



UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE PUEBLA

ESCUELA DE NUTRICIÓN

*Evaluación nutricional, microbiológica y sensorial
de bites tipo chocolate de semilla Theobroma bicolor*

Tesis

Para obtener el grado de Graduado en

Nutrición

Presentado por:

Diana Islas Mexquititla

Directora:

MCA. Diana Morales Koelliker

Co-directora:

Dra. María de Lourdes Meza Jiménez

Puebla, Pue., México

Otoño 2022



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

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

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

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.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	8
1. INTRODUCCIÓN	10
2. MARCO TEÓRICO	11
2.1 Antecedentes generales	11
2.1.1 <i>Theobroma bicolor</i>	11
2.2 Antecedentes específicos	14
2.2.1 Composición nutrimental de <i>Theobroma bicolor</i>	14
2.2.2 Semillas de <i>Theobroma bicolor</i>	15
2.2.3 Estructura física y composición de la semilla	16
2.2.4 Componentes nutricionales de interés en la semilla de <i>Theobroma bicolor</i>	18
2.2.4.1 Propiedades nutricionales de ácidos grasos esenciales de <i>Theobroma bicolor</i>	18
2.2.4.2 Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de <i>Theobroma bicolor</i>	19
2.2.4.3 Compuestos bioactivos en la semilla de <i>Theobroma bicolor</i>	21
2.2.5 Elaboración de alimentos funcionales.....	22
2.2.6 Evaluación sensorial	24
2.2.7 Análisis proximal de alimentos.....	25
3. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	27
4. JUSTIFICACIÓN	28
5. HIPÓTESIS	30
6. OBJETIVOS	31
7. METODOLOGÍA	32
7.2 Tipo de estudio.....	33
7.3 Población y muestra.....	34
7.4 Criterios de inclusión, exclusión y exclusión crítica.....	34
7.5 Métodos y técnicas.....	34
7.6 Recursos humanos, materiales y financieros	43
7.6.1 Recursos humanos	43
7.6.2 Recursos materiales	44

7.5 Recursos financieros	45
7.7 Análisis estadístico.....	47
7.8 Consideraciones éticas	47
7.9 Cronograma de actividades.....	49
8. RESULTADOS	50
9. DISCUSIÓN	72
10. CONCLUSIÓN	76
11. RECOMENDACIONES	77
12. ANEXOS	78
13. REFERENCIAS	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Theobroma bicolor</i> en México	14
Figura 2. Semilla <i>Theobroma bicolor</i>	17
Figura 3. Perfil de ácidos grasos en semilla <i>Theobroma bicolor</i>	22
Figura 4. Limpieza del fruto <i>Theobroma bicolor</i>	53
Figura 5. Rendimiento del fruto <i>Theobroma bicolor</i>	54
Figura 6. Formulación de <i>bites</i>	56
Figura 7. Gráfica de caja de la determinación de humedad en <i>bites</i> de <i>Theobroma bicolor</i>	58
Figura 8. Determinación de humedad.	58
Figura 9. Gráfica de caja de la determinación de cenizas en <i>bites</i> de <i>Theobroma bicolor</i>	59
Figura 10. Determinación de cenizas	60
Figura 11. Gráfica de caja de la determinación de lípidos en <i>bites</i> de <i>Theobroma bicolor</i>	61
Figura 12. Determinación de lípidos.	62
Figura 13. Gráfica de caja de la determinación de proteína en <i>bites</i> de <i>Theobroma bicolor</i>	63
Figura 14. Determinación de proteína.	64
Figura 15. Gráfica de caja de la determinación de proteína en <i>bites</i> de <i>Theobroma bicolor</i>	65
Figura 16. Determinación de fibra.	66
Figura 17. Determinación de moho y levaduras.	67
Figura 18. Determinación de coliformes totales.	68
Figura 19. Determinación de mesófilos	69
Figura 20. Gráfica de caja evaluación de la Textura de las muestras de <i>bites</i> de	71
Figura 21. Gráfica de caja evaluación del color de las muestras de <i>bites</i> de	72
Figura 22. Gráfica de caja evaluación del Aroma de las muestras de <i>bites</i> de	72
Figura 23. Gráfica de caja evaluación del Sabor de las muestras de <i>bites</i> de	73
Figura 24. Gráfica de caja evaluación de la Aceptación global de las muestras de <i>bites</i> de <i>Theobroma bicolor</i>	74
Figura 25. Análisis sensorial. a) Determinación de aceptabilidad de <i>bites</i> en ambas concentraciones (foto de las autoras).	74
Figura 26. Sello del etiquetado frontal para la formulación de 60% de los <i>bites</i> a base de semilla <i>Theobroma bicolor</i>	76

