cicatrices de acné y melasma.

#### 2.1.4.6. Actividad hipoglucémica

Su efecto de disminución del azúcar en la sangre, como bebida de té milagrosa de la función de la hoja de la fruta preparada utilizando la hoja de la fruta milagrosa como materia prima, para inhibir el alfa glucosidasa (Navarro, 2016).

#### 2.1.4.7. Actividades hiperuricemia

El efecto antiinflamatorio de la fruta milagrosa en macrófagos RAW264.7 tratados con cristales de monosodiumurato MSU y el estudio de la actividad de la xantina oxidasa in vitro con extractos de butanol de la fruta milagrosa atenuaron la hiperuricemia. Nuestros resultados pueden respaldar la utilidad de la fruta *S. dulcificum* en la medicina herbal (Shi et al., 2016).

#### 2.1.5. Estudios de métodos de análisis del *S. dulcificum*

Al realizar estudios se han identificados algunos efectos al momento de usar la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*). A continuación, podemos visualizar los 8 principales efectos en la Tabla #4.

**Tabla 3.** Estudios in vitro y preclínicos del *S. dulcificum*

Material de partida	Extracto de solvente	Efectos	Tipo de estudio
Semillas en polvo	95% etanol	Agente reductor del colesterol	Preclínica

Hojas secadas al aire	80% metanol	Antidiabético	Preclínica
Secado al aire / piel +pulpa	95% EtOH (etanol o alcohol etílico)	Captación de glucosa	In vitro (C <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )
Polvo de fruta milagrosa	Agua / butanol	Antioxidante ; anti-hiperuricemia	In vitro, preclínica
Hojas, tallos y fruta secas	80% Metanol, 10% EtOH	Reducir la proliferación de líneas celulares de cáncer colorectal	In vitro
Tallos	MeOH o metanol	Reduce la proliferación en líneas celulares de melanoma	In vitro
Pulpa y fruta	Metanol-Fruta CHC <i>l</i> <sub>3</sub> (triclorometano) – pulpa	Efectos anti-tirosinasa y antioxidantes	preclínica
Polvo de fruta milagrosa	No extracción	Mejora la resistencia a la insulina	

Nota. Estudios preclínicos de la Fruta Milagrosa e identificación de los efectos al usar dicha planta tropical, tomado por (Cevallos & Andrade, 2007).

## 2.1.6. Métodos convencionales de extracción

### 2.1.6.1. Extracción asistida por microondas

Este método induce el movimiento molecular y, por lo tanto, transfiere energía al solvente

y al material vegetal; El principio, por tanto, se basa en actuar directamente sobre materiales polares o disolventes, ya que el campo eléctrico induce el calentamiento mediante

dos mecanismos simultáneos: rotación dipolo y conducción iónica. Este método es selectivo porque el calentamiento se produce solo si se absorbe la radiación.(Nolazco Cama et al., 2020).

### **2.1.6.2. Extracción asistida por ultrasonido**

Esto se hace a temperaturas más bajas, sin embargo, se ha demostrado que este método puede aumentar la extracción de componentes de la fragancia. Por medio de fuerzas de cavitación ultrasónica, esto provoca altos gradientes. La fuerza de corte rompe la pared celular y libera los componentes acumulados. Se encuentra en disolventes.(Nolazco Cama et al., 2020).

### **2.1.6.3. Análisis cromatográfico de gases de esteres metílicos de ácidos grasos (FAMES)**

Este análisis incluye esterificación, segregación y determinación de FAMES cuantitativos. La fase estacionaria permitirá la separación de FAMES (semejante disuelve semejante). Esto significa, que un líquido no polar se unirá a un líquido no polar. Gracias al período de retención, puede identificar los FAMES. (Nolazco Cama et al., 2020).

### **2.1.7. Extracción por disolventes**

Por ejemplo, los aceites obtenidos con disolventes son de color más oscuro y menos brillantes. Aquellos que son más ricos en azufre y tocoferoles son libres de ácido. Menos si la eliminación del disolvente se realiza al vacío y a una temperatura más baja. (Terrado Quevedo et al., 2002).

### **2.1.8. Té de kombucha**

Es una simbiosis de microorganismos como levaduras y bacterias. Coexisten armoniosamente en un medio líquido compuesto por sustratos dulces y de té. Después de la fermentación, se convirtió en un remedio natural. Los chinos lo han estado usando durante mucho tiempo. Tiene una serie de efectos beneficiosos que van desde la pérdida de peso hasta el tratamiento del cáncer, incluso el tratamiento del sida. (CHICAIZA, 2014; Dufresne & Farnworth, 2000).

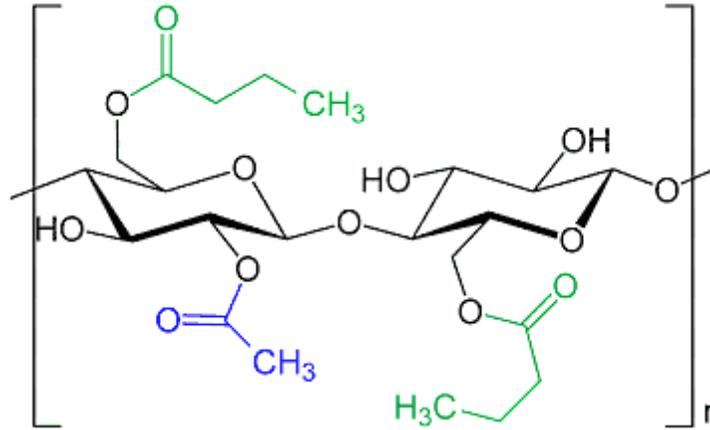


Figura 5. Kommbucha celulosa

### 2.1.8.1 Importancia como alimento funcional

Algunos autores hablan de sus efectos terapéuticos a base de ácidos glucónico, glucurónico, láctico y acético, vitamina C y vitaminas del grupo B. (Jayabalan et al., 2007). Estos compuestos influyen en (i) la actividad antibacteriana: inhiben el crecimiento de *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enteritidis* y *Salmonellatyphimurium*. (Sreeramulu et al., 2000). (ii) Función antioxidante: Totalmente inhibitoria. (Lonăr et al., 2006). (iii) Función antiinflamatoria: inhibe el TNF y la IL-6. (Vázquez-Cabral et al., 2017). (iv) Capacidad anticáncer: efectos citotóxicos sobre diversas células cancerosas (Cóndor, 2019).

### 2.1.8.2 Aporte nutricional y a la salud

Según Dufresne & Farnworth, 2000; Jayabalan et al., 2007; Sreeramulu et al., 2000; Lonăr et al., (2006) , nos mencionan los minerales (manganeso, hierro, cobre, potasio, calcio, zinc y magnesio)) ácidos orgánicos esenciales, vitaminas (B12, B3, B2, B12, B6, ácido fólico, D, C, K y E), y algunos compuestos comunes para la salud.

**Tabla 4.**

Composición nutricional general del té kombucha

Compound	Average composition	Initial sucrose	Fermentation time (days)	References	
Organic acids	<b>Acetic acid</b>	5.6 g/L	70 g/L	15 d	Blanc (1996)
	<b>Acetic acid</b>	8.36 g/L	100 g/L	18d	Jayabalan (2007)
	Acetic acid	11 g/L	100 g/L	30d	Chen and Liu (2000)

	Gluconic acid	39g/L	100 g/L	60 d	Loncar et al. (2006)
	Glucuronic acid	0.0160 g/L	70 g/L	21 d	Jayabalan et al.
	<b>Lactic acid</b>	0.18 g/L	100 g/L	18d	(2007)
Vitamins	Vitamin B1	0.74 mg/mL	70 g/L	15 d	Bauer-Petrovska and
	Vitamin B2	8 mg/100 mL	70 g/L	10 d	Petrushevskaja -Tozi (2000)
	Vitamin B6	0.52 mg/mL	70 g/L	15 d	Malbaa et al. (2011)
	Vitamin B12	0.84 mg /mL	70 g/L	15d	Bauer-
	Vitamin C	25 mg/L	70 g/L	110 d	Petrushevskaja -Tozi (2000)
					Malbaa et al. (2011)
					Bauer-
					Bauer-Petrovska and
					Petrovska and
					Petrushevskaja -Tozi (2000)
					et al. (2011)
General composites	Ethanol	5.5 g/L	100 g/L	20 d	Chen and Liu (2000)
	Proteins	3 mg/mL	100 g/L	12d	Jayabalan et al. (2007)
	Tea polyphenols	7.8 Mm GAE	100 g/L	15d	Chu and Chen (2006)
Minerals	Cu, Fe, Mn, Ni, Zn	0.1 to 0.4 µg/mL	70g/l	15 d	Bauer-Petrovska and
					Petrushevskaja -Tozi (2000)
Anions	F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup> so <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0.04 to 3.20 mg / g	100 g/L	7 d	Kumar, Narayan, and Hassaraj (2008)

Nota: la tabla 4, trata de la composición nutricional general del té kombucha, (Dufresne & Farnworth, 2000).

### 2.1.8.3 Método de elaboración

Según su acrónimo en inglés SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), las biopelículas en forma de disco utilizadas para mezclar el té se seleccionaron como la clave para el proceso de fermentación. Contiene diversas bacterias acéticas (*Acetobacter sylimum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurians* y *Gluconobacter oxydans*) y levaduras (*Saccharomyces sp.* *Pichia spp.*, *Brettanomyces sp.*, *Zygosaccharomyces bailii*) y un menor porcentaje de ácido láctico. Para preparar el caldo terminado, primero se prepara el té y se agrega azúcar en una cantidad de 50-150 gramos por litro (como veremos más adelante, esto afecta la composición del producto final). Cuando el té con SCOBY y azúcar, comienza la fermentación debido a la presencia de diferentes tipos de bacterias y levaduras, combinándose 3 tipos: fermentación alcohólica, láctica y acética, con diferentes factores que seguramente darán como resultado un producto final saludable. (Dufresne & Farnworth, 2000).

