



Universidad del Valle

OBTENCIÓN DE PULPA LIOFILIZADA EN POLVO DE *Synsepalum dulcificum* CON APLICACIÓN DE ULTRASONIDO

Presentado por:

Dilan Stiven Arboleda Foronda

Andrea Camacho Ceballos

Director: Juan Carlos Gómez Daza, Ph.D

Co-director: Gustavo Espinosa Arias, MBA.

Trabajo de grado para optar por el título de Ingenieros de Alimentos

Universidad del Valle – Sede Cali

Programa de Ingeniería de Alimentos (3753)

2025

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios, a nuestros padres y familiares por su apoyo incondicional.

A nuestro director, co-director y asesores por su guía y conocimientos.

A la institución por brindarnos los espacios para llevar a cabo esta investigación.

A nuestros compañeros y amigos por su cálido acompañamiento en este proceso.

*Nuestro agradecimiento a quienes, de alguna manera, contribuyeron al desarrollo de
este trabajo.*

¡Gracias!

Dilan & Andrea

CONTENIDO

1. MARCO TEÓRICO.....	12
1.1. Propiedades del <i>Synsepalum dulcificum</i> y la miraculina	12
1.2. Liofilización como método de secado	13
1.3. Aplicación del ultrasonido como pretratamiento.....	15
1.4. Necesidad del proceso de obtención	16
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
2.1. Pregunta de investigación.....	18
3. ANTECEDENTES.....	19
3.1. Investigaciones previas y estudios relacionados.	19
3.2. Alcance del estudio	23
3.3. Limitaciones del estudio	23
4. JUSTIFICACIÓN.....	24
5. OBJETIVO GENERAL	26
5.1. Objetivos específicos.....	26
6. METODOLOGÍA	26
6.1. Muestra control	26
6.2. Obtención de la materia prima	27
6.2.1. Caracterización de la materia prima	27
6.3. Lavado y despulpado manual	28
6.4. Pretratamiento con ultrasonido	28
6.5. Ultracongelación	29
6.6. Proceso de liofilización	29
6.7. Reducción de tamaño de las muestras previamente liofilizadas.....	29
6.8. Determinación de proteína por método de microkjeldahl	30
6.9. Determinación de cenizas.....	31
6.10. Determinación de humedad	31
6.11. Determinación de actividad de agua.....	32
6.12. Rendimiento del producto obtenido	32
7. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	33
8. RESULTADOS Y ANÁLISIS	34

8.1. Rendimiento	36
8.2. Humedad y actividad de agua.....	40
8.3. Proteína.....	44
8.4. Cenizas	46
9. CONCLUSIONES	49
10. RECOMENDACIONES	50
REFERENCIAS	51
ANEXOS.....	64

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Antecedentes, investigaciones y estudios relacionados.....	19
Tabla 2. Diseño completamente aleatorizado (DCA) para el análisis estadístico	34
Tabla 3. Datos experimentales de rendimiento del producto (%).....	36
Tabla 4. Consumo energético para ultrasonido, ultracongelación y liofilización de <i>Synsepalum dulcificum</i>	39
Tabla 5. Datos experimentales de actividad de agua (a_w).....	40
Tabla 6. Datos experimentales de humedad final (CHbh)	42
Tabla 7. Datos experimentales de proteína (%)	44
Tabla 8. Datos experimentales de ceniza (%)	48

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Estructura molecular de la miraculina (Paladino et al., 2008).....	8
Figura 2. <i>Pulpa y cáscara liofilizadas</i>	27
Figura 3. Baya de <i>Synsepalum dulcificum</i>	28
Figura 4. Diagrama de proceso de obtención de pulpa liofilizada en polvo	33
Figura 5. a.b. Pulpa liofilizada con ultrasonido (3 y 5h) c. Pulpa liofilizada sin ultrasonido (8h).....	35
Figura 6. Modelo de medias para el rendimiento del producto (%) vs tiempo (h)	37
Figura 7. Modelo de medias para la actividad de agua del producto (a_w) vs tiempo (h).....	41
Figura 8. Modelo de medias para la humedad del producto (%) vs tiempo (h)	43
Figura 9. Modelo de medias para la proteína del producto (%) vs tiempo (h)	46
Figura 10. ANOVA para actividad de agua (a_w).....	64
Figura 11. ANOVA para humedad.....	64
Figura 12. ANOVA para proteína.....	64
Figura 13. ANOVA para rendimiento	64

RESUMEN

Este trabajo tuvo como finalidad determinar la viabilidad técnica de la obtención de pulpa liofilizada en polvo de *Synsepalum dulcificum* con aplicación de ultrasonido como pretratamiento y su posible uso en la industria; para esto, se realizó la determinación del rendimiento del producto después del proceso, el costo energético de producción, determinación de humedad, a_w , proteína bruta y cenizas. La liofilización se realizó a 3 y 5 horas ($-50^{\circ}\text{C} < T < -43^{\circ}\text{C}$ & $11\text{Pa} < P < 14\text{Pa}$) en muestras con pretratamiento (frecuencia fija de 20 kHz, tiempo de 3 min, pulsos de encendido de 3 segundos y apagados de 4 segundos, temperatura máxima de 30°C), comparando con una muestra control a la cual se le realizaron 8 horas de liofilización sin ultrasonido previo. La muestra control no demostró relevancia para este trabajo ya que no se obtuvo el polvo deseado. Para las muestras de 3 y 5 horas se obtuvieron rendimientos promedio del 13% para ambas en relación con la pulpa fresca; valores de humedad de 10.41 y 9.35%, actividad de agua de 0.51 y 0.50; un contenido proteico de 15.20 y 15.30% y valores de cenizas del 1.21 y 1.09% para 3 y 5 horas respectivamente. En el análisis estadístico (ANOVA) no se evidenciaron diferencias significativas entre los parámetros evaluados y los tiempos de liofilización ($p > 0.05$). Los resultados sugieren que la liofilización asistida por ultrasonido para la obtención de este producto es una técnica viable que aumenta el rendimiento y reduce los tiempos y costos energéticos de producción, que además supone la conservación de la miraculina, impulsando su aplicación en la industria alimentaria.

Palabras clave: Miraculina, *Synsepalum dulcificum*, Liofilización, Ultrasonido

ABSTRACT

This study aimed to determine the technical feasibility of obtaining freeze-dried powder from *Synsepalum dulcificum* pulp using ultrasound as a pretreatment and to assess its potential industrial application. For this purpose, product yield after processing, energy consumption, moisture content, water activity (aw), crude protein, and ash content were evaluated. Freeze-drying was performed for 3 and 5 hours within a temperature range of -50°C to -43°C and a pressure range of 11 to 14 Pa. Samples were pretreated with ultrasound at a fixed frequency of 20 kHz for 3 minutes, using pulsed cycles of 3 seconds on and 4 seconds off, with a maximum temperature of 30°C. A control sample was also included, which underwent 8 hours of freeze-drying without ultrasound pretreatment; however, this sample did not yield the desired powder and was therefore not considered relevant to the objectives of this study. The samples subjected to 3 and 5 hours of freeze-drying exhibited average yields of 13% relative to the fresh pulp. Moisture contents were 10.41% and 9.35%; water activity values were 0.51 and 0.50; crude protein contents were 15.20% and 15.30%; and ash contents were 1.21% and 1.09% for 3 and 5 hours, respectively. Statistical analysis (ANOVA) showed no significant differences ($p > 0.05$) among the evaluated parameters across the different drying durations. The results suggest that ultrasound-assisted freeze-drying is a technically viable method for producing this powder, as it enhances yield while reducing both processing time and energy costs. Additionally, the technique is favorable for preserving miraculin, supporting its potential application in the food industry.

Keywords: Miraculin, *Synsepalum dulcificum*, Freeze-drying, Ultrasound

INTRODUCCIÓN

El *Synsepalum dulcificum*, “fruto milagroso o baya mágica”, es un arbusto perenne que pertenece a la familia *Sapotaceae*, género *Synsepalum* la cual puede producir con una vida productiva de 4 a 5 años en óptimas condiciones alrededor de 4,000 kg ha⁻¹ año⁻¹ de frutos (He *et al.*, 2016; Lara, 2021; Ibarra *et al.*, 2022). Colombia cuenta con al menos 5 distribuidores con capacidad mayorista de *Synsepalum dulcificum* y aproximadamente 70 hectáreas productivas del fruto. Los distribuidores disponibles son Fruta Milagrosa Colombia, Vivero Providencia y Semillas Campo Seeds, ubicados en Bogotá y el Tolima (Cardoso, 2019), así como el Vivero Garden & Crasas, y el Vivero San Joaquín en Cali. Actualmente, no se dispone de cifras acerca de la producción nacional de esta baya por parte de entidades como el DANE o la Cámara de Comercio; sin embargo, este trabajo tiene como objetivo implícito impulsar la producción de frutos tropicales como éste a nivel local.

Este fruto se describe como una baya de intenso color rojo escarlata, midiendo aproximadamente entre 2 a 3 cm de largo y 1 cm de ancho cuando están maduras; este fruto genera un efecto que cambia el sabor ácido o agrio a dulce (Menéndez, 2021).

La propiedad activa que genera este efecto se encuentra en la pulpa de este fruto y es denominada “*miraculina*”, una glicoproteína que puede hacer que los alimentos ácidos, agrios, entre otros, tengan un sabor dulce el cual puede ser aprovechado en la industria alimentaria o medicinal; siendo la pulpa del fruto milagroso, la única parte del fruto que contiene miraculina, la cual representa alrededor de 4.44% del peso del fruto fresco (Inglett & Chen, 2011; Wong & Kern, 2011; He *et al.*, 2016; Menéndez, 2021).

La miraculina es una proteína homodimérica (*ver Figura 1*), se caracteriza por ser una glicoproteína de origen vegetal (N-glicoproteína), pertenece a la familia de las proteínas inhibidoras de la tripsina de Kunitz. Posee un peso molecular de 42,000 Da y una estructura de cadena polipeptídica. Cada monómero posee cadenas polipeptídicas N-glicosiladas, las cuales se conectan mediante un puente disulfuro entre los residuos de asparagina Asn42 y Asn186, al igual que por interacciones entre los residuos de cisteína. Estudios sugieren que la miraculina se une al receptor hT1R2-hT1R3, cambiando funcionalmente según el pH del entorno; cuando éste es neutro, actúa como antagonista, es decir que, se une al receptor sin activarlo y como agonista en presencia de un pH ácido, cambiando la percepción del sabor a dulce (Misaka, 2013; Maia *et al.*, 2024).

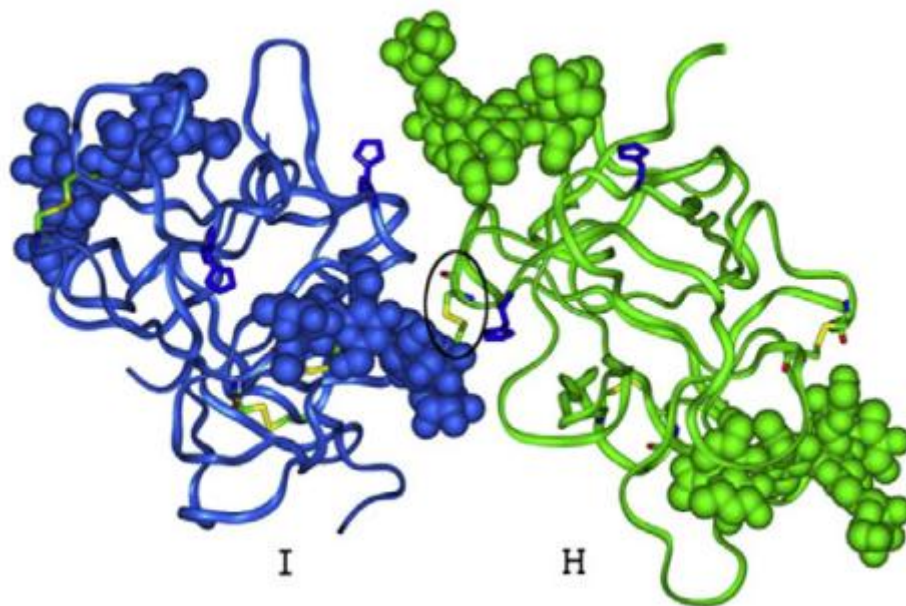


Figura 1. Estructura molecular de la miraculina (Paladino *et al.*, 2008)

Los compuestos bioactivos como la miraculina, son componentes presentes en los alimentos que inciden sobre las actividades celulares y fisiológicas obteniendo un efecto beneficioso en la salud, se encuentran en cantidades pequeñas en los alimentos y provienen de fuentes alimentarias vegetales o animales (De Victoria, 2015). Algunos de estos compuestos son las fibras alimentarias, los polifenoles, las vitaminas y los ácidos grasos poliinsaturados (Moreno, 2023).