Figura 27. Sello del etiquetado frontal para la formulación de 70% de los *bites* a base de semilla *Theobroma bicolor*.77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Constitución fisicoquímica y nutrimental de <i>Theobroma bicolor</i> (pataxte).....	14
Tabla II. Comparación de la composición química de ácidos grasos en semilla <i>Theobroma bicolor</i> y <i>Theobroma cacao</i>	21
Tabla III. Variables operacionales.....	32
Tabla IV. Formulaciones de bites a base de <i>Theobroma bicolor</i>	36
Tabla V. Recursos financieros	45
Tabla VI. Cronograma	49
Tabla VII. Rendimiento de la semilla y pulpa en los frutos de <i>Theobroma bicolor</i>	51
Tabla VIII. Datos experimentales para determinación de humedad	54
Tabla XI. Datos experimentales para determinación de cenizas	56
Tabla X. Datos experimentales para determinación de lípidos.....	57
Tabla XI. Datos experimentales para determinación de proteína	59
Tabla XII. Datos experimentales para determinación de fibra	61
Tabla XIII. Datos de la determinación de textura	67
Tabla XIV. Datos de la determinación de color.....	68
Tabla XV. Datos de la determinación de aroma	69
Tabla XVI. Datos de la determinación de sabor	69
Tabla XVII. Datos de la determinación de aceptación global	70
Tabla XVIII. Declaración nutrimental de <i>bites</i> a base de semilla <i>Theobroma bicolor</i> en concentración de 60%	72
Tabla XIX. Declaración nutrimental de <i>bites</i> a base de semilla <i>Theobroma bicolor</i> en concentración de 70%	72
Tabla XX. Comparación de la composición entre los <i>bites</i> a base de semilla <i>T.bicolor</i> a 70% y productos de <i>T.cacao</i> a 70%.....	74

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Determinación de humedad.....	36
Ecuación 2. Determinación de cenizas.....	37
Ecuación 3. Determinación de lípidos	38
Ecuación 4. Determinación de proteínas.....	40
Ecuación 5. Determinación de fibra cruda.....	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Carta de no conflicto de interés para el proyecto	78
Anexo 2 Papeleta de evaluación sensorial	79

RESUMEN

Introducción: El *Theobroma bicolor* proviene de la familia *Sterculiaceae*, conocido también como *pataxte*. Es cosechado en México, principalmente en los estados de Tabasco, Chiapas y Oaxaca. Desde la antigüedad la semilla ha tenido una gran utilidad en la elaboración de diversos productos. Así mismo, es una especie que sólo se produce en ciertas fechas del año y es muy poco cultivado, incluso es un alimento que cuenta con propiedades como materia prima para el área agroindustrial y producción alimentaria.

Objetivo: Evaluar la composición nutrimental, la calidad microbiológica y las características sensoriales de *bites* a base de semilla de *Theobroma bicolor* elaborados con concentraciones de 60 y 70%, respectivamente.

Materiales y métodos: Se llevaron a cabo pruebas bromatológicas a *bites* de *Theobroma bicolor* en concentraciones de 60% y 70%, basadas en normas mexicanas para la determinación de humedad (NMX-F-083-1986), cenizas (NMX-F-066-S-1978), proteína (NMX-F-068-S-1980), extracto de etéreo (NMX-F-089-S-1978), fibra (NMX-F-090-S-1978). Así mismo se realizó el análisis sensorial mediante una prueba hedónica en la comunidad estudiantil (licenciatura escolarizada) de UPAEP.

Resultados: De acuerdo al análisis bromatológico, se muestran los porcentajes de humedad $2,20 \pm 0,03\%$ (f60) y $2,79 \pm 0,18\%$ (f70), ceniza $3,93 \pm 0,26\%$ (f60) y $4,69 \pm 0,38\%$ (f70), proteína $8,41 \pm 0,29\%$ (f60) y $9,29 \pm 0,45\%$ (f70), extracto etéreo $47,14 \pm 3,41\%$ (f60) y $51,72 \pm 0,29\%$ (f70), fibra $25,72 \pm 2,22\%$ (f60) y $40,29 \pm 3,55\%$ (f70) en los *bites* en ambas concentraciones de 60% (f60) y 70% (f70). Al referirse a análisis de la inocuidad microbiológica, en la evaluación de moho y levaduras no presentaron ningún microorganismo de interés, así mismo en la prueba de coliformes totales se verificó que se encontraban libres de microorganismos, mientras que, la prueba de mesófilos en la mayormente las diluciones fueron libres de bacterias mesófilas. Respecto a los resultados del análisis sensorial estadísticamente mediante ANOVA fueron sabor ($p=0.000$) y

aceptación global ($p=0.021$) donde hubo diferencia significativa y se evaluó mejor la fórmula 70% (f70), mientras que los que no presentaron diferencia fueron textura, color y aroma.

Palabras clave: *Theobroma bicolor*, composición nutricional, análisis sensorial, producto mexicano.

