



**UNIVERSIDAD POPULAR
AUTÓNOMA DEL ESTADO DE PUEBLA**

**DECANATO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y FACULTAD
DE BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL COMO ALIMENTO
FUNCIONAL DE SEMILLAS Y PULPA DEL FRUTO
DEL PATAXTE (*Theobroma bicolor*)**

TESIS

Para obtener el título de:
MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

Hazareel Castillo Morales

Director:
Dr. Gabriel Abraham Cardoso Ugarte

Co-directora:
Dra. Beatriz Pérez Armendáriz

Asesora
Dra. Zaida Nelly Juárez



Puebla, Puebla, de Septiembre de 2020



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyla**

Tesis Digitales Restricciones de uso:

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla

Decanato de Ciencias Biológicas

Facultad de Biotecnología

Maestría en Biotecnología

Se aprueba la Tesis:

Evaluación del potencial como alimento funcional de
semillas y pulpa del fruto del pataxte (*Theobroma*
bicolor)

Nombre del Alumno

Hazareel Castillo Morales

Comité Asesor

Dr. Gabriel Abraham Cardoso
Ugarte Director de Tesis

Co-Directora
Dra. Beatriz Pérez Armendáriz

Asesora
Dra. Zaida Nelly Juárez

Puebla, México. 22 de Octubre de 2020

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

DEDICATORIA

A mi esposo Jonathan, por creer en mí, a veces aún más que yo misma.

Por esperarme horas afuera del laboratorio o despierto por la noche aún que a veces terminara de escribir o investigar lo plasmado en este texto hasta que el sol saliera (entre otras muchos detalles) siempre con mucho amor y paciencia; entendiendo y apoyando mi pasión y vocación. Gracias por ser siempre incondicional y por compartir tu vida conmigo, este logro es de ambos. Te amo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por su gracia y paz a mi vida. “Será como árbol plantado junto a corrientes de aguas, que da su fruto en su tiempo, y su hoja no cae; y todo lo que hace, prosperará”. Sal. 1:3.

A mi director de tesis, el Doctor Gabriel Abraham Cardoso Ugarte por su dedicación, apoyo, compromiso y exigencia; mi admiración y respeto para Usted. A la Doctora Beatriz Pérez Armendáriz, gracias por sus enseñanzas que fomentaron mi compromiso, y por su confianza ofrecida desde que llegué por primera vez a su oficina. A la Doctora Zaida Nelly Juárez, sus consejos han sido fundamentales para mi formación profesional, pero también para mi crecimiento personal, gracias por todas sus palabras. Los tres son un enorme ejemplo para mí, excelentes personas y profesionista, sin ustedes no hubiera sido posible la culminación de esta investigación, gracias.

A mis padres, resumiendo todo lo que siento por ustedes y lo que pienso de ustedes; Son la columna de todo mi universo. Gracias por darlo todo y más allá de eso. Los amo.

Gracias Bal y Orqui, por acompañarme en el camino de la vida, y con amor estar en las buenas y las malas, están siempre en mi corazón. A Imelda, por que sus enseñanzas, amor y manera de ver la vida se mantendrán conmigo el resto de mi vida.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa o indirectamente en la realización de este proyecto.

CONTENIDO

	Pág.
INDICE DE FIGURAS	1
INDICE DE TABLAS	2
INDICE DE ECUACIONES	3
INDICE DE ANEXOS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	8
1. CAPÍTULO 1: PROPÓSITO Y ORGANIZACIÓN	11
1.1 Planteamiento del problema	11
1.2. Justificación	11
1.3. Objetivos	11
1.3.1. Objetivo general	11
1.3.2. Objetivos específicos	12
1.4 Hipótesis	12
2. CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	13
2.1 El género Theobroma	13
2.1.1 Antecedentes / historia	13
2.1.2 Descripción	14
2.1.3 Taxonomía	15
2.1.4 Usos y/o aplicaciones	15
2.1.5 Especies	15
2.2 Theobroma bicolor	18
2.2.1 Descripción	18
2.2.2 Historia	19
2.2.3 Distribución	20
2.2.4 Propiedades físico-químicas y funcionales	20
2.2.5 Usos y/o aplicaciones	21
2.3 Alimentos funcionales	22
2.3.1 Definición	22
2.3.2 Tipos de alimentos funcionales	23
2.3.2.1 Antioxidantes	23
2.3.2.2 Ácidos grasos	28
2.3.2.3 Prebióticos	29
2.3.2.4 Probióticos	30
2.3.2.5 Simbióticos	31

3. CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1 Análisis bromatológicos	32
3.1.1 Contenido de humedad	32
3.1.2 Proteína	32
3.1.3 Lípidos	34
3.1.4 Azúcares totales	34
3.1.5 Cenizas	36
3.2 Presencia de inulina	36
3.3. Actividad prebiótica	37
3.4 Capacidad antioxidante	39
3.5 Análisis fitoquímico	40
3.6 Perfil de ácidos grasos	42
4. CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4.1. Resultados de análisis bromatológicos	44
4.1.1. Análisis bromatológico de semilla	44
4.1.2. Análisis bromatológico de pulpa	46
4.2. Presencia de inulina	48
4.2.1. Presencia de inulina en semilla	49
4.2.2. Presencia de inulina en pulpa	50
4.3. Actividad prebiótica	51
4.3.1. Actividad prebiótica de semilla	51
4.3.2. Actividad prebiótica de pulpa	52
4.4. Actividad antioxidante en pulpa y semilla de pataxte	53
4.4.1. Actividad antioxidante cualitativa de pulpa y semilla de pataxte	53
4.4.2. Actividad antioxidante cuantitativa de pulpa y semilla de pataxte	54
4.5. Pruebas fitoquímicas en semilla y pulpa de pataxte	55
4.6. Perfil de ácidos grasos semilla	57
5. CONCLUSIONES	61
6. RECOMENDACIONES	62
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
8. ANEXOS	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Principales países productores de <i>Theobroma Cacao</i>	14
Figura 2	<i>Theobroma grandiflorum</i> . a. Rama vegetativa. b. Flor completa. c-d. Pétalo, cara interna y externa. e. Gineceo. f. Tubo estaminal. g-h. Estambre, cara externa e interna. i. Estaminodio. j. Fruto	16
Figura 3	<i>Theobroma speciosum</i> . a. Rama vegetativa. b. Pétalo, cara interna. c. Gineceo. d. Tubo estaminal. e. Estambre, cara externa. f. Estaminodio. g. Fruto	17
Figura 4	<i>Theobroma cacao</i> . a. Rama con flores. b. Flor completa. c-d. Pétalo, cara interna y externa. e. Gineceo. f. Tubo estaminal. g-h. Estambre, cara externa e interna. i. Estaminodio. j. Fruto	18
Figura 5	<i>Theobroma bicolor</i> . a. Rama vegetativa. b. Flor completa. c-d. Pétalo, cara interna y externa. e. Gineceo. f. Tubo estaminal. g-h. Estambre, cara externa e interna. i. Estaminodio. j. Fruto	19
Figura 6	Aspecto externo de las diferentes accesiones de frutos de pataxte (<i>Theobroma bicolor</i>) de México	20
Figura 7	Ejemplos de algunos metabolitos bioactivos de las principales familias de metabolitos secundarios vegetales. (Polifenoles, terpenoides y compuestos azufrados)	25
Figura 8	Diferentes familias de metabolitos de naturaleza polifenólica	26
Figura 9	A) ácido decanoico o ácido cáprico, B) ácido octadecanoico o ácido esteárico. C) ácido cis-9.octadecanoico o ácido oleico, D) ácido cis-9,cis-12-octadecadienoico o ácido linoleico	28
Figura 10	Mecanismos de actividad probiótica	30
Figura 11	Curva de calibración generada con concentraciones obtenidas.	38
Figura 12	Cuenta en placa de bacterias	38
Figura 13	Componentes de un cromatógrafo.	43
Figura 14	Análisis proximal de semillas de pataxte	45
Figura 15	Análisis proximal de pulpa de pataxte	47
Figura 16	Espectroscopía infrarroja de inulina.	49
Figura 17	Espectroscopía infrarroja de semilla de pataxte.	49

Figura 18	Espectroscopía infrarroja de pulpa de pataxte	50
Figura 19	Crecimiento de 3 BAL en extracto de semilla de pataxte en 2 diferentes concentraciones.	51
Figura 20	Crecimiento de 3 BAL en extracto de pulpa de pataxte en 2 diferentes concentraciones.	52
Figura 21	Mecanismo de la capacidad captadora de radicales de los compuestos fenólicos	53
Figura 22	Análisis cualitativo de la actividad antioxidante del DPPH en placa con extracto etanólico de semilla	53
Figura 23	Análisis cualitativo de la actividad antioxidante del DPPH en placa con extracto etanólico de pulpa	53
Figura 24	Actividad antioxidante en semilla y pulpa de pataxte, comparado con ácido ascórbico	54
Figura 25	Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de pataxte.	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación científica del género <i>Theobroma</i>	15
Tabla 2	Composición fisicoquímica de las semillas de pataxte de México (	21
Tabla 3	Composición química y características de carbohidratos prebióticos y prebióticos potenciales	29
Tabla 4	Análisis bromatológico en semilla de pataxte.	45
Tabla 5	Comparación de resultados del análisis bromatológico en semilla de pataxte	46
Tabla 6	Análisis bromatológico en pulpa de pataxte.	47
Tabla 7	Comparación de resultados del análisis bromatológico en pulpa de pataxte	48
Tabla 8	Absorciones infrarrojas de espectroscopias de inulina y pulpa de pataxte.	50
Tabla 9	Concentración inhibitoria IC ₅₀ (para inhibir el radical libre DPPH)	55
Tabla 10	Presencia de metabolitos secundarios en extracto etanólico de semilla y pulpa	56
Tabla 11	Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de pataxte	58
Tabla 12	Comparación de la composición química del aceite de semilla pataxte y otros alimentos de referencia.	60

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1	Determinación de contenido de humedad	32
Ecuación 2	Determinación de nitrógeno	33
Ecuación 3	Determinación de proteína	33
Ecuación 4	Determinación de grasa	34
Ecuación 5	Determinación de curva patrón	36
Ecuación 6	Determinación de contenido de ceniza	36
Ecuación 7	Determinación de porcentaje de captación DPPH	39

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Algoritmo general de interpretación de espectros de IR.	77
Anexo 2	Tabla de vibraciones de estiramiento del enlace O-H. Alcoholes y fenoles.	78
Anexo 4	Tabla de vibraciones de estiramiento del enlace C-OH. Tipos de alcohol.	78

RESUMEN

Introducción: El pataxte (*Theobroma bicolor*) es un fruto sub-utilizado considerado cacao defectuoso, crece en suelos húmedos de bosques y selvas, en clima tropical, pesa 400 g aproximadamente, tiene en promedio 40 semillas rodeadas por pulpa amarilla de color fuerte y un sabor dulce. En México se le conoce como pataxte y, la presencia de compuestos fenólicos en su semilla y oligosacáridos en su pulpa, sugieren que posee actividades antioxidantes y prebióticas, además, el perfil de ácidos grasos en semilla indica que contiene un 42.2% de ácidos grasos insaturados, otorgándole potencial como alimento funcional. Sin embargo, existen pocas investigaciones en donde se reporte análisis proximal, actividad antioxidante, perfil de ácidos grasos y no existen reportes de análisis fitoquímico, actividad prebiótica y determinación del contenido de inulina en semilla y/o pulpa.

Objetivo: Evaluar el potencial como alimento funcional de las semillas y pulpa del fruto del pataxte (*Theobroma bicolor*) por medio de análisis físico-químicos, pruebas de actividad prebiótica y actividad antioxidante, para generar propuestas de alimentos regionales saludables.

Materiales y métodos: Se obtuvieron muestras de semilla y pulpa de pataxte para realizar estudios bromatológicos y se determinó composición proximal. Posteriormente, se realizaron extractos etanólicos de semilla y pulpa para determinar capacidad antioxidante por reducción del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), así como coeficiente de inhibición IC₅₀, utilizando ácido ascórbico como control. Consecutivamente se realizaron análisis fitoquímicos, donde se evaluó la presencia de metabolitos secundarios asociados con actividad biológica, a saber: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenoides y glucósidos cardiotónicos. Para determinar actividad prebiótica se realizaron dos pasos, primero se evaluó el efecto de extractos de semilla y pulpa en dos concentraciones (20 y 30%) para crecimiento de bacterias lácticas probióticas (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei* y *Bacillus mojavensis*); como segundo paso, se analizó la presencia de inulina mediante FTIR obteniendo 3 espectrogramas (inulina como control, semilla y pulpa). Debido a los resultados de contenido de lípidos en semilla (31%), se determinó el perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.

Resultados: En cuanto a estudios bromatológicos y determinación de composición proximal, se muestran los porcentajes de hidratos de carbono de 41±1.17%, proteína 19.5±1.87%, humedad 4.73±0.29%, cenizas 3.31±0.1%, lípidos 30.4±2.82% (se procedió a realizar perfil de ácidos grasos de semilla para complementar resultados obtenidos). En cuanto a la pulpa, la cantidad de hidratos de

carbono fue de $45 \pm 1.25\%$, lípidos $2.92 \pm 0.62\%$, proteína $12.4 \pm 2.92\%$, humedad $37.8 \pm 2.11\%$ y ceniza $3.4 \pm 0.51\%$. Respecto a capacidad antioxidante los resultados fueron 94%, 65% y 88%, respectivamente a una concentración de 4.6 mg/mL; también se calculó el coeficiente de inhibición IC_{50} , obteniendo 0.41 mg/mL, 0.75 mg/mL y 10 mg/mL, en semilla, pulpa y control, respectivamente. Ambos resultados indican que la capacidad antioxidante de pulpa de pataxte es menor a la del control (ácido ascórbico); no obstante, la capacidad antioxidante en semilla es mayor que el ácido ascórbico. Al referirse a análisis fitoquímicos, se encuentra que el extracto de semilla resultó positivo en taninos, benéficos para la salud como antidiabéticos, anti-mutagénicos y antimicrobianos; además, ambos extractos resultaron positivos para glucósidos cardiotónicos y alcaloides que tienen efectos antimicrobianos, anti-inflamatorios, anti-bacterianos, anti-cancerígenos, anti-virales, anti-fúngicos, así como beneficios en el sistema nervioso central y cardiovascular. Es importante resaltar la ausencia de glucósidos cianogénicos en los extractos, indicador de que no contienen toxinas vegetales. En cuanto a la determinación de actividad prebiótica, de las 2 concentraciones probadas, el mayor crecimiento microbiano se obtuvo en la concentración al 20%, tanto para pulpa como para semilla (4.62 ± 0.6 log UFC/mL y 4.82 ± 0.64 log UFC/mL, respectivamente), existiendo mayor crecimiento en semilla. En pulpa se obtuvieron recuentos de 4.62 ± 0.6 log UFC/mL para *Lactobacillus brevis*, 4.38 ± 0.76 log UFC/mL para *Lactobacillus paracasei* y 3.63 ± 0.1 log UFC/mL para *Bacillus mojavensis*. En semilla se obtuvieron recuentos de 4.82 ± 0.64 log UFC/mL para *Lactobacillus brevis*; 4.31 ± 0.65 log UFC/mL para *Lactobacillus paracasei* y 3.64 ± 0.51 log UFC/mL para *Bacillus mojavensis*. También, para determinar la actividad prebiótica, se analizó la presencia de inulina mediante FTIR obteniendo 3 espectrogramas (inulina como control, semilla y pulpa). En las espectroscopias control y pulpa, se observaron los mismos grupos funcionales debido a que las absorciones infrarrojas que coinciden son 3300 cm^{-1} (Alcoholes O-H, asociación polimérica), 2900 cm^{-1} (Vibraciones de tensión con enlaces C-H sp^3) y 1050 cm^{-1} (Alcohol primario. Vibraciones de torsión O-H y tensión C-H) lo que sugiere que exista inulina en la pulpa del fruto pataxte, sin embargo, este estudio no es suficiente para afirmarlo. Por último, los resultados del perfil de ácidos grasos de semilla fueron 39.23% de ácido palmítico, un 35.34% ácido linoleico, 14.04% de ácido esteárico, 9.3% de ácido linoleico y 0.91% de ácido mirístico. En cuanto al contenido de ácido linoleico, la semilla contiene alto valor nutrimental, debido a los beneficios de salud cardiovascular, efecto protector contra arritmias cardíacas y mayor efecto neuroprotector para ciertos tipos de epilepsias. Los resultados obtenidos y antes mencionados, confirman el potencial funcional de la semilla y pulpa del pataxte.

Palabras clave. Pataxte, antioxidantes, prebióticos, fitoquímicos, ácido linoleico.

ABSTRACT

Introduction: The pataxte (*Theobroma bicolor*) is an under-utilized fruit considered defective cocoa, it grows in humid soils of forests and jungles, in a tropical climate, it weighs 400 g approximately, it has an average of 40 seeds surrounded by yellow pulp of strong colour and a sweet taste. In Mexico it is known as pataxte and, the presence of phenolic compounds in its seed and oligosaccharides in its pulp, suggest that it has antioxidant and prebiotic activities; furthermore, the fatty acid profile in the seed indicates that it contains 42.2% of unsaturated fatty acids, giving it potential as a functional food. Nevertheless, there are few investigations that reports proximal analysis, antioxidant activity, fatty acid profile and there are no reports of phytochemical analysis, prebiotic activity and determination of the inulin content in seed and/or pulp.

Objective: To study the physicochemical composition of the seeds and pulp of pataxte fruit (*Theobroma bicolor*), its potential to be prebiotic and its antioxidant activity, to determine its potential as functional food.

Materials and methods: Pataxte seed and pulp samples were obtained to perform bromatological studies and determine the proximal composition. Subsequently, ethanolic extracts of seed and pulp were made to determine antioxidant capacity by reduction of the 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil radical (DPPH), as well as IC₅₀ inhibition coefficient, employing ascorbic acid as a control. Consecutively phytochemical analyses were carried out, where the presence of secondary metabolites associated with biological activity was evaluated, namely: alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids and cardiatonic glycosides. To determine prebiotic activity, two steps were carried out, first it was evaluated the effect of seed and pulp extracts in two concentrations (20 and 30%) for the growth of probiotic lactic bacteria (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei* and *Bacillus mojavensis*); as a second step, it was analysed the presence of inulin by FTIR obtaining 3 spectrograms (inulin as control, seed and pulp). Due to the results of lipid content in the seed (31%), the fatty acid profile was determined by gas chromatography.

Results: With regard to bromatological studies and determination of proximal composition, they are shown the percentages of hydrates of carbon of $41 \pm 1.17\%$, protein $19.5 \pm 1.87\%$, humidity $4.73 \pm 0.29\%$, ashes $3.31 \pm 0.1\%$, lipids $30.4 \pm 2.82\%$ (it proceeded to realize seed fatty acids profile to complement the obtained results). Regarding the pulp, the amount of hydrates of carbon was $45 \pm 1.25\%$, lipids $2.92 \pm 0.62\%$, protein $12.4 \pm 2.92\%$, humidity $37.8 \pm 2.11\%$ and ash $3.4 \pm 0.51\%$. Respect to the antioxidant capacity, the results were 94%, 65% and 88%, respectively at a

concentration of 4.6 mg/mL; it was also calculated inhibition coefficient IC_{50} , obtaining 0.41 mg/mL, 0.75 mg/mL and 10 mg/mL, in seed, pulp and control, respectively. Both results indicate that the antioxidant capacity of pataxte pulp is lower than that of the control (ascorbic acid); however, the antioxidant capacity in seed is greater than ascorbic acid. When referring to phytochemical analysis, it is found that the seed extract resulted positive in tannins, beneficial for health like anti-diabetic, anti-mutagenic and anti-microbial; besides, both extracts were positive for cardiogenic glycosides and alkaloids that have anti-microbial, anti-inflammatory, anti-bacterial, anti-cancer, anti-viral, anti-fungal effects, as well as benefits on the central nervous and cardiovascular system. It is important to highlight the absence of cyanogenic glycosides in the extracts, indicator that they do not contain plant toxins. As regards the determination of prebiotic activity, of the 2 concentrations tested, the highest microbial growth was obtained in the concentration at 20%, both for pulp and for seed (4.62 ± 0.6 log CFU/mL and 4.82 ± 0.64 log CFU/mL, respectively), existing greater growth in seed. In pulp, they were obtained re-counts of 4.62 ± 0.6 log CFU/mL for *Lactobacillus brevis*, 4.38 ± 0.76 log CFU/mL for *Lactobacillus paracasei* and 3.63 ± 0.1 log CFU/mL for *Bacillus mojavensis*. In seed, they were obtained re-counts of 4.82 ± 0.64 log CFU/mL for *Lactobacillus brevis*; 4.31 ± 0.65 log CFU/mL for *Lactobacillus paracasei* and 3.64 ± 0.51 log CFU/mL for *Bacillus mojavensis*. Also, to determine the prebiotic activity, the presence of inulin was analysed by FTIR obtaining 3 spectrograms (inulin as control, seed and pulp). In the control and pulp spectroscopies, the same functional groups were observed because of the infrared absorptions that coincide are 3300 cm^{-1} (O-H Alcohols, polymeric association), 2900 cm^{-1} (tension vibrations with C-H sp^3 bonds) and 1050 cm^{-1} (Primary alcohol. O-H torsion vibrations and C-H tension) which suggests that there is inulin in the pulp of the pataxte fruit; nonetheless, this study is not enough to affirm it. By last, the results of the seed fatty acid profile were 39.23% palmitic acid, 35.34% linoleic acid, 14.04% stearic acid, 9.3% linoleic acid and 0.91% myristic acid. Respecting the content of linoleic acid, the seed contains high nutritional value, due to the benefits of cardiovascular health, protective effect against cardiac arrhythmias and greater neuroprotective effect for certain types of epilepsies. The results obtained and previously mentioned, confirm the functional potential of the seed and pulp of the pataxte.

Keywords. Pataxte, antioxidants, prebiotics, phytochemicals, linoleic acid.

INTRODUCCIÓN

El género *Theobroma* de la familia *Sterculiaceae* está integrado por 22 especies en el ámbito mundial, con hábitat restringido a bosques húmedos, representando mayor distribución geográfica en los estados centro-occidentales (Cuatrecasas, 1964). La etimología de la palabra *Theobroma* deriva de las palabras griegas: θεός teos = "dios" + βρώμα broma = "alimento" que significa "alimento de los dioses" (Ríos, 2015).