La obtención de compuestos bioactivos concentrados en fuentes naturales se da gracias a las mejoras tecnológicas, donde es posible producir extractos con elevado rendimiento. Para algunos compuestos la técnica de extracción más antigua consiste en poner la materia prima con un disolvente, lo cual se denomina extracción sólido-líquido. Sin embargo, desde hace varios años gracias a la tecnología se han implementado técnicas de extracción modernas, por ejemplo, el uso de ondas ultrasónicas, presión, microondas, entre otras; Las cuales pueden reducir la duración del proceso de extracción (Lefebvre *et al.*, 2021).

Distintos autores recopilan las técnicas de cuantificación de miraculina, entre las cuales se pueden destacar, la cromatografía de filtración en gel, la cromatografía de intercambio de iones, ELISA (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) con IgG anti-miraculina purificada por afinidad y peroxidasa, Western blot y ELISA (Brouwer *et al.*, 1968; Kurihara & Nirasawa, 1997; Sun *et al.*, 2006; Sugaya *et al.*, 2008; Ruiz, 2023).

En el mercado actual, la presencia de endulzantes o compuestos que generen una respuesta sensorial dulce y que sustituyan el uso de productos a base de caña de azúcar, representa un gran interés en la población, buscando reducir enfermedades patológicas como la obesidad y la diabetes, impulsando la utilización de partes

específicas de algunas plantas o frutos poco comunes como alternativas de endulzantes (García *et al.*, 2013; Cardoso, 2019).

Un polvo con contenido de miraculina puede ser de gran utilidad para aplicaciones de edulcorantes naturales, ya que se ha demostrado que la ingesta de grandes cantidades de azúcares y sus sustitutos representan un problema para la salud del consumidor. Por ello, es necesario encontrar alternativas para dichos endulzantes y es aquí donde la miraculina puede representar un cambio para la formulación de productos tales como yogurt, batidos, zumos, refrescos, entre otros productos (Menéndez, 2021; Díaz, 2023).

Ya que la miraculina es muy sensible a la temperatura, al someterse a condiciones de calor, la glicoproteína se inactiva perdiendo su propiedad enmascaradora; por lo tanto, se deben considerar tales condiciones de trabajo para la preservación de este compuesto, por lo que se ha determinado a través de otras investigaciones que el proceso más adecuado para la obtención de un polvo que contenga esta, es la liofilización (Jouvin, 2016; Bueno, 2020; Vallejo *et al.*, 2020).

La liofilización es un proceso de deshidratación por sublimación de un producto congelado, utilizado para la reducción de pérdidas de los componentes termosensibles. Constituye uno de los métodos más eficientes para la conservación de los alimentos, ya que detiene una gran parte del deterioro y de las reacciones microbiológicas (Ratti, 2001; Ramírez, 2006).

En la industria alimentaria esta técnica ha demostrado ser útil en la producción de carnes, café, jugos, productos lácteos, células y bacterias, además, se ha convertido en una práctica estándar para la preservación de algunos medicamentos, penicilina, hormonas, plasma sanguíneo, vitaminas, entre otros. Se puede decir que el mercado de alimentos vegetales liofilizados está presentando un crecimiento notorio y una diversificación significativa. Frutas liofilizadas, trozos y rodajas de verduras se están empleando en la actualidad para una amplia gama de alimentos, tales como dulces, cereales, sopas y productos de panadería (Bhatta *et al.*, 2020).

El ultrasonido se considera una tecnología emergente para la conservación de los alimentos, se utiliza para la disminución en la concentración de microorganismos y la inhibición de la actividad enzimática, sin representar una alteración de las propiedades fisicoquímicas y nutricionales de los alimentos. A su vez, el uso de esta técnica durante la congelación y la cristalización disminuye el daño celular, al obtener cristales de hielo de menor tamaño. El tratamiento acelera el enfriamiento ya que se produce una mejor transferencia de calor, preservando la estructura del alimento (Delgado, 2012).

Por lo tanto, en este trabajo se definió el proceso de obtención del polvo liofilizado a partir de la pulpa de *Synsepalum dulcificum*, mediante el uso de ultrasonido como un paso para evaluar su viabilidad técnica.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Propiedades del *Synsepalum dulcificum* y la miraculina

El *Synsepalum dulcificum* es un arbusto autóctono africano con beneficios para la salud y la alimentación, su fruto es conocido como baya mágica, baya milagrosa o baya dulce. Actualmente se sabe muy poco sobre la especie en términos de su utilización a gran escala, de genotipos y cría. *Synsepalum dulcificum* es rico en glicoproteínas y es un excelente edulcorante natural (Romero, 2022).

Además, tiene un alto contenido en sustancias fitoquímicas como el ácido vanílico, la cianidina-3-monogalactósido y quercetina-3-monogalactósido (Achigan-Dako, 2015).

En el campo alimenticio se pueden encontrar aplicaciones en refrescos, confites, almíbares, entre otros, puede ser consumida como un fruto seco (Chevez Avilés, 2021).

El fruto de *Synsepalum dulcificum* tiene la propiedad de modificar el sabor ácido en dulce, siendo la miraculina el compuesto activo de dicho fruto (Chen *et al.*, 2009). Es una proteína homodimérica en polipéptidos compuestos por 191 residuos de aminoácidos, su mecanismo de acción se efectúa cuando se une a la membrana de las células gustativas, cerca de la zona receptora del dulce (Misaka, 2013). La miraculina presenta un perfil sensorial similar a la sucralosa, un sustituto del azúcar, su duración y acción depende del pH y la temperatura, esta proteína ha sido utilizada en alimentos y bebidas, sin embargo, las aplicaciones son limitadas debido a las deficiencias que presenta a nivel industrial, tales como la sensibilidad al pH, su baja solubilidad y termoestabilidad.

Sin embargo, es un insumo de potencial aplicación para el procesamiento de alimentos por su combinación de dulzor, actividad biológica y propiedades interfaciales (Dias *et al.*, 2023).

1.2. Liofilización como método de secado

La liofilización es un proceso en el cual el producto es primeramente congelado y luego pasa a ser secado por sublimación, mediante este proceso un producto que sea inestable en agua se transforma en uno seco y estable, el proceso debe desarrollarse adecuadamente de forma que el producto final presente el mismo volumen que la sustancia congelada, su estructura y la actividad biológica también deben ser iguales a la original. El producto por lo general permanece estable a temperaturas de hasta 40°C y durante dos años de almacenamiento, con la presencia de agua el producto debe reconstruirse de forma rápida (Oetjen & Haseley, 2004).

El proceso de liofilización combina dos procesos importantes, los cuales son la congelación y el secado, durante la congelación una solución experimenta cambios físicos, en especial el estado de superenfriamiento; el cual dicta el tamaño, número y morfología del hielo. Dicho cambio físico repercute en el proceso de secado posterior, por lo que un grado de superenfriamiento heterogéneo da lugar a partículas de hielo y comportamientos de secado irregulares, dicha problemática plantea retos para el desarrollo, optimización y ampliación del proceso de liofilización, siendo el control del grado de superenfriamiento un punto crítico para la mejora de este (Assegehegn *et al.*, 2019).

Este método posee grandes ventajas en el ámbito de la conservación de los alimentos, entre los cuales se pueden mencionar; detener el crecimiento de microorganismos, impedir el deterioro del color y sabor final del producto, reducción de peso, prevención del daño térmico, entre otros. Sin embargo, presenta algunas desventajas, por ejemplo, los tiempos de procesamiento son extensos, existe un gran consumo de energía, costos elevados de implementación, y en algunos alimentos como los cárnicos es necesaria la adición de antioxidantes debido al bajo contenido de humedad que se presenta. Para liofilizar un alimento se deben tener en cuenta ciertos aspectos, como la cantidad de agua presente, peso inicial, textura, entre otros (Jiménez, 2019).

A su vez, la duración, el costo y las características del proceso de liofilización dependen de las propiedades físicas y químicas del producto, el modo en que estas propiedades influyen de manera significativa en el secado y en las características finales del producto no son completamente comprendidas. Este proceso se caracteriza por tres fases: etapa conductiva, donde la velocidad de sublimación aumenta rápidamente por el calentamiento de la muestra, por lo general representa el 10-15% del tiempo total de liofilización. La etapa difusiva, en la cual se muestra un descenso de la velocidad de sublimación, ya que se forma una capa de material seco, oponiéndose al flujo de calor y vapor. Por último, la etapa de secado secundario, donde la velocidad de sublimación sigue decreciendo, aproximándose a cero, esto se debe a que el calor que se necesita para eliminar el agua ligada del alimento es más alto que el calor de sublimación.

En las etapas iniciales del proceso de liofilización (secado primario), ocurre la mayor eliminación de agua del producto, siendo un 75 a 90% del total del contenido (Leonardo & Sofia, 2021).

1.3. Aplicación del ultrasonido como pretratamiento

El ultrasonido es una tecnología basada en ondas acústicas de alta frecuencia, la cual, al transmitirse en medios líquidos o semisólidos, dichas ondas generan microburbujas que crecen y colapsan rápidamente, fenómeno que se conoce como cavitación. Este proceso libera energía y provoca movimientos que favorecen los cambios físicos y químicos en los alimentos; como la ruptura parcial de las estructuras celulares y la mejora de la transferencia de masa. Este proceso impacta en la inactivación de enzimas y de microorganismos, facilita la extracción de compuestos de interés y genera cambios en la estructura de los componentes de los alimentos, modificando las propiedades tecnofuncionales de los mismos. Su principal ventaja es que permite intensificar procesos sin necesidad de aplicar altas temperaturas, ayudando a mantener las propiedades nutricionales y sensoriales del producto. El uso de esta técnica se presenta como un complemento a los métodos de deshidratación tradicionales, ya que facilita la eliminación del agua sin ser necesario un cambio de estado, esto se debe a que al propagarse las ondas ultrasónicas a través del alimento se generan fluctuaciones de presión, dando paso a un fenómeno conocido como efecto esponja, el cual consiste en ciclos de compresión y expansión en el sólido (Hidalgo, 2018; Calderón *et al.*, 2019; Estrada, 2024).

Caballero *et al.*, (2022) asegura que, dentro de sus limitaciones se menciona que la profundidad de penetración es afectada por los sólidos y el aire en el producto, esto incide negativamente en algunas propiedades de los alimentos, como la estructura, el sabor, la textura, el color o el valor nutricional si no se usan las frecuencias y condiciones de tratamiento adecuadas según el tipo de matriz alimentaria.

1.4. Necesidad del proceso de obtención

Un proceso de obtención en la industria alimentaria es una necesidad, ya que ésta afecta los métodos y desarrollo de la producción, además de los hábitos de consumo de la población, ya que se promueven patrones uniformes por parte de las grandes industrias de forma mundial. Dichas organizaciones establecen modelos y pautas de producción en serie y a gran escala (Zúñiga & Niederle, 2017). Para las compañías, un proceso estandarizado representa una reducción de costos de producción, elevando así las utilidades, esto a su vez garantiza el dominio y el control de la dirección de las operaciones (Méndez & Acuña, 2018). En cuanto a los métodos analíticos para la cuantificación de la miraculina, Menéndez (2021) expresa que para el contenido de proteína total presente en diferentes muestras de *Synsepalum dulcificum* se utilizó un kit de BCA (Merck Millipore), el cual es un método colorimétrico que permite realizar la interpolación de la concentración proteica de una muestra a partir de la intensidad que se obtiene al utilizar una recta patrón de albúmina sérica bovina. De igual manera, para validar el método de cuantificación de miraculina presente se suele utilizar resonancia magnética nuclear de protón mediante un método estandarizado.

Por lo tanto, la obtención de una matriz concentrada con miraculina mediante liofilización es un paso clave para el aprovechamiento de este compuesto natural. Para asegurar la calidad del producto final, es necesario considerar diversos factores y variables que pueden afectar las condiciones de operación.

La primera consideración es la correcta selección de los frutos de *Synsepalum dulcificum*, en cuanto a madurez, ya que ésta podría afectar la concentración y la calidad de la miraculina a obtener, de igual forma la limpieza, el lavado y la desinfección son críticos para procurar la eliminación de agentes contaminantes (Ronquillo & Jouvin, 2019).

Según He *et al.*, (2015) la actividad de la miraculina se destruye cuando la solución se hierve o se expone a altas concentraciones de disolventes orgánicos a temperatura ambiente.

De igual forma, los autores exponen que la miraculina es un compuesto que se mantiene estable en condiciones de almacenamiento a pH 4 y temperaturas alrededor de 5°C durante más de seis meses. La liofilización es un aspecto importante al momento de la obtención de la miraculina, ya que la temperatura de congelación, presión de vacío, velocidad de sublimación y el tiempo son variables que deben ser controladas para garantizar la estabilidad de la proteína. Según Valero & Alejandra (2018) la congelación también influye en el tiempo de secado durante la liofilización.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La miraculina es una glicoproteína que se encuentra en las bayas de *Synsepalum dulcificum* y tiene la capacidad de alterar la percepción del sabor, haciendo que los alimentos ácidos y agrios obtengan un sabor dulce (Menéndez, 2021).