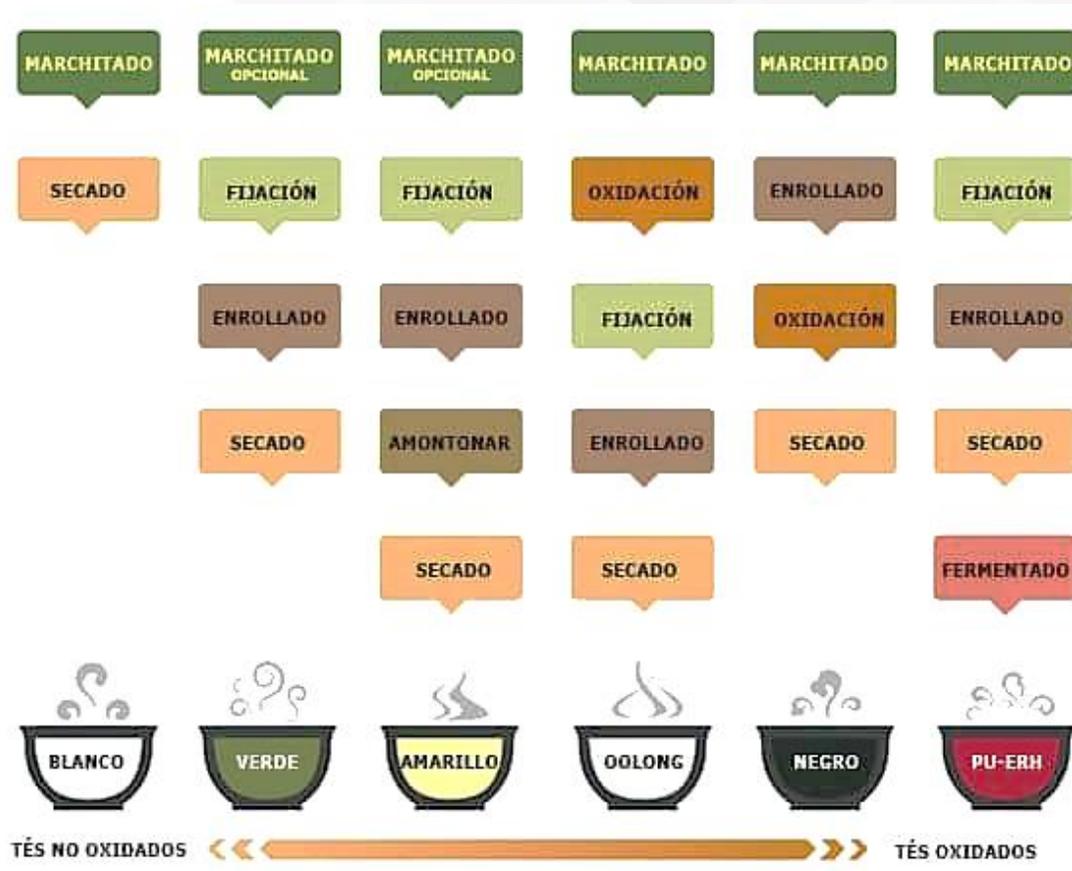


Figura 6. Elaboración del té de kombucha

#### 2.1.8.4 Tipo de sustratos que se han utilizado para la elaboración de té de kombucha

La kombucha se suele obtener fermentando té negro o verde. Sin embargo, varios autores (Jayabalan et al., 2007; Sreeramulu et al., 2000; Lonär et al., 2006; Hur et al., 2014) han probado análogos de té de kombucha, fermentados a partir de bebidas que contienen equinácea, satreja montana o coco, obtuvo resultados interesantes de bebidas fermentadas, como la inhibición de diferentes especies de la familia Candida. (CHICAIZA, 2014).

#### 2.1.8.5 Métodos de evaluación sensorial, actividad antioxidante.

El tiempo de preparación típico para el té de kombucha varía de 7 a 60 días, y los mejores resultados se determinan en un proceso de preparación de aproximadamente 15 días. Como resultado, el tiempo de fermentación produce un aumento de los antioxidantes de la bebida como los polifenoles, así como de metabolitos transportables en el espacio entre la biopelícula y el

líquido e interfiere con el transporte de nutrientes. El tiempo de cocción también afecta el sabor de la bebida. Por un período de 6 a 10 días, se obtendrá una bebida refrescante similar al jugo de manzana, mientras que un mayor tiempo de fermentación dará lugar a más vinagre y posiblemente a un regusto desagradable (Jayabalan et al., 2007; Cóndor, 2019).

Según el modelo del Codex Alimentarius de la FDA, se recomienda que la fermentación para el consumo humano no supere los 10 días. (FAO, 2018). La temperatura será un factor importante en el crecimiento microbiano, la actividad enzimática y la producción de antioxidantes como los compuestos fenólicos (Hur et al., 2014). La temperatura de fermentación más común es de 22 - 30 ° C, sin embargo, según (Lonăr et al., 2006), el mayor valor de antioxidantes se determinó entre 37 y 42 °C. Y el pH mínimo permitido no debe ser inferior de 2.5-3, como en el trato gastrointestinal superior. Los principales ácidos que se producen durante la fermentación son el acético, el glucónico, el tartárico, el málico y en menor medida, el cítrico.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó utilizando fuentes bibliográficas nacionales e internacionales a partir de bases de datos digitales para recopilar información sobre el origen de las materias primas (Jouvin-Navarrete, 2016).

Debido a que el trabajo de campo debe ser información analizada y sintetizada a partir de fuentes de referencia, la experiencia propia, además, debe aplicar su verdadera información y experiencia en el campo de la investigación de "Fruta Milagrosa", química social (Tapia-Alarcón, 2014).

De acuerdo con Ochoa M & Ayala A (1969), para detectar algunas propiedades de este resultado, se realizó un procedimiento de extracción utilizando solventes específicos: agua, alcohol 90%, metanol para la determinación de la presencia de antioxidantes utilizando el espectrofotómetro Genesys 10 UV. Y otros análisis: como la aceptabilidad sensorial a través del análisis sensorial.

#### 3.1. Ubicación de la Materia Prima “Fruta Milagrosa”

**Tabla #5.** Datos Generales de proveedores de materia prima

<b>País</b>	Ecuador	Ecuador
<b>Empresa</b>	Ecuaforestar	Casa Bonsai
<b>Provincia</b>	Esmeralda	Guayas
<b>Cantón</b>	Quinindé	Milagro
<b>Parroquia</b>	La Unión	Roberto Astudillo
<b>Recinto</b>	El limón	
<b>Propiedad</b>	Zoila Aurora	
<b>Dirección</b>	Km 111 Vía Sto.	Roberto Astudillo, -
<b>UTM</b>	Domingo	2.1737263, -79.5373809
	17 N 67913720818	

<b>Altitud</b>	145 m.s.n.m	800 m.s.n.m
<b>Temperatura</b>	Min. 20°C – Max. 29°C	Mín.29°C – máx. 31
<b>Humedad relativa (RH)</b>	75.00%	85%
<b>Suelos</b>	Textura variable, arenosos a arcillosos, suelos poco profundos	Suelos franco-arcillosos, mal drenados, poco profundos de fertilidad.

Nota: Elaborado por autora

### 3.2. Área y sitio de estudio.

Las muestras vegetales: Fruta Milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) se obtuvieron de la Empresa “Ecuaforestar” localizada en la vía Santo Domingo Tsáchilas y “Casa Bonsai” por Roberto Astudillo. La obtención de los extractos y pruebas experimentales fueron realizadas en el Laboratorio Ciencias de la vida en la Universidad Politécnica Salesiana y la matrix en Ecuador laboratorio AGRORUM S.A (Official Sales Partner Eurofins) en Guayaquil, quienes están acreditados por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) de acuerdo con los requerimientos establecidos en la Norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2018.

### 3.3. Equipos y Materiales para la extracción de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*)

#### Materia Prima:

- Fruta Milagrosa (*Synsepalum dulcificum*), 150 gr
- Agua
- Alcohol Etilico al 90%
- Metanol

#### Materiales:

- Papel filtro
- Pizeta
- Celdas o cubetas (6)
- Pipeta graduada
- Micropipetas
- Balanza digital (1)
- Matraz Erlenmeyer 50 ml
- Espectrofotómetro Genesys 10 UV
- Secador de bandeja de vacío
- Mortero

### 3.4. Diagrama de Flujo

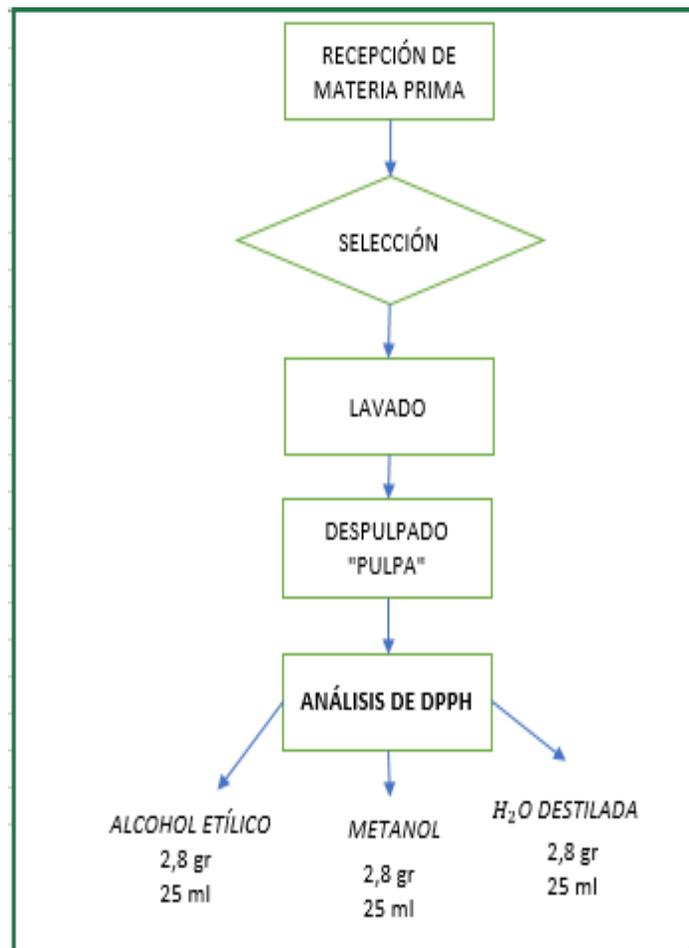


Figura 7. Obtención del extracto de la Fruta Milagrosa

### **3.5. Preparación de la muestra**

#### **3.5.1. Selección de materia prima**

Las materias primas se obtienen de proveedores la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas y Guayas. En esta etapa se seleccionan la Fruta Milagrosa, Preferentemente las que miden más de 1 cm de largo para que la pulpa no se encoja demasiado durante el proceso de cocción. Y almacenada a temperaturas de  $-24^{\circ}\text{C}$  para mantener la actividad bloqueadora de sabor.

#### **3.5.2. Despulpado de la Fruta Milagrosa**

Debe enfatizarse que se requiere mojar con solventes antes de la extracción para facilitar la penetración del fluido en la membrana celular. Este proceso se lo denomina método de percolación, que consiste el paso de los fluidos a través de materiales porosos (Cevallos & Andrade, 2007). Según (C. & N., 2019), teniendo en cuenta el índice de madurez y pérdida debido a factores externos, luego enjuague, sumerja en un poco de agua, seque con una servilleta; luego lavar y moler la Fruta milagrosa.

La fruta madura se utiliza para obtener el extracto. Se cosechan en diferentes épocas del año y se almacenan en el congelador a temperatura  $-24^{\circ}\text{C}$ . Para obtener el primer extracto, se mezcla la fruta entera con agua destilada usando la licuadora. El licuado se compone de 250 gr de fruta con 250 ml de agua destilada a  $4^{\circ}\text{C}$  y pH 7.2. Este proceso se realizó a baja temperatura para no desnaturalizar la glicoproteína. Para triturar completamente la fruta se toma un tiempo de 3 minutos aproximadamente (Cevallos & Andrade, 2007).