De las 22 especies del género *Theobroma*, el *Theobroma bicolor* (mejor conocido como pataxte) crece en suelos húmedos de bosques y selvas, en clima tropical, pesa 400 g aproximadamente es de forma ovalada con corteza rugosa que es amarilla cuando madura. En su interior contiene en promedio 40 semillas, rodeadas por pulpa amarilla color fuerte y de sabor dulce. Se ha reportado el consumo de la pulpa en bebidas fermentadas y de la semilla en dulces como mazapán y turrón, también en bebidas tipo chocolate. (García, *et al.*, 2002; Hernández, 2004).

Dentro de especies del género *Theobroma*, la más conocida es *Theobroma cacao*, utilizada para la elaboración de chocolate y otros productos de importancia económica (Cuatrecasas, 1964), además, el cacao es considerado alimento funcional debido a su alta actividad antioxidante y múltiples beneficios al organismo humano. Al pertenecer a la misma especie, se sugiere que *Theobroma bicolor* posee potencial como alimento funcional, debido a la presencia de compuestos fenólicos en su semilla y oligosacáridos en su pulpa, se sugiere también que posee actividades antioxidantes y prebióticas, del mismo modo, reportes del perfil de ácidos grasos en semilla indica que contiene un 42.2% de ácidos grasos insaturados (López, 2008).

Por otra parte, los alimentos funcionales son aquellos que ejercen efectos benéficos y nutricionales en una o varias funciones del organismo y se traducen en una mejora de la salud o en la disminución del riesgo de sufrir alguna enfermedad (Fuentes *et al.*, 2002); son componentes biológicamente activos que tienen una característica particular dado que sus componentes benefician al organismo (Fuentes *et al.*, 2002), dentro de los que se encuentran los siguientes:

- Probióticos, prebióticos y simbióticos.
- Ingredientes funcionales de naturaleza lipídica, como los ácidos grasos poliinsaturados.
- Antioxidantes.

Para iniciar, los prebióticos son ingredientes alimentarios no digeribles que en el colon sirven de sustrato para los microorganismos, estimulando el crecimiento selectivo de determinadas especies beneficiosas de la microbiota intestinal (Corzo *et al.*, 2015), dentro de los más importantes y estudiados se encuentra la inulina. Algunas investigaciones se han enfocado en usar este fructano como sustrato para hacer crecer o aumenta la resistencia en el colon de bacterias benéficas específicas (Tomasik, 2003), estas bacterias, mejor conocidas como probióticos son microorganismos no patógenos, que, administrados en cantidad adecuada confieren un efecto benéfico sobre la salud del huésped (OMS, 2011). Cuando encontramos a ambos elementos, tanto prebióticos como probióticos, el producto es llamado simbiótico, en donde el componente prebiótico selectivamente favorece al componente probiótico ejerciendo efectos benéficos y nutricionales para mejorar el estado de salud o disminuir riesgo de enfermedad (Oliveira *et al.*, 2007).

Asimismo, es bien sabido que los ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico son obtenidos a través de la dieta, debido a que el organismo no puede generarlos, por ese motivo se consideran esenciales y están directamente asociados a la prevención o tratamiento de diversas enfermedades, como la potencial reducción de la concentración de triacilglicerol en la sangre a través de la oxidación de ácidos grasos inhibiendo la lipogénesis, también se suelen usar en el control de ciertas enfermedades como la diabetes mellitus y la obesidad debido a que activan mecanismos de oxidación de lípidos, disminuyen la resistencia a la insulina y la esteatosis hepática; en el caso del cáncer, pueden servir como agentes citotóxicos para ciertas células tumorales y debido a su efecto hipolipémico y antiinflamatorio, podrían tener efectos benéficos en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Willis y Marangoni, 1999).

Dentro de los alimentos funcionales más estudiados se encuentran los antioxidantes, que son compuestos que el organismo crea para que las células neutralicen a los radicales libres, que son moléculas inestables, altamente riesgosas y reactivas que para estabilizarse oxidan biomoléculas. Este proceso daña la función de la célula (conocido como envejecimiento). Las mitocondrias, lisosomas y membrana nuclear son la principal fuente de radicales libres (Vallejo *et al.*, 2017).

Por ese motivo y debido a que existe la necesidad de incorporar alimentos funcionales al mercado mexicano para mejorar el estado de salud de la población, sabiendo que en México, en el año 2018 las cifras de pacientes enfermos, dadas por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT)

realizada por el instituto Nacional de Salud Pública, arroja cifras de sobrepeso/obesidad por mala alimentación y falta de ejercicio físico, el porcentaje de adultos obesos o con sobrepeso de 20 años y más, es de 75.2% afectando también a niños (Fuentes *et al.*, 2002), por estos motivos, se sabe que existe una necesidad real por incorporar alimentos funcionales al mercado.

Debido a lo planteado anteriormente, la presente investigación pretende caracterizar las semillas y pulpa del fruto del pataxte (*Theobroma bicolor*) por medio de análisis físico-químicos y microbiológicos para proponer su uso potencial como alimento funcional.

CAPÍTULO 1: PROPÓSITO Y ORGANIZACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

El pataxte es un producto mexicano sub-utilizado del género *Theobroma* al igual que el cacao (alimento funcional), por este motivo, se considera que posee actividad prebiótica y antioxidante. Debido a la escasa información que existe al respecto, se procede a analizarlo y surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Existe actividad prebiótica y antioxidante en las semillas y pulpa del fruto pataxte?

1.2 Justificación

El pataxte es un producto sub utilizado, considerado “cacao defectuoso” en el que se ha identificado actividad antioxidante de sus extractos y su perfil de ácidos grasos en semilla indica que contiene un 42.2% de ácidos grasos insaturados (López, 2008).

Debido a que existe la necesidad de incorporar alimentos funcionales al mercado mexicano para mejorar el estado de salud de la población, se determinará su composición proximal y se evaluará su actividad prebiótica y antioxidante para su uso potencial como alimento funcional (García, 2002).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar el potencial como alimento funcional de las semillas y pulpa del fruto del pataxte (*Theobroma bicolor*) por medio de análisis físico-químicos, pruebas de actividad prebiótica y actividad antioxidante, para generar propuestas de alimentos regionales saludables.

1.3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar semillas y pulpa del fruto del pataxte (*Theobroma bicolor*) de manera bromatológica, en función de su composición proximal que incluye las determinaciones de porcentaje de humedad, cenizas, proteína, grasa y azúcares totales.
- Determinar la presencia de inulina en las semillas y pulpa del fruto del pataxte (*Theobroma bicolor*) mediante espectroscopía infrarroja.

- Determinar la actividad prebiótica de las semillas y pulpa del pataxte sobre el crecimiento de *Bacillus mojavensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis*.
- Determinar la capacidad antioxidante y análisis fitoquímicos de las semillas y pulpa de pataxte.
- Identificar el perfil de ácidos grasos de las semillas.

1.4 Hipótesis

Las semillas y pulpa del fruto pataxte (*Theobroma bicolor*) presentan actividad prebiótica y antioxidante, lo cual le proporciona potencial como alimento funcional.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 El género *Theobroma*

El género americano *Theobroma* L. de la familia *Sterculiaceae* consta de 22 especies, con hábitat exclusivo de bosques húmedos (Cuatrecasas, 1964). Está representado por seis especies, las cuales han sido poco coleccionadas. De las 22 especies conocidas, la más utilizada y reconocida es *Theobroma cacao*, comúnmente se usa para la elaboración de chocolate y otros productos de importancia económica. La literatura cita que su crecimiento y propagación se extendió desde la región de Amazonas hasta el sur de México (Cuatrecasas, 1964).

Las especies *Theobroma cacao*, *Theobroma angustifolia*, *Theobroma microcarpus*, *Theobroma obovatum* y *Theobroma stipulatum* son especies que actualmente se cultivan para posteriormente ser aprovechados por la industria alimentaria para la producción de cacao (Cuatrecasas, 1964).

2.1.1 Antecedentes / historia

Los árboles del género *Theobroma* L., son endémicos de Centro y Sudamérica; Standley (Cuatrecasas, 1964) reconoció las siguientes especies de *Theobroma* para la flora mexicana: *T. cacao*, *T. angustifolia* y *T. bicolor*; así como el valor histórico, geográfico y económico de las tres especies. Cuatrecasas (1964) también nos habla de su distribución en toda América tropical, hablando del sur de México, Bolivia y Brasil. Las tres especies tuvieron uso y cultivo restringido, mientras que *T. cacao* ha sido ampliamente cultivado y comercializado en todo el mundo (Young, 1994).

Cuatrecasas, en 1964, reconoció la validez de las especies así como su sinonimia, también tomó los caracteres señalados por Bernoulli (Rondón, 2005), haciendo un estudio más profundo y completo, debido a que toma en cuenta el tipo de germinación, la forma de las hojas, tipo de polen y fruto; de esta manera citó las 22 especies válidas para *Theobroma*.

La especie más representativa del género, por su importancia en la industria alimenticia es *Theobroma cacao*. La Figura 1 muestra la distribución mundial de los países productores de cacao, que cuentan con climas húmedos y tropicales, destacándose los países de América del Sur, América Central, México, el Caribe, África, Asia y Oceanía.



Figura 1. Principales países productores de *Theobroma Cacao* (Batista, 2009).

2.1.2 Descripción

El género se publicó en *Species Plantarum* al ser definido por Carlos Linneo (Roth, 1971). Se trata de plantas hermafroditas, que en sus árboles o arbustos tienen hojas grandes que pueden ser o no enteras y ovales, con flores pequeñas de aproximadamente 5 pétalos rosas, rojos o amarillos, posee de 10 a 15 estambres tan largos como los pétalos o más largos. Su fruto es grande, ovoide, cilíndrico, con numerosas semillas cubiertas por pulpa que las une entre sí (CONABIO, 2009).

2.1.3 Taxonomía

Theobroma deriva de las palabras griegas: θεός teos = "dios" + βρώμα broma = "alimento", su significado entonces es "alimento de los dioses". Su clasificación científica nos indica que pertenece a la familia Sterculiaceae, como lo indica la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación científica del género *Theobroma* (Ríos, 2015).

División	Magnoliophyta (Angiospermae)
Clase	Magnoliopsida (Dicotyledonea)
Sub-clase	Dilliniidae
Orden	Malvales
Familia	Sterculiaceae
Género	<i>Theobroma</i>

2.1.4 Usos y/o aplicaciones

Las semillas son de gran valor económico, se usan comercialmente para la preparación del chocolate y para la extracción de varios productos secundarios; varias otras especies son aprovechadas localmente para el mismo fin, o para la preparación de bebidas refrescantes (CONABIO, 2009).

2.1.5 Especies

De acuerdo a Ríos (2015), el género *Theobroma*, en la familia *Malvaceae* (antes en la *Sterculiaceae*) con 22 especies descritas, ubicadas principalmente en Sudamérica y partes de Centroamérica, incluyen:

Theobroma angustifolium, *Theobroma bicolor*, *Theobroma cacao*, *Theobroma glauca*, *Theobroma grandiflorum*, *Theobroma leiocarpa*, *Theobroma mammosum*, *Theobroma mariae*, *Theobroma martiana*, *Theobroma microcarpus*, *Theobroma obovatum*, *Theobroma pentagona*, *Theobroma purpureum*, *Theobroma simiarum*, *Theobroma speciosa*, *Theobroma stipulatum*, *Theobroma subineana*, *Theobroma sylvestre* (Ríos, 2015).

Dentro de las especies más estudiadas e importantes se encuentra *Theobroma grandiflorum*, es un árbol que mide aproximadamente de 8-20 m de alto, de corteza grisácea, tiene hojas rígidas, flores de aproximadamente 16-17 mm de largo, 5 pétalos de 10 mm de largo como lo muestra la Figura 2. Sus nombre usuales son Copoazu, Cupuasú, Copoasú. Su pulpa se usa para preparar jugos, helados y otras

bebidas tipo chocolate, sus semillas se usan para preparar chocolate blanco. *Theobroma grandiflorum* crece en bosques de suelos húmedos y da fruto entre los meses de abril-noviembre (Rondón, 2005).

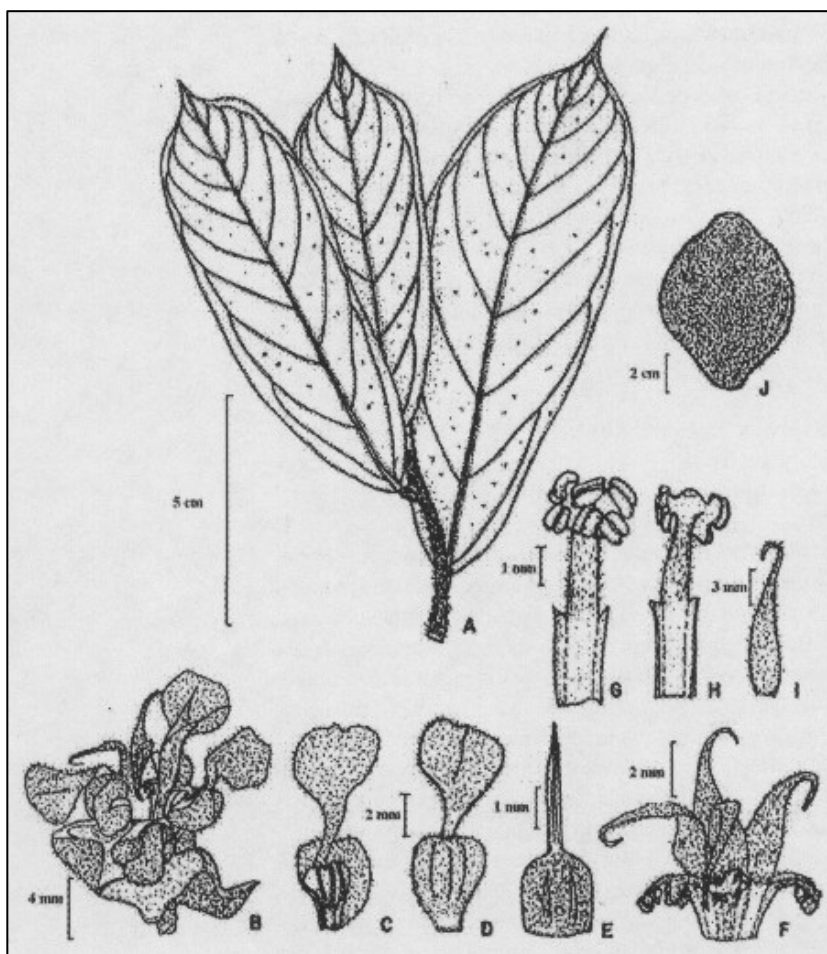


Figura 2. *Theobroma grandiflorum* a. Rama vegetativa. b. Flor completa. c-d. Pétalo, cara interna y externa. e. Gineceo. f. Tubo estaminal. g-h. Estambre, cara externa e interna. i. Estaminodio. j. Fruto (Rondón, 2005).

Otra especie estudiada es *Theobroma speciosum*, es un árbol que aproximadamente mide 9 m de alto, su fruto mide 10 cm de largo incluyendo pedúnculo, sus semillas no son visibles. Como se observa en la Figura 3. Sus nombres comunes son Kerepo-yek o Chocolatillo, usado tradicionalmente para preparar chocolate. Crece en bosques húmedos, florece y fructifica entre los meses de febrero-abril (Rondón, 2005).

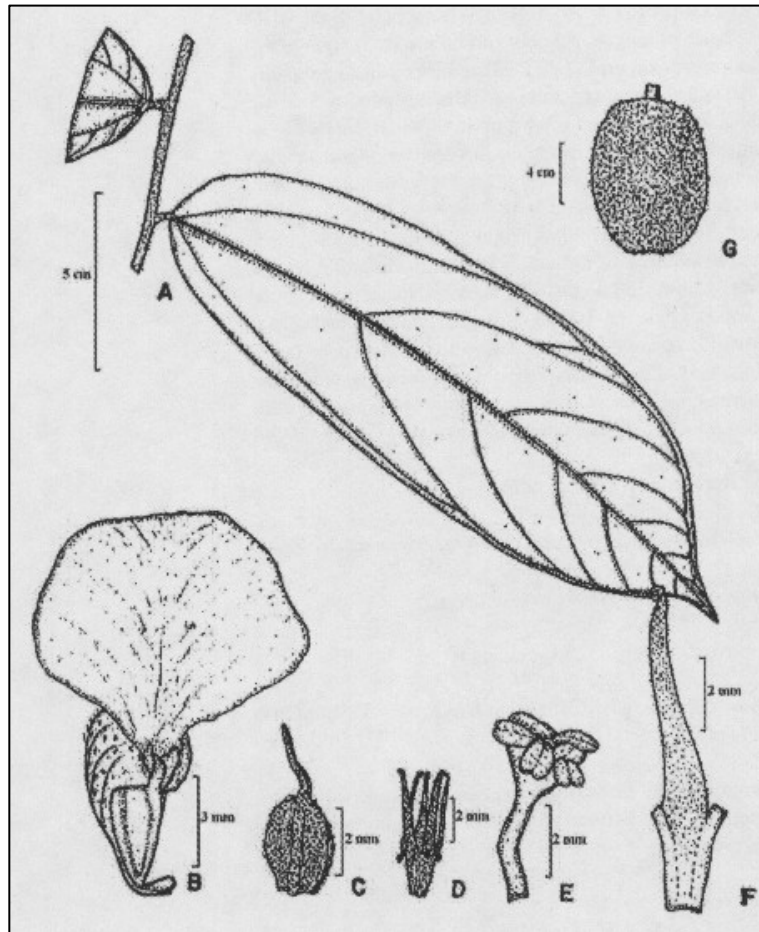


Figura 3. *Theobroma speciosum*. a. Rama vegetativa. b. Pétalo, cara interna. c. Gineceo. d. Tubo estaminal. e. Estambre, cara externa. f. Estaminodio. g. Fruto (Cuatrecasas 1964).

Sin duda, la especie más estudiada y de gran importancia económica es *Theobroma cacao*, es un árbol de 5 m de alto aproximadamente, su flor mide de 10 a 20 mm de largo y su fruto de 15 a 18 cm de largo, tiene múltiples semillas de superficie lisa y color castaño, como lo muestra la Figura 4. Se le conoce comúnmente como Cacao, Cacaotero, Cacao Criollo, Cacao Calabacillo, Cacao Forastero, Cacao Trinitario y sus semillas tostadas se procesan para extraer el famoso chocolate. Crece en suelos húmedos, semi húmedos y secos, florece y fructifica en los meses enero, abril, mayo, junio, julio, agosto y noviembre. (Rondón, 2005)

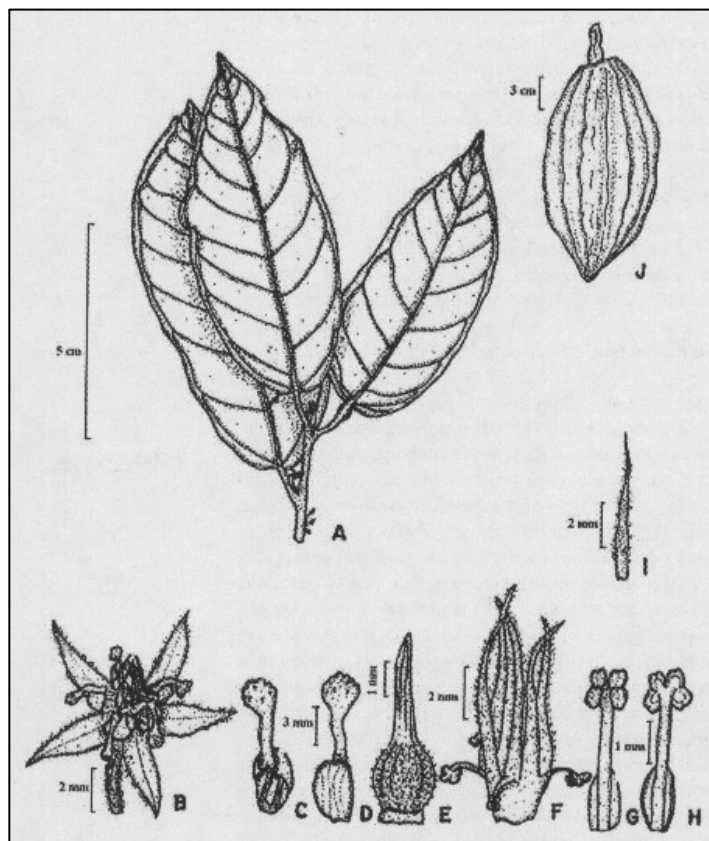


Figura 4. *Theobroma cacao*. a. Rama con flores. b. Flor completa. c-d. Pétalo, cara interna y externa. e. Gineceo. f. Tubo estaminal. g-h. Estambre, cara externa e interna. i. Estaminodio. j. Fruto. (Tomado de Rondón, 2005).

2.2 *Theobroma bicolor*

2.2.1 Descripción

Theobroma bicolor es una especie que crece en suelos húmedos de bosques y selvas, en clima tropical, pesa 400 g aproximadamente, tiene en promedio 40 semillas, rodeadas por pulpa amarilla color fuerte, sabor dulce y se ha reportado el consumo de la pulpa en bebidas fermentadas y tipo chocolate; de la semilla, en mazapán y turrón; sin embargo no ha sido tan investigado, en México se le conoce como pataxte (García *et al.*, 2002; Hernández, 2004).

El árbol mide de 3 a 7 m de alto, la flor de 15 a 20 mm de largo, sus pétalos de 3 a 4 mm de largo, son aproximadamente 5, de color rojo y están libres entre sí, el fruto es una baya de 15 a 25 cm de largo, sus semillas no están visibles, como lo muestra la Figura 5. Dentro de los nombres comunes, encontramos Pataste o Bacao, sus usos más comunes incluyen su utilización para elaborar bebidas refrescantes y chocolate; Crece en suelos húmedos de bosques y selvas, florece y fructifica en los meses de junio y noviembre. (Rondón, 2005; Cuatrecasas, 1964).