Este compuesto tiene un gran potencial en la industria de alimentos y bebidas, así como en la industria farmacéutica, ejerciendo un efecto enmascarador de tipo edulcorante, con propiedades naturales y saludables (Díaz, 2023). Sin embargo, la obtención de miraculina y su posterior estabilización representa un desafío.

La miraculina es muy sensible al calor, por lo que debe manejarse con cuidado durante el proceso de obtención y almacenamiento (Nelson & Cox, 2017). La liofilización se presenta entonces como un método prometedor para la preservación de la miraculina, pero aún existen desafíos técnicos y científicos que requieren abordarse (Bueno, 2020).

Teniendo en cuenta lo anterior, se estableció una metodología preliminar para la obtención de la pulpa liofilizada en polvo que preserve este componente termosensible y facilite su aplicación en la industria (Vallejo *et al.*, 2020). No obstante, se requiere evaluar con mayor profundidad las condiciones de procesamiento que optimicen la obtención del fruto en polvo.

2.1. Pregunta de investigación

*¿Es técnicamente viable obtener un polvo liofilizado a partir de la pulpa de *Synsepalum dulcificum* mediante liofilización asistida por ultrasonido?*

3. ANTECEDENTES

3.1. Investigaciones previas y estudios relacionados.

Tabla 1. *Antecedentes, investigaciones y estudios relacionados*

Autores y nombre del artículo	Técnica o método seguido	Resultados obtenidos
Katharina Schössler, Henry Jäger & Dietrich Knorr (2012). Novel contact ultrasound system for the accelerated freeze-drying of vegetables.	Una reducción de la amplitud de excitación a 4,9 μm y del tiempo neto de sonicación al 10% aplicando un tratamiento intermitente con un intervalo de 10 s de ultrasonidos y 90 s de fase de recuperación permitió liofilizar a tasas de sublimación mayores sin provocar el calentamiento de la muestra durante 7 h de liofilización para cubos de pimiento rojo.	El tratamiento con ultrasonido redujo en un 11.5% el tiempo de secado necesario para alcanzar un contenido final de humedad del 10% b.s. El tratamiento con ultrasonido no afectó a la calidad del producto en términos de densidad aparente, color, contenido de ácido ascórbico y características de rehidratación.
Savo, I., Dragan, M., & Miladin, B. (2012). Specificities of fruit freeze drying and product prices.	Se secaron variedades de frambuesa Willamette y Meeker por liofilización en el equipo Christ Alpha I/5 a una temperatura de -55°C en el desublimador y de -35°C en la materia prima para un proceso de 24-48 horas.	Los resultados obtenidos muestran que la liofilización puede preservar eficazmente la composición química, el volumen, el color y el aroma de la frambuesa. La variación del contenido de agua en la frambuesa durante el proceso de secado se midió cada hora y osciló en la variedad Willamette entre 82.46 y 18.86% tras 48 horas de secado, y en la variedad Meeker entre 81.85 y 16.65%.

Vásquez-Bautista (2019). Evaluación de la composición fisicoquímica y bromatológica de la fruta milagrosa (<i>Synsepalum dulcificum</i>) sometida a tres procesos de conservación.	Refrigeración (4°C), congelación (-23°C) y liofilización. Determinación de porcentaje de color, pH, humedad, ceniza, proteína, fibra, grasa y carbohidratos totales.	La liofilización presentó menor variabilidad de las propiedades fisicoquímicas y bromatológicas a través del tiempo. pH: 2.94 Cenizas: 1.49% Proteína: 1.81% Fibra: 8.68% Grasa: 0% Carbohidratos: 12.17%
Cóndor, S., Y., F. (2019). Caracterización de compuestos bioactivos, físicos y químicos del fruto milagroso (<i>Synsepalum dulcificum</i>) para aplicaciones agroindustriales.	Se analizó el tipo y contenido de polifenoles, capacidad antioxidante y características fisicoquímicas del fruto.	Diámetro longitudinal de 0.93 cm. Diámetro polar de 1.86 cm. Peso: 1.28g. pH: 3.81 Acidez: 0.41 Humedad: 83.37% Contenido de polifenoles totales: 34.64 mg ácido gálico/g Capacidad antioxidante: 477.32 µm Trolox/g Flavonoides: 12 mg catequina/g Antocianinas: 2.86 mg cianidina 3-glucósido cloruro/g Carotenoides: 70.70 µg/g Proteína: 8.79% Fibra: 3% Azúcares totales: 45.65% Grasa: 0.66%

Esmeralda S. Mosquera-Vivas, Alfredo A. Ayala-Aponte & Liliana Serna-Coc (2019). Ultrasonido y Deshidratación Osmótica como Pretratamientos a la Liofilización de Melón (<i>Cucumis melo</i> L.)	Se evaluó el efecto de deshidratación osmótica (45°Brix, 60 y 90min) y ondas de ultrasonido (25kHz, 15 y 30min) como pretratamiento, sobre la cinética de secado y parámetros fisicoquímicos de rodajas de melón pretratadas (4mm de espesor y 20mm de diámetro) se liofilizaron (-40°C, 8Pa); en los tiempos de liofilización 0, 60, 120, 180, 240 y 300 min.	La muestra control LF y los tratados con US superan los 240 min. Actividad de agua (aw): USLF-15b 0.482±0.004, USLF-30b 0.449±0.001.
--	--	---

Adebessah, D. (2019). Miracle berry: Its utilisation in the production of a taste enhancer in the form of powder.	Extracción y purificación de la miraculina: Secado al vacío y molienda: Deshidratación y reducción a polvo. Extracción con agua: 250 mL de agua y agitación durante 40 minutos. Filtración y concentración al vacío: La solución se filtra y se concentra bajo vacío a 20 °C. Extracción con butanol: Se extrae el polvo con butanol. Fraccionamiento de extractos: Los extractos se separan en fracción acuosa, butanol, hexano y acetato de etilo. Resuspensión en NaCl 0,5M: El residuo se suspende en solución salina y se homogeneiza en sonicator. Centrifugación: Se centrifuga a 8.500 rpm a 4°C durante 10 minutos. Recuperación de la fracción sobrenadante.	Humedad: 18.84% Cenizas: 19.90% Proteína: 4.91% Grasa: 1.41% Fibra: 0.23% Glucosa: 40.62%
--	---	--

Vallejo, S; Arias-Arias, F; Brito, H. (2020). Extracción de proteína de <i>Synsepalum dulcificum</i> .	Método de extracción: Extracto en solución acuosa, salina, etanol. Caracterización de proteína	Bajo las condiciones de extracto crudo a pH 7, NaCl 0.5 M a pH 7, Tris-HCl tampón a pH 7 utilizado como tampón de elución, S.
---	---	---

	obtenida: Método Lowry, análisis de pH y °Brix. Efecto de tampones: Tris-HCL, NaCl. Purificación: Alúmina y sílica gel.	<i>dulcificum</i> obtuvo un rendimiento de 26.019 mg/kg.
Garrido Gutiérrez, F. M. (2020). Elaboración de encapsulados de extracto de fruta milagrosa (<i>Synsepalum dulcificum</i>) como agente modificador del sabor.	Extracto: Recepción de la fruta congelada, lavado, cortado de pericarpio y mesocarpio, remoción de semilla, trituración de pericarpio y mesocarpio, traslado de aglomerado, despulpado, obtención de extracto en vaso de precipitado.	Encontraron una relación proporcional del tamaño las bayas con la cantidad obtenida de extracto De una baya se obtiene en promedio 0.29 g de extracto.
Shayeb Shayeb, A. A. (2021). Diseño y evaluación de una planta para la producción de una formulación de edulcorante con fruta milagrosa como aditivo modificador de sabor.	Liofilización: A -30 °C y presión de 133 MPa, por 48 horas. Trituración: Con molino eléctrico para obtener un polvo fino. Mezcla: Mezcla con el polvo obtenido y solución almidón de maíz para compactar el producto; se agrega almidón en relación polvo fruta milagrosa-almidón 3:1. Secado: Se coloca la mezcla en moldes y se lleva a una estufa 24h, a 80°C.	Se encontró que para una producción de 27 ton/año y con un rendimiento de 15 ton/año para una planta de producción de sobres de edulcorantes alternos se obtuvieron los siguientes resultados: Agua: 13% Ceniza: 9% Carbohidratos: 41% Grasas: 7% Proteínas: 17% Sólidos: 13%
Brandão, E. H. P. (2022). Avaliação da bioatividade de extratos da polpa e da semente de <i>Synsepalum dulcificum</i>.	Mediante la obtención de extracto seco a 35°C, con disolución de la muestra en etanol al 80% y agua desionizada, filtración y evaporación, seguido de liofilización.	Se obtuvo un rendimiento de extracción del 5.6% para la pulpa y del 6.9% para la semilla, con un rendimiento del extracto de semilla de alrededor del 1.3% más que el extracto de pulpa de fruta milagrosa, debido a las pérdidas de agua asociadas a la descongelación de la fruta.

3.2. Alcance del estudio

La obtención de la pulpa liofilizada en polvo se desarrolló y enfocó bajo diversas condiciones. Se emplearon parámetros de liofilización preestablecidos bajo las restricciones del equipo sin poder realizar modificaciones durante la operación.

Se tuvieron en cuenta variables como la humedad residual y la actividad de agua, para evaluar la estabilidad del producto durante su posible almacenamiento. Se determinó el rendimiento de la producción y la retención de la proteína (nitrógeno total); este último, como indicador indirecto de la actividad y presencia de la miraculina.

3.3. Limitaciones del estudio

La principal limitación de esta investigación fue la disponibilidad de la materia prima, ya que no es un fruto de producción masiva en muchas regiones del país, lo que dificulta la obtención de este.

Debido a las limitaciones del equipo utilizado, no se pudo modificar variables como la presión y la temperatura, lo que impidió evaluar otras condiciones para la optimización del proceso. La investigación se enfocó en la viabilidad técnica referente a la liofilización y el rendimiento del polvo, pero no se incluyeron pruebas sensoriales en consumidores.

No se realizó la evaluación detallada de la estabilidad y funcionalidad de la miraculina a largo plazo, al igual que la cuantificación de esta y su aplicación directa en matrices alimentarias.

4. JUSTIFICACIÓN

El *Synsepalum dulcificum* es un fruto aún poco explorado y aprovechado por la industria; por lo tanto, la institución universitaria desempeña un rol importante como actor para el emprendimiento con base en la invención, funcionando como incubadora de ideas y negocios; se centra en la transformación hacia el desarrollo e innovación permitiendo la investigación de nuevos productos como éste para el mercado. La universidad genera un impacto positivo hacia el progreso, contribuyendo al país en el ámbito económico, social y de innovación tecnológica del sector alimentario (Villalba, C *et al.*, 2024).

El consumo excesivo de azúcares se relaciona con diversas enfermedades, tales como la obesidad, diabetes, hipertrigliceridemia, entre otras, es por esto por lo que la OMS recomienda reducir el consumo de azúcares a menos del 10% de la ingesta calórica. La sustitución de los azúcares añadidos a los alimentos por edulcorantes no calóricos es la estrategia que más se utiliza, minimizando las afectaciones en las características sensoriales (de Villavicencio *et al.*, 2024).

Para la producción de este producto, la liofilización se presenta como un método moderado de deshidratación que resulta idóneo para la obtención de una matriz concentrada de miraculina, una glicoproteína sensible al calor (Bueno, 2020).

Este proceso conserva la estructura y actividad de la miraculina de manera efectiva, prolongando su vida útil al reducir la actividad del agua en el producto final (Córdor, 2019). La liofilización es un proceso escalable, lo que puede ser crucial para la producción a gran escala, y su estandarización garantiza resultados consistentes y

reproducibles, lo que es esencial para la investigación y la producción comercial (Bhatta *et al.*, 2020).

El ultrasonido es una tecnología que en la actualidad se emplea para reducir los tiempos de procesamiento, preservar la calidad del alimento y asegurar la inocuidad (Chen *et al.*, 2020 como se citó en Paucar *et al.*, 2024), utiliza ondas sonoras que generan fenómenos de cavitación. Dichas ondas pueden variar entre los 20 kHz a 100 MHz, lo cual representa un rango no destructivo para los alimentos.

La aplicación de ultrasonido como pretratamiento en procesos como congelación, secado, descongelación, rehidratación, entre otros, ha demostrado tener beneficios en cuanto a la disminución de tiempo, mejora de la calidad de las propiedades organolépticas (como sabor y textura), además, es importante resaltar que es una técnica de bajo costo y alto beneficio (Vallejos, 2024).