Cuando el licuado esté listo, se filtró el extracto con un papel filtro (90mm) para separar los sólidos, dejando pasar la glicoproteína (miraculina). También se mide el pH de la solución. Esta solución filtrada se realizó a una temperatura de  $1^{\circ}\text{C}$  y durante 10 minutos a 3000 rpm en una centrífuga. Transcurrido el tiempo de centrifugación, la solución queda lista para las pruebas correspondientes (Cevallos & Andrade, 2007).

### **3.6. Elaboración de extracto de la Fruta Milagrosa**

#### **3.6.1 Extracción por solvente y agua destilada (pulpa)**

Tomar 2.8 g de materia prima (pulpa), agregar 25 ml de agua destilada y homogeneizar, luego separar, pegar y filtrar a través de un frasco de Erlenmeyer de 50ml con papel filtro de 90mm.

#### **3.6.2 Extracto en alcohol al 90% - (pulpa)**

Se seleccionó 2.8 gr de materia prima (pulpa), se adicionaron 25 ml de alcohol al 90% y se homogenizó para luego separar, pegar y filtrar a través de un matraz Erlenmeyer 50 ml con papel filtro (90mm).

#### **3.6.3 Extracto en metanol- (pulpa)**

Se seleccionó 2.8 gr de materia prima (pulpa), se adicionaron 25 ml de metanol y se homogenizó para luego separar, pegar y filtrar a través de un matraz de síntesis extrema de químicos de 50 ml con papel filtro (90mm).

### **3.7. Métodos de análisis de la Fruta Milagrosa**

#### **3.7.1. Determinación de la inhibición de radicales libres por DPPH**

El principal factor que considerar, es el tiempo en cada muestra. Se utilizaron 2 ml de DPPH y 15 min.

- Cuando se utilizan cubetas como recipientes de muestras, el potencial inhibidor de los extractos se puede determinar con un espectrofotómetro Genesys 10 UV (Anexo #1).
- La curva de detección de actividad se muestra en el gráfico de actividad antioxidante, es decir, absorción en función del tiempo.
- Fórmula del % Inhibición =  $\left(\frac{abs_i - abs_f}{abs_i}\right) \times 100\%$

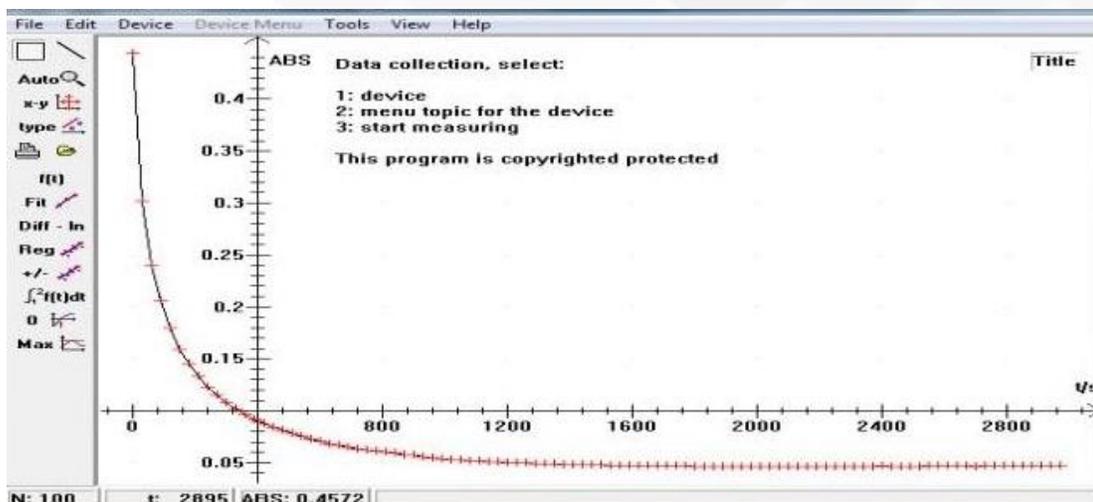


Figura 8. Gráfica estabilizada ABS vs Tiempo

### 3.7.2. Determinación de proteína

Para la determinación de proteína presente en la fruta milagrosa se siguió el procedimiento utilizado por AOAC 984.13 Animal feed and pet food AOAC 984 13A en el laboratorio AGRORUM S.A, asociado con Eurofins en Alemania.

### 3.8. Análisis Organolépticos

Se realizaron las pruebas de análisis organolépticas mediante la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1751:96 que establece a la comercialización del órgano comestible de la planta, que están destinadas al consumo en estado natural.

Realizar un análisis sensorial del té dulce de Kombucha con extracto de fruta milagrosa para evaluar la aceptabilidad según lo determinado por los sentidos de la vista, el olfato, el tacto y el gusto de los participantes. Las papilas gustativas no entrenadas serán propias, este es un factor importante.

**Tabla 5.** Métodos Físicos en la Fruta Milagrosa

Color
Olor
Sabor
Textura

Nota: Elaborado por autora.

### 3.8.1 Encuestas

El formulario de preguntas presentado a 50 panelistas se puede encontrar en el anexo (Anexo #2), y estas preguntas fueron precisadas para obtener los valores que faciliten el estudio. La encuesta cuenta de 8 preguntas simples de opción múltiple.

### 3.8.2 Tabulación

Se utilizó Microsoft office Excel, una herramienta de análisis de datos accesible y fácil de usar. Para crear un informe tabular, un gráfico descriptivo de valores obtenidos de las encuestas. Las variables formuladas en preguntas son fundamentales para el trabajo, y gracias a esta herramienta mediante una hoja de cálculo, conocemos el sabor de la fruta, y los parámetros del producto. Una vez que se generan los resultados, facilita el análisis de la muestra y la inferencia.

Las encuestas se realizaron el 15, 24 y 25 de diciembre de 2021, se realizaron en la ciudad de Milagro.

## 3.9. Método Simplex para la formulación de una bebida de té de kombucha endulzada con extracto de *Synsepalum dulcificum*

Varias muestras de té de Kombucha fueron endulzadas con extracto de *Synsepalum dulcificum* en concentraciones de 30%, 50% y 70%. Utilizando el método simplex, la proporción 1/3 fue considerado la más apta para formular la bebida.

### **Función Objetivo**

Maximizar:  $Z = 30X_1 + 50X_2 + 70X_3$

### **Sujeto a:**

$$30X_1 + 50X_2 + 70X_3 \leq 1/3$$

$$30X_1 + 50X_2 + 70X_3 \leq 1/2$$

$$X_1, X_2, X_3 \geq 0$$

**Función Objetivo**

Maximizar:  $Z = 30X_1 + 50X_2 + 70X_3 + 0S_1 + 0S_2$

**Sujeto a:**

$$30X_1 + 50X_2 + 70X_3 + 1S_1 + 0S_2 = 1/3$$

$$30X_1 + 50X_2 + 70X_3 + 0S_1 + 1S_2 = 1/2$$

Planteamiento de la ecuación:  $X_1; X_2; X_3; S_1; S_2 \geq 0$

**Resolución:**

**Matriz de origen**

Tabla 1	$C_j$	30	50	70	0	0	
$C_b$	Base	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$S_1$	$S_2$	R
0	$S_1$	30	50	70	1	0	1/3
0	$S_2$	30	50	70	0	1	1/2
	Z	-30	-50	-70	0	0	0

Figura 9. Método Simplex

Ingrese la variable  $X_3$  y deje la base la variable  $S_1$  como base. El elemento giratorio es 70.

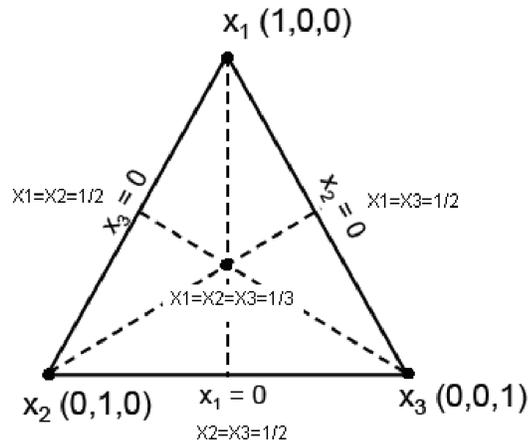


Figura 10. Diseño de centroide simplex para  $p=3$  componentes

Tabla 2		$C_j$	30	50	70	0	0	
$C_b$	Base	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$S_1$	$S_2$	R	
70	$X_3$	3/7	5/7	1	1/70	0	1/210	
0	$S_2$	0	0	0	-1	1	1/6	
	Z	0	0	0	1	0		1/3

Figura 11. Método Simplex, Iteración

Estamos en el punto óptimo y tenemos variables no estándar cuyo valor actual es, por lo que tener algún valor de la variable de decisión nos permite obtener el valor óptimo  $Z = 1/3$ , que se incluyen en el segmento:

$$30X_1 + 50X_2 + 70X_3 = 1/3$$

Una solución:

$$X_1 = 0, X_2 = 0, X_3 = 1/210, S_1 = 0, S_2 = 1/6$$

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Determinación de resultados cuantitativamente

1. La cantidad se cuantifica en un espectrofotómetro de las proteínas presentes en cada extracto.
2. Se muestra la curva estándar y los cálculos de concentración de proteína en cada muestra.
3. Usando la ecuación de la línea, encuentre el valor de “x” y el número de proteínas o enlaces obtenidos péptidos en muestras.