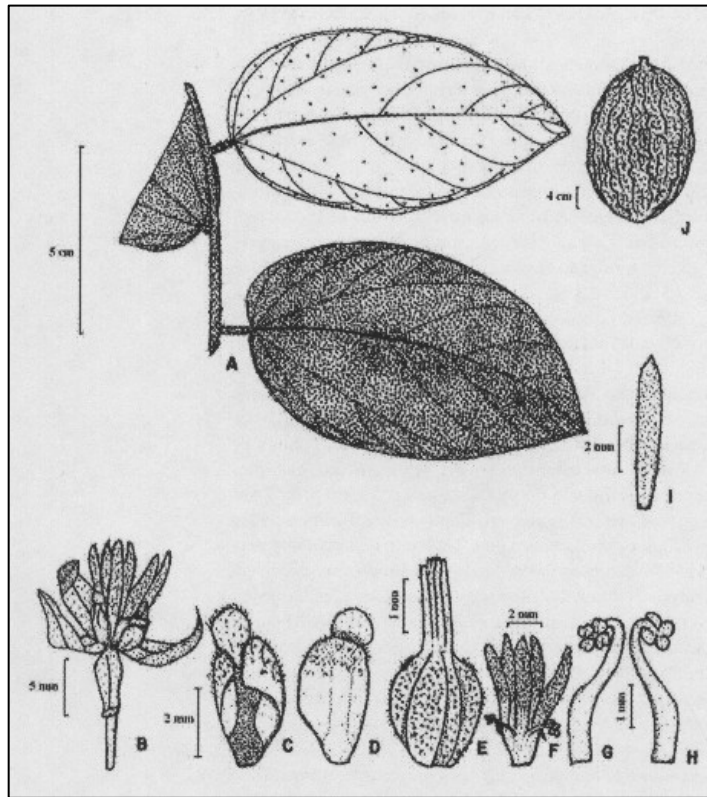


Figura 5. *Theobroma bicolor*. a. Rama vegetativa. b. Flor completa. c-d. Pétalo, cara interna y externa. e. Gineceo. f. Tubo estaminal. g-h. Estambre, cara externa e interna. i. Estaminodio. j. Fruto (Cuatrecasas 1964).

2.2.2 Historia

Debido a que el origen es incierto, Cuatrecasas (1964), propone fue en América Central pero también se dice que fue en Perú y Ecuador.

Existen reportes a partir del siglo XVI, en 1575 por parte del botánico Francis Hernández, en donde se indica que la distribución mundial de *T. bicolor* es solo en el Continente Americano en Centro y Sur América, incluyendo México (Hernández, 1959).

En 1806, Bonpland publicó la descripción botánica de la especie a partir de ejemplares Colombianos (Cuatrecasas, 1964).

Se han reportado alrededor de 34 nombres diferentes, la mayoría correspondientes a alguna lengua indígena y otros en castellano. Un nombre que es más o menos consistente para varios de los grupos étnicos es "pataxtle", "pataxte", "pataste" o "patashte", mientras que en castellano se reportan nombres como "cacao blanco" o "cacao silvestre" (Rondón, 2005).

2.2.3 Distribución

De las 22 especies conocidas, la única que se cultiva comercialmente es el *T. cacao*, sin embargo, existen otras con alto potencial que se encuentran en proceso de domesticación, entre ellas *T. bicolor*, nombrada en zonas del país como en algunos lugares como pataxte, pataste, patashe o cacao cimarrón. En México se ha reportado su presencia en estados de Chiapas, Oaxaca y Tabasco; y a nivel mundial, lo encontramos en los países Colombia, Venezuela y Brasil. (Bressani y Furlan, 1997),

Es bien sabido que México domestica cacao (Ogata, 2007) y se encuentra también el pataxte con una amplia diversidad de formas y sabores del fruto, como por ejemplo, en algunas regiones de México, es usado para realizar bebidas tradicionales (Galvez, 2016).

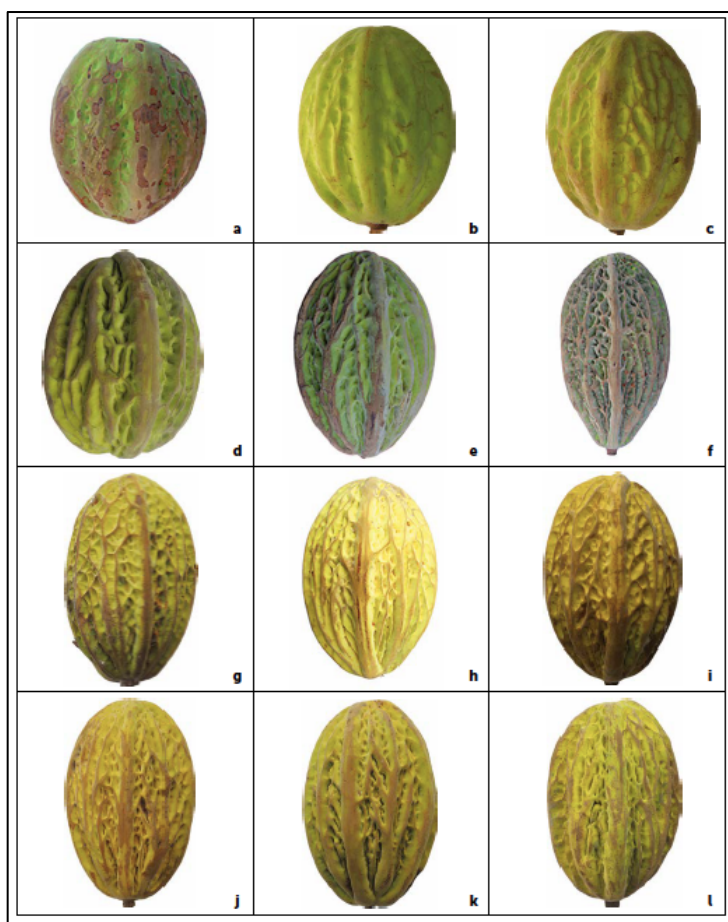


Figura 6. Aspecto externo de las diferentes accesiones de frutos de pataxte (*Theobroma bicolor*) de México (Galvez, 2016).

2.2.3 Propiedades físico-químicas y funcionales.

Burlan y Bressani (1999) reportan los siguientes valores de acuerdo a la composición química de las semillas: humedad 5.57 %, ceniza 4,14 %, proteína 24,42 %, grasa 25,48 %, fibra cruda 30,86 % y

carbohidratos 15,10 %. En cuanto a la fracción lípida, entre los ácidos grasos saturados (57,94%) destaca el ácido esteárico, mientras que entre los ácidos grasos insaturados (42,03 %) presentan elevada presencia el ácido oleico 39,9 %, ácido linolénico 2,2 % y ácido linolénico 0,2 %. La presencia de elevados tenores de ácidos grasos insaturados, sugiere mecanismos de protección de estos en la prevención de procesos oxidativos en presencia de compuestos que poseen actividad antioxidante.

Galvéz (2016), analizó el promedio de 3 eco tipos recolectados en Chiapas, Tabasco y Oaxaca, en semillas de pataxte, en la Tabla 2 se muestran los resultados.

Tabla 2. Composición fisicoquímica de las semillas de pataxte de México (Galvez, 2016).

PARÁMETRO SEMILLAS	VALOR
Humedad (%)	3.55
Cenizas (%)	3.52
Lípidos (%)	50.35
Carbohidratos (%)	49.24
Proteínas (%)	21.30

2.2.5 Usos y/o aplicaciones

De acuerdo a la literatura, *T. bicolor* se usa con 2 fines, como árboles en huerto para sombra de otras especies (desde tiempos prehispánicos) y como alimento para preparar bebidas y postres (Cuatrecasas, 1964). Young (1994), menciona que era usado por los mayas como sombra para el mejor desarrollo de *T. cacao*.

Hernández (1959) menciona que el sabor de las semillas era dulces y las preparaciones culinarias abarcaban el tostado, la adición de azúcares y en menor medida la preparación de bebidas. También lo mezclaban con maíz para hacer una bebida a la que llamaban Quaupatlachtli y se usaba como parte de una nutrición adecuada; Cuatrecasas (1964) reporta que la pulpa era usada para preparar bebidas refrescantes.

Vásquez (1989), reporta que los frutos son comestibles, la pulpa que cubre a las semillas se consume cruda, con un sabor agridulce, este se usa para la fabricación de bebidas refrescantes, helados y chocolates. Las semillas también las consumen en Perú y suelen prepararlas en brochetas asadas a la brasa, así como bebidas frías y calientes (Ruiz, 1993) (León, 1987).

En México, actualmente la pulpa y semillas de pataxte se usan para elaborar golosinas (mazapanes y turrónes), bebidas en agua fresca y chocolates (mezclados con *T. cacao*). En Oaxaca, una de las bebidas tradicionales llamada “popo” es elaborada con semilla de pataxte, arroz y canela, todos los ingredientes tostados y molidos, formando una pasta homogénea (Galvéz, 2016).

2.3 Alimentos funcionales

2.3.1 Definición

Es bien conocido que los alimentos funcionales son tan valiosos para el consumidos, debido a que contienen compuestos bio activos que ayudan al organismo tener beneficios nutricionales que se ven impactados en cierta función o varias funciones del organismo y como consecuencia en una mejora de salud en una disminución del riesgo de sufrir enfermedades (Fuentes *et al.*, 2002).

El término se utilizó por primera vez en la publicación de la reglamentación para los alimentos con uso específico en la salud, en la década de los ochentas en Japón. Esta reglamentación contiene los ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones del organismo, promoviendo un efecto fisiológico o psicológico (Fuentes *et al.*, 2002).

La demanda de alimentos funcionales se encuentra en crecimiento debido la generación de una mayor conciencia de alimentarse mejor por parte de los consumidores. A nivel internacional, el mercado ha crecido el 5% en 7 años. Se estima que los alimentos para la prevención de enfermedades contienen entre el 60 y el 70% del mercado total alimentos funcionales (Oliveira *et al.*, 2007).

En México, para el año 2018, las cifras de pacientes enfermos, dadas por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), realizada por el instituto Nacional de Salud Pública, arroja cifras de sobrepeso y obesidad por mala alimentación y falta de ejercicio físico, el porcentaje de adultos con sobrepeso/obesidad es de 75.2% afectando también a niños (Medina, 2018).

Se necesita tener en cuenta todas la comorbilidades que conlleva un alto peso, como pueden ser diabetes, hipertensión, cáncer, infartos, etc. Los alimentos funcionales junto con una dieta adecuada y

ejercicio físico, pueden reducir los riesgos de hipertensión o diabetes, síndrome de intestino irritable, disminuir el colesterol, mejorar las defensas, retrasar el envejecimiento y ayuda a mantener un buen estado físico. Se debe reconocer que existe un problema de salud pública en México, y existe una necesidad real de incluir alimentos funcionales (Fuentes *et al.*, 2002).

2.3.2 Tipos de alimentos funcionales.

De acuerdo a Juaréz (2005), existe una amplia gama de alimentos funcionales, algunos tipos son:

- De naturaleza proteica: Pueden ser proteínas e hidrolizados de leche, que ejercen actividades biológicas en el organismo, a parte de los beneficios nutritivos de los compuestos. Son inmonoglobulinas y lactoferrina, por mencionar algunas.
- Probióticos, prebióticos y simbióticos.
- Ingredientes funcionales de naturaleza lipídica, como los ácidos grasos poliinsaturados, omega 3, fitoesteroles, esteroides y estanoles.
- Antioxidantes, como polifenoles, flavonoides y carotenoides.

2.3.2.1 Antioxidantes

Un antioxidante funciona retardando la oxidación de un sustrato cuando está presente (Payne *et al.*, 2010). Existen diferentes tratamientos antioxidantes que dependen del origen y sitio de acción; no se tienen en cuenta otros aspectos y sistemas del metabolismo (Cuevas *et al.*, 2008).

Los antioxidantes son compuestos que el organismo crea para que las células neutralicen a los radicales libres (moléculas inestables, altamente riesgosas y reactivas que, para estabilizarse oxidan bio moléculas). Este proceso daña la función de la célula (conocido como envejecimiento). Las mitocondrias, lisosomas y membrana nuclear son la principal fuente de radicales libres (Vallejo *et al.*, 2017).

El exceso de radicales libres en nuestro cuerpo se manifiesta como numerosas enfermedades, estos átomos contienen uno o más electrones no pareados en el orbital extremo, lo que creará gran inestabilidad que da lugar a un sinfín de procesos bioquímicos celulares que causan toxicidad, de esta manera se rompe el equilibrio del organismo (Vallejo *et al.*, 2017).

El organismo adquiere en la alimentación antioxidantes que contrarrestan el efecto de los radicales libres en el organismo, como por ejemplo la Vitamina C y la E, que se usan para reparar tejidos corporales y mantener piel, huesos, cabello, uñas, dientes (Ramírez *et al.*, 2012).

Cuando el equilibrio existente entre los radicales libres y los sistemas del organismo antioxidantes se altera a favor de los radicales libres, se produce un estrés oxidativo, que desencadena múltiples enfermedades. Los radicales libres se pueden producir por radiación solar, respuestas inflamatorias/inmunológicas, consumo de alcohol, tabaquismo, déficit de micronutrientes y otros factores (Ramírez *et al.*, 2012).

El aumento en las especies oxidantes y/o una disminución en los mecanismos de detoxificación de ellas se da gracias a la vida sedentaria, el fumar, exposición a pesticidas, metales, tóxicos y algunos medicamentos, por mencionar algunos. El incremento de radicales libres promueve la aparición y desarrollo de enfermedades como cáncer, diabetes, aterosclerosis, desórdenes neurodegenerativos y envejecimiento (Londoño *et al.*, 2012).

Los antioxidantes de mayor interés, son las sustancias polifenólicas o polifenoles, terpenoides y compuestos azufrados (Figura 7). Se usan actualmente para la elaboración de alimentos funcionales. Muchos de estos compuestos son los principios activos de extractos que se llegan a comercializar como suplementos o productos dietéticos (Juaréz, 2005).

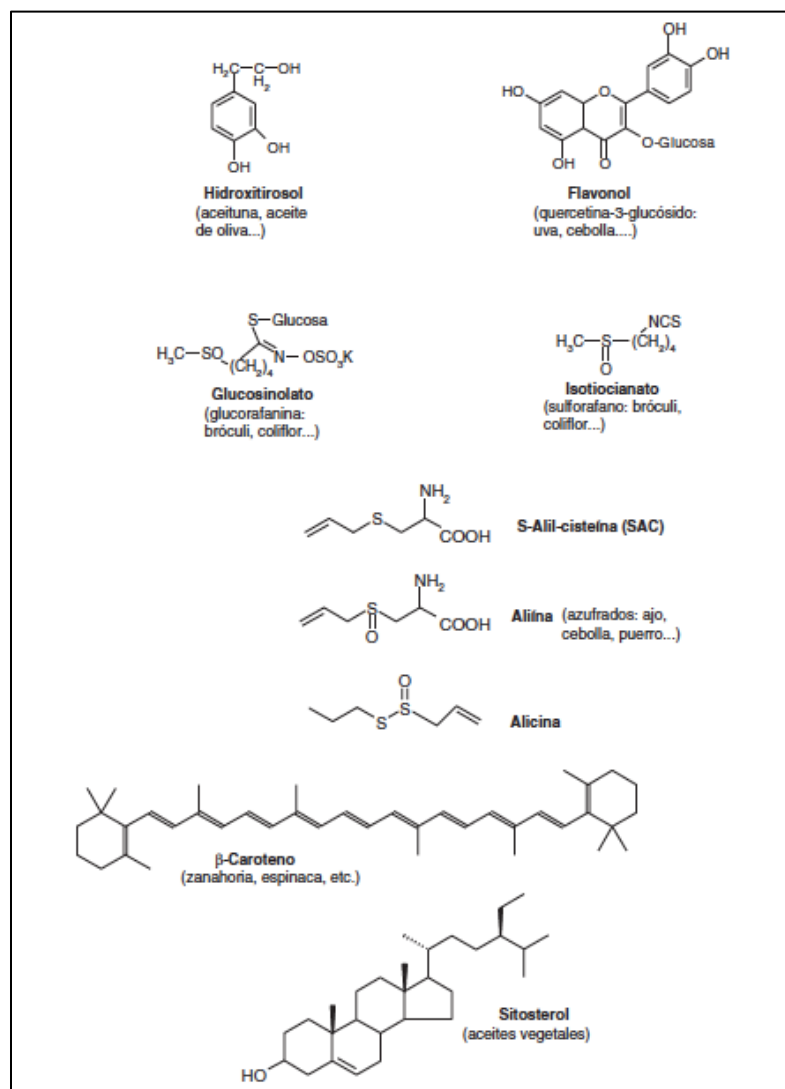


Figura 7. Ejemplos de algunos metabolitos bioactivos de las principales familias de metabolitos secundarios vegetales. (polifenoles, terpenoides y compuestos azufrados) (Juarez, 2005).

Metabolitos secundarios con capacidad antioxidante del género *Theobroma*.

Polifenoles

La principal causa de muerte en el mundo son enfermedades cardiovasculares. La OMS publicó que en 2005 fallecieron 17,5 millones de personas por enfermedades cardiovasculares (30% de las muertes a nivel mundial), la cifra está en aumento. Una dieta rica en polifenoles vegetales mejora la salud y disminuye la probabilidad de padecer enfermedades cardiovasculares (Pérez, 2009).

Los polifenoles los encontramos ampliamente en ejemplos de la naturaleza propia, en donde la estructura molecular se caracteriza por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Originados como

metabolito secundario en compuestos de origen vegetal, haciéndose vitales para funciones fisiológicas vegetales, como por ejemplo, brindarles defensa ante situaciones de estrés y estímulos.

Los grupos de polifenoles: Ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides, se nombran en función el número de anillos que poseen (Pérez, 2009).

Los compuestos fenólicos constituyen numerosas sustancias con estructuras de familias diversas como lo muestra la Figura 8. Estos compuestos son los responsables de las características organolépticas propias de los alimentos de origen vegetal, influyendo en la calidad (Barberán, 2001).

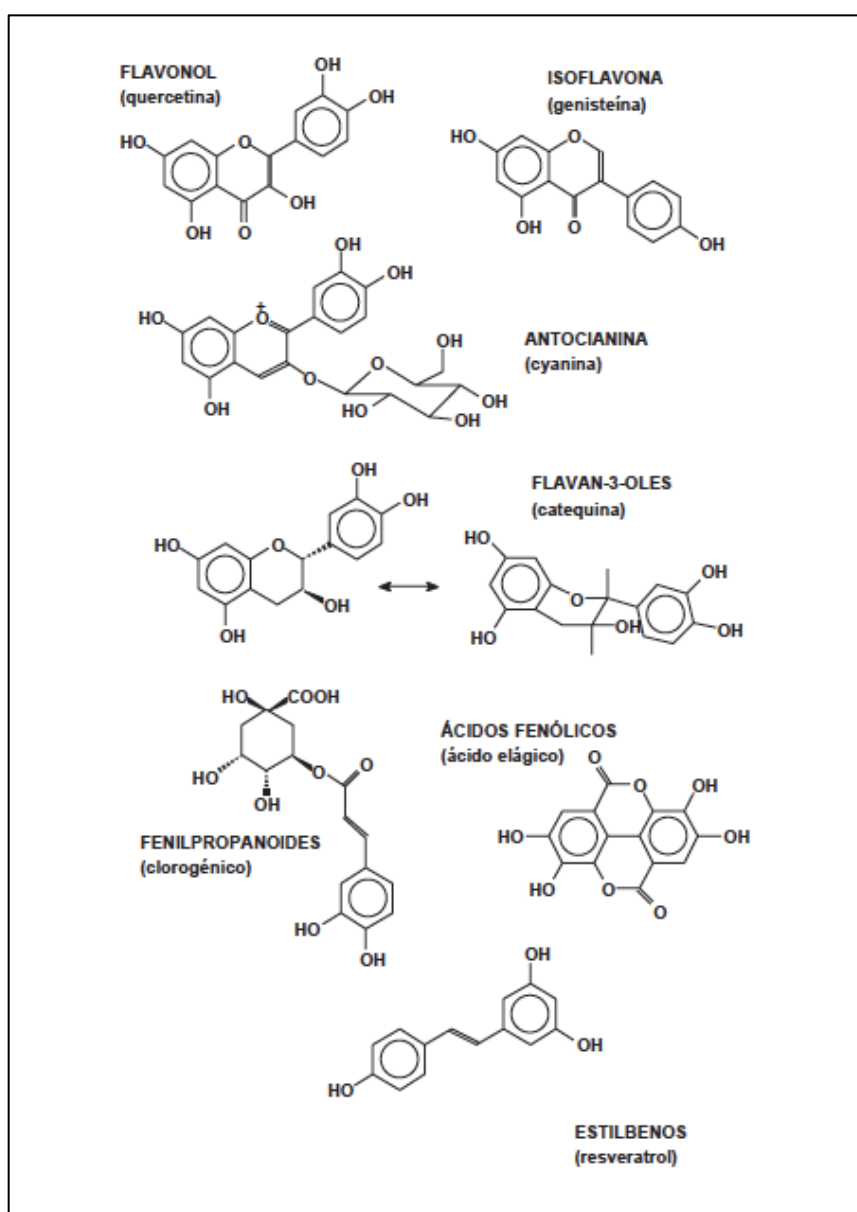


Figura 8. Diferentes familias de metabolitos de naturaleza polifenólica.(Juaréz, 2005).

Flavonoides

Los flavonoides son compuestos bio activos que reducen el riesgo de enfermedades como cardiovasculares, hipertensión, cáncer y diabetes, debido a esto, existe mucho interés por la investigación de los flavonoides en los alimentos. Estudios realizados demuestran que la concentración de catequinas en el plasma, observada en sujetos que consumen fruta, verdura y vino, incrementa su actividad antioxidante, lo que en parte podría explicar la protección relativa contra la enfermedad coronaria (Vallejo, 2017).

El consumo de alimentos con flavonoides reduce el riesgo de padecer cáncer, debido a su concentración de luteolina, quercetina, kaempferol, apigenina y taxifolina. Los mecanismos se encuentran en estudio, pero está demostrado que los flavonoides inhiben la lipogénesis y la formación de células cancerígenas (tanto de mama como de próstata).

Algunos flavonoides dificultan la absorción del promotor tumoral en el tubo digestivo (Vallejo, 2017). El tocoferol actúa como un transductor que informa a las células. (Fleves, 2002).

Carotenoides

Gracias a la investigación, se sugiere la obtención de compuestos para la protección de la célula contra el daño oxidativo, ya que, el estudio de los antioxidantes presentes en alimentos vegetales dice que estos compuestos dan protección a cáncer, enfermedades cardiovasculares, y otras enfermedades crónicas (Carranco, 2011).

