



Julio 2019 - ISSN: 2254-7630

**DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE LA FRUTA MILAGROSA
(SYNSEPALUM DULCIFICUM) TANTO EN SU ESTADO NATURAL COMO EN
EXTRACTO**

**DETERMINATION OF THE PROPERTIES OF THE MIRACULOUS FRUIT
(SYNSEPALUM DULCIFICUM) BOTH IN ITS NATURAL STATE AND IN EXTRACT**

Ing, Sandra Ronquillo C, MSc.

sandra.ronquilloc@ug.edu.ec

Docente Investigadora, Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil.

Ing, Ana Jouvin N.

ana.jouvinn@ug.edu.ec

Ingeniera Química, Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil.

Para citar este artículo puede utilizar el siguiente formato:

Sandra Ronquillo C. y Ana Jouvin N. (2019): "Determinación de las propiedades de la fruta milagrosa (*synsepalum dulcificum*) tanto en su estado natural como en extracto", Revista Caribeña de Ciencias Sociales (julio 2019). En línea

<https://www.eumed.net/rev/caribe/2019/07/propiedades-fruta-milagrosa.html>

RESUMEN

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

Palabras clave: Miraculina, DPPH, Biuret, organolépticos.

SUMMARY

This research project is focused on determining properties of *Synsepalum dulcificum* fruit known as miraculous fruit to take advantage of the fruit's usefulness; improve agricultural production,

and at the same time the productive matrix of the country. For experimentation, the Biuret method was applied, contributing to the colorimetric identification of the glycoprotein Miraculin, in several extracts: water, alcohol, methanol. The potential of inhibition or antioxidant of both the fruit and its extracts was determined by DPPH test whose values are higher than 69.12% and extraction of oil from the fruit seed and oil sample by means of Soxhlet rotavapor with a yield of 9.56% and 0.4% respectively; using as solvent the isopropyl alcohol. This research has been supported by the observation, application of the inductive - deductive method, to describe the behavior of the fruit and the experimental to determine the properties, the sensory evaluation for the organoleptic parameters has also been used.

Key words: Miraculin, DPPH, Biuret, organoleptic.

1. INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

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

2. MARCO TEÓRICO

2.1. *Synsepalum dulcificum*

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

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

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

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

2.2. Miraculina

Es una glucoproteína de origen vegetal, en su caracterización se indica que es una N-glicoproteína básica con un peso molecular de 42.000 Da, termolábil, estable en soluciones con pH 3-12 y sensible a pH iguales o inferiores a 2. Siendo empleada para modificar el sabor de ácido a dulce en alimentos ricos en ácidos orgánicos, aunque es insípida, y la adición de (100 µg) de este compuesto puede neutralizar, con una persistencia de 1-2 h, la sensación ácida de los alimentos, como el zumo de limón (meditron ,Inc., 2016).

2.2.1. Funcion de la Miraculina

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

2.2.2. Zona sobre la que actúa la Glucoproteína Miraculina

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

2.3. Composición de la pulpa de la *Synsepalum dulcificum*

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

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

Tabla 1. Componentes de la *Synsepalum Dulcificum*

Contenido	Porcentaje
<i>Triptófano</i>	8,055%
<i>Fenilalanina</i>	1,35%
<i>Isoleucina</i>	0,7%
<i>Metionina</i>	1,05%
<i>Prolina</i>	0,4%
<i>Valina</i>	0,69%
<i>Treonina</i>	1,1%
<i>Histidina</i>	0,4%
<i>Alanina</i>	0,5%
<i>Glutamina,</i>	1,02 %
<i>Ácido glutámico</i>	1,6%
<i>Glicina</i>	0,7%
<i>Serina</i>	0,3%
<i>Arginina</i>	1%
<i>Acido aspártico</i>	0,1%
<i>Asparagina</i>	1,23%
<i>Lisina</i>	0,6%
<i>Leucina</i>	0,6%

Fuente: (Nkwocha Chinelo C., 2014)

2.4. Estudios sobre la Extracción - Purificación de la Miraculina

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

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

Un ejemplar de muestra de fruta *Synsepalum dulcificum* fue identificado por el Dr. Fu-Yuan Lu (Departamento de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Chiayi) y se depositó en el Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad Fooyin, Distrito de Kaohsiung, Taiwán, en este estudio del año 2007 se trabajaron con las hojas y con el solvente MeOH* a temperatura ambiente durante 24-48 horas; logrando extraer algunas sustancias por el método de cromatografía en columna. Estas sustancias feofitina-a, feofitina-b, lupeol, lupenone, lupeol de etilo, y quinona –tocopheryl y una mezcla de sitosterol y estigmasterol fueron encontrados en la planta por primera vez. (Chen, 2010)