**Tabla 6.** Determinación de resultados cuantitativamente en un espectrofotómetro UV

Reactivos				Absorbancia	Lectura de la proteína	
Tubos	Estándar 20 mg	H <sub>2</sub> O	Reactivo de Biuret	A 545 mm	mg	Coloración
Muestra: Blanco	0 µl	100 µl	1ml	0,118		
#1	25 µl	75 µl		1,014		
#2	50 µl	50 µl		1,187		
#3	75 µl	25 µl		1,209		
#4	100 µl	0 µl		1,283		
Muestras de la fruta						
-a*	100 µl	0 µl	1ml	0,159	0,169	-
-b*				0,209	0,025	+
-c*				0,274	0,027	+

**\* Identificación de muestras**

-a* p*-H <sub>2</sub> O destilada	
-b* p*-C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O al 90%	
-c* p*- CH <sub>3</sub> OH	

Nota de tabla: p\*= pulpa; CH<sub>3</sub>OH =metanol; C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O =alcohol

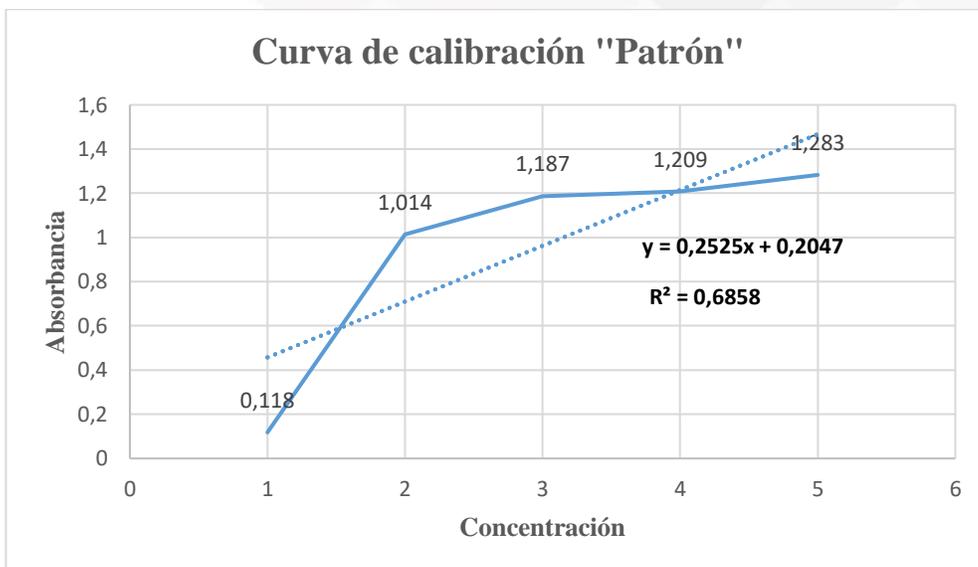


Figura 12. Curva de Calibración de la muestra patrón y lectura de absorbancia

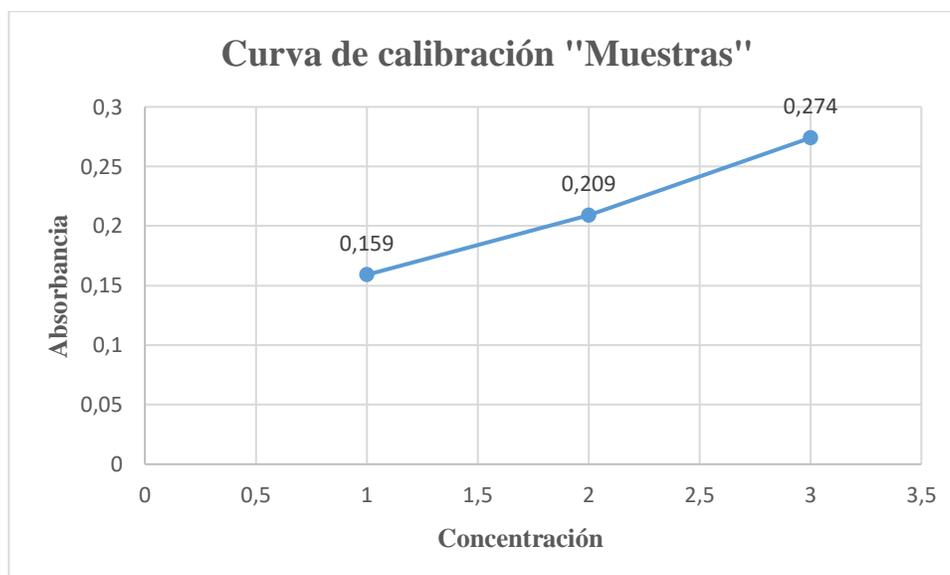


Figura 13. Curva de calibración en las muestras de pulpa y lectura de absorbancia

La curva de calibración se construyó a partir de una muestra que contenía 20% de Albúmina humana, dando una ecuación lineal, determinando así la concentración de proteína de una muestra desconocida, que en este caso resultó ser la Fruta Milagrosa, porque la lectura debe estar dentro del rango de muestra de referencia en la Figura 8.

Para los resultados de la Figura 8, se han preparado las diluciones de los reactivos a utilizar en la calibración y para ello se debe conectar el espectrofotómetro a una computadora para generar una curva de calibración para el DPPH. Se usaron curvas de calibración para determinar la degradación de DPPH por los antioxidantes.

Cuando se añadió el reactivo de Biuret a muestras indeterminadas, su reacción se volvió púrpura, lo que indica la presencia de una proteína (Miraculina) en la Fruta Milagrosa (ver Anexo #1, Tablas E1-1, 1-2 y 1-3).

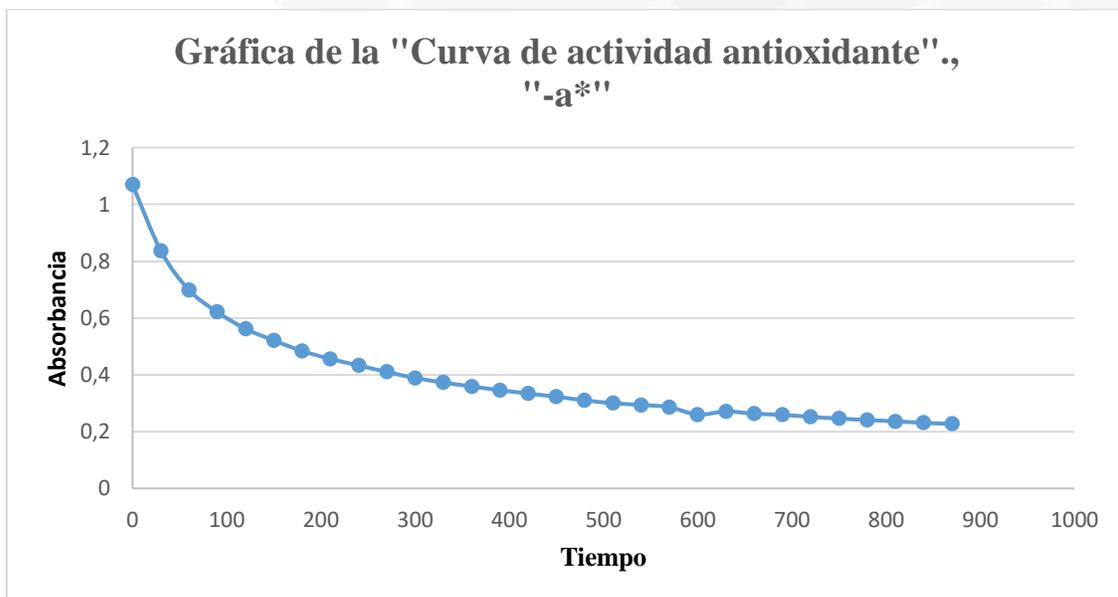
#### 4.1.1 Determinación de la inhibición de los radicales libres por DPPH

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

- **Muestra#1: -a\* (50 µl) de DPPH – Pulpa en agua destilada**

$$\% \text{ Inhibición} = \left( \frac{1.079 - 0.227}{1.079} \right) \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibición} = 78.962\% \text{ (ver el Anexo E \#1-\#1)}$$



*Figura 14. Curva de actividad antioxidante en muestra "a\* "*

- **Muestra b\* (50 µl) de DPPH – Pulpa en alcohol al 90%**

$$\% \text{Inhibición} = \left( \frac{0.985 - 0.0498}{0.985} \right) \times 100\%$$

%Inhibición = 94.944% (ver Anexo E 1-2)

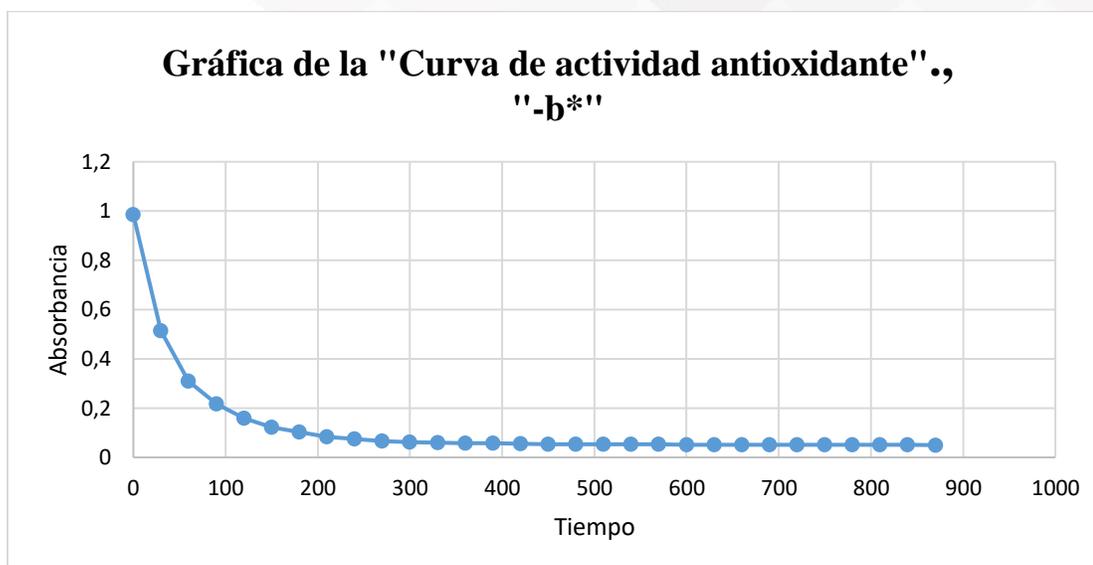


Figura 15. Curva de actividad antioxidante en muestra "b\* "

- **Muestra c\* (50 µl) de DPPH – Pulpa en metanol**

$$\% \text{Inhibición} = \left( \frac{1.036 - 0.249}{1.036} \right) \times 100\%$$

%Inhibición = 75.965% (ver Anexo E 1-3)

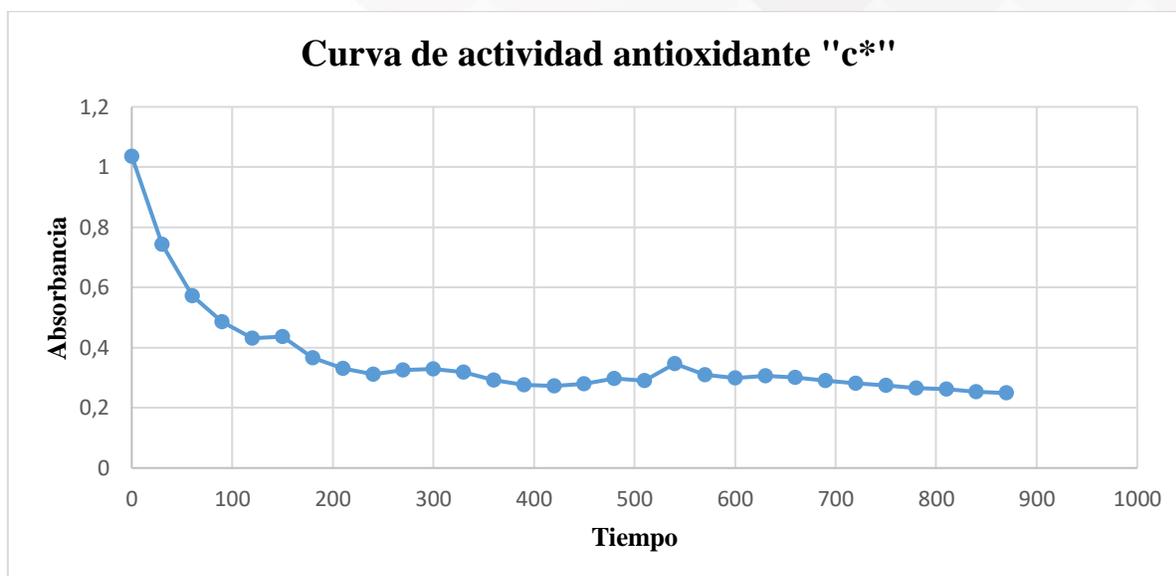


Figura 16. Curva de actividad antioxidante en muestra "c\* "

Considerando las tres muestras de extractos (a\*, b\* y c\*) respectivamente para la prueba de DPPH con 50 µl la figura 12, demostró mayor porcentaje de inhibición con un 94.94%. (ver Anexo #1, E 1-2).