Los carotenoides son tetraterpenos que tienen unidades de isopreno con un anillo de ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos, estos pigmentos se forman en plantas, algas y algunas bacterias; son sensibles a ácidos, calor, luz, oxígeno, entre otros. Tienen dobles enlaces conjugados llamados cadena poliénica.

En los alimentos vegetales su contenido sigue el modelo de los cloroplastos, siendo de mayor a menos cantidad la luteína, caroteno, entre otros (Carranco, 2011).

2.3.2.2 Ácidos grasos

Los lípidos son un grupo de compuestos orgánicos de diversas estructuras, que obtenemos de fuentes animales o vegetales y desempeñan un papel importante en la nutrición del humano. Algunos de estos son esenciales, ya que el organismo no puede generarlos y es necesario obtenerlos a partir de fuentes exógenas, tal es el caso de algunos ácidos grasos poliinsaturados, especialmente el ácido linoleico (León, 2014).

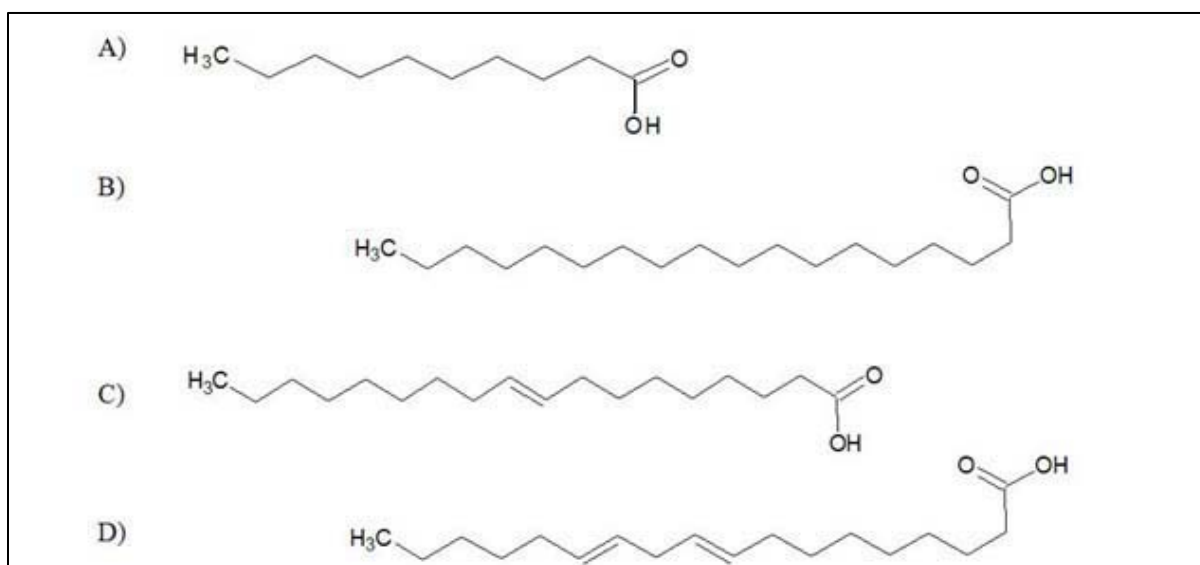


Figura 9. A) ácido decanoico o ácido cáprico, B) ácido octadecanoico o ácido esteárico. C) ácido cis-9.octadecanoico o ácido oleico, D) ácido cis-9,cis-12-octadecadienoico o ácido linoleico (León, 2014).

Los ácidos grasos son los constituyentes básicos de los lípidos, presentan un grupo carboxilo y distintas longitudes de cadena de carbonos como se muestra en la Figura 9. Los ácidos grasos, son clasificados sobre la base del número de enlaces de átomos de carbono. Los ácidos grasos saturados, no tienen dobles enlaces, como por ejemplo el ácido caproico (C6:0), el ácido caprílico (C8:0), ácido cáprico (C10:0) y ácido láurico (C12:0); los ácidos grasos insaturados, presentan 1 o más dobles enlaces (Sáyago, 2008).

Dentro de la clasificación de alimentos se encuentra este grupo debido a que están altamente asociados a la prevención o como parte del tratamiento de diversas enfermedades, por ejemplo, cardiovasculares (Willis y Marangoni, 1999).

2.3.2.3 Prebióticos

Los prebióticos son productos que encontramos en los alimentos y no son digeribles, al llegar al intestino grueso se utilizan como alimento o sustrato para los microorganismos de la microbiota intestinal, otorgándoles energía, metabolitos y micronutrientes, de esta manera se estimula el crecimiento selectivo de ciertas especies de microorganismos (Corzo *et al.*, 2015).

En la Tabla 3 se muestran los carbohidratos que pueden cumplir con estos requisitos y que son objeto de investigación, como por ejemplo la inulina y sus derivados.

Disponibles en el mercado, encontramos a los fructooligosacáridos, debido a que existen varios estudios donde se ha demostrado su actividad prebiótica (Tomasik, 2003).

Tabla 3. Composición química de carbohidratos prebióticos (Juaréz, 2005).

COMPONENTE	COMPOSICIÓN
Inulina	β (2-1) fructano
Fructo-oligosacáridos	β (2-1) fructano
Galacto-oligosacáridos	Oligogalactosa (85%)
Oligosacáridos de soja	Mezcla de rafinosa y estaquiosa
Xilo-oligosacáridos	Xilosa con uniones β (1-4)
Isomalto- oligosacáridos	Mezcla de oligómeros de glucosa con uniones α (1-6)
Oligosacáridos transgalactosilados	6'' galactosil-lactosa
Lactulosa	Galactosil β (1-4) fructosa

En la actualidad, se ha trabajado en la generación de prebióticos combinando con avances en métodos biotecnológicos para su obtención. Así, se estudia la posibilidad de mejorar su funcionalidad, destinándolos a bacterias específicas o aumentando su resistencia en el colon (Tomasik, 2003).

2.3.2.4 Probióticos

Según la Organización Mundial de la Salud, los probióticos son “microorganismos no patógenos, que, administrados en cantidad adecuada confieren un efecto benéfico sobre la salud del huésped” (OMS, 2011).

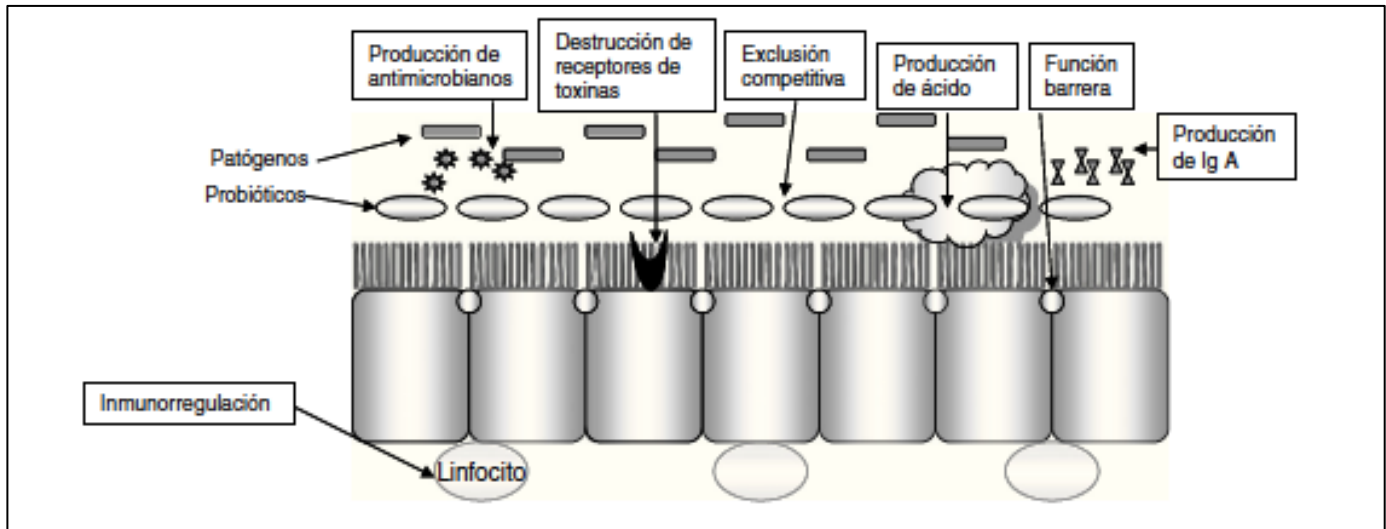


Figura 10. Mecanismos de actividad probiótica (Ewaschuk, 2006)

Como se muestra en la Figura 10, entre las actividades de los probióticos científicamente probadas en numerosos estudios, destaca la producción de IgA, producción de antimicrobianos e inmunorregulación (Ewaschuk, 2006).

Asimismo, estudios apoyan el efecto beneficioso en las inflamaciones intestinales en las que podría estar implicada una respuesta inmune anormal, determinada genéticamente, frente a la microflora normal que reduciría los niveles de lactobacilos. Otros efectos beneficiosos incluyen la prevención de la diarrea del viajero, síndrome de colon irritable, estreñimiento, así como influir en la flora endógena y sistema inmune, los cuales juegan un papel en la modulación de la carcinogénesis (Juaréz, 2005).

2.3.2.5 Simbióticos

Cuando encontramos a ambos elementos, tanto prebióticos como probióticos, el producto es llamado simbiótico, en donde el componente prebiótico selectivamente favorece al componente probiótico (Oliveira *et al.*, 2007). Estos, ejercen efectos beneficiosos y nutricionales en una o varias funciones del organismo, mejora el estado de salud o disminuye el riesgo de sufrir enfermedades, denominado alimento funcional (Fuentes *et al.*, 2002).

Para prolongar el efecto de los probióticos, parece necesario potenciar su supervivencia, asegurando que lleguen en altas cantidades al intestino grueso y aumente su tiempo de residencia ahí. Esto se facilita con la presencia de prebióticos. En el mercado se encuentran yogures, conteniendo inulina y bacterias; sin embargo, el desarrollo de estos productos es escaso en producción, alternativas e investigación (Juarez, 2005).

CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó considerando los objetivos planteados en el Capítulo 1.

- Análisis bromatológicos.
- Determinación de presencia de inulina.
- Actividad prebiótica.
- Capacidad antioxidante y análisis fitoquímico.
- Perfil de ácidos grasos en semilla.

3.1. ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS

3.1.1. Humedad

El contenido de humedad en las semillas y pulpa de pataxte se determinó siguiendo el método oficial 31.012 1984 de la A.O.A.C. (1984), el cual consiste en someter la muestra a secado en estufa de desecación, registrando el peso de la muestra antes y después del secado, calculando el porcentaje de humedad empleando la siguiente ecuación (ec. 1):

$$\text{Humedad (\%)} = (M_1 - M_2) 100 / M_1 - M_0 \quad (\text{Ec.1})$$

Donde:

M0 = Peso, en g, de la cápsula, varilla y arena.

M1 = Peso, en g, de la cápsula, varilla y arena y muestra antes del secado.

M2 = Peso, en g, de la cápsula, varilla, arena y muestra después del secado.

3.1.2. Determinación del contenido de proteínas

La determinación de nitrógeno se realizó por el método Kjeldahl (Kjeldahl, 1883; Osborne, 1978), en donde se determina el contenido de nitrógeno total y se expresa el conjunto de sustancias nitrogenadas como % de nitrógeno total o % de proteínas.

En 1883 Johann Kjeldahl desarrolló el método más usado actualmente para el análisis de proteínas, conocido como método Kjendall. La metodología incluye una mezcla de sulfato de amonio, en donde

se digiere el nitrógeno orgánico total, digiriéndose de esta manera las proteínas de los alimentos, la mezcla obtenida, posteriormente se neutraliza con una base y se destila, obteniendo liberación de amoníaco, en donde al momento de destilar la solución es arrastrado y recogido en una solución de ácido bórico, posteriormente, estos aniones se titulan con HCl estandarizado para determinar el nitrógeno de la muestra. En etapas del método primero se lleva a cabo la digestión, con H₂SO₄, sometiénndose a calor, posteriormente se lleva a cabo una neutralización del (NH₄)₂SO₄ digerido con una base fuerte (disolución de NaOH, 35%) y después, se realiza una destilación sobre un volumen conocido de ácido fuerte (disolución de ácido bórico al 4%), finalmente se hace una valoración, debido a que el anión borato es titulado con HCl estandarizado.

Procedimiento:

Se pesó 1g de ambas muestras por separado y se introdujeron a un tubo de digestión, se añadió 5g de catalizador Kjendall y 10 mL de ácido sulfúrico al 95-98%, posteriormente, se colocaron los tubos en el bloque de digestión (con el colector de humos funcionando); se realizó la digestión a 400°C durante 30 minutos, pasando el tiempo, se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente y lentamente se dosificaron 50 mL de agua destilada al tubo, durante 5 minutos se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente.

Su usaron 25 mL de ácido bórico en un matraz erlenmeyer de 250 mL y 2 gotas de indicador mixto y se colocó el tubo con la muestra en el destilador para la neutralización. La destilación se prolongó hasta que se destilaron 150 mL (aproximadamente 10 min). Se valoró con ácido clorhídrico 0.31 N, hasta que la solución cambió de color verde a color violeta. Posteriormente, los datos obtenidos se utilizaron para obtener el % de proteína utilizando la ecuación 2 y 3, mostradas a continuación:

$$\% \text{ Nitrógeno} = 1.4X(v_1-v_0) \times N/P \quad (\text{Ec.2})$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times F \quad (\text{Ec.3})$$

Donde:

P = peso en g de la muestra.

v₁ = volumen de HCl consumido en la valoración (mL).

N = normalidad del HCl.

V₀ = volumen de HCl consumido en la valoración de un blanco (mL).

F = Factor de conversión para pasar de contenido en nitrógeno a contenido en proteínas. La mayoría de las proteínas contienen un 16% de N₂, de modo que el factor de conversión es 6,25 (100/16 = 6,25), pero se han obtenido empíricamente otros factores de conversión en función de la materia prima utilizada.

3.1.3 Determinación del contenido de lípidos

La extracción de lípidos, se realizó por medio del método Goldfish (Osborne, 1978). El método tiene como propósito determinar la cantidad de grasa en una muestra mediante la extracción continua de un disolvente orgánico, se calienta y volatiliza para posteriormente condensarse sobre la muestra. El disolvente estuvo constantemente goteando en la muestra para lograr extraer la grasa. Al final, se diferencia el peso inicial del final para determinar el contenido de grasa

Procedimiento:

Se pesaron 4g de muestra y se depositaron en el cartucho del aparato Goldfish, se vertieron 40 mL de éter etílico en un vaso Goldfish que previamente fue puesto a peso constante. Posteriormente, se puso en marcha el equipo, manteniendo el sistema de extracción también en funcionamiento. Se realizó la determinación por triplicado usando la ecuación 4 para obtener el resultado final.

$$\% \text{ de grasa} = \frac{PG - PV}{PM} \times 100 \quad (\text{Ec.4})$$

Donde:

PG= Peso del vaso con grasa seca.

PV= Peso del vaso vacío.

PM=Peso de la muestra

3.1.4 Determinación del contenido de azúcares totales

La determinación de azúcares totales se llevó a cabo siguiendo la técnica Miller o de reactivo DNS (ácido dinitrosacílico). Este reactivo es capaz de oxidar azúcares reductores dando resultados colorimétricos que se miden en espectrofotómetro a longitud de onda 575 nm (Miller, 1959). Los azúcares reductores poseen un grupo carbonilo libre formado por un grupo hemiacetal que le confiere la característica de poder reaccionar con otros compuestos.

Procedimiento:

En una balanza analítica se pesaron cuidadosamente 0.5 g de ácido 3,5 dinitrosalicílico, 15g de tartrato de Na-K y 0.8 g de NaOH; Posteriormente se disolvió el NaOH en 20 mL de agua y se puso en agitación para añadir el tartrato de Na-K. Con agua se completaron 40 mL después se añadió lentamente el ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS); se dejó en agitación hasta que se incorporaron totalmente todos los reactivos. En tubos de cristal de 10 mL se adicionó 0.5 mL de muestra y 0.5 mL del reactivo de DNS. Los tubos se colocaron en baño termostático a 50 °C por 5 min. Se enfriaron hasta temperatura ambiente y se le añadió 5 mL de agua destilada. Al final, se agitó vigorosamente para posteriormente realizar las lecturas correspondientes con el espectrofotómetro a 540 nm.

Curva patrón de glucosa

Se realizó una curva patrón, elaborada en diferentes concentraciones con sus respectivas absorbancias (ver Figura 11) y se observó que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de azúcares presentes en la solución, obteniendo una $R^2 = 0.9784$. La solución de glucosa tenía las concentraciones: 0.5, 0.9, 1.3, 1.5 y 1.9 g/L. Se desarrolla la reacción con el reactivo DNS.

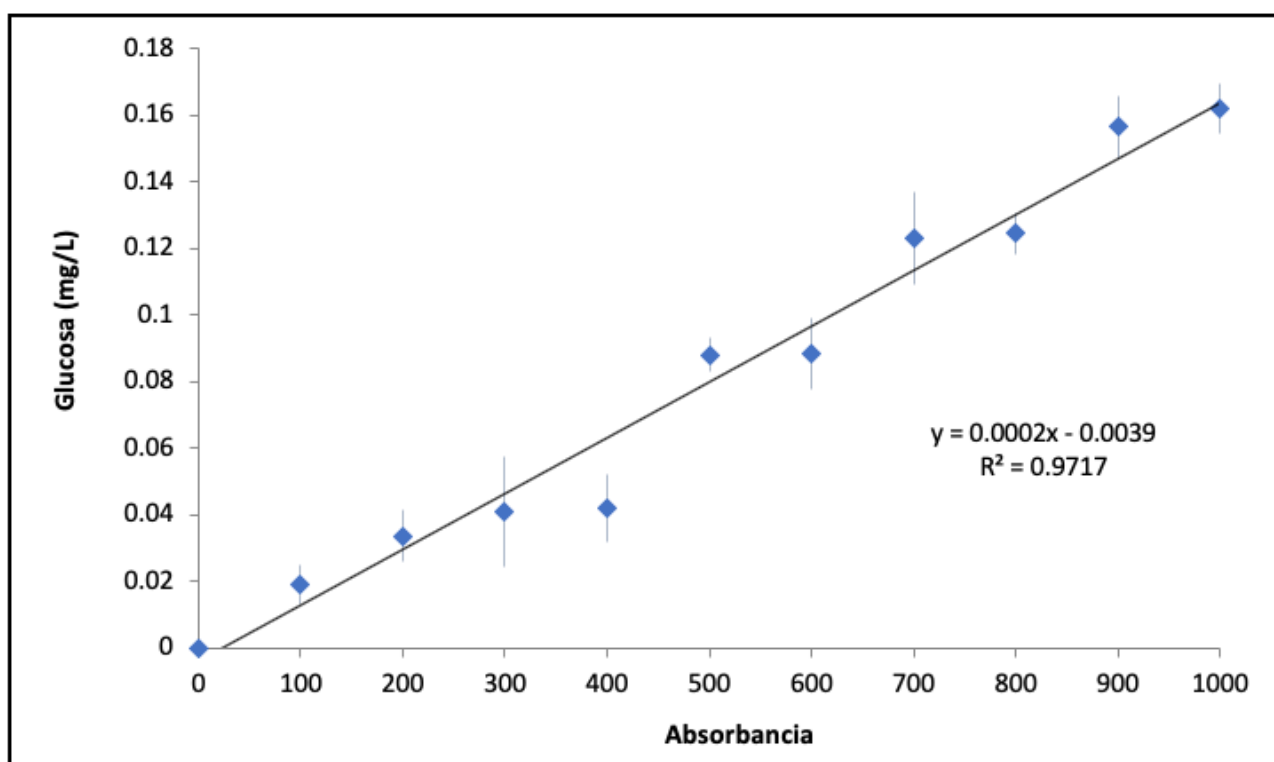


Figura 11. Curva de calibración generada con concentraciones obtenidas.

A partir de la Figura 11 se obtiene por el método de regresión matemática una ecuación lineal que se muestra en Ec. 5.

$$x = (y - b) / m \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde:

La pendiente es m, representa la variación de y por cada unidad de x.

3.1.5 Determinación del contenido de cenizas

El contenido de ceniza se determinó mediante el Método 31.012 de la A.O.A.C. (1984), el principio de método consiste en la oxidación de la materia orgánica contenida en la muestra, todo esto, en ausencia de flama a una temperatura alta, que se encuentra entre los 550 - 600°C; dejando solo el material inorgánico o ceniza.

Procedimiento:

Primero se preparó la muestra, se pesó y deshidrató, siguiendo los mismos pasos de determinación de humedad. Posteriormente, en un crisol de porcelana que previamente se calcinó y llevo a peso constante, se colocaron 5 g de muestra seca, se colocó el crisol en la mufla y se calcinó a 550°C por 12 horas, la muestra se incineró y se obtuvieron cenizas, posteriormente, se enfrió el crisol llevándolo a la estufa y posteriormente al desecador. Se pesó y determinó contenido de cenizas con la siguiente ecuación (Ec. 6)

$$\text{Contenido de ceniza (\%)} = 100 ((A - B) / C) \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde:

A = Peso del crisol con muestra (g)

B = Peso del crisol con ceniza (g)

C = Peso de la muestra (g)

3.2 Determinación de presencia de inulina.

La determinación de presencia de inulina se llevó a cabo mediante espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier (FTIR) (Duffendack, 19). Es un método por el cual se estudia la absorción o emisión de energía radiante originada por la interacción entre la radiación electromagnética y el material en estudio. Es una técnica empleada para obtener la huella dactilar propia de la molécula de

la muestra analizada, y lo que sucede es que absorbe la onda infrarroja de acuerdo con los enlaces químicos y estructurales de las moléculas, de esta manera, proporciona información de la estructura específica de bio moléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos, reconociendo o identificando grupos funcionales.

Esto se logra gracias a como el haz de luz infrarroja puesta sobre la muestra, tiene una relación señal/ruido. (Barraza, 2013).

Procedimiento:

Para la determinación, se realizó un control con inulina, posteriormente se preparó la muestra de pataxte realizando una hidrólisis con ácido cítrico y se precipitó con etanol, se agregó NaOH 0.25N con agitación constante hasta obtener distintos valores de metoxilación, se frenó la reacción con HCl y posteriormente se adicionó etanol a 96°. Para su análisis se usó un espectrofotómetro FT-IR (Cary 630, Agilent Technologies, EE. UU.), En el rango del número de onda de 1800 a 800 cm^{-1} .