Para lograr una buena preservación y obtención de la glicoproteína presente en el fruto *Synsepalum dulcificum*, la liofilización representa el proceso indicado, ya que la termolabilidad es una característica encargada de descomponer la sustancia, lo que significa una disminución de la preservación y de la característica principal del fruto en el cambio del sabor (Cevallos *et al.*, 2007; Vallejo *et al.*, 2020).

5. OBJETIVO GENERAL

Obtener un polvo liofilizado de la pulpa de *Synsepalum dulcificum* con aplicación de ultrasonido.

5.1. Objetivos específicos

- Verificar la viabilidad técnica y el rendimiento de la producción del polvo liofilizado.
- Establecer el proceso de obtención del polvo mediante liofilización asistida por ultrasonido de la pulpa *Synsepalum dulcificum*.

6. METODOLOGÍA

6.1. Muestra control

Para la muestra control se trabajó con pulpa y cáscara, se realizó ultracongelación por aproximadamente 12 horas a -37°C. Posteriormente, se liofilizó en el equipo EYELA FDU-1200 durante 8 horas sin pretratamiento con ultrasonido y con una distribución asimétrica dentro de los viales (ver Figura 2), bajo condiciones controladas de temperatura y presión (-47.2°C y 11.8 Pa).



Figura 2. *Pulpa y cáscara liofilizadas*

6.2. Obtención de la materia prima

Se recibieron frutos de *Synsepalum dulcificum* provenientes de un cultivo ubicado en Roldanillo, Valle del Cauca, los cuales fueron seleccionados según el contenido de sólidos disueltos y el tamaño. Posteriormente, los frutos se lavaron con agua destilada y se retiró el exceso de humedad con papel absorbente.

6.2.1. Caracterización de la materia prima

Características iniciales del fruto. Para la recepción de la materia prima se tuvo en cuenta que las bayas medían aproximadamente 1.6 cm de largo y poseían una tonalidad rojiza, indicando la madurez del fruto (Ruiz, 2023), como se observa en la figura 2.

Luego de esta caracterización, se procedió a medir los sólidos solubles (aprox. 15.9 °Brix) con ayuda del refractómetro Atago RX-7000CX, y el contenido de humedad de las muestras por gravimetría a través de la balanza analítica KERN ACS 300-4 (320 g máx.) antes y después de la liofilización de la pulpa.



Figura 3. *Baya de Synsepalum dulcificum*

6.3. Lavado y despulpado manual

Se lavaron con agua destilada las muestras escogidas para luego ser despulpadas manualmente con ayuda de un cuchillo. Con la balanza analítica se pesaron entre 1 a 4 gramos de pulpa, con un espesor aproximado de 0.21 a 0.31 cm (Demesyeux *et al.*, 2020).

6.4. Pretratamiento con ultrasonido

Después de separar la pulpa previamente pesada, se dispuso la muestra en un vaso de precipitado de vidrio de 200 mL con agua para su posterior pretratamiento en el Procesador de Ultrasonido SONICS cuyas variables de operación específicas fueron:

Frecuencia fija de 20 kHz, tiempo de 3 min, pulsos de encendido de 3 segundos y apagados de 4 segundos. Temperatura máxima de 30°C, amplitud de onda del 50% y una potencia máxima de salida de 500W del equipo.

Inmediatamente después del pretratamiento se usaron toallas de cocina para retirar el exceso de agua, continuando con el pesado de las muestras.

6.5. Ultracongelación

Luego de obtener la pulpa pretratada de las bayas, ésta se procedió a ultracongelar en el equipo Thermo Scientific ULT350-5-A32, entre -40 a -37°C por aproximadamente 12 horas, en los viales del liofilizador en láminas menores 3 mm; teniendo en cuenta que el peso de la muestra se encuentre en el rango indicado por el fabricante (1 a 5 g).

6.6. Proceso de liofilización

Se ubicaron los viales de liofilización en las válvulas respectivas del equipo EYELA FDU-1200, para obtener el producto seco, el equipo trabaja con una temperatura de -43 a -50°C aproximadamente, y una presión de entre 11 a 14 Pa, para un proceso de 3 y 5 horas.

6.7. Reducción de tamaño de las muestras previamente liofilizadas

Se redujo el tamaño de las muestras secas con la ayuda de un mortero y un procesador de alimentos para obtener un polvo fino.

6.8. Determinación de proteína por método de microkjeldahl

La determinación de proteína se realizó con el método de microkjeldahl, para cuantificar el contenido de nitrógeno (proteína bruta) presente en el polvo liofilizado.

Según el método microkjeldahl descrito por Ogg (1960) y adoptado por la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) con una modificación para este caso, se pesaron aproximadamente 35 mg de la muestra molida en un trozo de papel parafinado, luego, se pasó la muestra al tubo microkjeldahl donde se adicionaron 50 mg de catalizador Kelpack y 5 mL de H₂SO₄ concentrado. Se colocaron las muestras y un blanco en el digestor aumentando el calor gradualmente hasta que el color de las soluciones viró a un color azul verdoso claro (incolora). En un vaso de precipitados de 100 mL se agregaron 6 mL de ácido bórico al 6% y 3 gotas de indicador mixto. Se agregó al destilador la muestra digestada con ayuda de agua destilada, adicionando 10 mL de NaOH 50% + Tartrato de sodio - potasio. Se calentó a ebullición el balón de agua del equipo, luego de que el indicador viró a azul, se siguió destilando por 6 minutos en el vaso colector. El contenido del vaso se tituló con HCl 0.02 N hasta lograr el viraje del indicador mixto al color inicial. El contenido de proteína se calculó con las Ecuaciones 1 y 2.

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{Vol HCl muestra} - \text{Vol HCl blanco}) * N * 14 * 100}{(\text{meq HCl} * W \text{ muestra})}$$

Ecuación 1. Porcentaje de nitrógeno total

$$\% \text{ Proteína} = \%N * \text{Factor}$$

Ecuación 2. Porcentaje de proteína bruta

6.9. Determinación de cenizas

Se pesó un crisol de porcelana vacío previamente secado en mufla por media hora, luego, se adicionaron aproximadamente 500 mg de muestra triturada. Se calcinó la muestra en una plancha de calentamiento hasta que no hubo liberación de humos, luego se colocó el crisol con la muestra calcinada en una mufla a 550°C por 4 horas hasta que se obtuvieron cenizas blancas. Se retiraron las muestras de la mufla y se enfriaron en un desecador por media hora y se tomó el peso. El contenido de cenizas se determina con la Ecuación 3.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(W_3 - W_1) * 100}{(W_2 - W_1)}$$

Ecuación 3. Porcentaje de cenizas

Donde

W1: *Peso del crisol vacío*

W2: *Peso de la muestra*

W3: *Crisol con cenizas*

6.10. Determinación de humedad

El contenido de humedad de las muestras (polvo fino) se determinó por gravimetría a través de un secado posterior a la liofilización en la estufa de secado

Thermo Scientific HERATHERM OGS60 a 105°C durante 24 horas; se determinó el peso a través de la balanza analítica KERN ACS 300-4 (320 g max).

$$Hf = \frac{(W1 - W2)}{W2} * 100$$

Ecuación 4. Porcentaje de humedad

Donde

Hf: Humedad final

W1: Peso inicial de la muestra

W2: Peso final de la muestra

6.11. Determinación de actividad de agua

La actividad de agua (a_w) se determinó mediante el medidor de actividad de agua AQUALAB 4TE previamente calibrado.

6.12. Rendimiento del producto obtenido

El rendimiento obtenido después de la operación fue calculado con la Ecuación 5.

$$\%R = \frac{\text{Peso de la pulpa deshidratada obtenida}}{\text{Peso total de la pulpa}} * 100$$

Ecuación 5. Rendimiento del producto, Marulanda (2002).

En la Figura 4 se evidencia el diagrama de proceso para la obtención de pulpa liofilizada en polvo de *Synsepalum dulcificum*.

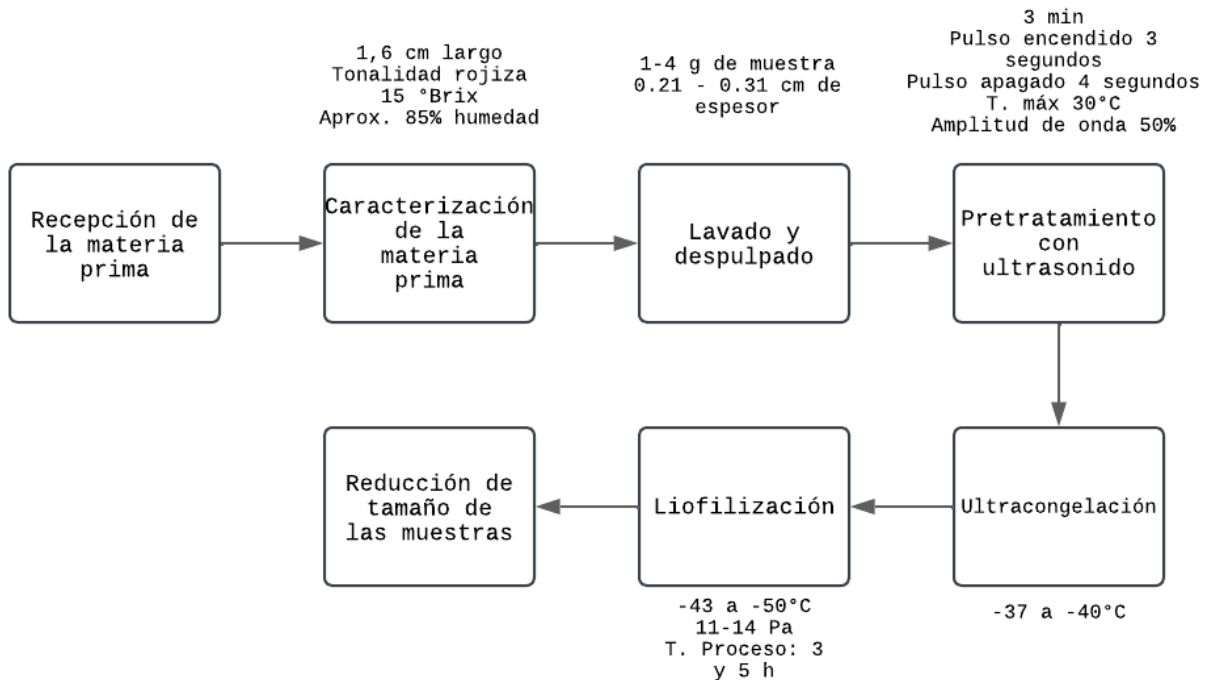


Figura 4. Diagrama de proceso de obtención de pulpa liofilizada en polvo

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental por medio del cual se determinó si existe una diferencia significativa en las características y calidad del polvo respecto al pretratamiento y al tiempo de liofilización, fue un diseño completamente aleatorizado (*ver Tabla 2*). Cada nivel se realizó por duplicado a través de cinco réplicas, para garantizar la confiabilidad de los resultados y reducir la variabilidad experimental, trabajando con un nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$). El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software RStudio (*ver Anexos*).

Tabla 2. *Diseño completamente aleatorizado (DCA) para el análisis estadístico*

Niveles	Variable de respuesta
3h y 5h	Rendimiento del polvo (%)
	Contenido de humedad final (%)
	Proteína (%)
	Actividad de agua (a_w)

Este diseño y sus variables fueron escogidos como pilar de decisión con el fin de concluir por medio del proceso (costo energético, rendimiento, entre otros) su viabilidad para la aplicación industrial.

8. RESULTADOS Y ANÁLISIS

En el proceso de evaluación preliminar de liofilización estándar (tratamiento control) para la pulpa de *Synsepalum dulcificum* se evidenció que, al no existir un pretratamiento, el proceso no permitió un secado completo de la muestra, ya que, al finalizar el tiempo de liofilización, la humedad superaba el 30%, impidiendo la molienda posterior para obtener el polvo deseado.

Se encontró que el pretratamiento con ultrasonido ayudó significativamente a reducir el tiempo de liofilización en aproximadamente 3 a 5 horas, y contribuyó a mejorar la textura de la pulpa para su posterior molienda, obteniéndose el polvo buscado (*ver Figura 5*).

Dicho polvo mantuvo aparentemente su poder enmascarador días después del procedimiento. Esta reducción significativa del tiempo puede deberse a características descritas por Terroni (1997), donde asegura que el progreso de secado mediante liofilización (sublimación) puede verse mermado de acuerdo con el espesor dispuesto en las muestras ultracongeladas (< 3 mm en este trabajo), sugiriendo que este se da a razón de 1 mm/ hora, asegurando que productos con láminas de 10 mm de espesor tardarán de 10 a 12 horas en secarse y, que este depende también de la conductividad térmica, de la composición del producto, entre otras.