#### 4.2. Evaluación de la aceptabilidad sensorial del té de Kombucha endulzada con el extracto *Synsepalum dulcificum*

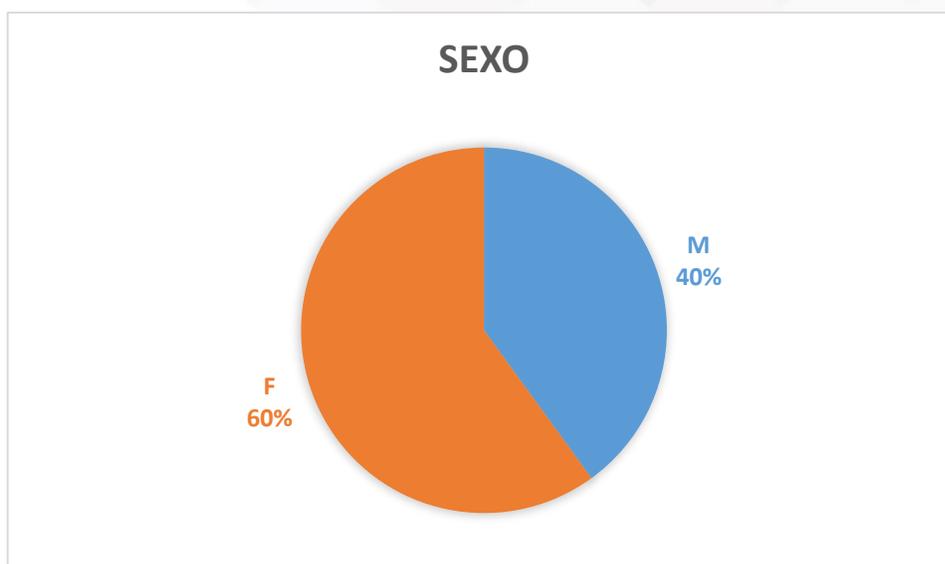
Se realizó una formulación por el método simplex que consiste en una proporción 1/3 (extracto / Té kombucha) a un total de 50 panelistas no entrenados, a evaluar mediante pruebas organolépticas, té de Kombucha endulzada con extractos del *Synsepalum dulcificum*.

##### Tabla 7. Sexo de los panelistas encuestados

De los 50 panelistas no entrenados, el 40 % (20 panelistas) fueron del género masculino y el 60% (30 panelistas) constan del género femenino.

Sexo

M: Masculino	20
F: Femenino	30



*Figura 17. Sexo de los panelistas encuestados*

**Tabla 8.** Edad de los panelistas

En estos resultados, se puede observar que los rangos de edades que oscilan los panelistas la mínima es 17 y máxima 64 años.

EDAD		Rango de edades	Frecuencia
mínima	17	15-25	31
máxima	64	24-49	14
		50-65	5
		<b>total</b>	<b>50</b>

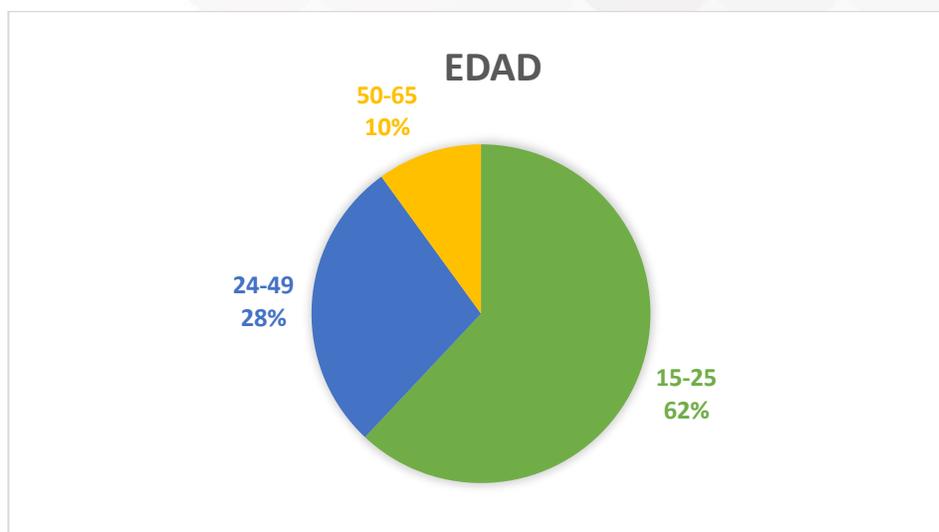


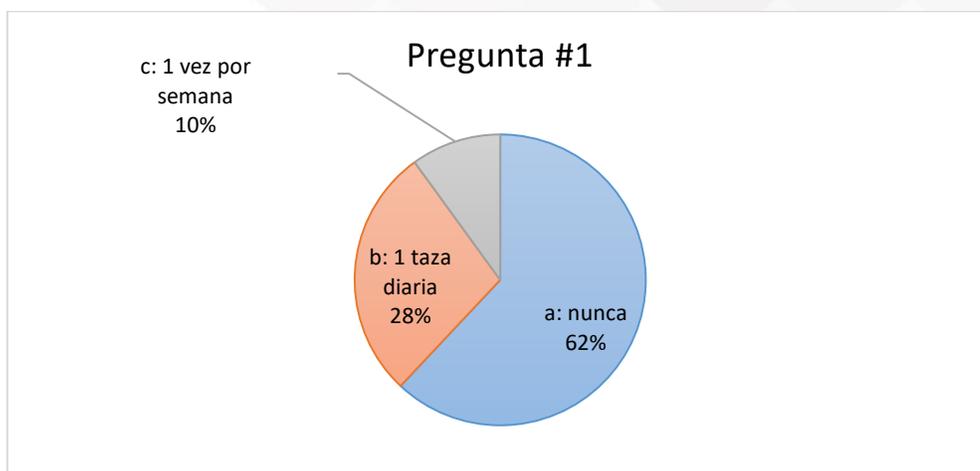
Figura 18. Edad de los panelistas encuestados

### Pregunta #1:

#### Tabla 9. Evaluación a la pregunta 1: ¿Qué tan seguido toma té?

En la respuesta de la pregunta #1, se puede observar que la mayor parte de los encuestados que no toman té, constan el 62% (31) de los panelistas y varían entre masculino y femenino.

a: Nunca	31
b: 1 taza diaria	14
c: 1 vez por semana	5
Total	50

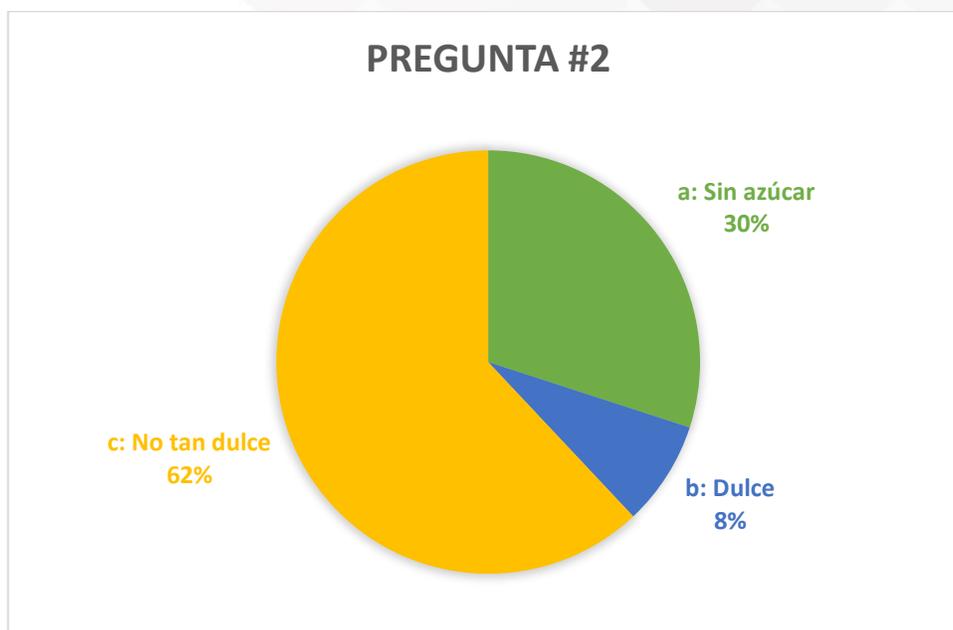


*Figura 19. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 1. ¿Qué tan seguido toma té?*

**Tabla 10 . Evaluación a la pregunta 2: ¿Qué tan dulce prefiere su té?**

En la respuesta de la pregunta #2, el 62% (31) los panelistas encuestados prefieren que no sea tan dulce su té.

<b>a: Sin azúcar</b>	15
<b>b: Dulce</b>	4
<b>c: No tan dulce</b>	31
<b>Total</b>	50



*Figura 20. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 2. ¿Qué tan dulce prefiere su té?*

**Tabla 11.** Evaluación a la pregunta 3: ¿Qué tipo de endulzante utiliza?

En la pregunta #3, el tipo de endulzante que utilizan 37 (74%) panelistas comúnmente es el azúcar, y una minoría usa Stevia (2%).