3.3 Actividad prebiótica.

Para llevar a cabo el estudio se utilizaron los microorganismos *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei* y *Bacillus mojavensis*. Como medios de crecimiento se utilizaron MRS caldo (medio líquido) y MRS agar (medio sólido).

Estos microorganismos se sembraron por separado en placas de agar MRS, se incubaron durante 48 horas a 37°C, posteriormente a partir de una colonia aislada se preparó un precultivo constituido por caldo MRS, en un tubo de 10 mL estéril, nuevamente se incubó durante 48 horas a 37°C. El producto obtenido, se probó en 2 concentraciones diferentes, descritas más adelante.

Al mismo tiempo, se realizó el extracto vegetal y el extracto de minerales, ambos se esterilizaron. El extracto de minerales se formuló a partir de 0.27g de fosfato de potasio dibásico, 0.35g de fosfato de potasio monobásico, 0.53g de fluoruro de amonio, 0.75mg de cloruro de calcio, 100mg de cloruro de magnesio y 20mg de cloruro ferroso por cada 1000 mL de preparación. El extracto vegetal se hizo de las 2 partes del pataxte estudiadas (pulpa y semilla) por separado y sin algún tratamiento previo, este contenía 10g de pulpa o semilla de pataxte y 90 mL de solución salina estéril.

Posteriormente, se constituyeron mezclas en 2 diferentes concentraciones en un tubo estéril:

1. 100 μ L del caldo MRS con el microorganismo + 8 mL de extracto de minerales + 2 mL extracto vegetal. Y se le denominó extracto 80/20.
2. 100 μ L del caldo MRS con el microorganismo + 7 mL de extracto de minerales + 3 mL extracto vegetal. Y se le denominó extracto 70/30.

Ambos se realizaron por triplicado y se incubaron durante 48 horas a 37°C.

Se prepararon cajas petri con agar MRS y se hicieron 4 diluciones (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}) colocando 10 μ L del preparado descrito anteriormente y se incubaron durante 48 horas a 37°C. Posteriormente, se contaron las placas que tenían entre 25 y 250 colonias; para su posterior reporte se realizó cuenta en placa, todo esto como se describe en la Figura 12.

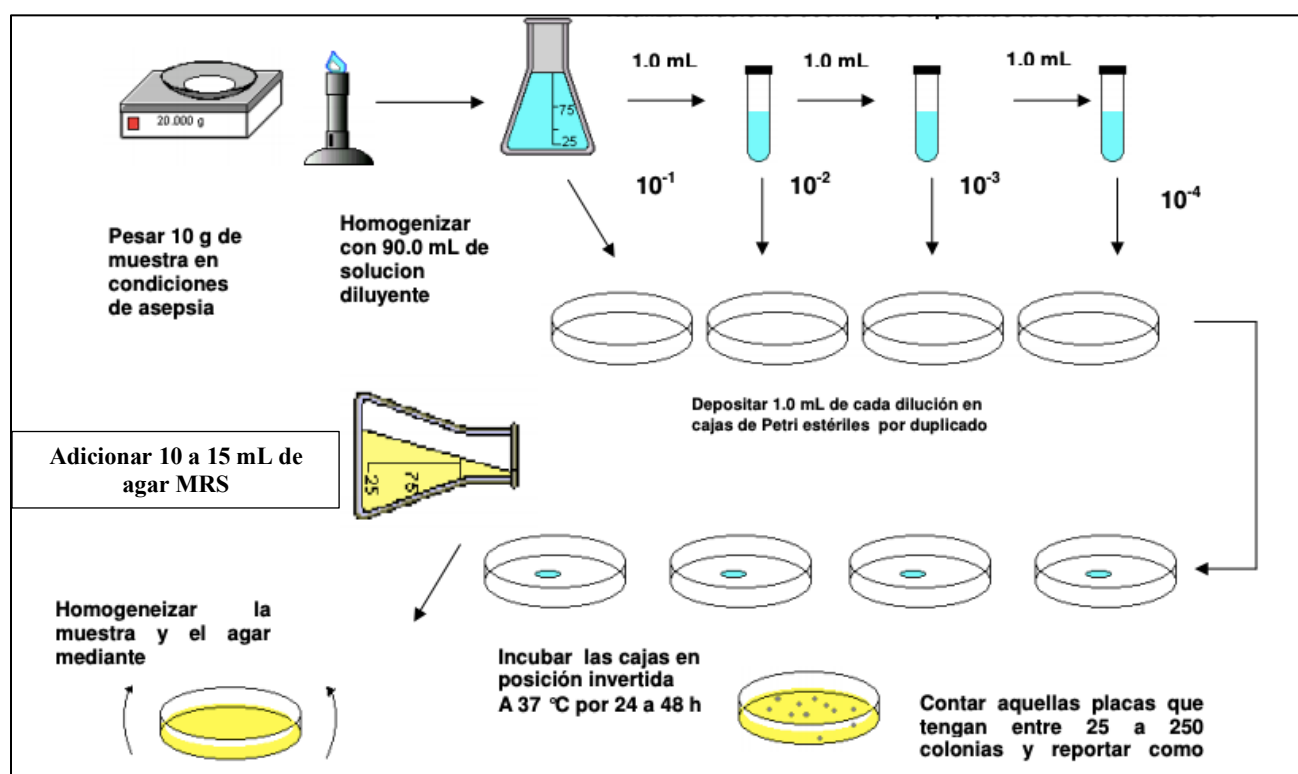


Figura 12. Cuenta en placa de bacterias (Camacho, 2009).

3.4 Capacidad antioxidante.

Para determinación de la concentración de compuestos antioxidantes se utilizó la técnica 2,2-Difenil Picrilhidrazilo, mejor conocida como DPPH, que ha sido descrita hace más de 50 años y los valores experimentales se expresan como IC₅₀, que calcula la concentración de la muestra problema que produce una inhibición del 50% del radical libre DPPH. El valor de IC₅₀ es dependiente de la concentración del DPPH en el medio de la reacción e influye en la evaluación de la capacidad antioxidante. El DPPH con el radical oxidado presenta un color inicial morado que a medida que se va reduciendo se torna amarillo. Esta diferencia de color permite cuantificar el porcentaje de DPPH reducido; la capacidad antioxidante se calcula como el porcentaje de captación DPPH, según la fórmula de Yen and Duh *et al.* (1994) (Ecuación 7):

$$\% \text{ de captación DPPH} = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde:

A inicial es la absorbancia de control a tiempo 0 min

A final es la absorbancia del antioxidante a tiempo 10 min

El porcentaje de captación DPPH es proporcional a la concentración de antioxidantes, y la concentración que provoca una disminución en la concentración inicial de DPPH. Se preparó una solución de DPPH, poniendo como blanco etanol y como grupo control ácido ascórbico. Las medidas de absorbancia se realizaron a una longitud de onda de 517 nm, con 15-30 minutos tiempo de incubación, en un espectrofotómetro UV/vis modelo VE-5100UV. Los valores fueron expresados comparándolos con equivalentes de ácido ascórbico.

Preparación de la curva de referencia: Para realizar la curva de referencia se prepararon soluciones de ácido ascórbico en concentraciones de 0.0625, 0.625, 6.25, 12.5 y 25 miligramos por litro de etanol respectivamente, se realizó la medición del porcentaje de captación de DPPH empleando la ecuación 7.

Coeficiente de inhibición (IC₅₀). El coeficiente de Inhibición (IC₅₀) se calculó con la ecuación de regresión, la cual se obtiene de la curva de referencia de cada patrón analizado para el método de decoloración del radical DPPH.

3.5 Análisis fitoquímico

Presencia de metabolitos secundarios asociados con actividad biológica, a saber: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenoides y glucósidos cardiotónicos (Domínguez, 1983). Se realizaron pruebas químicas cualitativas para determinar preliminarmente la presencia o ausencia de diferentes grupos de metabolitos secundarios en los extractos clorofórmicos de la planta, de acuerdo con los métodos reportados por Domínguez (1983). Se usaron aproximadamente 0.02 g de cada extracto para su realización.

Determinación de alcaloides:

Se mezcló el extracto clorofórmico con HCl al 1% hasta formar una suspensión y se filtró hasta obtener un filtrado completamente transparente. Se ensayó con alícuotas del filtrado con los reactivos Mayer, Wagner y Dragendorff.

Para la realización de reactivo Mayer, se disolvió 1.36 g de HgCl en 60 mL de agua destilada y 5.0 g de KI en 10 mL de agua destilada de forma separada. Después, se mezclaron ambas soluciones y aforó a 100 mL con agua destilada; para la realización de reactivo de Dragendorff, se disolvió primero 8.0 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 mL de HNO₃ y después, 27.2 g de KI en 50 mL de agua destilada. Se mezclaron ambas soluciones y se dejó reposar por 24 horas. Posteriormente, se decantó la solución y aforó a 100 mL con agua destilada; para la realización del reactivo de Wagner, se mezcló 1.27 g de yodo resublimado y 2.0 g de KI en 20 mL de agua destilada. Se aforó la solución a 100 mL con agua destilada. La presencia de precipitado con la adición del alguno de los 3 reactivos indica una prueba positiva.

Determinación de saponinas:

Se realizó con 2 procedimientos diferentes:

Ensayo con agua caliente

Se mezcló el extracto clorofórmico con agua destilada caliente en un tubo de ensaye y se agitó durante 5 minutos. La formación de espuma estable con apariencia de panal de abeja durante 30 minutos indica una prueba positiva.

Ensayo con reactivo Rosenthaler

Se añadió al extracto una gota del reactivo de Rosenthaler más una gota de H_2SO_4 concentrado. La aparición de un color violeta es positivo para saponinas de triterpenos pentacíclicos. Para preparar el reactivo se disolvió 1.0 g de vainillina en 100 mL de etanol.

Determinación de triterpenos

Se disolvió la porción del extracto clorofórmico en 1 mL de cloroformo concentrado, se agregó 1 mL de anhídrido acético y se dejó reposar en hielo durante 5 minutos, posteriormente, se añadieron 2 gotas de H_2SO_4 concentrado, se reposó por 1 minuto. La presencia de un anillo de color rojo, rosa, púrpura, verde o azul en la interfase señala una prueba positiva.

Determinación de taninos

Se realizó con 2 reactivos distintos; con cloruro férrico y con reactivo de gelatina, en ambos casos se observó un precipitado y consideró la prueba como positiva. Con cloruro férrico, se disolvió el extracto en cloroformo concentrado, se filtró la solución y tomó 2 alícuotas de 1 mL para los ensayos con 3 gotas de cloruro férrico al 10%. Con reactivo de gelatina, se disolvió el extracto en cloroformo concentrado, se filtró la solución y tomó 2 alícuotas de 1 mL para los ensayos con 3 gotas reactivo de gelatina.

Determinación de flavonoides

Se trabajó con alícuotas del extracto disuelto en cloroformo concentrado y se realizó con 2 reactivos diferentes; Shinoda e hidróxido de sodio. Para la prueba de Shinoda se tomó una alícuota de 1 mL del extracto disuelto y añadió un trozo pequeño de viruta de magnesio amalgamado más 2 gotas de HCl concentrado, para la reacción con hidróxido de sodio, se agregó y mezclaron 2 gotas de NaOH diluido a una alícuota del extracto.

Determinación de glucósidos cianogénicos

Se preparó el reactivo de Guignard, disolviendo 1.0 g de Na_2CO_3 y 0.01 g de ácido pícrico en 100 mL de agua destilada. Posteriormente, se impregnó una tira de papel filtro con reactivo de Guignard y secó a temperatura ambiente. Después, se colocó el papel dentro de un tubo de ensayo con una alícuota del

extracto disuelto con cloroformo concentrado. Se calentó a 35 °C durante 3 horas a baño maría y observó la aparición de una coloración roja o rosa sobre el papel indica que la prueba es positiva.

Determinación de glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas

Se trabajó con alícuotas del extracto disuelto en etanol concentrado. Se añadieron 3 gotas del reactivo Baljet a una alícuota de 1 mL del extracto disuelto y se mezcló. Para preparar el reactivo se realizaron dos soluciones, en una se disolvió 1.0 g de ácido pícrico en 100 mL de etanol y en la otra, 10.0 g de NaOH en 100 mL de agua destilada.

3.6 Perfil de ácidos grasos

La cromatografía de gases (GC) se usa para separar y detectar compuestos de pequeño peso molecular en la fase gaseosa. La muestra es un gas o líquido que se vaporiza en el puerto de inyección; Existen 2 fuerzas oponibles, que da, como resultado el movimiento de las sustancias, dividiendo a las 2 fuerzas en: La fuerza de manejo que, mueve las sustancias al flujo y la fuerza resistente (o de acción de retardo), que impide el movimiento de sustancias ocasionando su movimiento arrastrándolas del flujo y logrando su adhesión al adsorbente. La cromatografía de gases, suele ser utilizado para detectar componentes específicos en el análisis de alimentos, por lo general, es uno de los más aplicables, mostrado en la Figura 13. EL modelo usado en la presente investigación es el 6890N; Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA.

Procedimiento:

La extracción del aceite de las semillas de pataxte se realizó por método Goldfish, descrito anteriormente. El perfil de los ácidos grasos contenidos en la semilla del pataxte, se determinó mediante cromatografía de gases. Primero, la grasa fue metilada colocando una gota de la misma y 10 mL de solución metanólica de hidróxido de sodio (2%). Esta mezcla se introdujo en un matraz conectado a un sistema refrigerante y se calentó a 140°C durante 30 min, se agregaron 5 mL de trifluoruro de boro-metanol y se calentaron por 15 min. Finalmente, se agregaron 10 mL de agua y 20 mL de pentano. La parte turbia fue separada y el resto se colocó en un frasco. Se inyectaron 0.5 µL y se analizaron en un cromatógrafo de gases (6890N; Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) equipado con una columna Agilent HP-88 y un detector de ionización de flama. Se utilizaron nitrógeno

y helio como gases acarreadores a 1.3 mL/min. La temperatura del detector se mantuvo a 240°C durante 50 min.

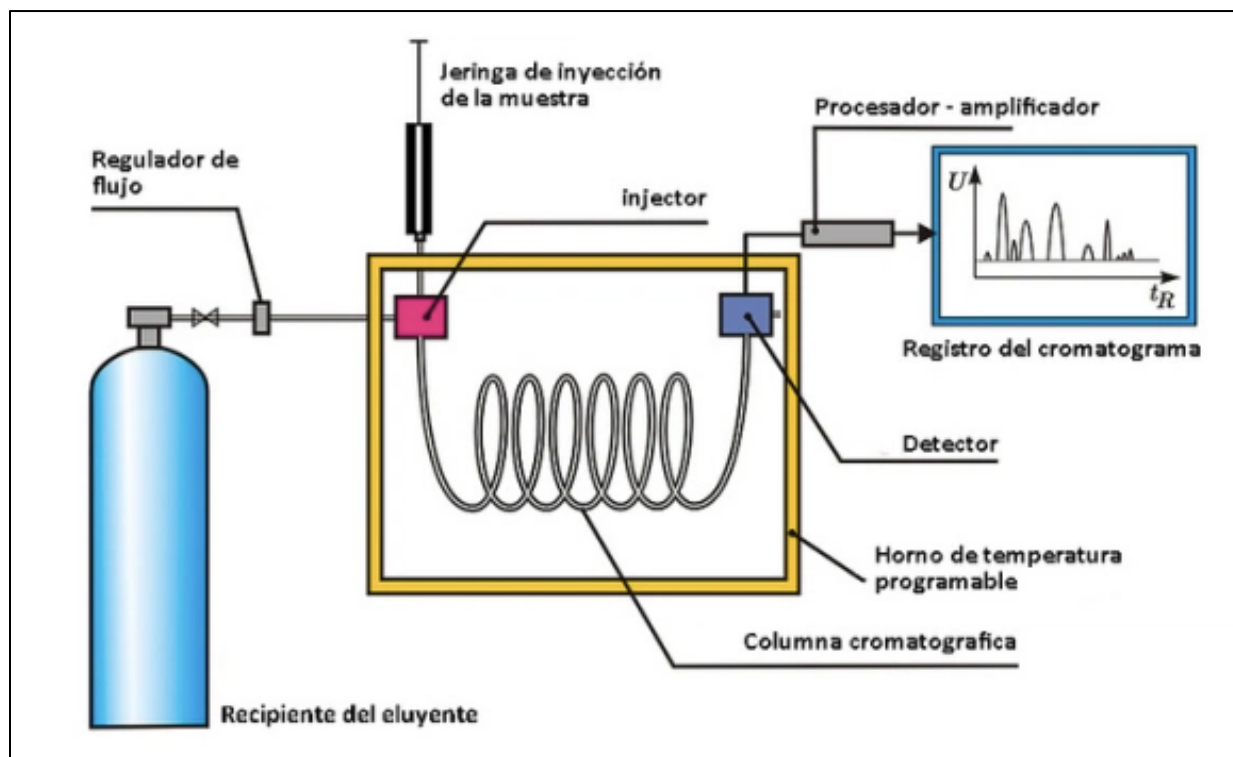


Figura 13. Componentes de un cromatógrafo. Tomado de Fabela-Morón(2015).

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se presenta el análisis e interpretación de los resultados obtenidos en las experimentaciones antes mencionadas, con el fin de lograr los objetivos planteados al inicio de la tesis, bajo el siguiente orden:

- Resultados de análisis bromatológicos
 - Análisis bromatológico de semilla
 - Análisis bromatológico de pulpa
- Presencia de inulina
 - Presencia de inulina en semilla
 - Presencia de inulina en pulpa
- Actividad prebiótica
 - Actividad prebiótica de semilla
 - Actividad prebiótica de pulpa
- Actividad antioxidante cualitativa y cuantitativa
 - Actividad antioxidante cualitativa y cuantitativa de semilla
 - Actividad antioxidante cualitativa y cuantitativa de pulpa
- Pruebas fitoquímicas
 - Pruebas fitoquímicas en semilla
 - Pruebas fitoquímicas en pulpa
- Perfil de ácidos grasos semilla

4.1. Resultados de análisis bromatológicos

4.1.1. Análisis bromatológico de semilla

De los análisis realizados a la semilla del fruto se obtienen los resultados presentados en la tabla 4, complementado con el análisis proximal de la figura 14.

Tabla 4. Análisis bromatológico en semilla de pataxte.

PARÁMETRO	PORCENTAJE (%)
Humedad	4.73±0.29
Hidratos de carbono	41±1.17
Proteína	19.5±1.87
Lípidos	30.4±2.82
Ceniza	3.31±0.1

Se observa que la cantidad de hidratos de carbono es de $41\pm1.17\%$, de proteína $19.5\pm1.87\%$, humedad $4.73\pm0.29\%$, cenizas $3.31\pm0.1\%$, de lípidos es de $30.4\pm2.82\%$. Se procedió a realizar perfil de ácidos grasos de semilla para complementar resultados obtenidos.

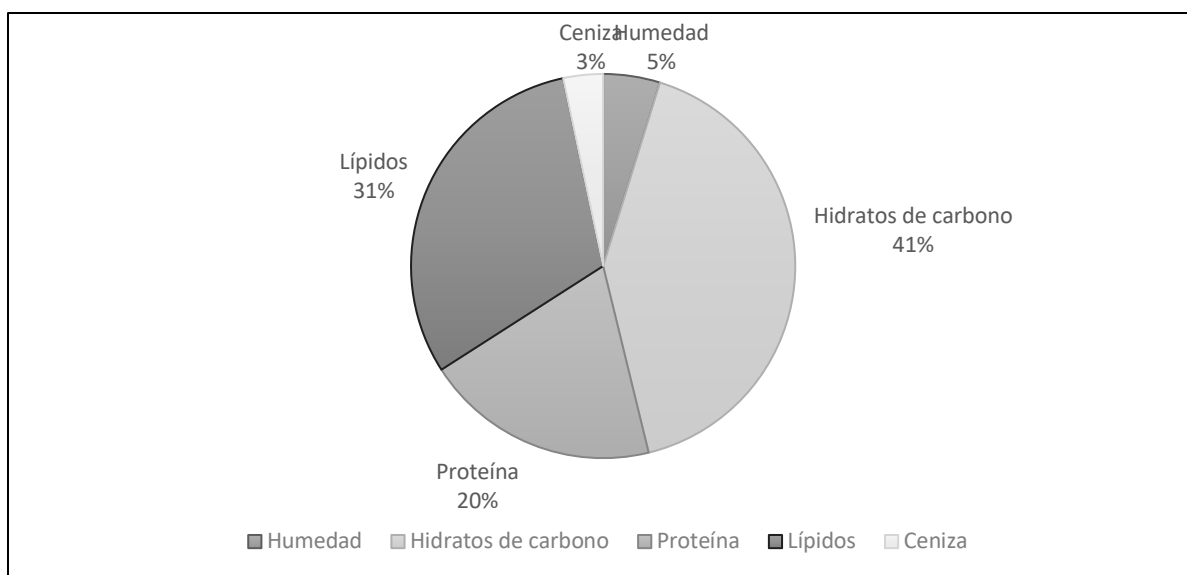


Figura 14. Análisis proximal de semillas de pataxte

La tabla 5 muestra una comparación de los resultados obtenidos con lo reportado por otros autores; se muestra que los valores obtenidos son muy parecidos con Gálvez (2016) y Burlan & Bressani (1999). En hidratos de carbono el resultado es mucho más cercano a Gálvez, en lípidos con Burlan, proteínas está por debajo de ambos, humedad y cenizas es más parecido a los resultados de Burlan.

Tabla 5. Comparación de resultados del análisis bromatológico en semilla de pataxte (Gálvez *et al.*, 2016; Burlan & Bressani 1999).

PARÁMETRO SEMILLAS	Gálvez <i>et al.</i> (2016) MÉXICO (promedio de 3 eco tipos recolectados en Chiapas, Tabasco y Oaxaca)	Burlan & Bressani (1999). PERÚ	Resultados obtenidos
Humedad (%)	3.55	5.57	4.73±0.29
Cenizas (%)	3.52	4.14	3.31±0.1
Lípidos (%)	50.35	25.48	30.4±2.82
Carbohidratos (%)	49.24	15.10	41±1.17
Proteínas (%)	21.30	24.42	19.5±1.87

4.1.2. Análisis bromatológico de pulpa

De los análisis realizados a la pulpa del fruto se obtienen los resultados presentados en la tabla 6, complementado con el análisis proximal de la figura 15.

Tabla 6. Análisis bromatológico en pulpa de pataxte.