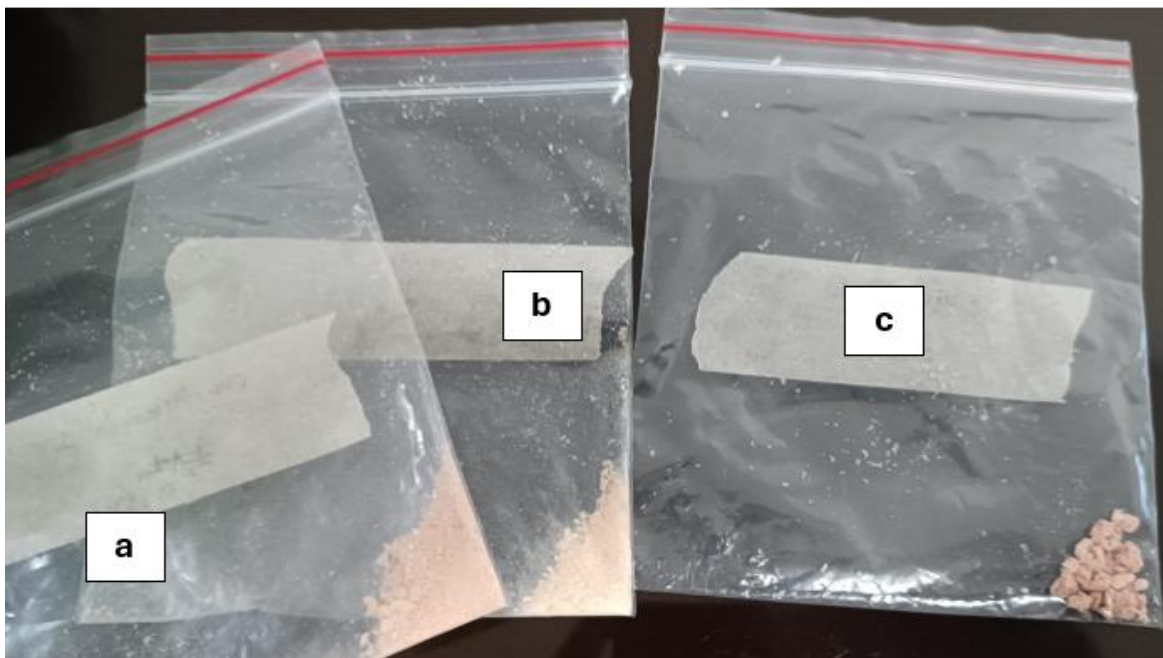


Figura 5. a.b. Pulpa liofilizada con ultrasonido (3 y 5h) c. Pulpa liofilizada sin ultrasonido (8h)

8.1. Rendimiento

El rendimiento es un parámetro crucial en la producción del polvo liofilizado de *Synsepalum dulcificum*, ya que permite evaluar la eficiencia de la operación. Un mayor rendimiento del producto, indica una mejor conservación del fruto a través del proceso, lo cual es decisivo para su aplicación en la industria, por ello es importante optimizar el tiempo de operación y los recursos usados para el mismo, siendo este directamente proporcional con el tipo de fruta y proceso aplicado (Auquiñivin & Paucar, 2020).

En las réplicas realizadas para este trabajo, se encontró un rendimiento aproximadamente en el rango de 10 a 18% como relación entre la pulpa del fruto fresco y el producto deshidratado después de la liofilización (*Ver Ecuación 4*), con una media aproximada de 13% (*Ver Tabla 3*) para ambos niveles de tratamiento (3h y 5h).

Tabla 3. Datos experimentales de rendimiento del producto (%)

Tiempo de liofilización (h)	Réplica					Promedio
	1	2	3	4	5	
3	11.94	14.14	11.24	11.76	17.18	13.25
5	9.64	14.46	11.33	11.98	16.78	12.84

En la Figura 6, se muestra la distribución de datos y medias para este parámetro donde el análisis de varianza (ANOVA) determinó que no existe una diferencia estadística significativa entre los rendimientos obtenidos tras 3 y 5 horas de liofilización ($p > 0.05$).

Esto indica que al prolongar el tiempo de proceso en la liofilización después de la aplicación del pretratamiento con ultrasonido, no se generó un aumento relevante en el rendimiento del producto, sugiriendo que a partir de 3 horas de liofilización es suficiente para obtener los resultados esperados (Humedad $\cong 10\%$ y $a_w \leq 0.6$); Así mismo, Vallejos (2024) asegura que, la aplicación de ultrasonido como pretratamiento en procesos como la deshidratación ha demostrado ser beneficiosa, no solo disminuyendo el tiempo del proceso y conservando la calidad organoléptica del producto, sino también mejorando el rendimiento al someterse a esta operación y disminuyendo los costos de producción.

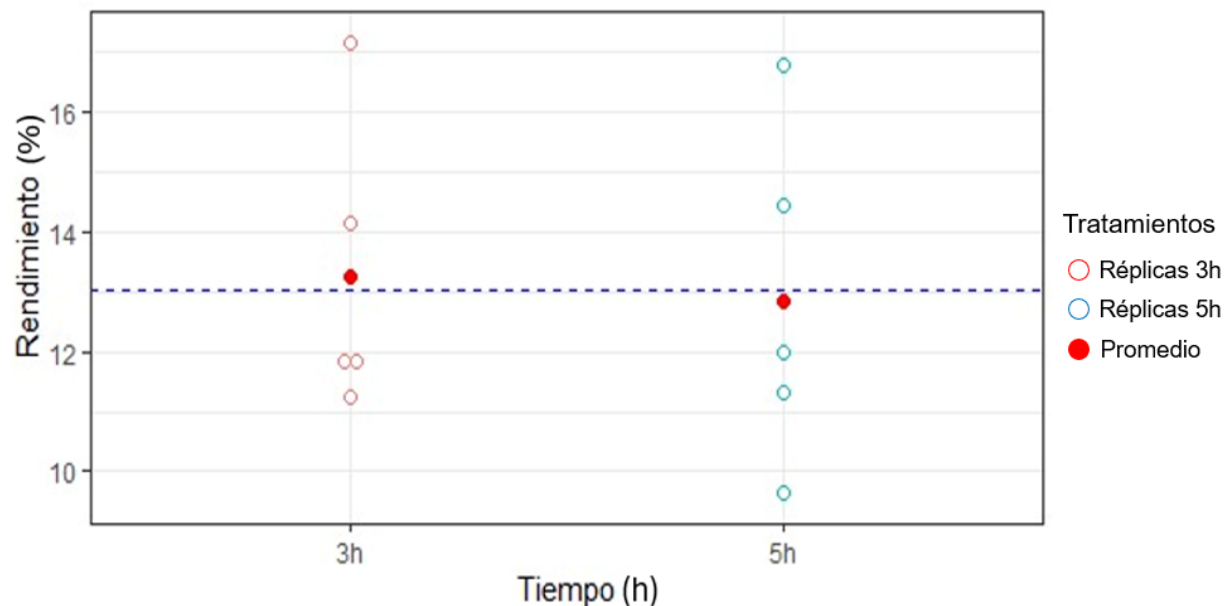


Figura 6. Modelo de medias para el rendimiento del producto (%) vs tiempo (h)

Araújo (2024) calculó el rendimiento de la pulpa y la cáscara de la baya *Synsepalum dulcificum* después de su liofilización, obteniendo un 19.9%, cercano al valor obtenido en este trabajo, donde compara sus resultados con otros frutos como piña, maracuyá y melón cuyos valores alcanzan el 20% aproximadamente, indicando que el

rendimiento del producto final está directamente relacionado con la humedad del fruto fresco (85-90%).

Desde un punto de vista industrial, los datos obtenidos sugieren que la liofilización en este producto después del pretratamiento alcanzó un equilibrio a partir de las 3 horas de proceso, donde cualquier tiempo adicional no propone un mejor rendimiento; Por lo tanto, esto implica una reducción en los costos energéticos y de la producción del polvo liofilizado, sin que se afecte el rendimiento final.

De acuerdo con Caballero *et al.*, (2022), el procesamiento de alimentos con ultrasonido tiene ventajas en la reducción del tiempo y las temperaturas del proceso, como un mayor rendimiento y menor consumo de energía. Así, de la Tabla 4, se asumió un consumo de 3.25 y 4.05 kWh para el proceso de liofilización asistida por ultrasonido, generando un costo total de energía en la producción del polvo liofilizado de *Synsepalum dulcificum* de 1,628 y 2,027 COP para un tiempo total de operación de 5.1 y 7.1 horas (ultrasonido, ultra congelación y liofilización) respectivamente, comparado con un consumo de 5.2 kWh y un costo energético de 2,605 COP para 10 horas de proceso (ultra congelación y liofilización) como se presentó en las pruebas preliminares. Por otro lado, el consumo energético para 50 horas (ultra congelación y liofilización) propuesto por Fazilah *et al.*, (2020) y Menéndez (2021) representa un consumo total de 21.2 kWh aproximadamente y un costo cercano a los 10,621 COP, por lo que la metodología presentada en este trabajo propone mejor viabilidad y una disminución de costos energéticos escalables a la industria; para efectos del cálculo de consumo energético se asumió un tiempo máximo de ultra congelación de las muestras de 2 horas (García *et al.*, 2017) y no de 12 horas como se menciona en la metodología, pues este último está

sujeto a factores externos relacionados con la práctica. Esta disminución puede deberse a que el ultrasonido genera un efecto de cavitación por la creación de microcanales en el fruto, mejorando la formación de cristales de hielo (cristales más pequeños), una congelación rápida, como un mejor y más rápido proceso de secado mediante la liofilización (Fajardo *et al.*, 2022; Flores & Fonseca, 2024).

Tabla 4. Consumo energético para ultrasonido, ultracongelación y liofilización de *Synsepalum dulcificum*

Equipo	Potencia (kW)	Tiempo (h)	Consumo (kWh)	Costo total (COP)
Ultrasonido	0.5	0.1	0.05	25
Ultracongelador	1	2*	2	1,002
		3	1.2	601
		5	2	1,000
		8	3.2	1,603
Liofilizador	0.4	48**	19.2	9,619

Fuente: *Elaboración propia.*

Nota. El costo por kWh para el 2025 se estima en aproximadamente 501 COP/kWh.

* Tiempo de referencia en el que el alimento alcanza la temperatura deseada de ultracongelación (García *et al.*, 2017).

** Tiempo de referencia para liofilización de *Synsepalum dulcificum* (Fazilah *et al.*, 2020; Menéndez, 2021).

8.2. Humedad y actividad de agua

La determinación de la actividad de agua (a_w) en alimentos en polvo es un factor de suma importancia, ya que dicho parámetro influye en la estabilidad del producto (Fazilah *et al.*, 2019). Los valores obtenidos de a_w para el polvo liofilizado de *Synsepalum dulcificum* oscilaron entre 0.4 y 0.5 aproximadamente, incluso después de un mes de almacenamiento (*ver Tabla 5*), dichos valores se encuentran por debajo del 0.6, que es la mínima actividad acuosa en la cual pueden desarrollarse microorganismos (Toscano *et al.*, 2020). Con base al análisis estadístico (ANOVA), el cual no mostró diferencias significativas entre los datos obtenidos para a_w en los tiempos de proceso de 3 y 5 horas ($p > 0.05$), se puede deducir que, prolongar el tiempo de liofilización no tuvo un efecto relevante en la actividad de agua del polvo obtenido, siendo los resultados de las réplicas para ambos casos (3h y 5h) cercanos a una a_w del 0.5 (*ver Figura 7*), rango óptimo de estabilidad microbiológica.