<b>a: Azúcar</b>	37
<b>b: Miel</b>	12
<b>c: Stevia</b>	1
<b>Total</b>	50

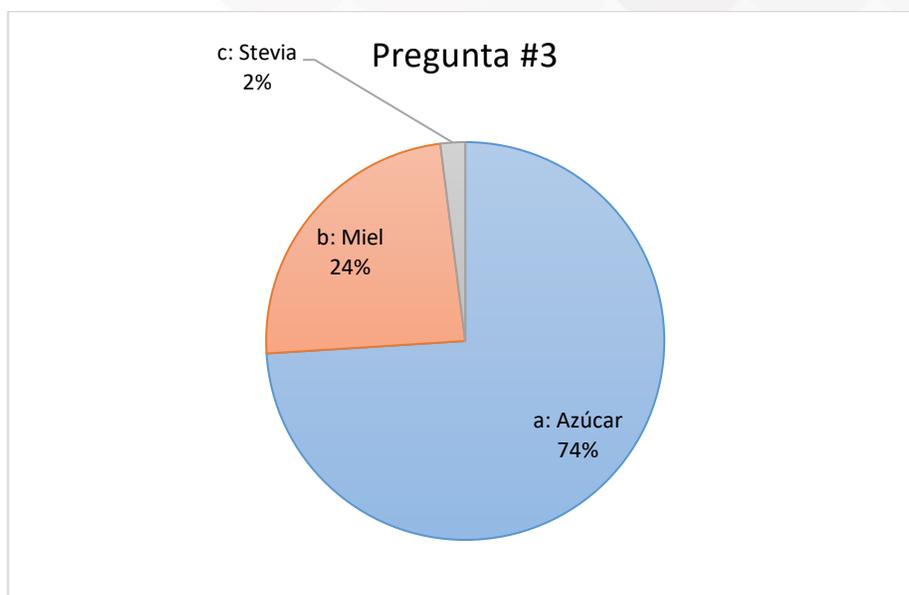
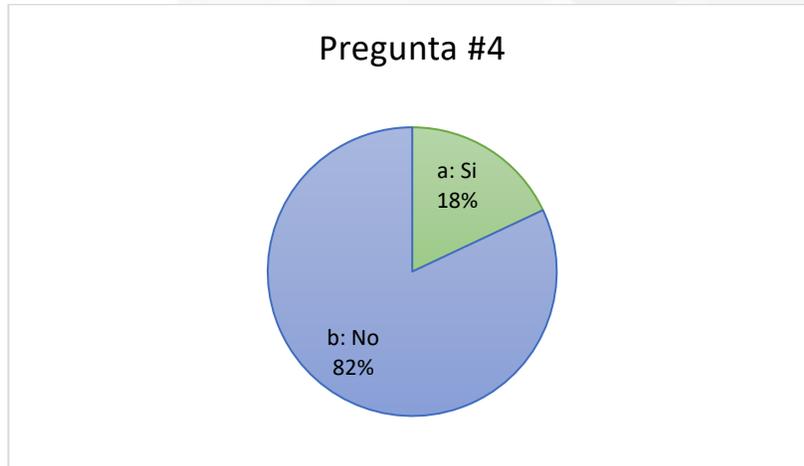


Figura 21. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 3. ¿Qué tipo de endulzante utiliza?

**Tabla 12.** Evaluación a la pregunta 4: ¿Sabía usted que Ecuador, produce Fruta Milagrosa?

En la pregunta #4, con un total de 41(82%) panelistas desconocían de la producción en Ecuador de la Fruta Milagrosa. Y esto, puede deberse al desconocimiento y los pocos cultivos existentes de la Fruta Milagrosa.

<b>a: Si</b>	9
<b>b: No</b>	41
<b>Total</b>	50

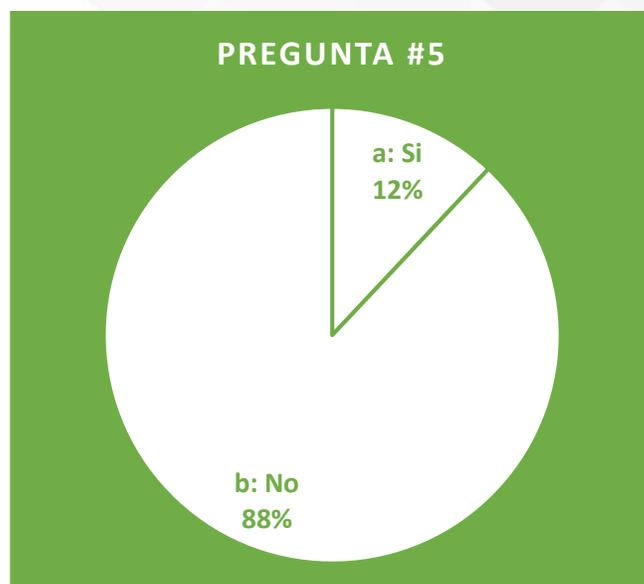


*Figura 22. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 4. ¿Sabía usted que Ecuador, produce Fruta Milagrosa?*

**Tabla 13.** Evaluación a la pregunta 5: ¿Ha tomado alguna vez, té de Kombucha endulzada con la Fruta Milagrosa?

En la pregunta #5, 44 (88%) de los 50 (100%) panelistas no habían tomado té de Kombucha endulzada con la Fruta Milagrosa.

<b>a: Si</b>	6
<b>b: No</b>	44
<b>Total</b>	50



*Figura 23. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 5. ¿Ha tomado alguna vez, té de Kombucha endulzada con la Fruta Milagrosa?*

**Tabla 14.** Evaluación a la pregunta 6: Relacionada con la pregunta 5. ¿Qué sabor tiene el Té?

En la pregunta #6, 28 (56%) panelistas sintieron el sabor dulce de la proteína (Miraculina) y 22 (44%) panelistas sintieron un poco la acidez del té de Kombucha.

<b>a: Desabrido</b>	22
<b>b: Amargo</b>	0
<b>c: Ácido</b>	0
<b>d: Dulce</b>	28
<b>Total</b>	50

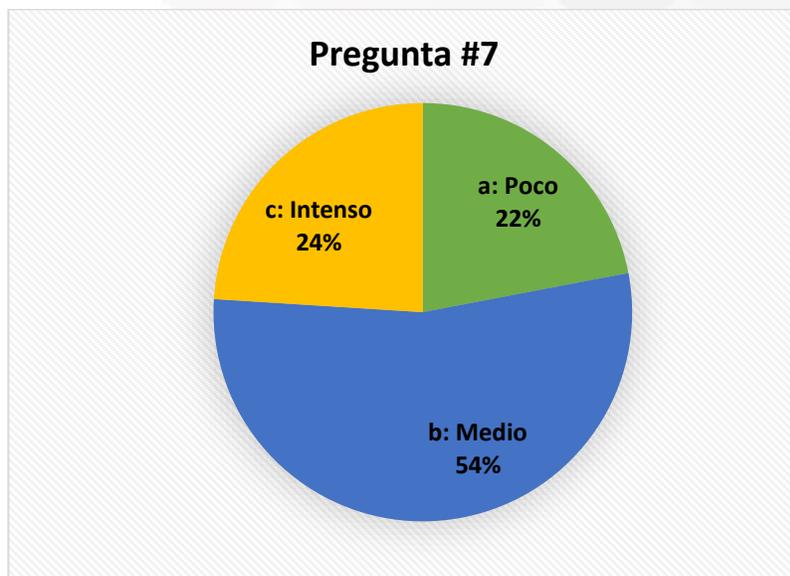


*Figura 24. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 6. Sabor del Té*

**Tabla 15.** Evaluación a la pregunta 7: Relacionada con la pregunta 5. ¿Qué nivel de olor tiene el Té?

En la pregunta #7, 27 panelistas notaron el olor del té de Kombucha.

<b>a: Poco</b>	11
<b>b: Medio</b>	27
<b>c: Intenso</b>	12
<b>Total</b>	50

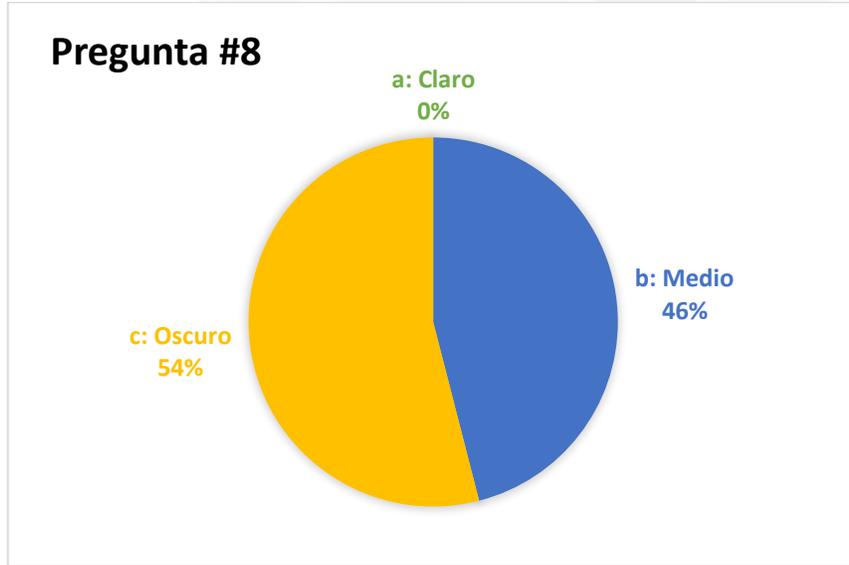


*Figura 25. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 6. Nivel de olor del Té*

**Tabla 16.** Evaluación a la pregunta 8: Relacionada con la pregunta 5. ¿Qué color tiene el Té?

En la pregunta #8, 27 panelistas aseguraron que el tono del color del té de kombucha fue oscuro y 23 panelistas notaron un color medio oscuro.

<b>a: Claro</b>	0
<b>b: Medio</b>	23
<b>c: Oscuro</b>	27
<b>Total</b>	50



*Figura 26. Resultado de los panelistas sobre la pregunta 6. Color del Té*

## CAPITULO V

### 5.1. CONCLUSIONES

- En todos los extractos (agua destilada, alcohol al 90% y metanol) del *Synsepalum dulcificum* utilizados para análisis en pulpa de Fruta Milagrosa por espectrofotómetro UV, el mejor disolvente fue el alcohol al 90%. Su porcentaje de inhibición de los radicales libres es del 94.944%.
- Se usó el método simplex para formular una bebida de té de Kombucha endulzado con extracto de *Synsepalum dulcificum*, la proporción (1/3) fue la más apropiada a una concentración del 70%.
- El té de kombucha endulzado con extracto de fruta milagrosa, ha sido aceptado por análisis sensorial. Hay dos factores, i) por los beneficios que aporta el té de kombucha y la fruta milagrosa; y ii) por el sabor del té de kombucha, al tenerlo como edulcorante a la fruta milagrosa bloqueo la acidez del té.
- Se encontró que el contenido de proteína en las frutas milagrosas es de 2.05%, lo que significa que el contenido de azúcar en las frutas milagrosas cambiará dependiendo de las condiciones de crecimiento de la cosecha y estaciones. Y su capacidad antioxidante (TEAC) es 0.6 mmol / 100g usando espectrofotómetro.