PARÁMETRO	PORCENTAJE (%)
Humedad	37.8±2.11
Hidratos de carbono	45±1.25
Proteína	12.4±1.59
Lípidos	2.92±0.62
Ceniza	3.4±0.51

Se observa que la cantidad de hidratos de carbono es de 45±1.25%, de lípidos es de 2.92±0.62%, de proteína 12.4±2.92%, humedad 37.8±2.11%, ceniza 3.4±0.51%.

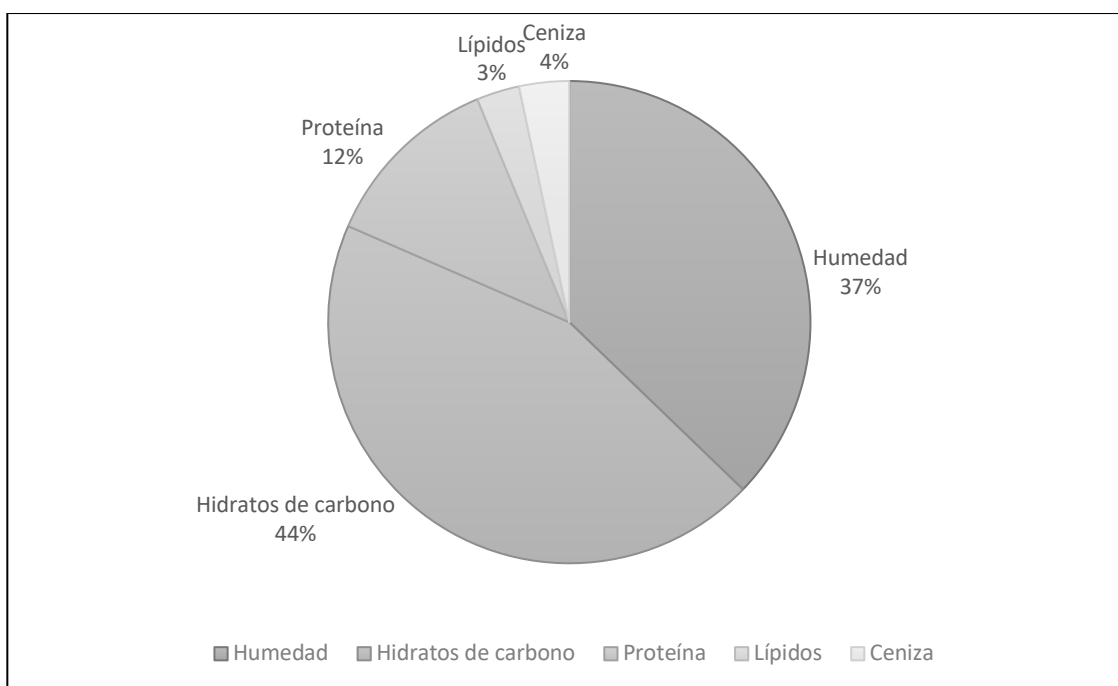


Figura 15. Análisis proximal de pulpa de pataxte

Tabla 7. Comparación de resultados del análisis bromatológico en pulpa de pataxte (García 2002).

Parámetro	García (2002). Mezcla pulpa/semilla	Resultados obtenidos
Humedad (%)	35.58±0.18	37.8±2.11
Hidratos de carbono (%)	17.36±0.23	45±1.25
Proteína (%)	13.30±0.06	12.4±1.59
Lípidos (%)	32.95±0.23	2.92±0.62
Ceniza (%)	0.84±0.002	3.4±0.51

La tabla 7 muestra una comparación de los resultados obtenidos con lo reportado por García (2002). En cuanto a humedad y proteína los valores obtenidos son muy parecidos con García, el valor de hidratos de carbono es más alto que el obtenido por García y el valor de lípidos está por debajo que el obtenido por García, esta variación puede deberse a que el estudio de García se realizó a partir de una

mezcla semilla/pulpa del fruto y por esa razón la cantidad de lípidos en nuestro estudio es menor, recordando que la mayor cantidad de lípidos del fruto se encuentra en la semilla y no en la pulpa.

4.2. Presencia de inulina

Se utilizó inulina como control, y se obtuvo el espectrograma mostrado en la figura 16, en donde podemos observar 3 señales diferentes; la primer señal se encuentra en la posición 3300 cm^{-1} , lo que nos indica que se trata de un alcohol polimérico; la segunda señal se da en la posición 2900 cm^{-1} , lo que nos indica que se trata de vibraciones de tensión enlaces C-H sp^3 ; la tercer señal nos habla del tipo de alcohol, se encuentra en la posición 1050 cm^{-1} , esto nos indica que se trata de un alcohol primario.

Se anexa el algoritmo general de interpretación de espectros de IR (**Anexo 1**).

Se anexa la tabla de vibraciones de estiramiento del enlace O-H. Alcoholes y fenoles. (**Anexo 2**).

Se anexa la tabla de vibraciones de estiramiento del enlace C-OH. Tipos de alcohol. (**Anexo 3**).

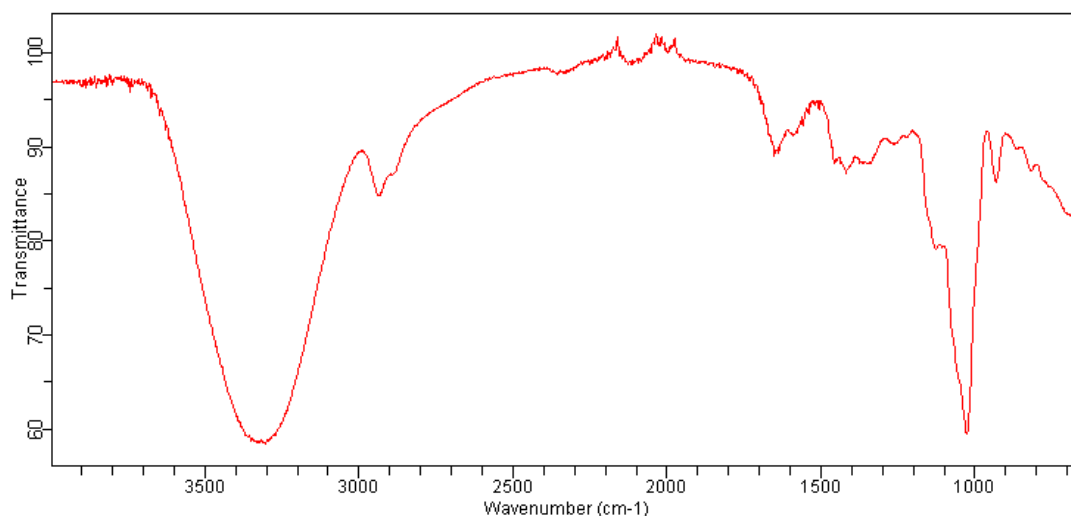


Figura 16. Espectroscopía infrarroja de inulina.

4.2.1. Presencia de inulina en semilla

Se observa el espectrograma del extracto de semilla en la figura 17, en donde la absorción infrarroja mostrada en 3300 cm^{-1} (alcohol polimérico) es la única característica parecida a la inulina, por lo tanto disminuye la posibilidad de que exista inulina en el extracto de semilla.

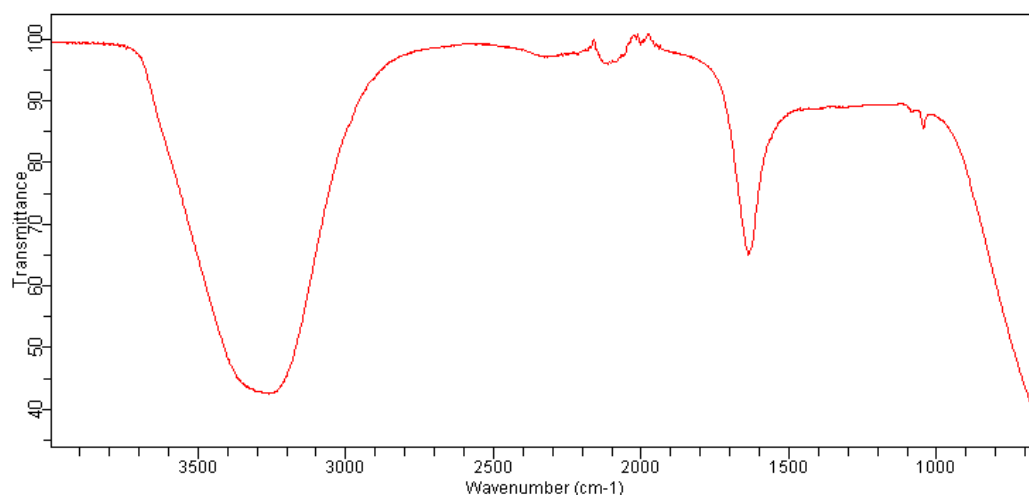


Figura 17. Espectroscopía infrarroja de semilla de pataxte.

4.2.2. Presencia de inulina en pulpa

Se observa el espectrograma del extracto de pulpa en la figura 18, en donde se encontraron similitudes con la espectroscopia de la inulina, mostrada en la figura 16, las absorciones infrarrojas que coinciden son 3300 cm^{-1} (Alcoholes O-H, asociación polimérica), 2900 cm^{-1} (Vibraciones de tensión Enlaces C-H sp^3) y 1050 cm^{-1} (Alcohol primario. Vibraciones de torsión O-H y tensión C-H) mostrados en la tabla 8, lo que sugiere que exista inulina en la pulpa del fruto pataxte, sin embargo, este estudio no es suficiente para afirmarlo.

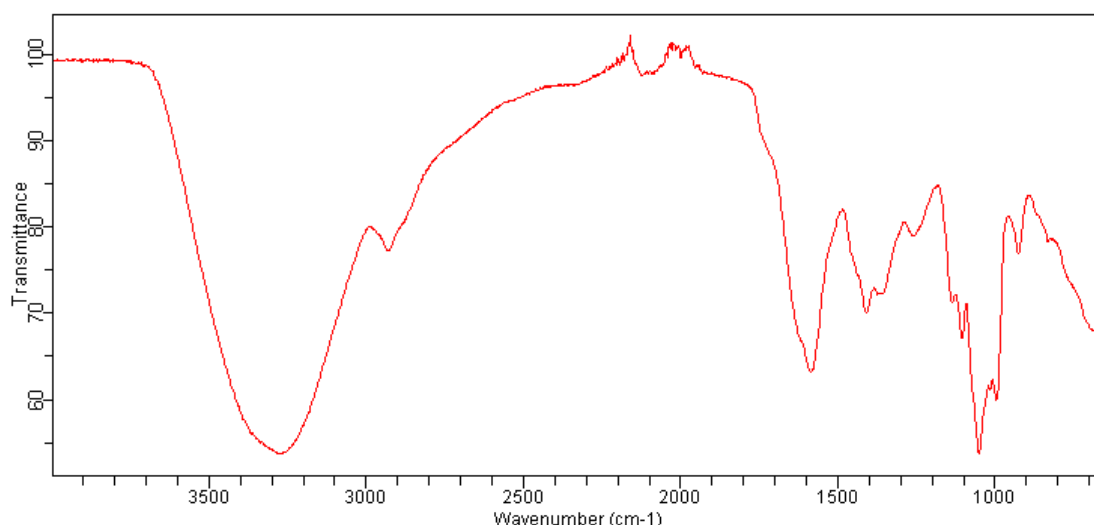


Figura 18. Espectroscopía infrarroja de pulpa de pataxte

Tabla 8. Absorciones infrarrojas de espectroscopias de inulina y pulpa de pataxte.

Estado del alcohol	Posición cm^{-1}	Características de los grupos funcionales
Polimérico	3300	Alcoholes. O-H. Asociación polimérica.
Puentes intramoleculares C-H	2900	Vibraciones de tensión Enlaces C-H sp^3 .
Primario	1050	Alcohol primario. Vibraciones de torsión O-H y tensión C-H

4.3. Actividad prebiótica

De los análisis realizados a la semilla y pulpa del fruto, se obtienen los resultados presentados en las figuras 19 y 20, en donde se muestra el crecimiento de 3 bacterias lácticas (BAL) *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei* y *Bacillus mojavensis*, en extracto de semilla de pataxte en 2 diferentes concentraciones.

Las 2 concentraciones a las que realizaron los experimentos son; extracto 70% minerales + 30% pataxte; denominado extracto 70/30 y extracto 80% minerales 20% pataxte; denominado extracto 80/20.

4.3.1. Actividad prebiótica de semilla

La figura 19 resume los recuentos de 4.66 ± 0.1 log UFC/mL para *Lactobacillus brevis*; 4.32 ± 0.6 log UFC/mL para *Lactobacillus paracasei* y 3.69 ± 0.56 log UFC/mL para *Bacillus mojavensis* en el crecimiento de probióticos con extracto al 70/30 de semilla de pataxte. Y para el extracto 80/20 se obtuvieron recuentos de 4.82 ± 0.64 log UFC/mL para *Lactobacillus brevis*; 4.31 ± 0.65 log UFC/mL para *Lactobacillus paracasei* y 3.64 ± 0.51 log UFC/mL para *Bacillus mojavensis*.

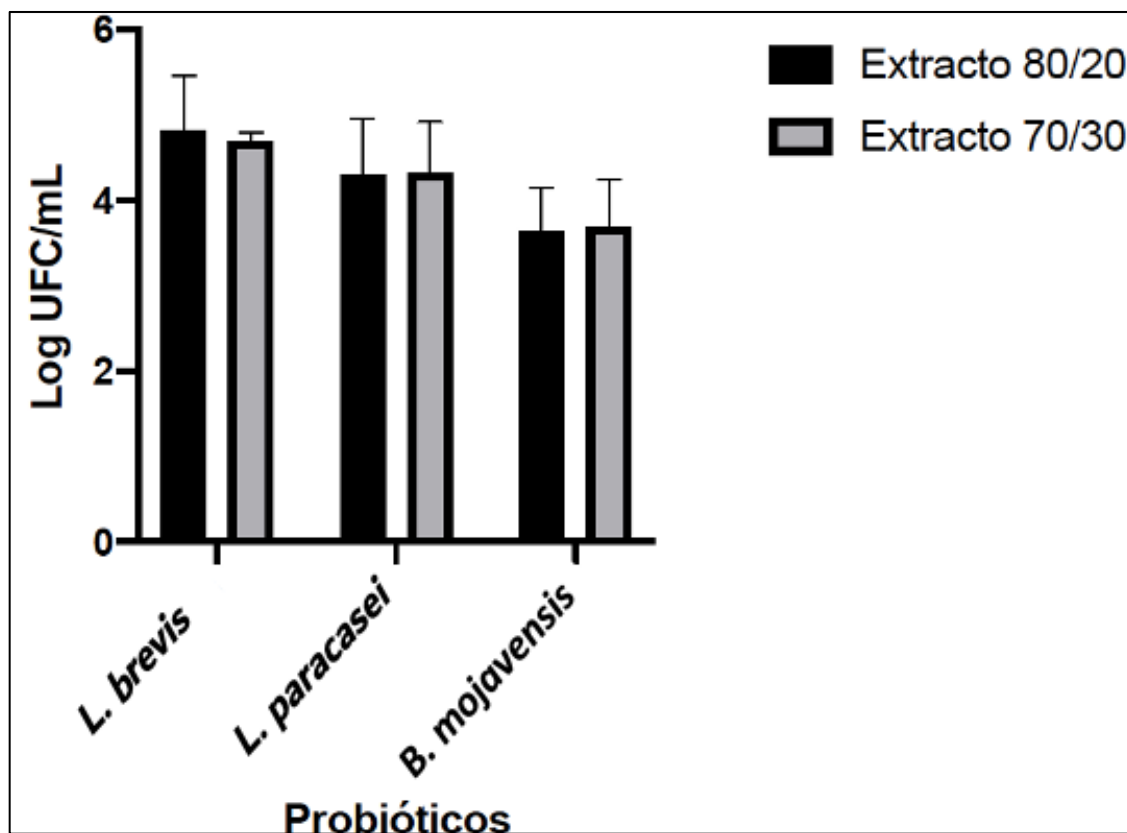


Figura 19. Crecimiento de 3 BAL en extracto de semilla de pataxte en 2 diferentes concentraciones.

Los resultados muestran que todos los extractos de pataxte son funcionales para el crecimiento de bacterias lácticas (BAL) *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei* y *Bacillus mojavensis*, sin embargo, de las concentraciones probadas, el mayor crecimiento se obtuvo con el microorganismo *Lactobacillus brevis* en el extracto 80/20 de semilla (4.82 ± 0.64 log UFC/mL).

4.3.2. Actividad prebiótica de pulpa

La figura 20 nos resume los recuentos de 4.54 ± 0.6 log UFC/mL para *Lactobacillus brevis*; 4.41 ± 0.76 log UFC/mL para *Lactobacillus paracasei* y 3.66 ± 0.1 log UFC/mL para *Bacillus mojavensis* crecimiento de probióticos con extracto 70/30 de pulpa de pataxte. Y para el extracto 80/20 se obtuvieron recuentos de 4.62 ± 0.6 log UFC/mL para *Lactobacillus brevis*; 4.38 ± 0.76 log UFC/mL para *Lactobacillus paracasei* y 3.63 ± 0.1 log UFC/mL para *Bacillus mojavensis*.

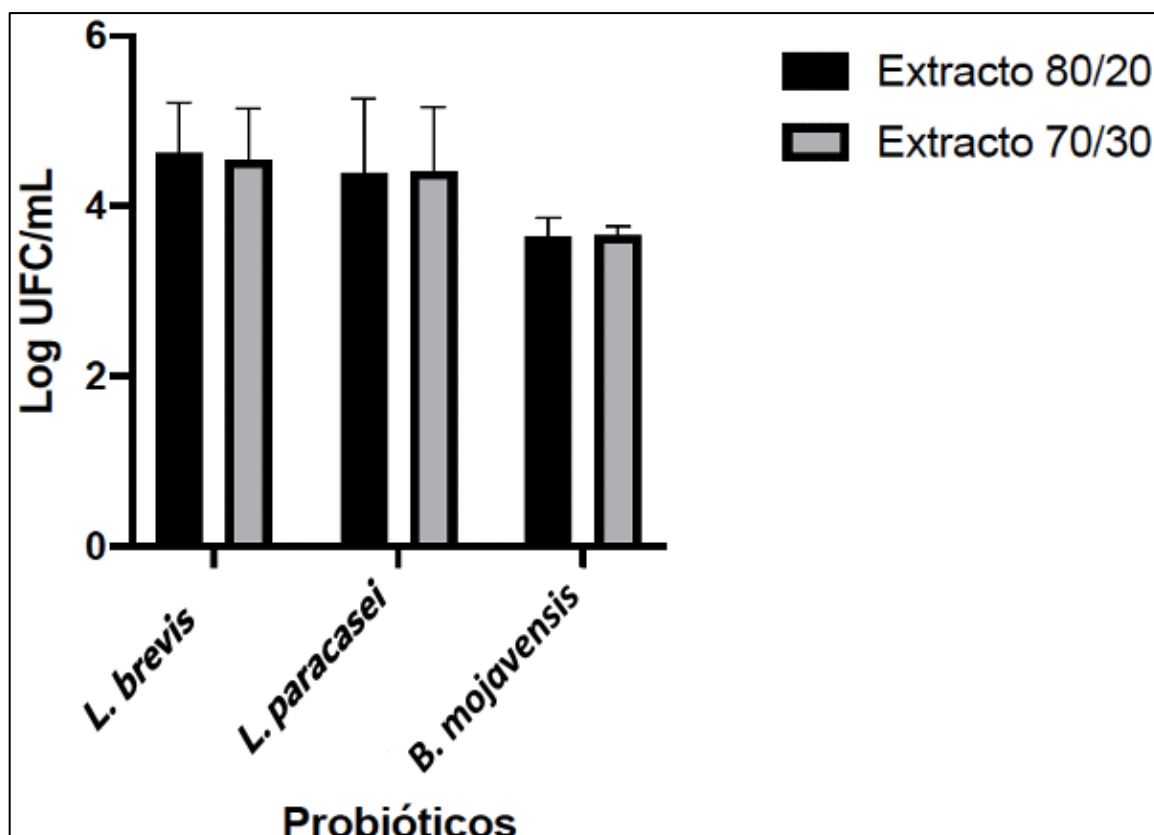


Figura 20. Crecimiento de 3 BAL en extracto de pulpa de pataxte en 2 diferentes concentraciones.

Al comparar los resultados con los obtenidos de Vargas (2019), se observa crecimiento de 1.44 ± 0.04 Log 10 UFC/mL de *Lactobacillus plantarum*, usando como extracto semillas de amaranto reventadas al 14%, siendo mayor el crecimiento de BAL con extracto de pataxte tanto para semilla como para pulpa, como lo muestra las figuras 19 y 20.

4.4. Actividad antioxidante en pulpa y semilla de pataxte

4.4.1. Actividad antioxidante cualitativa de pulpa y semilla de pataxte

El análisis cualitativo de los extractos etanólicos de pulpa y semilla de pataxte se llevó a cabo en placas de sílica gel utilizando el radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). La actividad antioxidante se manifestó mediante el cambio de color producido, debido a la reacción entre el DPPH con los extractos. Como lo muestra la Figura 21, el método está basado en el cambio de coloración debido al mecanismo de la capacidad captadora de radicales de los compuestos fenólicos.

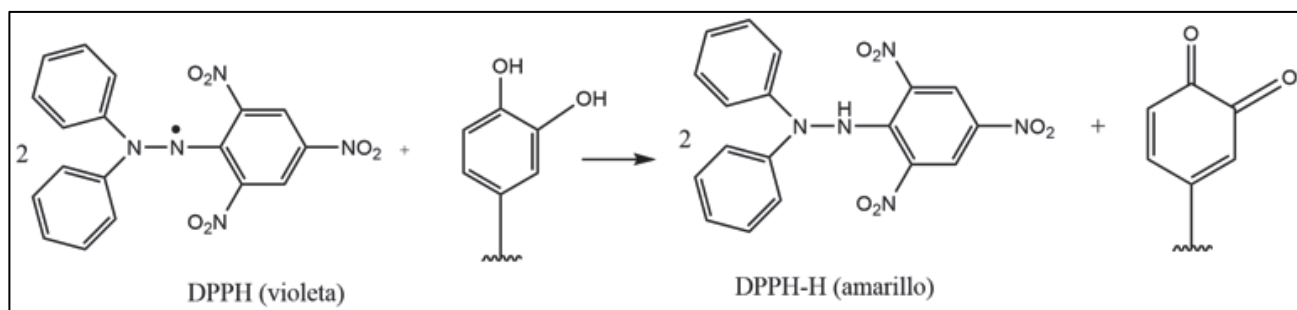


Figura 21. Mecanismo de la capacidad captadora de radicales de los compuestos fenólicos (Ocampo, 2014).