Tabla 5. Datos experimentales de actividad de agua (a_w)

Tiempo de liofilización (h)	Réplica					Promedio
	1	2	3	4	5	
3	0.44	0.45	0.54	0.58	0.52	0.51
5	0.43	0.44	0.49	0.54	0.58	0.50

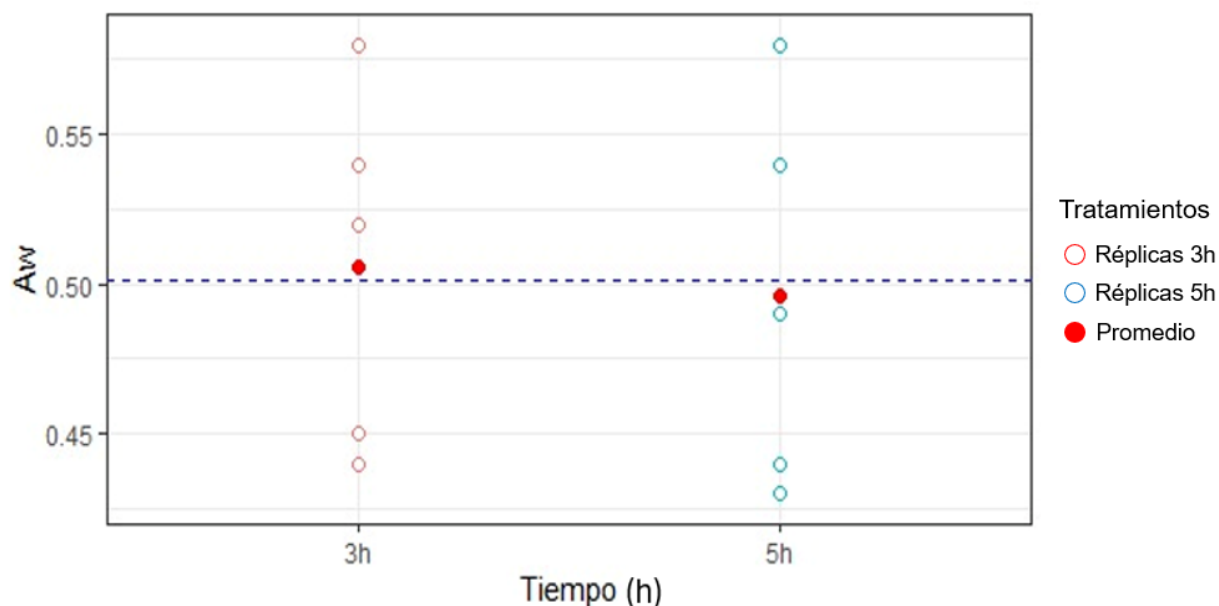


Figura 7. Modelo de medias para la actividad de agua del producto (a_w) vs tiempo (h)

De acuerdo con Tapia (2020), el control del crecimiento microbiano en los alimentos por modificación de la a_w puede alcanzarse mediante diferentes estrategias; En primer lugar y correspondiente a este trabajo, menciona usar la a_w como el único factor de estrés para los microorganismos y, por lo tanto, reducirla hasta valores muy bajos ($a_w < 0.6$) donde no se produzca proliferación microbiana. Por otro lado, sugiere el uso de factores de estrés como el pH, la temperatura, la adición de conservantes y el uso de radiación UV en alimentos, en combinación con una a_w baja, ya que, se reduce la cantidad de energía disponible para la osmorregulación del microorganismo, pues, al aumentar el número de factores de estrés se incrementa el consumo de energía, afectando la homeóstasis celular y haciendo más difícil la supervivencia de este. Adicionalmente, Sánchez *et al.*, (2022) aseguran que la estabilidad de los polvos de frutas se alcanza cuando la actividad de agua está próxima al 0.2 y 0.4, con las cuales se obtiene la conservación del producto en condiciones ambientales definidas, limitando

el incremento de microorganismos e impidiendo reacciones hidrolíticas, oxidativas y enzimáticas, lo que puede extender la vida útil del producto.

Otra variable que permite definir la estabilidad y/o calidad del producto obtenido es la humedad residual del mismo.

El contenido de humedad es un factor importante en muchos procesos industriales, ya que es útil para la formulación de productos y su evaluación de pérdidas durante el procesamiento (Leonardo & Sofía, 2021). En productos liofilizados se considera un parámetro crítico, que afecta la estabilidad, solubilidad y vida útil.

En el análisis estadístico (ANOVA) no se mostraron diferencias significativas en cuanto a la humedad para los tiempos dados, con un $p > 0.05$.

La ausencia de dichas diferencias podría indicar que, bajo las condiciones de operación dadas, el proceso de secado alcanzó un punto de equilibrio (*ver Tabla 6*), lo que supone que tiempos superiores a tres horas de secado puede generar un beneficio adicional en cuanto a la eliminación de agua.

Tabla 6. Datos experimentales de humedad final (CHbh)

Tiempo de liofilización (h)	Réplica					Promedio
	1	2	3	4	5	
3	9.74	11.24	8.84	9.45	12.80	10.41
5	8.20	10.14	7.48	7.56	13.39	9.35

En la Figura 8 se presentan los valores de humedad obtenidos tras tres y cinco horas de liofilización, con un promedio de aproximadamente 10%, dato que se sitúa por debajo de lo expuesto por Sánchez *et al.*, (2022), en donde mencionan que la liofilización es útil para reducir las pérdidas de aroma y sabor en los alimentos, mediante una conservación en la cadena de frío, acercándose a humedades del 15%. Además, manifiesta que el contenido de humedad junto con la actividad de agua son parámetros fundamentales para la determinación del tiempo de conservación del producto, y así, establecer un almacenamiento óptimo. A nivel industrial, dichos resultados pueden ser relevantes para la optimización de los tiempos de secado y reducción de costos energéticos, sin comprometer la calidad del producto liofilizado en polvo.

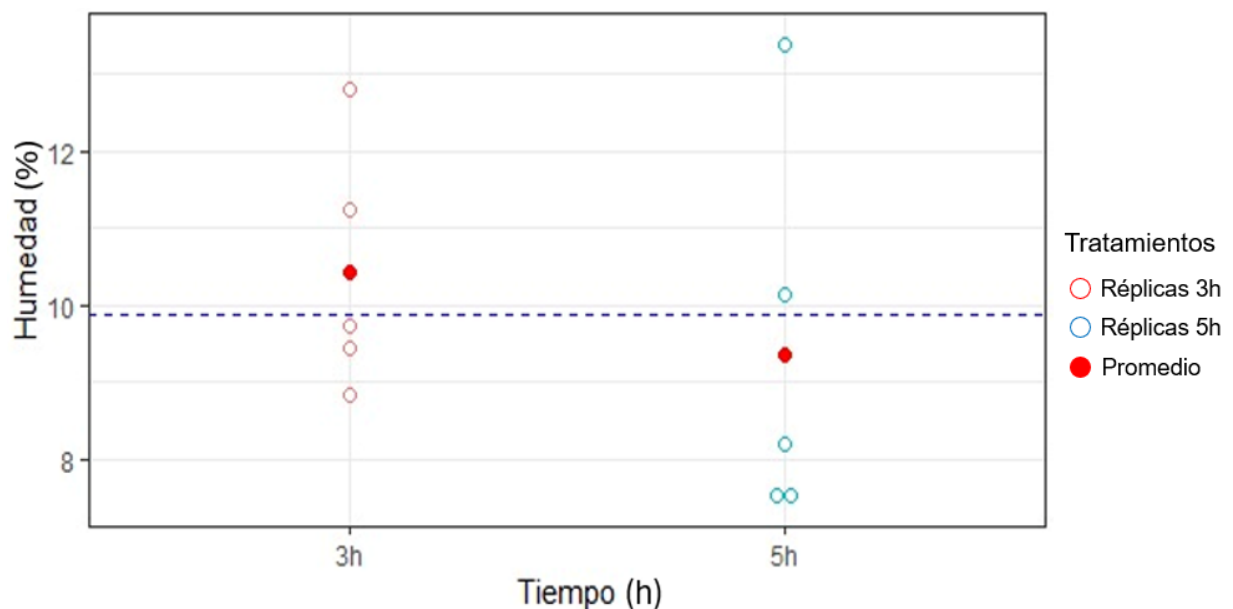


Figura 8. Modelo de medias para la humedad del producto (%) vs tiempo (h)

8.3. Proteína

La baya *Synsepalum dulcificum* está compuesta por aproximadamente 86.3% de hidratos de carbono, 6% de proteínas y hasta 3.2% de grasas. El componente clave de la baya es la miraculina, glicoproteína que se encuentra en cantidades de hasta el 2.5% y es la responsable del efecto modificador del sabor. Por lo que su concentración proteica es un indicador clave que sugiere que el tratamiento aplicado conserva el compuesto de interés (EFSA *et al.*, 2021; Díaz, 2023). Los valores de contenido proteico en este trabajo oscilaron alrededor del 15% para 3 y 5 horas, como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Datos experimentales de proteína (%)

Tiempo de liofilización (h)	Réplica					Promedio
	1	2	3	4	5	
3	15.06	15.23	15.25	15.50	14.96	15.20
5	15.30	15.06	15.50	15.41	15.24	15.30

El análisis de varianza (ANOVA) con $p > 0.05$ (ver Anexos) indicó que no existen diferencias significativas en el contenido proteico para las horas estipuladas, lo que sugiere que la liofilización en las condiciones establecidas no degradó notablemente la proteína, permitiendo la conservación de dicho compuesto.

En el estudio de Cóndor (2019), se obtuvo un porcentaje de proteína en base seca de 8.79% para pulpa y cáscara del fruto milagroso por el método kjeldahl, en el cual concluyeron que los valores pueden diferir dependiendo del análisis realizado, las partes del fruto utilizado y sus factores edafoclimáticos.

EFSA *et al.*, (2021) reportaron valores de proteína total (g/100g) de pulpa y cáscara liofilizada que oscilan entre 3.5 y 6.0. Además, en su investigación mencionaron valores de miraculina en un rango entre el 1.7 y el 2.1% con respecto al peso total de la muestra (100g), lo que sugiere una proporción del 28 al 60% de miraculina con respecto a la proteína total. A su vez, la cantidad de proteína encontrada en el análisis de Araújo (2024) fue de 4.02% para el pericarpio del fruto.

El contenido de proteína obtenido en este trabajo con una media de 15.25% aproximadamente (*ver Figura 9*) puede considerarse alto con relación a los valores obtenidos por los autores anteriormente mencionados (6% en promedio); tales valores, pueden discernir teniendo en cuenta algunos factores. En primer lugar, el uso de ultrasonido como pretratamiento ayuda a disminuir la oxidación en proteínas debido a que puede aumentar la cantidad de flavonoides con una actividad de extinción de radicales y la recuperación de isoflavonas durante su extracción, además de ayudar a acelerar la solubilización de la proteína liberándola de la matriz alimentaria, obteniendo rendimientos altos de la misma (Lamsal *et al.*, 2020 como se citó en Taimal, 2022); Por otro lado, el método de kjeldahl para la cuantificación de proteína, mide el nitrógeno orgánico total, no sólo el nitrógeno proteico (Nielsen, 1998), por lo que se pudo generar una sobreestimación del contenido de proteína; A su vez, la proteína estudiada en este caso se calculó por medio de la Ecuación 2, donde el factor usado hace referencia al tipo de alimento, el cual proviene de la consideración de que la mayoría de las proteínas tienen una cantidad aproximada de 16% de nitrógeno; por lo tanto, 100 g de alimento/16 g de proteína da como resultado un factor de 6.25 para proteínas desconocidas (Boulos *et al.*, 2020), arrojando un valor cercano, pero no exacto.

La miraculina está formada por azúcares como la glucosamina, manosa, fucosa, xilosa y galactosa, además de nitrógeno, carbohidratos y 191 residuos de aminoácidos (Akinmoladun *et al.*, 2020); sin embargo, el análisis de contenido de nitrógeno no es específico para esta glicoproteína. Como se mencionó anteriormente, distintos compuestos pudieron haber interferido en la cuantificación de proteína bruta del producto final, aun así, se puede estimar y suponer su presencia en un rango del 28 al 60% del contenido total de proteína después de los tratamientos, ya que estos no suponen una degradación de esta (EFSA *et al.*, 2021).

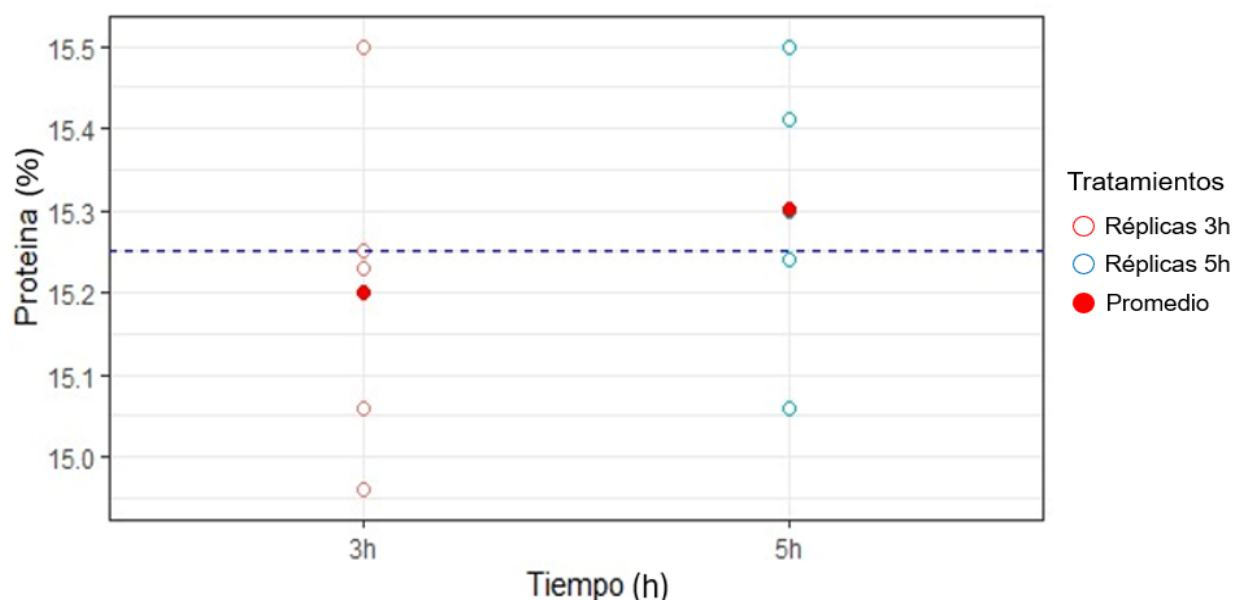


Figura 9. Modelo de medias para la proteína del producto (%) vs tiempo (h)

8.4. Cenizas

El contenido de cenizas hace alusión al residuo inorgánico que resulta de la combustión o incineración de una materia orgánica, como un alimento. Su cuantificación permite determinar la cantidad de minerales presentes en el alimento, ayuda a resolver

su calidad, estabilidad microbiológica y la monitorización del proceso de obtención de este (Flores *et al.*, 2021; Neppas, 2022).