Un estudio realizado en Vietnam con la fruta importada desde Taiwán en la ciudad de Vinh Long , en An Binh Comuna , la ciudad de Vinh Long , donde coinciden que la temperatura de entre 1-4 °C es la adecuada para preservar la fruta *Synsepalum dulcificum* y realizaron en la pulpa la determinación de la composición bioquímica básica, incluyendo: azúcares totales,

reducción de azúcares, proteínas, cenizas; contenido de agua, realizados por diversos métodos entre ellos: reactivo de color con Mayer, Wagner, las flavonas , los taninos.

Tabla 2. Composición bioquímica básica

<i>Componente</i>	<i>Contenido (g /100g)</i>
<i>Contenido de agua</i>	68.900
<i>azúcares solubles totales</i>	2.385
<i>Contenido de azúcares reductores</i>	404
<i>contenido de proteína</i>	0,104
<i>contenido total de proteínas</i>	1.918
<i>Cenizas</i>	0,998

Fuente:

(Trần Danh Thế, 2010)

3. Metodología Aplicada

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

Tabla 3. Métodos Físicos Químicos

<i>Métodos Químicos</i>	
<i>Método DPPH</i>	Capacidad inhibidora del antioxidante
<i>Método de cuantitativo Biuret</i>	Medición de la glucoproteína
<i>Obtención de Aceite de la Semilla</i>	Método físico / Soxhlet + Rotavapor
<i>Obtención de muestra Oleosa</i>	Método físico / Soxhlet + Rotavapor
<i>Análisis Organoléptico</i>	
<i>Color</i>	Índice de madurez Sabor
<i>Olor</i>	Textura

3.1. Parámetros Obtenidos

Tabla 4. Resultados de parámetros medidos en la fruta, con diversas muestras.

<i>Prueba</i>	<i>Resultados</i>
<i>pH</i>	2,8
<i>Brix</i>	10
<i>DPPH</i>	69,12 %
<i>Biuret</i>	0,8278 %

3.2. Preparación de la muestra

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

3.3. Elaboración de los extractos

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

3.3.1. Extracto en disolvente – agua destilada (pulpa)

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

3.3.2. Extracto en alcohol (semilla, pulpa, cáscara)

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

3.3.3. Extracto en metanol (pulpa)

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

3.4. Preparación de muestras y estándares

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

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

3.5. Determinación de resultados cuali – cuantitativamente.

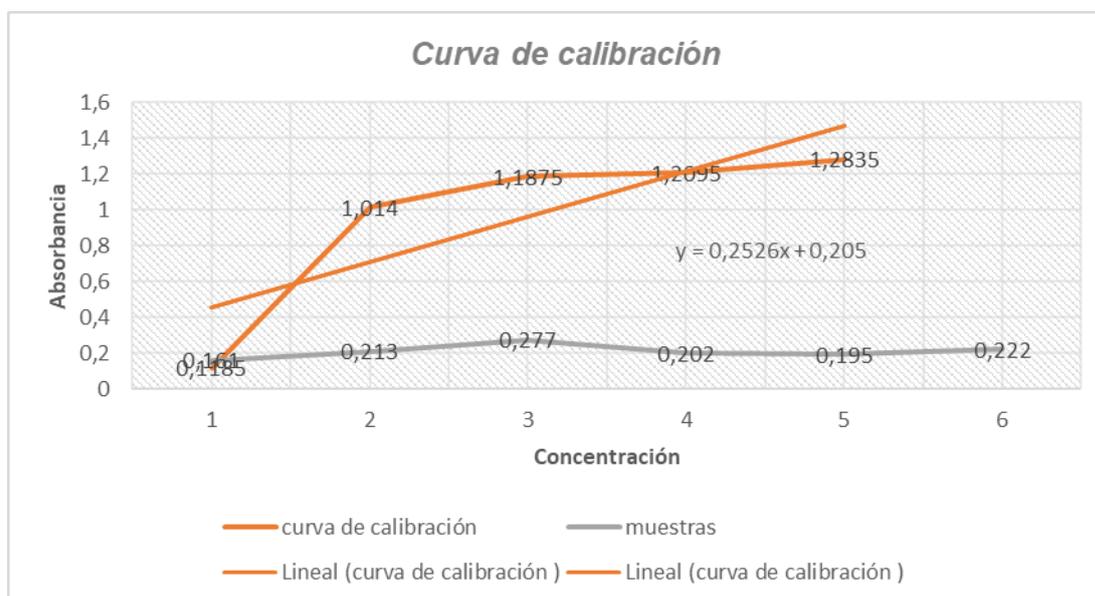
- Cuando el reactivo de Biuret y la proteína se precipita nos da una coloración violeta reacción positiva y si el precipitado pasa de azul una coloración amarilla la reacción es negativa por la no presencia de proteínas.
- Se determina cuantitativamente en el espectrofotómetro la cantidad de proteína presente en cada uno de los extractos.
- Se representa la curva estándar
- Se realiza el cálculo de las concentraciones de proteínas en las muestras.
- Se realiza por medio de la ecuación de la recta la determinación de los valores de "x" y se obtiene la cantidad de proteína o enlaces peptídicos en las muestras.