Se puede observar que ambos extractos etanólicos tienen actividad antioxidante, determinado mediante el cambio de color en placa, con el reactivo DPPH, como lo muestran las figuras 22 y 23.



Figura 22. Análisis cualitativo de la actividad antioxidante del DPPH en placa con extracto etanólico de semilla.

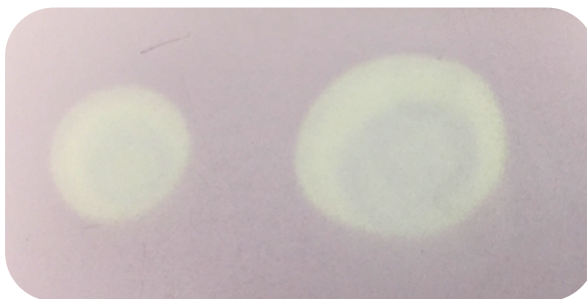


Figura 23. Análisis cualitativo de la actividad antioxidante del DPPH en placa con extracto etanólico de pulpa.

4.4.2. Actividad antioxidante cuantitativa de pulpa y semilla de pataxte

Para evaluar la actividad antioxidante se obtuvieron extractos de pulpa y semilla de pataxte secados en etanol y concentrados en el rotavapor. La actividad antioxidante se realizó por reducción del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), con lecturas de absorbancia a una longitud de onda de 517 nm, usando espectroscopia ultravioleta-visible, donde se utiliza radiación electromagnética de las regiones visibles (la radiación absorbida por las moléculas desde esta región de espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas). Se preparó la solución de DPPH, como blanco se utilizó etanol y como grupo control ácido ascórbico. El DPPH con el radical oxidado presenta un color inicial morado que a medida que se va reduciendo se torna amarillo. Esta diferencia de color permite cuantificar el porcentaje de DPPH reducido; la capacidad antioxidante se calcula como el porcentaje de captación DPPH.

Los resultados cuantitativos de la actividad antioxidante de las semillas y pulpa de pataxte indican que la capacidad antioxidante en semilla, pulpa y control fue del 94%, 41% y 83%, respectivamente a una concentración de 4.6 mg/mL como lo muestra la Figura 24. La capacidad antioxidante de pulpa de pataxte es menor a la del control (ácido ascórbico), sin embargo, la capacidad antioxidante en semilla es mayor que en ácido ascórbico.

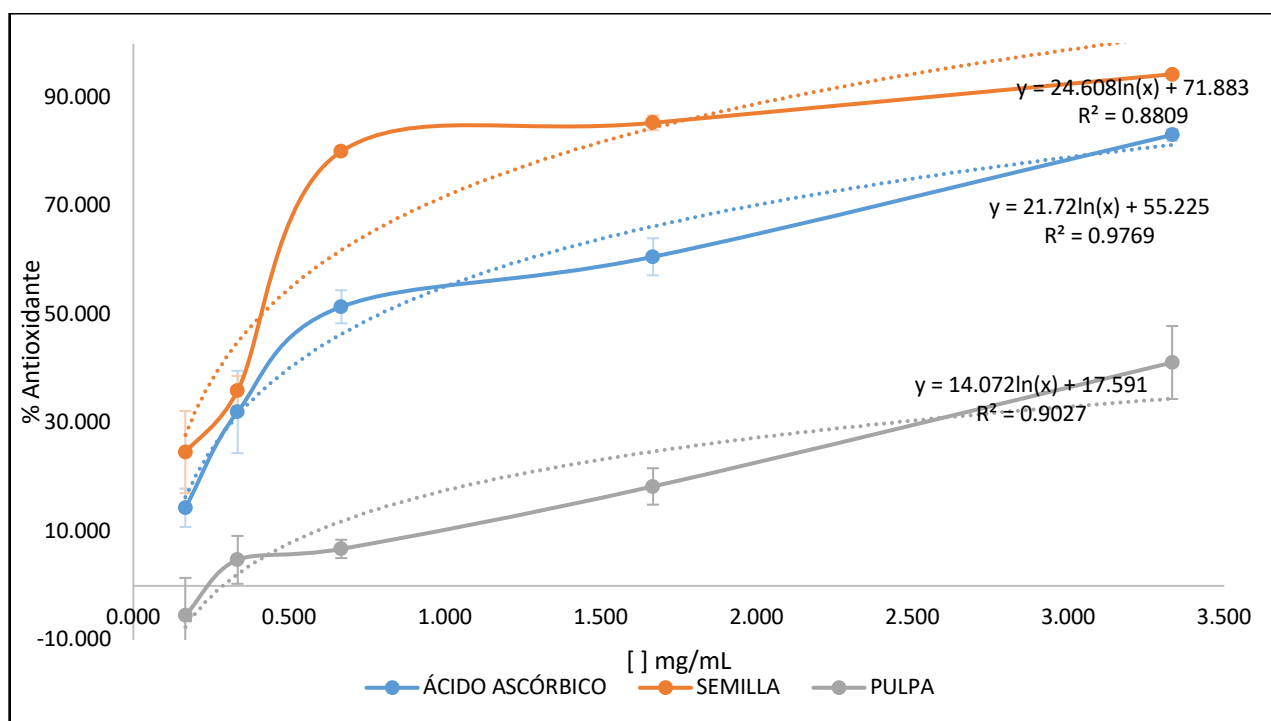


Figura 24. Actividad antioxidante en semilla y pulpa de pataxte, comparado con ácido ascórbico.

En la Tabla 9 se muestra la concentración mínima inhibitoria (IC₅₀) calculada para cada una de las muestras evaluadas. Se observa que la semilla de pataxte es la de menor IC₅₀ (0.41mg/mL), al ser comparado con pulpa y Ácido ascórbico, lo que evidencia que los bajos valores de IC₅₀ presentados en la semilla, son mejores pues necesitan de una menor concentración de la muestra para inhibir el 50 % del radical libre DPPH.

Tabla 9. Concentración inhibitoria IC₅₀ (para inhibir el radical libre DPPH)

Muestra	IC ₅₀
Ácido ascórbico	0.75 mg/mL
Pulpa pataxte	10 mg/mL
Semilla pataxte	0.41 mg/mL

Además, Sotero (2011) realizó un análisis de capacidad antioxidante también en extractos de pataxte, reportó un IC₅₀ de 31.710 mg/mL; en ese mismo análisis, Sotero evaluó la capacidad antioxidante de *Theobroma cacao*, encontrando en semilla un IC₅₀ de 0.52 mg/mL, al compararlos con los resultados obtenidos en semilla, se concluye que la mayor capacidad antioxidante se obtuvo en las muestras analizadas en el presente estudio, en semilla de pataxte (0.41 mg/mL).

4.5. Pruebas fitoquímicas en semilla y pulpa de pataxte

El tamiz fitoquímico es una herramienta en la investigación del potencial biológico y farmacológico. Los análisis fitoquímicos preliminares, han demostrado ser un método adecuado para poner de manifiesto metabolitos secundarios relacionados con actividades biológicas. Se determinó mediante este análisis, que el pataxte contiene alcaloides, taninos, glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas; así como también asegurarnos de la ausencia de glicósidos cianogénicos.

En la Tabla 10 Se pueden observar los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico y los compuestos más abundantes son alcaloides y taninos en semilla.

Tabla 10. Presencia de metabolitos secundarios en extracto etanólico de semilla y pulpa de pataxte.

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO	RESULTADOS PULPA	RESULTADOS SEMILLA
ALCALOIDES	MAYER	(+)	(++)
	WAGNER	(+)	(+++)
	DRAGENDORFF	(+)	(++)
TANINOS	CLARURO FÉRICO	(-)	(+++)
	GELATINA	(-)	(++)
GLUCÓCIDOS CIANOGENICOS	GUIGNARD	(-)	(-)
GLUCÓSIDOS CARDIOTÓNICOS Y LACTONAS SESQUITERPÉNICAS	BALJET	(+++)	(+)

***Interpretación de resultados:** Abundante (+++), Moderado (++), Escaso (+)

Los alcaloides, abundantes en semilla, tienen nitrógeno en su estructura y contiene uno o más átomos de nitrógeno en un anillo heterocíclico. Son derivados de aminoácidos y manifiestan una significativa actividad farmacológica (Martínez *et al.*, 2008).

Los taninos, abundantes también en semilla, químicamente, son polímeros de polifenoles heterogéneos, son ésteres formados por una molécula de azúcar unida a un variable de moléculas de ácidos fenólicos; se han convertido en un tema de interés científico debido a su potencial nutrimental, debido a que se atribuyen beneficios para la salud como anti-diabéticos, anti-mutagénicos y antimicrobianos (Martínez *et al.*, 2008).

Por medio del reactivo de Baijet se obtuvieron abundantes glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas en pulpa. Las lactonas sesquiterpénicas forman parte de los principios activos de una gran variedad de plantas medicinales que son usadas en la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y han mostrado diferentes actividades biológicas tales como antimicrobiana, citotóxica, antiinflamatoria, antibacteriana, anticancerígena, antiviral, antifúngica, efectos en el sistema nervioso central y cardiovascular así como su potencia alérgica (Ruíz, 2015).

La principal propiedad de los glucósidos cardiotónicos es el incremento de la fuerza y velocidad de las contracciones cardíacas, su efecto en el miocardio se produce tanto en los pacientes enfermos como en los de corazón sano, los mejores resultados de su suministro se obtienen en la insuficiencia cardíaca sistólica asociada a miocardiopatías, miocardiopatía isquémica, hipertensión arterial o lesiones valvulares reumáticas. También es útil en pacientes que no se controlan con diuréticos (Casamitjana, 2002).

Otro punto a analizar de la Tabla 10, es la ausencia tanto en semilla como en pulpa de glucósidos cianogénicos, son buenos resultados debido a que se trata de toxinas vegetales. La toxicidad de los compuestos cianogénicos se debe al ácido cianhídrico que se libera durante su hidrólisis. La acción del ácido cianhídrico consiste en la inhibición de la citocromoxidasa, lo que bloquea la respiración celular. La toxicidad esta condicionada por la concentración del compuesto y por el tiempo de exposición al mismo, la dosis letal de ácido cianhídrico en humanos es de 0.5 a 3.5 mg/kg de peso corporal en una sola toma. (Arrázola, 2002).

4.6. Perfil de ácidos grasos semilla

Después de analizar los resultados de las pruebas bromatológicas del presente estudio, se decidió realizar el perfil de ácidos grasos de semilla por cromatografía de gases, debido a que se encontró que la semilla contiene 31% de lípidos. Se obtuvo el espectrograma del perfil de ácidos grasos de la semilla de pataxte, mostrada en la Figura 25, en donde se observa ácido palmítico, ácido linoleico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido mirístico, ácido láurico, ácido araquidínico.

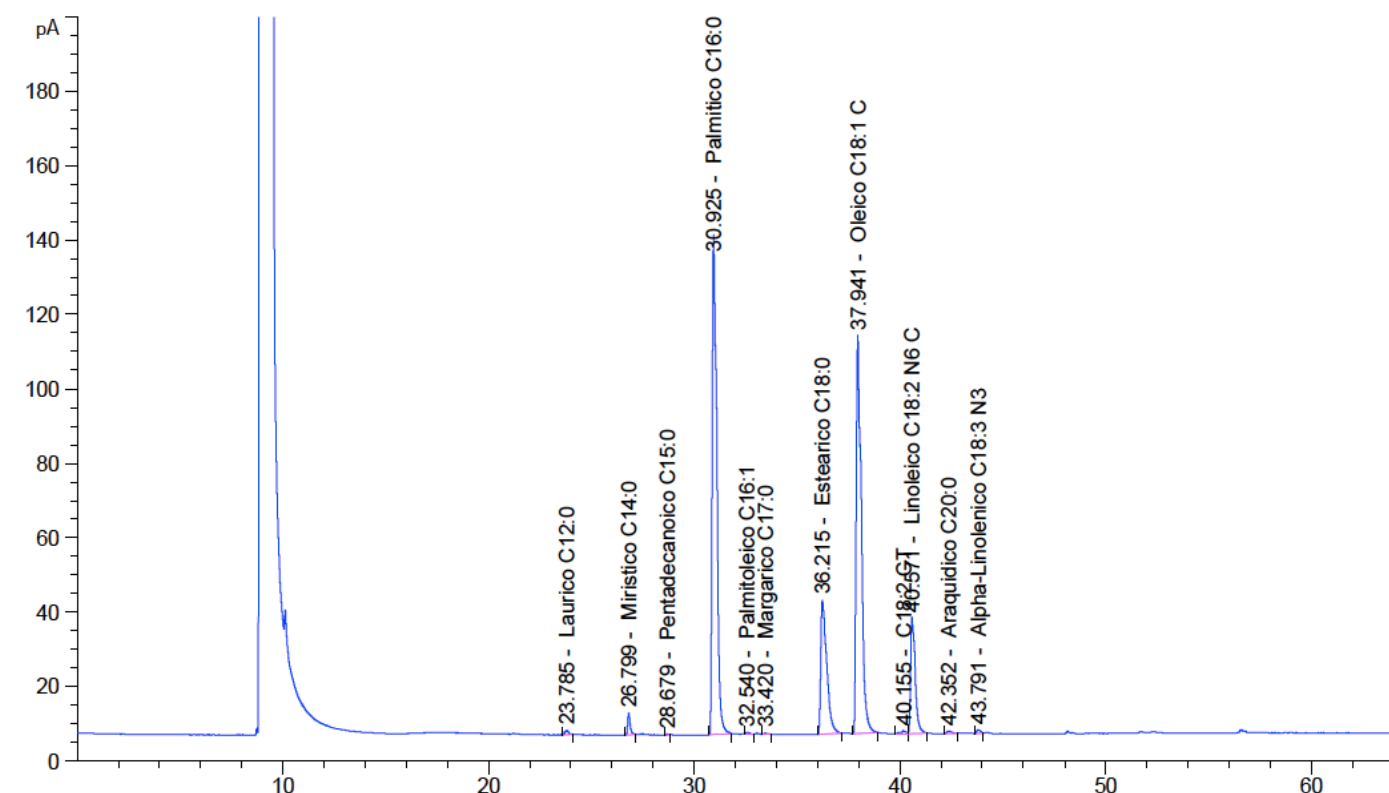


Figura 25. Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de pataxte.

Adicionalmente, en la Tabla 11 se muestra los ácidos grasos mayoritarios presentes, se observa que existe un 39.23% de ácido palmítico, un 35.34% ácido linoleico, 14.04% de ácido esteárico, 9.3% de ácido linoleico y 0.91% de ácido mirístico.

Tabla 11. Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de pataxte.

Ácidos grasos	Nomenclatura abreviada	Porcentaje de abundancia (%)
Ácido palmítico	C16:0	39.23
Ácido esteárico	C18:0	14.04
Ácido oleico	<i>cis9</i> -C18:1	35.34
Ácido linoleico	<i>c9,12</i> -C18:2	9.3
Ácido mirístico	C14:0	0.91

La grasa obtenida de la semilla de pataxte se convierte en una opción de producto con gran valor nutricional y comercial. Al comparar los resultados obtenidos con otros estudios (Tabla 11), se puede

observar que el contenido de ácido palmítico presente en las semillas pataxte es mayor que el reportado en otros estudios y representó el mayor porcentaje en su contenido (39.23%), incluso siendo mayor que la grasa de cacao (26.8%), el grano fresco de cacao “tipo criollo”(31.32%) y que el aceite de copoazú (7.8%); sin embargo, respecto al ácido esteárico, es menor la cantidad (14.04%) respecto a la grasa de cacao (33.6%), el grano fresco de cacao “tipo criollo” (23.1%) y que el aceite de copoazú (32.9%).

La semilla cuenta contiene 35.34% de ácido oléico, siendo mayor que la cantidad presente en el grano fresco de cacao “tipo criollo” (26.72%), pero menor que el cacao (39.9%), este ácido graso monoinsaturado de la serie omega 9, ejerce una acción beneficiosa en los vasos sanguíneos, ayuda a disminuir el colesterol de baja densidad (LDL) o “malo”, reduciendo el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. El ácido linoleico se encuentra en mayor concentración en el pataxte (9.3%) que en las otras grasas: grasa de cacao (2.9%), grano fresco de cacao “tipo criollo” de cacao (7.6%), aceite de copoazú (3.5%), aceite de semilla de mango manila (5.8%); como es bien es conocido, los ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico, están directamente asociados a la prevención o tratamiento de diversas enfermedades, pueden reducir la concentración de triacilgliceroles en la sangre a través de la oxidación de ácidos grasos inhibiendo la lipogénesis, también se suele usar en el control de ciertas enfermedades como la diabetes mellitus y la obesidad debido a que activan mecanismos de oxidación de lípidos, disminuyen la resistencia a la insulina y la esteatosis hepática, en el caso del cáncer pueden servir como agentes citotóxicos para ciertas células tumorales y debido a su efecto hipolipémico y antiinflamatorio, podrían tener efectos benéficos en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Willis y Marangoni, 1999).

Es importante también destacar que el pataxte supera los porcentajes de ácido palmítico (39.23%) y ácido linoleico (35.34%) que los análogos de chocolate untable (19 % y 28.9% respectivamente) o chocolates de repostería (26.5% y 34.4%, respectivamente), lo que indica que podría tener un uso potencial en la industria alimenticia como parte de estos productos.

Tabla 18. Comparación de la composición química del aceite de semilla pataxte y otros alimentos de referencia

Ácidos grasos	Nomenclatura abreviada	Resultados semilla de pataxte (<i>Theobroma bicolor</i>)	Aceite de copoazú. <i>Theobroma grandiflorum</i> (Alviárez, E. 2016)	Manteca de Cacao <i>Theobroma cacao</i> (Lannes <i>et al.</i> , 2004),	Grano fresco de cacao “tipo criollo” <i>Theobroma cacao</i> (Lares, M. 2013)	Grasa de semilla de mango (<i>Mangifera indica</i> L.). cultivo ICA 1841 picuda (López, M. <i>Et al.</i> 2016).	Aceite de semilla de mango manila (<i>Mangifera indica</i> L) (Tapia, M. <i>Et al.</i> 2013)	Análogo de chocolate, untables (Salinas, N. 2012).	Chocolates de repostería (Negro, E. 2019)
Ácido palmítico	C16:0	39.23	7.8	26.8	31.32	10.64	12.2	19	26.5
Ácido esteárico	C18:0	14.04	32.9	33.6	23.1	37.7	32.3	8	33.73
Ácido oleico	<i>cis</i> 9-C18:1	35.34	42.2	34.9	26.72	42.94	45.6	28.9	34.4
Ácido linoleico	<i>c</i> 9,12-C18:2	9.3	3.5	2.9	7.63	5.18	5.8	0.3	0

CONCLUSIONES

En cuanto a los análisis bromatológicos de semilla realizados, la cantidad de hidratos de carbono fue de $41\pm1.17\%$, de proteína $19.5\pm1.87\%$, humedad $4.73\pm0.29\%$, cenizas $3.31\pm0.1\%$, lípidos $30.4\pm2.82\%$. Por otra parte, los resultados bromatológicos de pulpa mostraron la cantidad de hidratos de carbono en $45\pm1.25\%$, lípidos $2.92\pm0.62\%$, proteína $12.4\pm2.92\%$, humedad $37.8\pm2.11\%$, ceniza $3.4\pm0.51\%$.

Respecto a la determinación de contenido de inulina, al comparar el espectrograma del extracto de pulpa con inulina, se encontraron las mismas absorciones infrarrojas; 3300 cm^{-1} (Alcoholes O-H, asociación polimérica), 2900 cm^{-1} (Vibraciones de tensión Enlaces C-H sp^3) y 1050 cm^{-1} (Alcohol primario. Vibraciones de torsión O-H y tensión C-H), lo que sugiere que existe inulina en la pulpa del fruto pataxte, sin embargo, este estudio no es suficiente para afirmarlo.

Relacionado con la actividad prebiótica, de las 2 concentraciones probadas (20/80 y 30/70), el mayor crecimiento microbiano se obtuvo en extracto al 20% tanto en pulpa como en semilla. En pulpa, se obtuvieron recuentos de $4.62\pm0.6\text{ log UFC/mL}$ para *Lactobacillus brevis*, $4.38\pm0.76\text{ log UFC/mL}$ para *Lactobacillus paracasei* y $3.63\pm0.1\text{ log UFC/mL}$ para *Bacillus mojavenensis*. En semilla, se obtuvieron recuentos de $4.82\pm0.64\text{ log UFC/mL}$ para *Lactobacillus brevis*, $4.31\pm0.65\text{ log UFC/mL}$ para *Lactobacillus paracasei* y $3.64\pm0.51\text{ log UFC/mL}$ para *Bacillus mojavenensis*. Por lo tanto, los extractos de pataxte son efectivos para el crecimiento de bacterias lácticas, teniendo el mayor crecimiento *Lactobacillus brevis* al 20% de extracto de semilla.

Cabe destacar que ambos extractos etanólicos tienen actividad antioxidante, determinado mediante el cambio de color en placa, con el reactivo DPPH. La capacidad antioxidante en semilla, pulpa y control fue del 94%, 65% y 88%, respectivamente a una concentración de 4.6 mg/mL, mostrando IC_{50} de 0.41 mg/mL, 0.75 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente.

En cuanto a las pruebas fitoquímicas, resultaron positivas a taninos en semilla; lo que puede justificar su alta capacidad antioxidante obtenida anteriormente y nos indica grandes beneficios a la salud; además, en ambos extractos resultaron positivos para glucósidos cardiotónicos y alcaloides, que son beneficios debido a sus diferentes actividades biológicas tales como antimicrobiana, citotóxica, antiinflamatoria, antibacteriana, anticancerígena, antiviral, antifúngica, efectos en el sistema nervioso

central y cardiovascular. Adicionalmente, ambos extractos, resultaron negativos a glucósidos cianogénicos, lo que quiere decir que no contiene cianuro, que es una sustancia toxica para organismo.