### 5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar pruebas experimentales adicionando silicios a las moléculas de estudio, ya que permite que sean más volubles, menos polares y más termo tolerante.
- Para tener una mejor purificación para la miraculina; debe considerar estas opciones: i) debe ajustar el pH crudo a 8, ii) utilizar un sistema micelar inverso AOT, usando isooctano para la purificación de la miraculina.
- La fruta congelada debe almacenarse a una temperatura entre -5°C y -14°C, para evitar la desnaturalización de la miraculina. Esta fruta es termolábil (inestable al calor), lo que ayudaría a aumentar la vida útil.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argotty, K. (2019). *Informe de avance del cumplimiento de la agenda 2030 para el desarrollo sostenible 2019*. Quito: Planifica Ecuador.
- Badui-Dergal, S. (2006). Proteínas vegetales. En S. Badui-Dergal, *Química de los Alimentos 4ta Edición* (pág. 252). Naucalpan de Juárez: Pearson Educación.
- Baldeón, A. (11 de Noviembre de 2021). *Universidad Ecotec*. Obtenido de Ecología y medio ambiente: [https://www.ecotec.edu.ec/material/material\\_2019F\\_AMB171\\_07\\_128080.pdf](https://www.ecotec.edu.ec/material/material_2019F_AMB171_07_128080.pdf)
- Bartoshuk, L., Gentile, R., Moskowitz, H., & Meiselman, H. (1974). Sabor dulce inducido por la fruta milagrosa ( *Synsepalum dulcificum* ). *Physiology & Behavior*, 12(3), 449-456.  
doi:10.1016/0031-9384(74)90122-X
- Cardoso, F. (25 de Abril de 2013). *CREACIÓN DE AGROINDUSTRIA DULCIFICUM: AGRICOLAS, PROVEDORES Y DISTRIBUIDORES DE FRUTA MAGICA CON FINES MEDICINALES*.  
Obtenido de <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/44632/u830789.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chang-Chih, C., I-Min, L., & Juei-Tang, C. (Noviembre de 2006). Mejora de la resistencia a la insulina por la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) en ratas alimentadas con comida rica en fructosa. *PubMed*, 20(11), 987-92. doi: 10.1002 / ptr.1919
- FAO. (2021). *FAO*. Obtenido de Objetivos de Desarrollo Sostenible: <https://www.fao.org/sustainable-development-goals/goals/goal-3/es/>
- Inglett, G., & Chen, D. (2011). Contents of phenolics and flavonoids and antioxidant activities in skin, pulp, and seeds of miracle fruit. *J Food Sci*, 76(3), 479-482. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02106.x

- J, S., GG, O., & EC, C. (21 de Marzo de 2018). Los extractos de *Synsepalum dulcificum* exhiben actividad citotóxica en células de cáncer colorrectal humano y regulan positivamente la expresión génica apoptótica temprana c-fos y c-jun. *Asian Pac J Trop Biomed*, 8, 173-178. Obtenido de <https://www.apjtb.org/text.asp?2018/8/3/173/227999>
- Liqing, D., Yixiao, S., Xiumei, Z., Witoon, P., & Zhimin, X. (15 de Junio de 2014). Antioxidant-rich phytochemicals in miracle berry (*Synsepalum dulcificum*) and antioxidant activity of its extracts. *ELSEVIER*, 153, 279-284. doi:10.1016/j.foodchem.2013.12.072
- Li-Shu, W., & Stoner, G. (Octubre de 2008). Las antocianinas y su papel en la prevención del cáncer. *Cáncer Lett*, 269(2), 281-290. doi:10.1016 / j.canlet.2008.05.020.
- Martínez, N., Periago, C., & Navarro, M. (2016). Revelando el secreto de la fruta milagrosa. *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria*, 1-8.
- MSP. (2011). *Plan estratégico nacional para la prevención y control de las enfermedades crónicas no transmisibles-ECNT*, 1-59.
- MSP, INEC, & OPS. (2018). Quito: Plataforma Gubernamental de Desarrollo Social. Obtenido de <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2020/10/INFORME-STEPS.pdf>
- Nobbot. (24 de Junio de 2021). *Baia Food, los descubridores de un nuevo alimento que plantará cara al azúcar*. Obtenido de <https://www.nobbot.com/entrevistas/baia-food-miraculina-alternativa-azucar/>
- Obafemi, O., Akinmoladun, C., Olaleye, T., Agboade, S., & Onasanya, A. (2017). Antidiabetic potential of methanolic and flavonoid-rich leaf extracts of *Synsepalum dulcificum* in type 2 diabetic rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 8(4), 238-246. doi:Obafemi, T. O., Akinmoladun, A. C., Olaleye, M. T., Agboade, S. O., & Onasanya, A. A. (2017). Antidiabetic potential of methanolic and flavonoid-rich leaf extracts of

OMS. (2019). *OMS*. Obtenido de

<https://datos.bancomundial.org/indicador/SH.DTH.NCOM.ZS?locations=EC>

OPS. (2014). *Plan de acción para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles en las Américas 2013–2019.*, 1-64. doi:ISBN 978-92-75-11844-3

OPS. (2021). *OPS*. Obtenido de Enfermedades cardiovasculares:

<https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-no-transmisibles>

Pamplona, J. (2003). El poder medicinal de los alimentos. En J. Pamplona, *Alimentos y estilo de vida cardiosaludable* (pág. 65). Argentina: Safeliz.

Pérez, F., Medina, M., & Uribe, G. (2015). Elaboración de un edulcorante natural mediante un extracto obtenido de la fruta *Synsepalum dulcificum*. *ESPE*, 1-17.

Terán, J. (2015). TRANSFORMACIÓN DE LA BAYA ROJA (*SYNCEPHALUM DULCIFICUM*) Y SU APLICACIÓN ALIMENTARIA PARA MEJORAR LA SALUD HUMANA. *Revista Científica Multidisciplinaria*, 1-12.

Zuxing, H., Joo, S., Sahar, A., Oi, M., Yew, J., & Arbakariya, B. (Agosto de 2016). Propiedades fitoquímicas, nutricionales y antioxidantes de la fruta milagrosa *Synsepalum dulcificum*. *Science Direct*, 86, 87-94. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.032>

## ANEXOS

# **ANEXO #1**

# **IMÁGENES**

**Materia Prima: Fruta Milagrosa (*Synsepalum dulcificum*)**



**Ilustración** SEQ Ilustración \\* ARABIC 1. Fruta Milagrosa (*Synsepalum dulcificum*)-Milaqro



**Ilustración** SEQ Ilustración \\* ARABIC 2. Fruta Milagrosa, 1.5 cm de largo – Milagro



*Figura 29. Fruta Milagrosa- Milagro*



*Figura 30. Té de Kombucha Guayaquil -Qinca Kombucha (sabor ácido) telf. 0984540082*

### Muestras de extractos ME 1- 1



*Figura 31. Extractos de la fruta Milagrosa – pulpa (agua destilada, alcohol al 90% y metanol)*

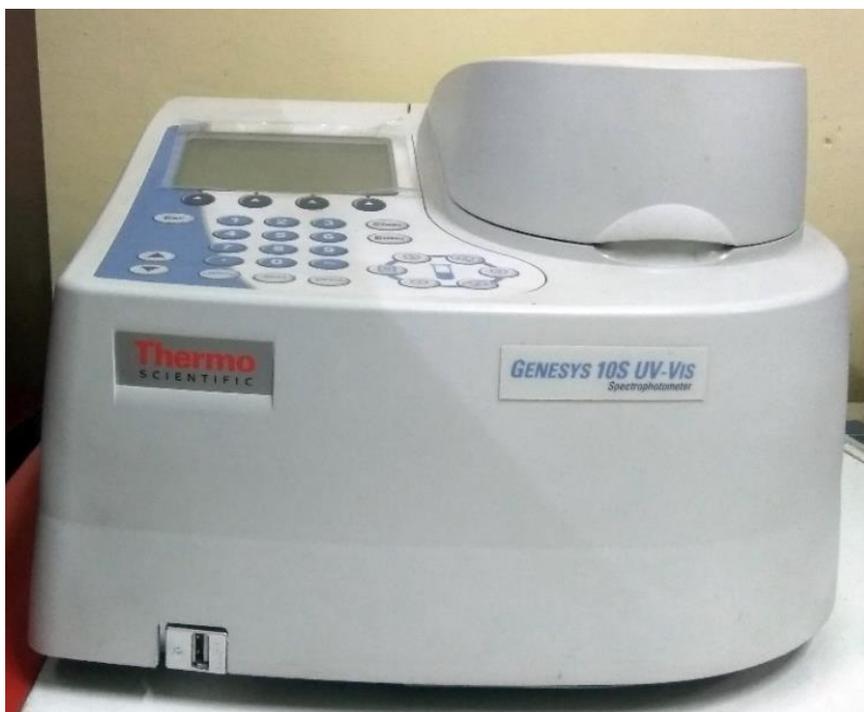
**Análisis de la presencia de DPPH en los extractos (Agua destilada, Etanol al 90% y metanol)**



*Figura 32. Presencia de DPPH en extractos (agua destilada, alcohol al 90% y metanol)*

Fuente: Laboratorio Ciencias de la vida,  
Universidad Politécnica Salesiana en Guayaquil.

Elaborado por la Autora



*Figura 33. Espectrofotometría Genesys 10 Serie: SN. 2L3M064003*

Fuente: Laboratorio Ciencias de la vida,  
Universidad Politécnica Salesiana en Guayaquil.

Elaborado por la Autora

## ANEXO

**Tabla # 17. E 1-1**

a\* pulpa con agua destilada  
%Inhibición: 78,765%

MUESTRA	volúmen t/s	50 µl ABS
1	0	1,069
2	30	0,837
3	60	0,698
4	90	0,621
5	120	0,562
6	150	0,521
7	180	0,484
8	210	0,456
9	240	0,433
10	270	0,41
11	300	0,389

12	330	0,373
13	360	0,359
14	390	0,346
15	420	0,334
16	450	0,323
17	480	0,31
18	510	0,3
19	540	0,294
20	570	0,286
21	600	0,26
22	630	0,271
23	660	0,263
24	690	0,259
25	720	0,252
26	750	0,246
27	780	0,241
28	810	0,236
29	840	0,231
30	870	0,227

Fuente: Laboratorio Ciencias de la vida,  
Universidad Politécnica Salesiana en Guayaquil.

Elaborado por la Autora

**ANEXO**  
**Tabla #18. E 1-2**

b\* pulpa con alcohol al 90%  
%Inhibición: 94,944%

MUESTRA	volúmen t/s	50 µl ABS
1	0	0,985
2	30	0,513
3	60	0,31
4	90	0,217
5	120	0,159
6	150	0,123
7	180	0,102
8	210	0,084

9	240	0,074
10	270	0,067
11	300	0,062
12	330	0,059
13	360	0,058
14	390	0,057
15	420	0,055
16	450	0,054
17	480	0,053
18	510	0,053
19	540	0,053
20	570	0,053
21	600	0,052
22	630	0,052
23	660	0,052
24	690	0,052
25	720	0,052
26	750	0,052
27	780	0,052
28	810	0,052
29	840	0,052
30	870	0,0498

Fuente: Laboratorio Ciencias de la vida, Universidad Politécnica Salesiana en Guayaquil. Elaborado por la Autora

**ANEXO**  
**Tabla #19. E 1-3**

c\* pulpa con metanol  
%Inhibición: 75,965%

MUESTRA	volúmen	50 µl
	t/s	ABS
1	0	1,036
2	30	0,744
3	60	0,572
4	90	0,486
5	120	0,432
6	150	0,437
7	180	0,366
8	210	0,331
9	240	0,312
10	270	0,326
11	300	0,329
12	330	0,319
13	360	0,292
14	390	0,276
15	420	0,273
16	450	0,28
17	480	0,298
18	510	0,291
19	540	0,346
20	570	0,31
21	600	0,3
22	630	0,306
23	660	0,301
24	690	0,29
25	720	0,282
26	750	0,274
27	780	0,265
28	810	0,262
29	840	0,254
30	870	0,249

Fuente: Laboratorio Ciencias de la vida, Universidad Politécnica Salesiana en Guayaquil.