Tabla 5. Curvas de calibración y lectura de Absorbancia

Tubos	Reactivos			Absorbancia	Lectura de la Proteína	
	Estándar 20mg	H2O	Reactivo de Biuret	A _{545nm}	mg	Coloración
Blanco	0 ul	100 ul	1ml	0.1185		
1	25 ul	75 ul	1ml	1.014		
2	50 ul	50 ul	1ml	1.1875		
3	75 ul	25 ul	1ml	1.2095		
4	100 ul	0 ul	1ml	1.2835		
Muestras						
a*	100 ul	0ul	1 ml	0.161	-0.174	-
b*	100 ul	0ul	1 ml	0.213	0.0316	+
c*	100 ul	0ul	1 ml	0.277	0.0277	+
d*	100 ul	0ul	1 ml	0.202	0.285	+
e*	100 ul	0ul	1 ml	0.195	-0.03958	-
f*	100 ul	0ul	1 ml	0.222	0.067	+

Identificador: a* pulpa de agua destilada, b* pulpa en alcohol, c* pulpa en metanol (old), d* pulpa en metanol (new), e* semilla en alcohol, f* cascara en alcohol.

Gráfico 1. Curva de calibración y lectura de la absorbancia



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

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

3.6. Potencial de Hidrógeno pH

3.6.1. Procedimiento para tomar el pH

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

Tabla 6. Resultados de pH

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

3.7. Determinación de grados °Brix

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

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

Tabla 7. Resultados de pH

<i>Medición</i>	<i>Resultado</i>
<i>°Brix de la fruta milagrosa</i>	10.8
<i>°Brix del extracto en agua (pulpa)</i>	1
<i>°Brix del extracto en alcohol (pulpa)</i>	15
<i>°Brix del extracto en metanol (cascara)</i>	6
<i>°Brix del extracto de alcohol(cascara)</i>	15

La tabla 7 se muestra un grado Brix de 10.8 de la fruta milagrosa, pero este nivel puede variar dependiendo de la temperatura, del tiempo de almacenamiento, y del disolvente utilizado, verificado en esta investigación.