Lugo & Díaz (2024), asumen que un contenido de cenizas superior al 0.7% (cantidad mínima recomendada) en un producto alimenticio constituye una buena fuente de minerales beneficiosos para la salud.

En los resultados obtenidos para la determinación de cenizas en el producto liofilizado (*ver Tabla 8*) se observó primeramente que los valores obtenidos de cenizas se encontraron por encima del valor mínimo propuesto en la literatura; además, dichos valores tendieron a ser ligeramente mayores en las muestras de 3 horas (1.21%) en comparación con las de 5 horas (1.09%); si bien dicha diferencia no fue evaluada estadísticamente, el patrón sugiere que tiempos más largos de liofilización podrían interferir con la cantidad de residuos inorgánicos en el producto. Romero (2024) menciona que el contenido de cenizas no se ve afectado por la congelación y la ultracongelación, sin embargo, dicho contenido puede variar con el tiempo empleado en la liofilización, sugiere que, entre más tiempo de proceso mayor será la cantidad de agua que se elimina en las muestras, aumentando también los sólidos y cenizas presentes; no obstante, el ANOVA realizado para el contenido de humedad residual no presentó diferencias significativas entre los tiempos de liofilización (3 y 5 horas), por lo que se asume en este caso que, a partir de las 3 horas no se generó un cambio relevante en ninguna variable, incluyendo las cenizas.

Tabla 8. Datos experimentales de ceniza (%)

Tiempo de liofilización (h)	Réplica					Promedio
	1	2	3	4	5	
3	1.18	1.40	1.17	0.94	1.36	1.21
5	1.44	1.12	1.03	0.66	1.20	1.09

Estos valores, en comparación a los obtenidos por otros autores, difieren. EFSA *et al.*, (2021) sugirió un contenido de cenizas para pulpa y cáscara liofilizada de *Synsepalum dulcificum* de 3.5 a 8.5 (g/100g); A su vez, Fadeyibi (2021) reportó un contenido entre 1.14 a 1.33% en la fruta fresca, sugiriendo un alto contenido de ceniza, debido a la presencia de minerales en la fruta. Landázuri *et al.*, (2025) indicó un contenido de cenizas de 4.36% para la pulpa fresca de *Synsepalum dulcificum* y de 3.4% para la cáscara y pulpa liofilizada; estos datos, pueden ser tomados como recomendación para añadir al producto la cáscara del fruto, el cual representa una buena fuente de cenizas (minerales).

9. CONCLUSIONES

La liofilización asistida por ultrasonido evidenció ser una técnica viable para la obtención del polvo liofilizado a partir de la pulpa de *Synsepalum dulcificum*. La ausencia de diferencias significativas en los parámetros analizados sugiere que éste es un método factible y escalable a nivel industrial; resultados que permiten optimizar el proceso y reducir los costos energéticos sin afectar la calidad del producto final. En consecuencia, prolongar el tiempo de liofilización a partir de tres horas para este producto no representa una mejora relevante en la viabilidad del producto.

El rendimiento y algunas características fisicoquímicas del polvo tienden a incrementarse cuando se utiliza la pulpa junto con la cáscara en el proceso de obtención. Sin embargo, si el propósito principal es maximizar la conservación de la miraculina, resulta más conveniente trabajar únicamente con la pulpa. En consecuencia, la elección de la materia prima depende de la prioridad del proceso: emplear la pulpa para resaltar la funcionalidad de la proteína, o incorporar también la cáscara para favorecer un mayor rendimiento.

El uso de ultrasonido como pretratamiento previo a la liofilización, permite la reducción significativa de los costos energéticos en comparación con los métodos tradicionales reportados en la literatura. Esto gracias a la eficiencia del secado que no afecta la calidad del producto y lo convierte en una alternativa viable y sostenible en la industria de alimentos. El polvo obtenido se proyecta como un producto prometedor en el campo de la biotecnología, gracias a la presencia de miraculina y su propiedad similar al de un edulcorante natural. Su capacidad para modificar la percepción del sabor, junto

con la posibilidad de conservar su funcionalidad mediante este proceso, lo posiciona como un ingrediente estratégico en el desarrollo de productos alimenticios funcionales e innovadores.

10. RECOMENDACIONES

Se sugiere para estudios a partir de esta investigación, evaluar distintas condiciones de liofilización (temperatura, presión de vacío y tiempo), como parámetros de ultrasonido que permitan encontrar configuraciones óptimas para el proceso y mejores rendimientos que no comprometan la calidad y características organolépticas en la materia prima.

Para fortalecer los estudios, se recomienda incorporar análisis específicos sobre la actividad de la miraculina que puedan evaluar su presencia y función particular después del proceso de obtención del polvo.

Se proponen estudios y evaluación de vida útil en el producto, con el fin de encontrar su estabilidad en el tiempo bajo diferentes condiciones de almacenamiento, en empaques, así como su comportamiento en diferentes matrices alimentarias. Determinación de temperatura de transición vítrea y condiciones de molienda que permitan describir la existencia de estrés mecánico en el producto y sus propiedades.

Finalmente, se invita a explorar su uso con fines industriales, aplicando diferentes técnicas y verificando su viabilidad económica en el proceso de escalado de su producción.

REFERENCIAS

Achigan-Dako, E. G., Tchokponhoué, D. A., N'Danikou, S., Gebauer, J., & Vodouhè, R. S. (2015). Current knowledge and breeding perspectives for the miracle plant *Synsepalum dulcificum* (Schum. et Thonn.) Daniell. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62, 465-476.

Adebessah, D. (2019). Miracle berry: Its utilisation in the production of a taste enhancer in the form of powder (Doctoral dissertation, University of Cape Coast). <https://ir.ucc.edu.gh/xmlui/handle/123456789/4212>

Akinmoladun, A. C., Adetuyi, A. R., Komolafe, K., & Oguntibeju, O. O. (2020). Nutritional benefits, phytochemical constituents, ethnomedicinal uses and biological properties of Miracle fruit plant (*Synsepalum dulcificum* Shumach. & Thonn. Daniell). *Heliyon*, 6(12).

Araújo, S. B. C. D. (2024). Avaliação da fruta do milagre (*Synsepalum dulcificum* Shumach. & Thonn. Daniell) e sua glicoproteína miraculina para novas aplicações biotecnológicas.

Assegehegn, G., Brito-de la Fuente, E., Franco, J. M., & Gallegos, C. (2019). The importance of understanding the freezing step and its impact on freeze-drying process performance. *Journal of pharmaceutical sciences*, 108(4), 1378-1395.

Auquiñivin Silva, E. A., & Paucar Menacho, L. M. (2020). Estudio comparativo de las características fisicoquímicas y vida útil de las papayas nativas," papayita de

monte"(Carica pubescens Lenné & K. Koch) y" babaco"(Carica pentagona Heilborn)(Caricaceae) deshidratadas mediante liofilización. *Arnaldoa*, 27(1), 115-128.

Bhatta, S., Janezic, T. S., & Ratti, C. (2020). Freeze-Drying of Plant-Based Foods. 1–22.

Boulos, S., Tännler, A., & Nyström, L. (2020). Nitrogen-to-protein conversion factors for edible insects on the Swiss market: *T. molitor*, *A. domesticus*, and *L. migratoria*. *Frontiers in nutrition*, 7, 89.

Brandão, E. H. P. (2022). Avaliação da bioatividade de extratos da polpa e da semente de *Synsepalum dulcificum* (Bachelor's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná). <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/31082>

Brouwer, J. N., Van Der Wel, H., Francke, A., y Henning, G., J. (1968). Miraculin, the sweetness-inducing protein from miracle fruit. *Nature*, 220(5165), 373-374.

Bueno-Pérez, S. (2020). "Evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de hojas y fruto de *synsepalum dulcificum* en ratones (*mus musculus*) con diabetes inducida por estreptozotocina". Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Caballero-Figueroa, E., Terrés, E., Hernández-Hernández, H. M., & Escamilla-García, M. (2022). Revisión sobre las tecnologías emergentes no térmicas para el procesamiento de alimentos. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 25.

Calderón, J., Marroquin, A., Luviano, L., Maqueda, V., Marín, E., & Calderón, A. (2019). Sonido, ultrasonido y cavitación. *Latin-American Journal of Physics Education*, 13(4), 11.

Cardoso Sánchez, F. (2019). Creación de Agroindustria Dulcificum: agrícolas, proveedores y distribuidores de fruta mágica con fines medicinales. Universidad de los Andes.

Cevallos, L., Andrade, S., Singh, B. K., Arce, J., Guácimo, L. M. De, & Rica, C. (2007). Estudio de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum* Daniell). 3, 71–80.

Chen, C. Y., Wu, P. Y., Huang, T. S., Lin, C. W., Li, Y. C., Chou, R. H., ... & Wang, H. M. (2009). The sour taste-modifying protein (miraculin), tyrosinase inhibitors and antioxidants from *Synsepalum dulcificum*. *Current Nutrition & Food Science*, 5(3), 172-179.

Chen, F., Zhang, M., & Yang, C. H. (2020). Application of ultrasound technology in processing of ready-to-eat fresh food: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 63, 104953. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104953>

Chevez Avilés, L. W. (2021). Desarrollo de un producto a base de la Maceracion de la fruta Milagrosa (SYNSEPALUM DULCIFICUM) para su aplicación en la cocteleria (Bachelor's thesis, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química).

Cóndor, S., Y., F. (2019). Caracterización de compuestos bioactivos, físicos y químicos del fruto milagroso (*Synsepalum dulcificum*) para aplicaciones agroindustriales. (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas. Quito, Ecuador. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/11808>

De Victoria, E. (2015). Compuestos bioactivos y salud: mitos y realidades. *Universidad de Granada. Granada, Armilia, España*. Archivos latinoamericanos de nutrición. <https://www.alanrevista.org/ediciones/2015/suplemento-1/art-47/>

de Villavicencio-Ferrer, M. N., Padrón-Pérez, I., Martínez-Pons, L., Rodríguez-Sánchez, J. L., & León-Alomá, Y. (2024). Formulación de yogur saborizado rebajado en azúcar. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34(1), 45-52.

Delgado, J. O. (2012). Aplicación del Ultrasonido en la Industria de los Alimentos. *Publicaciones e Investigación*, 6, 141-152. (TODAVÍA NO SE HA AGREGADO A LA BIBLIOGRAFÍA)

Demesyeux, L., Brym, M., Valdes, D., Collazo, C., & Chambers, A. H. (2020). Yield and miraculin content of nine miracle fruit (*Synsepalum Dulcificum*) morphotypes. *Euphytica*, 216, 1-12. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10681-020-02710-x>

Dias, A., Baptista, C., & Baltazar, A. (2023). Miraculina: Um Adoçante Natural. *Open Science Research X*, 527–535. <https://doi.org/10.37885/230211895>

Díaz Páez, J. (2023). Descripción de las características bioquímicas y mecanismo de acción de la glicoproteína Miraculina presente en el fruto *synsepallum dulcificum*. Corporación Tecnológica de Bogotá.

EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Turck, D., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., Kearney, J., ... & Knutsen, H. K. (2021). Safety of dried fruits of *Synsepalum dulcificum* as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 19(6), e06600.

Estrada, R. M. V. (2024). Ultrasonido y sus aplicaciones en la cadena alimentaria. *Tecnologías Emergentes para la Industria Alimentaria*, 1.

Fadeyibi, A. (2021). Engineering and proximate properties of miracle berry fruit (*Synsepalum dulcificum* L.) essential for its processing equipment design. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 23(4).

Fajardo, J., Sánchez, F., Dueñas, J. y Dueñas, A. (2022) Extracción asistida por ultrasonido y su aplicación en la obtención de aceites vegetales. *Centro Azúcar*, 49(4), 125-136 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612022000400125

Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., & Halim, M. (2020). Anti-diabetic properties of *Synsepalum dulcificum* and its potential inclusion in functional yogurt. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 716, No. 1, p. 012004). IOP Publishing.