Para cerrar, el perfil de ácidos grasos arrojó un 39.23% de ácido palmítico, un 35.34% ácido linoleico, 14.04% de ácido esteárico, 9.3% de ácido linoleico y 0.91% de ácido mirístico. La grasa obtenida de la semilla de pataxte se convierte en una opción de producto con valor nutrimental debido a contiene el 9.3% de ácido linoleico, ácido graso no saturado esencial, con efectos a la salud tales como asociación a un riesgo menos de enfermedad cardiovascular, efecto protector contra arritmias cardiacas, activan mecanismos de oxidación de lípidos, ayudan a disminuir la resistencia a la insulina y la esteatosis hepática, en el caso del cáncer pueden servir como agentes citotóxicos para ciertas células tumorales y debido a su efecto hipolipémico y antiinflamatorio.

Debido a los resultados obtenidos, confirmamos el potencial funcional de la semilla y pulpa del pataxte.

RECOMENDACIONES

1. Llevar a cabo una determinación que confirme la presencia de inulina en pulpa de pataxte.
2. Someter el fruto a diferentes tratamientos térmicos para conocer el impacto que se genera.
3. Cuantificar la concentración de taninos en semilla, ya que en el presente estudio se llevó a cabo determinación cualitativa.
4. Usar ultrasonido a diferentes ondas para conocer si hay un efecto en presencia de antioxidantes.
5. Compartir la información obtenida con las industrias alimentaria, farmacológica y cosmética.
6. Elaborar una bebida funcional simbiótica, usando como base semilla/pulpa de pataxte.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Alviárez E., Murillo A., Murillo, E., Rojano, B. A., & Méndez A., J. (2016). Caracterización y extracción lipídica de las semillas del cacao amazónico [*Theobroma grandiflorum*]. *Ciencia en desarrollo*, 7(1), 103-109. <https://doi.org/10.19053/01217488.4237>

AOAC International. (1992). *Journal of AOAC International*. AOAC International. <https://academic.oup.com/jaoac>.

Araya, M., Morelli, L., Reid, G., Sanders, M., Stanton, C., Pineiro, M. & Embarek, P. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 1-11.

Arrázola, G. (2002). Análisis de glucósidos cianogénicos en variedades de almendro: implicaciones en la mejora genética (Doctoral dissertation, PhD thesis. Universidad de Alicante, Spain).

Barraza, G., De la Rosa, L., & Martinez, A. (2013). La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Revista latinoamericana de química*, 41(3), 1-8. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432013000300001&lng=es&tlng=es

Batista, L., & Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal (República Dominicana) (2009). Guía técnica el cultivo de cacao. Santo Domingo, República Dominicana: CEDAF.

Carranco Jáuregu, M., Calvo Carrillo, M., & Pérez-Gil Romo, F. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61(3), 1-7. <https://www.alanrevista.org/ediciones/2011/3/art-1/>

- Carvajal Rojas, L., Uribe, Y. H., Sierra Martínez, N., & Rueda Niño, D. (2008). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). Colombia Forestal, 12(0), 161. <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2009.1.a11>
- Casamitjana, N. (2002). Glucósidos cardiotónicos. Acción y usos. *ELSEVIER*, 16(4), 90-94. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-glucosidos-cardiotonicos-accion-usos-13028926>
- CONABIO (2009). Catálogo de autoridades taxonómicas de especies de flora y fauna con distribución en México. Base de datos SNIB-CONABIO, México.
- Corzo, N., Alonso, L., & Calvo, A. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición hospitalaria*, 31(1). <http://www.aulamedica.es/nh/pdf/8715.pdf>
- Cuatrecasas, J. (1964). "Cacao and Its Allies, a Taxonomic Revision of the Genus Theobroma." in *Systematic Plant Studies*, 379–614. Contributions from the United States National Herbarium. Washington, DC: Smithsonian Institution Press.
- De la Cruz, E., & Pereira, I. (2009). Historias, Saberes y Sabores en torno al cacao (*Theobroma cacao* L.) en la subregión de Barlovento, Estado Miranda. *SAPIENS*, 10(2), 97-120.
- Domínguez, A. (1983). Capítulo 3 pruebas químicas preliminares. Métodos de investigación fitoquímica. 1ra ed. Editorial limusa. México.
- Duffendack, O. S. (1940). Chemical Spectroscopy (Brode, Wallace R.). *Journal of Chemical Education*, 17(4), 200. <https://doi.org/10.1021/ed017p200.1>
- Escobar, R. (2008). Comportamiento de seis clones de «cacao» (*Theobroma cacao* L.) en Guasaganda, provincia de Cotopaxi, Ecuador. *La Granja*, 7(1), 9. <https://doi.org/10.17163/lgr.n7.2008.02>

Ewaschuk J. & Dieleman L. (2006). Probiotics and prebiotics in chronic inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 12(37):5941-5950. doi:10.3748/wjg.v12.i37.5941

Febles, C., Soto, C., Saldaña, A. & García, B. (2002). Funciones de la vitamina E: Actualización. *Revista Cubana de Estomatología*, 39(1), 28-32.

Fleves, C. (2002). Funciones de la vitamina E. Actualización. *Revista Cubana de Estomatología*, 40(1), 28-32. <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v39n1/est05102.pdf>

Fuentes, L. (2015). Functional foods: Impact and challenges for development and welfare society colombian. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 13(1). http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612015000200016

Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria. (2009, 11 marzo). Fichas sustancias indeseables alimentación animal: *Teobromina*. http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento45/teobromina%20web.pdf

Gálvez, L. (2016, enero). Pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.): especie subutilizada en México. *Agroproductividad*, 9(1). <https://biblat.unam.mx/es/revista/agroproductividad/articulo/pataxte-theobroma-bicolor-humb-bonpl-especie-subutilizada-en-mexico>

García, D., Mancini, P., Torres, R., & Mancini, J. (2002), Antioxidant activity of Macambo (*Theobroma bicolor* L.) extracts. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104: 278-281. doi:[10.1002/1438-9312\(200205\)104:5<278::AID-EJLT278>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200205)104:5<278::AID-EJLT278>3.0.CO;2-K)

Guija, E., & Inocente, M. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico* (Lima). 10.24265/horizmed.2015.v15n1.08

Hernández, F. & Somolinos, A. G (1956). *Obras completas* (1.^a ed., Vol. 1). Universidad Nacional de México. <https://www.worldcat.org/title/obras-completas/oclc/760032761/editions?referer=di&editionsView=true>

Hernández, M., & Piedad, A. (2016). CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE la grasa de semilla de veinte cultivares de mango (*Mangifera indica L.*) en Colombia. *Revista Brasileira de Fruticultura*. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452016000100010&script=sci_abstract&tlng=es

Juárez, M., Iglesias, M. J., Olano, A., & Fernández-Sanguino, F. (2005). *Alimentos funcionales*. Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT).

Kalvatchev, Z., & Garzaro, D. (1998). *Theobroma cacao L.*: Un nuevo enfoque para nutrición y salud. *Revista agroalimentaria*, 4(6), 23-25. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3233588>

Kjeldahl, J. (1883) Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. [New Method for the Determination of Nitrogen in Organic Substances.] *Zeitschrift für analytische Chemie*, 22, 366-383. <https://doi.org/10.1007/BF01338151>

Lannes, S. (2004). Rheological properties of cupuassu and cocoa fats. *AGRIS: International Information System for the Agricultural Science and Technology*. ISSN : 1988-4214 <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012038961>

Lares, M., Pérez, E., Álvarez, C & Perozo, J. (2013). Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao, durante el beneficio. *Agronomía tropical*, 63(1-2). <http://ve.scielo.org/pdf/at/v63n1-2/art04.pdf>

León, J., Salgado, M., & Sanchez, M. (2014). Ácido linoleico conjugado: de la naturaleza al uso de la biotecnología. *Revista cubana de química*, 26(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212014000300007

Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Corporación Universitaria Lasallista. <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/handle/10567/133>

López, A. (09 de septiembre de 2011). El Chocolate: un arsenal de sustancias químicas. Obtenido de Revista digital UNAM: <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num4/art37/>

Medina C, Jáuregui A, Campos-Nonato I, Barquera S. (2018) Prevalencia y tendencias de actividad física en niños y adolescentes: resultados de Ensanut 2012 y Ensanut MC 2016. *Salud Publica México*. 263-71. Disponible en: <https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/8819>

Merchuk, J. (2003) Modeling of photobioreactors: Application to bubble column simulation. *Journal of Applied Phycology* 15, 163–169 (2003). <https://doi.org/10.1023/A:1023879619535>

Miller, G. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3). DOI: 10.1021/ac60147a030

Mora, M. (2017). *Estudio de la producción de biomasa de lactobacillus a partir de lactosuero de cabra, a escala de laboratorio*. (Tesis Universidad nacional de ingeniería facultad de ingeniería química) Nicaragua. <http://ribuni.uni.edu.ni/1366/>

Negro, E. (2019). Calidad nutricional y origen de los ácidos grasos en chocolates y baños de repostería producidos en Argentina. Cumplimiento de la legislación. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, 39(3). ISSN 0211-6057

NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Norma oficial mexicana. Secretaría de salud.

Ocampo, D., Valverde, C., Colmenares, A., & Isaza, J. (2014). Fenoles totales y actividad antioxidante en hojas de dos especies colombianas del género *Meriania* (melastomataceae). *Revista Colombiana de Química*, 43(2), 41-46.
<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v43n2.53124>

Ogata, N. (2007). Cacao. *Biodiversitas*, 72(1), 1-5.
<http://www.biodiversidad.gob.mx/Biodiversitas/Articulos/biodiv72art1.pdf>

Olveira, G., & González, I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutrición Hospitalaria*, 22(Supl. 2), 26-34.
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000500005&lng=es&tlng=es.

Osborne, d. R. & voogt, p. (1978). Calculation of caloric value. In: "analysis of nutrients in foods". Academic press, new york.

Perez, F., Duarte, J., Jimenez, R. (2009). Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacological Reports*, 61(1), 67-75. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(09\)70008-8](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(09)70008-8)

Quinteros, V., Quinteros, A., Chumacero, J., & Castro, P. (2018). Efecto de la temperatura y tiempo de tostado en la aceptabilidad sensorial de pasta alimenticia de macambo (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl). *Agroindustrial science*, 8(1), 27-31.
<https://doi.org/10.17268/agroind.sciendo.2018.01.04>

Quiñones, J., Trujillo, R. & Hernández, M. (2013). Potencial de actividad antioxidante de extractos fenólicos de *Theobroma cacao* L. *Revista Cubana De Plantas Medicinales*, 18(2).

Ramírez, B. (2013). Actividad antioxidante de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas-México. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 15(1), 27-40.

Ramírez, J. (2012). ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes? *Revista: La ciencia y el hombre. Universidad Veracruzana*, 25(2).
<https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol25num2/articulos/antioxidantes/>

Ríos, M. (2015) Estudio del arte para la elaboración de productos de snack a partir del macambo. (Tesis Universidad de la amazonia peruana.) Iquitos, Perú. <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3931>

Rodríguez, O., Andrade, & Diaz, F. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). *Revista de Tecnología*, 14(2), 1.
<https://doi.org/10.18270/rt.v14i2.1868>

Rojo, F. (s.f.). *Tablas de Espectroscopía Infrarroja*. Universidad Nacional Autónoma de México. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TablasIR_34338.pdf

Rondon, J., & Campos, L. (2005). Revisión Taxonómica del género *Theobroma* (Sterculiaceae) en Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 28(1), 113-134. ISSN: 0084-5906
http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0084-59062005000100007&script=sci_abstract

Rose Wilson, D. (2018, 27 noviembre). *Can probiotics cause side effects?* Medical news today. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/323821>

Roth, I., & Lindorf, H. (1971). Desarrollo y anatomía del fruto y de la semilla de *theobroma cacao*. *Acta botánica venezuélica*. Vol. 6, No. 1/4, 261-295. <Http://www.jstor.org/stable/41740588>

Rubí Arriaga, M., Martínez-De La Cruz, I., Pérez López, D. D. J., Cruz Castillo, J. G., & Guadarrama Martínez, N. (2018). Catálogo de especies frutales presentes en el sureste del Estado de México, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(8), 1509. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i8.831>

Ruiz, E., & Suarez, M. (2015). Lactonas sesquiterpénicas. Diversidad estructural y sus actividades biológicas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 46(1). <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181238817002.pdf>

Ruiz, J. (1993). Alimentos del bosque Amazonico : una alternativa para la protección de los bosques tropicales. *Unesco, Oficina Regional de Ciencia y Tecnología para América Latina y el Caribe UNESCO, Man and the Biosphere Programme (MAB)*, 226-234. <https://portals.iucn.org/library/node/20704>

Rusconi, M., & Conti, A. (2010). Theobroma cacao L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research*, 61(1), 5-13. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.08.008>

Salas, J., & Hernández, L. (2015). Cacao, una aportación de México al mundo. *Uso de plantas mexicanas*, 1(39). https://issuu.com/academiamexicanadeciencias/docs/revista_amc_66_3

Salinas, N., & Bolivar, W. (2012). Ácidos grasos en chocolates venezolanos y sus análogos. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 25(1), 34-41. <https://www.analesdenutricion.org.ve/ediciones/2012/1/art-5/>

Sanhueza, J., Nieto, S., & Valenzuela, A. (2002). Acido linoleico conjugado: Un acido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. *Revista chilena de nutrición*, 29(2), 1. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182002000200004>

Sáyago, G., Vaquero, M. & Sanchez, F. (2008). Utilidad y controversias del consumo de ácidos grasos de cadena media sobre el metabolismo lipoproteico y obesidad. *Nutrición hospitalaria*, 23 (3), 191-202.

Sotelo, L. (2015). Evaluación de epicatequina, teobromina y cafeína en cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.), determinación de su capacidad antioxidante. *Revista colombiana de ciencias hortícolas*, 9(1). http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S2011-21732015000100011&script=sci_abstract&tlng=es

Sotero, V., Maco, M., Vela, J., & Merino, C. (2011). Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en pulpa y semillas de cuatro frutales amazónicos de la familia Sterculiaceae. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 77(1), 66-76. <https://www.redalyc.org/pdf/3719/371937620007.pdf>

Tapia, M., Pérez, B., Cavazos, J. & Mayett, Y (2013). Obtención de aceite de semilla de mango manila (*Mangifera indica* L.) como una alternativa para aprovechar subproductos agroindustriales en regiones tropicales. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 32, 258-266. ISSN: 1405-9282. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=141/14125584009>

Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 853-876.

Tomasik, P. J., & Tomasik, P. (2003). Probiotics and Prebiotics. *Cereal Chemistry Journal*, 80(2), 113-117. <https://doi.org/10.1094/cchem.2003.80.2.113>

Tripathi, M., & Giri, S. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>

Valenzuela B, A., Valenzuela, R., Sanhueza, J., & Morales I, G. (2014). Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Revista chilena de nutrición*, 41(2), 198-204. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182014000200011>

Valenzuela, B. (2007). El chocolate, un placer saludable. *Revista chilena de nutrición*, 180-190. Obtenido de <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182007000300001>

Vallejo E., Rojas, A. & Torres O. (2017). Una poderosa herramienta en la medicina preventiva del cáncer: los antioxidantes. *Residente* Vol.12(3):104-111

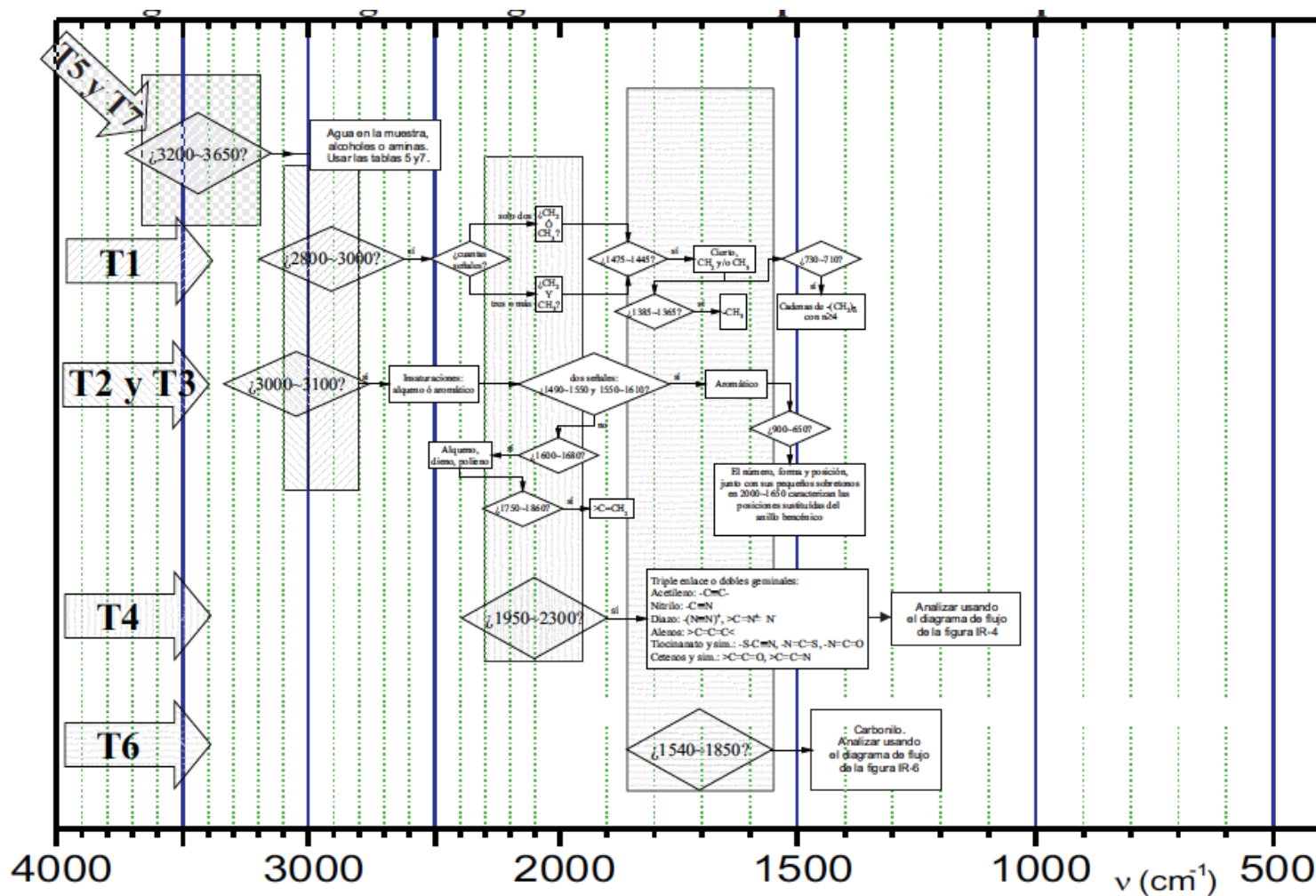
Vargas, L., García, M., Robles, V., & Hidalgo, M. (2019). Extractos de amaranto como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* una bacteria ácido láctica con características probióticas. *Revista Espacio I+D Innovación más Desarrollo*, 8(19), 64-76. <https://doi.org/10.31644/imasd.19.2019.a04>

Vázquez-Ovando, A., Ovando-Medina, I., Adriano-Anaya, L., Betancur-Ancona, D., & Salvador-Figueroa, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(3), 239-254.

Willis, W., & Marangoni, A. (1999). Assessment of lipase- and chemically catalyzed lipid modification strategies for the production of structured lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(4), 443-450. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0022-6>

ANEXOS

ANEXO 1. Algoritmo general de interpretación de espectros de IR.



Fuente: Rojo, F. (s.f.).

ANEXO 2. Tabla de vibraciones de estiramiento del enlace O - H. Alcoholes y fenoles.

Estado del alcohol	Posición, cm^{-1}	Coefficiente ϵ	Forma	Notas
1) Libre, sin asociar:	3640-3610	30-100	Agudo	Medido en fase vapor o en disolventes no polares, pero si estos están húmedos, también aparece la señal del agua en 3710.
Primario, $-\text{CH}_2-\text{OH}$	3640	70		
Secundario, $\begin{array}{c} \text{R} \\ \text{R}' \end{array} > \text{CH}-\text{OH}$	3630	60-50		
Terciario, $\begin{array}{c} \text{R} \\ \text{R}' \\ \text{R}'' \end{array} > \text{OH}$	3620	45		
Fenoles, $\phi-\text{OH}$	3610			
2) Hidroperóxido: $-\text{O}-\text{O}-\text{H}$	3560-3530			
Puentes de hidrógeno:				
3) Dímero $\begin{array}{c} \text{R}-\text{OH} \cdots \text{O}-\text{R} \\ \\ \text{H} \end{array}$	3600~3500		Agudo	No se observa normalmente, por ocultarlo la banda polimérica. También aquí aparecen otros puentes de hidrógeno con éteres, cetonas y aminas
4) Polimérico $\begin{array}{c} \text{R}-\text{O} \quad \text{O}-\text{R} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{R}-\text{OH} \cdots \text{O}-\text{R} \\ \quad \\ \text{R}-\text{OH} \quad \text{H}-\text{OH} \\ \quad \\ \text{R}-\text{OH} \quad \text{R}-\text{OH} \end{array}$	3400~3200	Grande	Ancho	También aquí aparecen las aminas (3500~3200) y la pequeña señal de sobretono del carbonilo. En muestras húmedas aparece la señal de estiramiento H-O-H (3600~3100), en cuyo caso también se observa la flexión en 1640~1615.
Puentes intramoleculares:				
5) Alcoholes polivalentes	3600~3500	50-100	Agudo	
6) puentes π	3600-3500			
7) Puente intramolec. con carbonilos, nitro, etc.	3200~2500		Ancho	Generalmente se pierde bajo la señal de los estiramientos C-H

Fuente: Rojo, F. (s.f.).

ANEXO 3. Tabla de vibraciones de estiramiento del enlace C - OH. Tipos de alcohol.

Tipo de alcohol	Posición, cm^{-1}	Desplazamientos, cm^{-1}	Notas
Primario	1050 (1075~1025)	Ramificación en α : -15	Las insaturaciones pueden ser alquenos o aromáticos. Sobre β y mas lejos no influyen en la posición. Si tanto en α como en α' y α'' hay ramificaciones, descuenta otros 15 cm^{-1} .
Secundario	1100 (1150~1100)	Insaturación en α : -30	
Terciario	1125 (1200~1100)	Anillo en $\alpha-\alpha'$: -50	
Fenoles	1200 (1250~1150)	Insaturación en α y anillo $\alpha-\alpha'$: -90 Dieno conjugado en α : -140	

Fuente: Rojo, F. (s.f.).