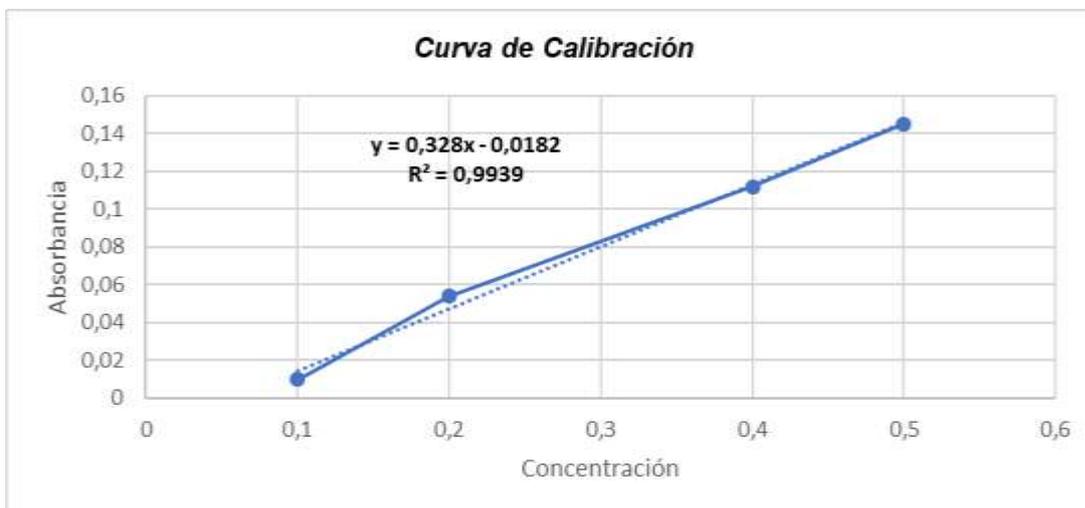
3.8. Análisis de DPPH

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

- Pulpa
- Semilla
- Cascara

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

Gráfico 2. Curva de calibración DPPH

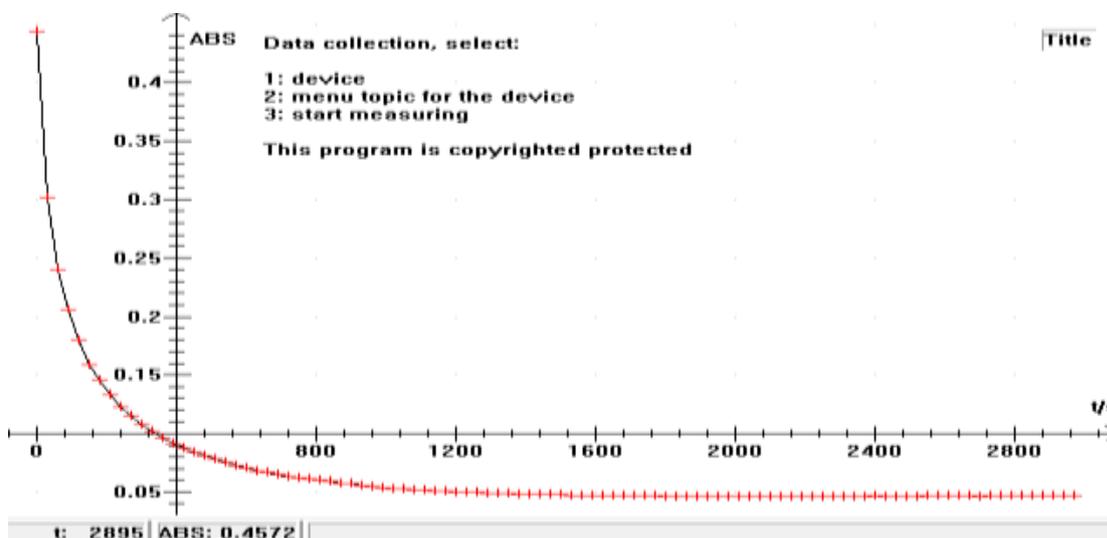


La curva de calibración se aplicó para determinar la degradación del DPPH por acción del antioxidante

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

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

Gráfico 3. Curva de calibración estabilizada



3.10. Obtención del aceite de semilla de la *Synsepalum dulcificum*

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

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

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

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

3.12. Contenido de Agua

El contenido de agua en de la fruta en este estudio fue de 72%, de acuerdo con estudios realizados por otros autores en otros países hemos vistos que

De acuerdo a un estudio realizado por la Universidad de Nigeria por los Dr. Obioma Njoku and Florence Ekwueme, sabemos que la fruta tiene un periodo de vida útil corto esto se debe a su índice de actividad de agua que posee la fruta *Synsepalum dulcificum* el contenido de humedad de la misma es de 59.55%.

4. ANALISIS Y CONCLUSIONES

Se elabora los extractos de la fruta milagro y con estos se determinó alguna de sus propiedades.

El Potencial de hidrogeno de la fruta milagrosa es Acido, su propiedad modificado puede perdurar dependiendo (del lugar y la temperatura de almacenamiento), la glucoproteína que esta posee se inactiva a pH bajos

En cuanto a sus extractos en estos se observó mediante las pruebas de medición de glucoproteína y de la determinación del poder antioxidante, que esta posee la glucoproteína y además tiene un gran poder antioxidante.

Cuando la fruta es expuesta a temperatura ambientes durante un periodo de tiempo esta pierde su propiedad de enmascarar los sabores ya que la glucoproteína se desnaturaliza, la fruta se logra mantener a una temperatura de – 14 °C por un periodo de 4 meses conservando su pH, pero bajo sus grados °Brix. El pH y el °Brix varían dependiendo del componente con que haga el extracto o la mezcla.