Fazilah, N. F., Hamidon, N. H., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Wasoh, H., & Halim, M. (2019). Microencapsulation of *Lactococcus lactis* Gh1 with gum arabic and *synsepalum dulcificum* via spray drying for potential inclusion in functional yogurt. *Molecules*, 24(7), 1422.

Flores Llatas, K. M., & Fonseca Barahona, G. G. (2024). Efecto del ultrasonido sobre el contenido de vitamina C como tratamiento previo a la liofilización del aguaymanto (*Physalis peruviana* L.).

Flores, L., Ruiz, A., & Oscanoa, A. (2021). Protocolo para determinación de cenizas de microalgas liofilizadas.

García, R. J., Torres, J. M., Pinto, A. D., González, J. A., Rengel, J. E., & Pérez, N. A. (2017). Diseño de una estrategia de control difuso aplicada al proceso de ultracongelación de alimentos. *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 25(1), 70-84.

García-Almeida, J. M., Casado Fdez, Gracia M.^a, & García Alemán, J.. (2013). Una visión global y actual de los edulcorantes: aspectos de regulación. *Nutrición Hospitalaria*, 28(Supl. 4), 17-31. Recuperado en 07 de octubre de 2023, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000003&lng=es&tlng=es.

Garrido Gutiérrez, F. M. (2020). Elaboración de encapsulados de extracto de fruta milagrosa (*synsepalum dulcificum*) como agente modificador del sabor (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas, 2020). <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12192>

He, Z., Tan, J. S., Abbasiliasi, S., Lai, O. M., Tam, Y. J., & Ariff, A. B. (2016). Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of miracle fruit *Synsepalum dulcificum*. *Industrial Crops and Products*, 86, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.032>

He, Z., Tan, J. S., Lai, O. M., & Ariff, A. B. (2015). Optimization of conditions for the single step IMAC purification of miraculin from *Synsepalum dulcificum*. *Food chemistry*, 181, 19-24.

Hidalgo, S. C. (2018). Aplicación de ultrasonidos en el cocinado de alimentos. Universidad de Zaragoza.

Ibarra Anchundia, D. C., Tapia González, D. R., Vaca Pazmiño, E. P., Guamán Guamán, R. N., Ulloa Cortázar, S. M., & Villavicencio Abril, Ángel F. (2022). Evaluación de diferentes tipos de controles de roya (*Hemileia vastatrix* Berk. & Broome) y pestalotiopsis (*Pestalotia* sp.), en el cultivo de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum* ADC). *Siembra*, 9(2), e4007. <https://doi.org/10.29166/siembra.v9i2.4007>

Inglett, G.E., & Chen, D. (2011). Contents of phenolics and flavonoids and antioxidant activities in skin pulp, and seeds of miracle fruit. *Journal of Food Science*, 76, C479–C482.

Jiménez Huamán, K. A. (2019). Proceso de liofilización para verduras. <http://repositorio.unica.edu.pe/handle/20.500.13028/3937>

Jouvin, A. (2016). Determinación de la glucoproteína y sus propiedades en la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*). Universidad de Guayaquil.

Kurihara, Y., y Nirasawa, S. (1997). Structures and activities of sweetness-inducing substances (miraculin, curculin, strogin) and the heat-stable sweet protein, mabinlin. *FFI J Jpn*, 174, 67_74. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10026706025/>

Lamsal, B. P., Rahman, M. M., Byanju, B., & Grewell, D. (2020). High-power sonication of soy proteins: Hydroxyl radicals and their effects on protein structure. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 1-10. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105019>

Landázuri, A. C., Chimbo, L., Velasco, F., Tapia, D., Lagos, A. S., Gualle, A., ... & Álvarez, J. M. (2025). Miracle Fruit berry: Hedonic pleasure meets technological progress. *Journal of Berry Research*, 18785093241307140.

Lara Marmolejo, C. A. (2021). Plan de negocios para la producción y comercialización de liofilizado de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas, Ecuador [Universidad Católica de Santiago de Guayaquil]. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/16844>

Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A*, 1635, 461770.

Leonardo, A., & Sofía, X. (2021). Evaluación técnica y económica del proceso de liofilización de frutas a escala laboratorio (Doctoral dissertation, Universidad del Valle de Guatemala).

Lugo-Salazar, L. P., & Díaz-Borrego, L. C. (2024). Caracterización de un alimento probiótico preparado con zumo de granada (*Punica granatum*). *Revista Tecnocientífica URU*, (26), 126-137.

Maia, R. T., Silva, I. S. D. S., Fernandes de Souza, A., Frazão, N. F., de Lima, R. M., & Campos, M. D. A. (2024). Miraculin-based sweeteners in the protein-engineering era: An alternative for developing more efficient and safer products. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 42(21), 11342-11350.

Marulanda Loaiza, J. M. (2002). Determinación del perfil de calentamiento y evaluación sensorial en la elaboración de pulpa liofilizada de mango variedad Tommy Atkins. Departamento de Ingeniería Química.

Méndez Guevara, S., & Acuña Zamora, J. (2018). Estandarización de la línea de rellenos de una industria alimentaria, mediante el estudio de caso del producto “relleno de carne”, con el fin de disminuir las quejas de calidad.

Menéndez Rey, A. (2021). Actividad biológica e inmunogénica de *Synsepalum dulcificum* para el desarrollo de alimentos funcionales (Doctoral dissertation, Telecomunicación).

Misaka, T. (2013, March). Molecular mechanisms of the action of miraculin, a taste-modifying protein. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 24, No. 3, pp. 222-225). Academic Press.

Moreno Valdés, M. F. (2023). Compuestos bioactivos en descartes agroindustriales: revisión bibliográfica del potencial uso para alimentos funcionales.

Mosquera-Vivas, E. S., Ayala-Aponte, A. A., & Serna-Cock, L. (2019). Ultrasonido y deshidratación osmótica como pretratamientos a la liofilización de melón (*Cucumis melo* L.). *Información tecnológica*, 30(3), 179-188.

Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry* (7th ed.). Capítulo 3, página 91.

Neppas Caza, C. A. (2022). Análisis comparativo de los procesos de deshidratación y liofilización de la fresa (FRAGARIA) y manzana (MALUS).

Nielsen, S. S. (1998). *Food analysis second edition: crude fat analysis. Purdue University, West Lafayette, Indiana*, 203-214.

Oetjen, G. W., & Haseley, P. (2004). *Freeze-drying*. John Wiley & Sons.

Ogg, C. L. (1960). Determination of nitrogen by the micro-Kjeldahl method. Journal of Association of Official Agricultural Chemists, 43(3), 689-693.

Paladino, Antonella & Costantini, Susan & Colonna, Giovanni & Facchiano, Angelo. (2008). Molecular modelling of miraculin: Structural analyses and functional hypotheses. Biochemical and biophysical research communications. 367. 26-32. 10.1016/j.bbrc.2007.12.102.

Paucar-Menacho, L. M., Moreno-Rojo, C., & Chuqui-Diestra, S. R. (2024). Tecnologías emergentes no térmicas en la industria alimentaria: Avances y potenciales aplicaciones en el procesamiento de alimentos. Scientia Agropecuaria, 15(1), 65-83.

Ramírez-Navas, J. (2006). Liofilización de alimentos. Universidad Del Valle, IX.

Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. Journal of Food Engineering, 49(4), 311–319. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00228-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00228-4)

Romero Abarca, M. J. (2024). Aprovechamiento integral del aguacate Hass con síntomas de antracnosis: Optimización de la técnica de liofilización para la obtención de guacamole empleando enfriamiento rápido con nitrógeno líquido.

Romero Vásquez, K. L. (2022). Análisis de las Propiedades Antioxidantes de la Fruta Synsepalum dulccificum y su Aplicación como Edulcorante en el Té de Kombucha (Master's thesis). <https://repositorio.unemi.edu.ec/handle/123456789/6536>

Ronquillo, S., & Jouvin, A. (2019). Determinación de las propiedades de la fruta milagrosa (synsepalum dulcificum) tanto en su estado natural como en extracto. Revista Caribeña de Ciencias Sociales, 1-13.

Ruiz, K (2023). Uso de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) en el desarrollo de una gomita masticable con actividad antioxidante. Universidad agraria del Ecuador. 84.

<https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/RUIZ%20GUZMAN%20KARIEL%20ADRIAN.pdf>.

Sánchez-Pasos, D., Bach, C. J. M., Bach, J. B. R., & Bach, C. G. (2022). Effect of Drying by Lyophilization and Atomization on the Characteristics and Properties of Fruit Powders: A Systematic Review.

Savo, I., Dragan, M., & Miladin, B. (2012). Specificities of fruit freeze drying and product prices. *Економика пољопривреде*, 59(3), 461-471.

Schössler, K., Jäger, H., & Knorr, D. (2012). Novel contact ultrasound system for the accelerated freeze-drying of vegetables. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 113-120.

Shayeb Shayeb, A. A. (2021). Diseño y evaluación de una planta para la producción de una formulación de edulcorante con fruta milagrosa como aditivo modificador de sabor [Universidad San Francisco de Quito]. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/11174>

Sugaya, T., Yano, M., Sun, H. J., Hirai, T., y Ezura, H. (2008). Transgenic strawberry expressing the taste modifying protein miraculin. *Plant biotechnology*, 25(4), 329_333.

Sun, H., J., Cui, M., L., Ma, B., y Ezura, H. (2006). Functional expression of the taste-modifying protein, miraculin, in transgenic lettuce. *FEBS letters*, 580(2), 620_626. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014579305015656>

Taimal Chano, M. G. (2022). Revisión sistemática de métodos analíticos sobre extracción de proteína vegetal (Bachelor's thesis, Riobamba, Universidad Nacional de Chimborazo).

Tapia, M. S. (2020). CONTRIBUCIÓN AL CONCEPTO DE ACTIVIDAD DEL AGUA (a_w) Y SU APLICACIÓN EN LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS EN LATINOAMÉRICA Y VENEZUELA CONTRIBUTION TO THE CONCEPT OF WATER ACTIVITY (a_w) AND ITS APPLICATION IN FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY IN LATIN AMERICA AND VENEZUELA. *Comisión Editorial*, 18.

Terroni, E. (1997). Manual básico de liofilización. Medellín Colombia. Editorial office, 15-17.

Toscano-Palomar, L., García-Gómez, G., Gómez-Puentes, F. J., Beltrán-González, G., Valenzuela-Espinoza, I. G., & Armenta-Gálvez, J. M. (2020). Análisis de las propiedades físico-químicas y sensoriales de barra alimenticia a base de semillas y nueces sin componentes de origen animal. *Revista española de nutrición humana y dietética*, 24(2), 143-153.

Valero, M., & Alejandra, D. (2018). Impacto de las condiciones de liofilización del puré de naranja en el tiempo del proceso.

Vallejo, S; Arias-Arias, F; Brito, H. (2020). Extracción de proteína de *Synsepalum dulcificum*. August.

Vallejos Maureira, R. A. (2024). Efecto de la deshidratación de la pulpa de cereza por ventana de refractancia y comparación entre la aplicación de presiones reducidas y pretratamiento por ultrasonido.

Vásquez Bautista, K. M. (2019). Evaluación de la composición fisicoquímica y bromatológica de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum*) sometida a tres procesos de conservación (Tesis de maestría). Universidad de las Américas, Quito. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/11577>

Villalba, C. I. C., Sánchez, M. J. H., Bravo, I. F. B., & Mosquera, Á. E. B. (2024). Transformación de universidades incubadoras a creadoras directas de empresas Spin-Off. *Revista De Ciencias Sociales*, 30(2), 305-319.

Wong, J.M., & Kern, M. (2011). Miracle fruit improves sweetness of a low-calorie dessert without promoting subsequent energy compensation. *Appetite*, 56, 163–166.

Zuñiga Escobar, M., & Niederle, P. A. (2017). Calidad de los alimentos, estandarización y ferias del agricultor en Costa Rica. *Perspectivas rurales*. Heredia, Costa Rica. Vol. 15, n. 30 (2017), p. 125-142.

ANEXOS

```
> anova(mod.1)
Analysis of Variance Table

Response: Aw
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Tiempo  1 0.00025  0.000250   0.0649  0.8054
Residuals 8 0.03084  0.003855
```

Figura 10. ANOVA para actividad de agua (a_w)

```
> anova(mod.1)
Analysis of Variance Table

Response: Humedad
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Tiempo  1  2.809   2.8090   0.6383  0.4474
Residuals 8 35.205   4.4007
```

Figura 11. ANOVA para humedad

```
> anova(mod.1)
Analysis of Variance Table

Response: Proteína
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Tiempo  1 0.02601  0.026010   0.733  0.4168
Residuals 8 0.28388  0.035485
```

Figura 12. ANOVA para proteína

```
> anova(mod.1)
Analysis of Variance Table

Response: Rendimiento
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Tiempo  1  0.428   0.4285   0.0616  0.8102
Residuals 8 55.621   6.9526
```

Figura 13. ANOVA para rendimiento