Elaborado por la Autora

## **Anexo #2**

# **Encuesta de aceptación sensorial**

## Formato de Encuesta

### Encuesta para evaluación sensorial de la FRUTA MILAGROSA

Panelista: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Sexo: Masculino \_\_\_\_\_ Femenino \_\_\_\_\_

Al panelista se le pide evaluar una bebida de Té de Kombucha endulzada con extracto de fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) para lo cual se solicita evaluar los atributos como: sabor, color y olor.

**1. ¿Qué tan seguido toma té?**

- a. Nunca
- b. 1 taza diaria
- c. 1 vez por semana

**2. ¿Qué tan dulce prefiere su té?**

- a. Sin azúcar
- b. Dulce
- c. No tan dulce

**3. ¿Qué tipo de endulzante utiliza?**

- a. Azúcar
- b. Miel
- c. Stevia

**4. ¿Sabía usted que Ecuador, produce Fruta Milagrosa?**

- a. Si
- b. No

**5. ¿Ha tomado alguna vez, té de kombucha endulzada con la Fruta Milagrosa?**

- a. Si
- b. No

**6. Sabor del Té**

- a. Desabrido
- b. Amargo
- c. Ácido
- d. Dulce

**7. Olor del Té**

- a. Poco
- b. Medio
- c. Intenso

**8. Color**

- a. Claro
- b. Medio
- c. Oscuro

**Tabla #2017.** Resultados de los panelistas para evaluar la aceptabilidad sensorial del té de Kombucha endulzada con la fruta milagrosa

MUESTRAS	SEXO	EDAD	PREGUNTAS							
			1	2	3	4	5	6	7	8
1	F	27	a	c	a	a	b	a	b	b
2	F	25	c	c	d	b	a	d	c	c
3	M	21	a	a	c	b	b	d	a	b
4	F	21	a	b	a	b	b	a	a	c
5	M	22	a	b	a	b	b	d	a	c
6	M	24	a	a	a	b	b	d	c	b
7	M	22	a	c	a	b	b	a	c	c
8	M	24	a	c	a	b	b	a	a	b
9	F	22	a	c	a	b	b	a	a	c
10	F	21	a	a	a	b	b	a	b	b
11	M	21	a	c	a	b	b	a	b	b
12	F	22	a	c	a	b	b	a	b	c
13	F	22	a	c	a	b	b	d	b	b
14	M	24	a	c	a	b	b	d	b	c
15	M	21	a	a	a	b	b	d	b	c
16	F	20	a	a	a	b	b	d	b	b
17	F	19	a	a	a	b	b	d	b	c
18	M	27	a	c	a	b	b	d	b	c
19	F	28	a	c	b	b	b	d	b	c
20	M	27	a	c	b	b	b	d	b	c
21	F	32	b	c	b	b	b	a	b	c
22	F	32	c	c	b	b	a	d	b	b
23	M	31	b	c	a	b	b	d	c	b
24	F	33	b	c	b	a	b	d	c	b
25	F	42	b	c	b	a	b	a	c	c
26	F	21	a	b	a	b	b	a	c	b
27	M	58	b	c	b	a	a	a	c	b
28	F	64	b	c	b	a	a	a	a	c
29	M	21	a	b	a	b	b	a	a	c
30	F	45	b	c	b	a	b	d	a	b
31	F	55	b	c	b	a	a	d	b	b
32	F	52	b	c	a	a	b	d	b	c
33	F	60	b	c	a	a	a	d	b	b
34	F	41	b	c	a	b	b	d	b	c
35	F	17	a	a	a	b	b	d	b	b

<b>36</b>	F	19	a	a	a	b	b	a	b	c
<b>37</b>	F	19	a	a	a	b	b	a	c	b
<b>38</b>	M	19	a	a	a	b	b	a	c	b
<b>39</b>	F	18	a	a	a	b	b	d	c	c
<b>40</b>	F	23	b	c	a	b	b	d	c	c
<b>41</b>	M	24	b	c	a	b	b	d	b	c
<b>42</b>	M	21	a	c	a	b	b	d	b	b
<b>43</b>	M	19	a	a	a	b	b	a	a	b
<b>44</b>	F	18	a	c	a	b	b	a	b	c
<b>45</b>	F	26	c	c	a	b	b	a	b	c
<b>46</b>	M	23	b	c	a	b	b	a	b	c
<b>47</b>	F	21	c	a	a	b	b	d	b	b
<b>48</b>	F	19	c	a	a	b	b	d	b	c
<b>49</b>	M	21	a	a	a	b	b	d	a	b
<b>50</b>	M	26	a	c	b	b	b	a	a	c

Elaborado por la autora, los datos adquiridos fueron tomados en la ciudad de Milagro. Y por pandemia, los panelistas fueron familia y amigos cercanos.



**Informe Analítico: IA-22-LB-002036-01**  
 Lab-ID: GYE-22/3467 2/2

**KATHERINE LISSETTE ROMERO VÁSQUEZ**

attn.Katherine Lissette Romero Vásquez  
 kirova789@gmail.com  
 Milagro Av. Napo y Jorge Carrera 27-0  
 Milagro-Ecuador

DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE	
Matriz de la muestra:	Otros
Descripción de la muestra:	Synsepolam Dulcifican (fruta milagrosa) Miraculina Roja
Lote N°:	# 001 Bonsai
Cultivo:	Synsepolam Dulcifican
Fecha/Hora/ de toma de muestra:	2022-09-05
Lugar de toma de muestra:	Casa Bonsai- Roberto Astudillo "Jardineria", Milagro- Roberto Astudillo
Muestra tomada por:	Katherine (Cliente)

DATOS DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA EN LABORATORIO	
Fecha de Recepción:	2022-09-07
Cantidad de muestra:	~ 140 g
Tipo de envase:	Funda plástica
Temperatura de Recepción:	Ambiente

Fecha inicio:	2022-09-07
Fecha fin análisis:	2022-09-12

RESULTADOS DE ANÁLISIS			
Parámetro	Unidad	Resultado	Método de ensayo
Proteína <sup>(1)</sup>	%	2,05	AOAC 984.13 ANIMAL FEED AND PET FOOD AOAC 984 13A

*Figura 34. Análisis: parámetro proteína de la fruta milagrosa, en Laboratorio AGRORUM en Guayaquil*

**Informe Analítico: IA-22-LB-002333-01**  
Lab-ID: GYE-22/3467 1/2

**KATHERINE LISSETTE ROMERO VÁSQUEZ**

attn.Katherine Lissette Romero Vásquez  
klirova789@gmail.com  
Milagro Av. Napo y Jorge Carrera 27-0  
Milagro-Ecuador

DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE			
Matriz de la muestra:	Otros		
Descripción de la muestra:	Synsepolam Dulcifican (fruta milagrosa) Miraculina Roja		
Lote N°:	# 001 Bonsai		
Cultivo:	Synsepolam Dulcifican		
Fecha/Hora/ de toma de muestra:	2022-09-05		
Lugar de toma de muestra:	Casa Bonsai- Roberto Astudillo "Jardinería", Milagro- Roberto Astudillo		
Muestra tomada por:	Katherine (Cliente)		
DATOS DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA EN LABORATORIO			
Fecha de Recepción:	2022-09-07		
Cantidad de muestra:	~ 140 g		
Tipo de envase:	Funda plástica		
Temperatura de Recepción:	Ambiente		
Fecha inicio:	2022-09-15		
Fecha fin análisis:	2022-09-30		
RESULTADOS DE ANÁLISIS			
Parámetro	Unidad	Resultado	Método de ensayo
Capacidad antioxidante (TEAC) <sup>(1)</sup>	mmol/100g	0,6	Espectofotometría
<b>COMENTARIOS:</b> Este informe analítico esta basado en el reporte AR-22-FJ-018122-01 de Eurofins Global Control			

*Figura 35. Capacidad antioxidante (TEAC), Laboratorio AGRORUM en Guayaquil*

**Analytical report AR-22-FJ-018122-01**



**Sample Code 716-2022-00017818**

<b>Reference</b>	SYNSEPALUM DULCIFICUM (FRUTA MILAGROSA) MIRACULINA ROJA; CULTIVO: SYNSEPALUM DULCIFICUM; PTO MUESTREO: "CASA BONSAI" - ROBERTO ASTUDILLO; LUGAR: ROBERTO ASTUDILLO "JARDINERIA"; SECTOR: MILAGRO-ROBERTO ASTUDILLO; F.MUESTREO: 05/09/2022; MUESTREADOR: KATHERINE 005-10530-0003813009
<b>Sample sender</b>	Agrorum S.A.
<b>Prescriber</b>	Agrorum S.A.
<b>Reception date time</b>	15.09.2022
<b>Transport by</b>	FedEx 777871663381
<b>Purchase order date</b>	07.09.2022
<b>Client sample code</b>	GYE-22/3467 1/2
<b>Lot-no.</b>	#001 BONSAI
<b>Packaging</b>	plastic bag
<b>Number</b>	1
<b>Amount</b>	64 g
<b>Input temperature</b>	Room temperature
<b>Start analysis</b>	15/09/2022
<b>End analysis</b>	30/09/2022

**Test results**

**Physical-chemical Analysis**

**JJW76 Antioxidant Capacity (TEAC)**

Method Spectrophotometry

Subcontracted to an external laboratory

Antioxidant Capacity (TEAC)

0.6

mmol/100  
g

All information regarding the sample (except those recorded on site or at sample registration by Eurofins) have been provided from client side. This information can have an impact on the validity of the analytical results.

The results of examinations refer exclusively to the sample in this report and as received from the customer.

Any publication of this report requires written permission. Any reprint publication is not allowed.

Eurofins Global Control GmbH - Am Neuländer Gewerbepark 8 - D-21079 Hamburg

Place of execution and place of jurisdiction & Hamburg - Item: 49161 court Hamburg HRSTOT/20 General Manager: Lena St. Sayed

VAT No.: DE246240990

Hypothekensachen 730002000 (BLZ 25120510) BUN DE19 2512 0510 0000 00 / SWIFT BIC HYUCDE33

Our General Terms & Conditions, available upon request and online at

<http://www.eurofins.de/Dateien/Service/ServiceInfo/ServiceInfo.aspx>, shall apply.



Figura 36. Capacidad antioxidante mediante el uso del espectrofotómetro, laboratorio AGRORUM S.A en Guayaquil



*figura 37. Eurofins, muestra Synsepalum dulcificum*

# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

*¡Evolución académica!*

@UNEMIEcuador