Se logró obtener aceite de la semilla de la *Synsepalum Dulcificum* con un buen rendimiento, de la misma manera se obtuvo la muestra oleosa de la cascara y pulpa de la *Synsepalum Dulcificum*

Se evaluó las características organolépticas de la fruta con la cual se evaluamos el sabor, olor, color, textura, índice de madurez de la fruta, con lo cual concluimos que la fruta con que se trabajó se encontraba en óptimas condiciones para su consumo, su sabor es ligeramente dulce.

Los frutos milagrosos se almacenaron en el congelador hasta que se necesite; 300 a la vez se utilizaron para hacer una solución potente a través de procedimientos científicos estándar. A través de pruebas exhaustivas, descubrieron que la actividad modificadora del sabor fue destruida por el calor, o cuando se exponen a disolventes orgánicos, y se redujo en gran medida por la exposición a pH por encima de 12,0 o por debajo de 2,5 a temperatura ambiente. Situaciones con un pH de 3,7 y una temperatura de 4 ° C causaron la actividad se mantenga estable durante un mes. También se concluyó que la proteína era básica, y no contiene ninguna otra proteína dentro del componente activo. No se han unido a ella dos moléculas de azúcar; Por lo tanto, el principio activo contiene una pequeña cantidad de azúcar 6,7%, que se determina que no es una impureza. Esto es lo que hace que el principio activo de *S. dulcificum* una glicoproteína. Las glicoproteínas se saben que es completamente inocente de cualquier toxicidad y se metaboliza fácilmente por el cuerpo. (Van Atta & Marian, 1991).

5. REFERENCIAS

- Biotechnology, P. b. (10 de septiembre de 2011). *nature.com*. Obtenido de http://blogs.nature.com/news/2011/09/miracle_fruit_surrenders_its_s.html
- Centre, W. C. (2013). '*Synsepalum glycydora*. *Lista Roja de especies amenazadas de la UICN 2010*.
- Chen, C. Y. (7 de Julio de 2010). Chemical constituents from the leaves of *Synsepalum dulcificum*. *Spring Link*, 46(3), 495. doi:10.1007/s10600-010-9658-6
- Kurihara, Y. T. (1988). *NCBI-National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine*. Obtenido de <http://www.jbc.org/content/263/23/11536.long>
- L. Cevallos, S. A. (27 de junio de 2007). ESTUDIO DE LA FRUTA MILAGROSA (*Synsepalum dulcificum* Daniell) COMO POSIBLE EDULCORANTE NATURA. Costa Rica , Limon , Las mercedes de Guácimo .
- Lim, T. (19 de noviembre de 2012). *Spinger link* . (E. M. Plants, Ed.) Obtenido de http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-007-5628-1_26
- Logges. (2015). *Easy Growing Instructions for the Miracle Berry Plant Synsepalum dulcificum "Miracle Fruit"* . Obtenido de <https://www.logees.com/media/care/pdf/Synsepalum.pdf>

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

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

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

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

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

Plants, G. (25 de 02 de 2009). *Global Plants* . Obtenido de <http://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.specimen.ifan15277?searchUri=qtype%3Dall%26query%3DSynsepalum%2Bdulcificum>

R.H, C. (6 de July de 1973). *US National Library of Medicine National Institutes of Health*. Obtenido de publiMed.gov : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4714290>

rich, a. (2010). Obtenido de www.deepdyve.com/lp/elsevier/antioxidant-rich-phytochemicals-in-miracle-berry-synsepalum-dulcificum-xZkZG1exTK?articleList=%2Fsearch%3Fquery%3Dsynsepalum%2Bdulcificum

Rosales, A. R. (2006). *Universidad de las Palmas de Gran Canaria , España* . Obtenido de http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-3.pdf

Trần Danh Thế, V. V. (mayo de 14 de 2010). BƯỚC ĐẦU TRỒNG THỬ NGHIỆM VÀ TÁCH CHIẾT HOẠT CHẤT MIRACULIN. *Science & Technology Development*, 13, 54-61. Recuperado el 6 de 5 de 2016, de <http://wwq.vjol.info/index.php/JSTD/article/view/2914/2868>

Tropicals, S. (2011). *Synsepalum dulcificum 'Miracle Fruit'*. Obtenido de <http://stokestropicals.plants.com/Synsepalum-dulcificum-Miracle-Fruit-P232.aspx>

Tropicals, T. (23 de enero de 2007). *Tropicals, Top*. Obtenido de Everyday Miracle - Grow the Dream!: https://toptropicals.com/html/toptropicals/plant_wk/synsepalum.htm

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

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