1. INTRODUCCIÓN

El *Theobroma bicolor* conocido también como *pataxte*, es uno de los árboles del género *Theobroma*, usualmente este crece en zonas silvestres o cultivadas, este es cosechado en México, principalmente en los estados de Tabasco, Chiapas y Oaxaca, se caracteriza por su tamaño ya que es reconocido como los más grandes de los géneros de *Theobroma*. Incluso cuenta con alto potencial nutritivo para la alimentación, como materia prima para la agroindustria y el desarrollo de productos (Parada-Berríos *et al.*, 2019). Además, era utilizado dentro de la gastronomía durante la época prehispánica, durante ese tiempo se consideraba el cacao parte elemental de la mesa mexicana, como por ejemplo para la elaboración de golosinas (mazapán, turrón y melcocha), chocolate (mezcla de semillas de pataxte y cacao), bebidas como atole, pozol, polvillo y popo (Parada-Berríos *et al.*, 2019). Así mismo la producción de este es escasa, debido a que solo se produce en ciertas fechas del año, no obstante, este fruto es muy poco cultivado primordialmente por la falta de información en la población en general de las propiedades y beneficios del mismo, por lo que su aprovechamiento dentro del área culinaria es reducida. (Sanclemente.,2018) Por tal motivo, el presente estudio tiene como finalidad evaluar la composición nutrimental, la calidad microbiológica y las características sensoriales de bites a base de semilla de *Theobroma bicolor* elaborados con concentración de 60 y 70%, respectivamente.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes generales

2.1.1 *Theobroma bicolor*

Sobre los estudios de *Theobroma bicolor* en México, proveniente de la familia *Sterculiaceae* identificados como árboles o arbustos con hojas alternas y flores comúnmente con estaminodios (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016) Morató y Moreno (2017) afirmaron: “El pataxte es un término de origen náhuatl que utiliza para denominar a la semilla *Theobroma bicolor*, especie cercana al cacao que fue extensamente utilizada en la América precolombina. Además, forma parte del género *Theobroma*; término griego que tiene por significado “alimento de los dioses”. Los mayas dieron a conocer el cacao al pueblo azteca quienes lo adoptaron a su cultivo y comenzaron a consumirlo como una bebida preparada con cacao molido, agua y miel, a lo que dieron por nombre Xocolatl que significa “agua espumosa” en náhuatl (Avendaño *et al.*, 2011).

Theobroma bicolor conocida en otras regiones como *pataste*, *pataxte*, *patashte* (ingles), entre otros, es una semilla que crece en regiones del Centro y Sudamérica como lo es Colombia, Venezuela, Brasil, Ecuador (Parada-Berríos *et al.*, 2019). Se han identificado cuatro ecotipos en Chiapas, Oaxaca y Tabasco, al encontrar diferencias en sus formas, colores, sabores, texturas y usos. La semilla de *pataxte* se sitúa en la zona de Soconusco, es la región perteneciente a la costa en Chiapas, como una cosecha complementaria relacionada al *Theobroma cacao*, donde se lleva para venderla en los valles centrales de Oaxaca. Sin embargo, a pesar de toda la situación presente, la cantidad de productores que cosechan el *pataxte*, principalmente mujeres conocidas comúnmente como pataxtleras que tienen conocimiento sobre el procedimiento de fermentación y pudrición, ha disminuido (Morató y Moreno, 2017). Aunado a esto, el chocolate y sus elementos derivados conforman uno de los alimentos más distinguidos a nivel mundial por su aporte nutricional y también sus propiedades sensoriales. (Quinteros *et al.*, 2018). Además de la información

ya obtenida, con respecto a la historia de la semilla, el téjate, una bebida típica de Oaxaca, se elaboraba antiguamente con el *pataxte* de forma natural, esto es, sin someter la semilla por la pudrición (Morató y Moreno, 2017). Dicha semilla proviene de un árbol que lleva por nombre *Theobroma L*, su semilla es de las más grandes de su clasificación y por cosecha crecen alrededor de 15 a 40 frutos, que miden entre 25 y 35 cm de largo y 12 a 15 cm de ancho, reflejando un peso de 0.5 a 3.0 kg (Parada-Berríos *et al.*, 2019).

El *pataxte*, mismo que se conoce en otros lugares como “macambo” sobresale por su elevado valor nutricional con respecto a proteínas e hidratos de carbono. Esta semilla tiene muchas utilidades dentro de la industria, se pueden preparar gran variedad de productos tales como; licor, bebidas frescas y golosinas. Además de las utilidades antes mencionadas, el macambo también se puede consumir natural o en la elaboración de bebidas carbonatadas y helados, aunado a esto, como elemento seco se implementó también en mezclas nutricionales para lactantes y adultos mayores, en la repostería también se puede implementar para la elaboración de derivados del cacao y chocolate (Ríos, 2015).

Desde finales del siglo XIX la semilla ha sido recolectada y ha tenido una gran utilidad en la elaboración de diversos productos. En el estado de Oaxaca el *pataxte* fungía como ingrediente destacado de la bebida tradicional mejor conocida como “téjate” (Rendón., *et al.*, 1998). Además de ser empleado para la elaboración de otros productos, el fruto posee grandes ventajas sensoriales ya que se puede consumir de diversas maneras, entre ellas; asadas, tostadas o naturales (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016). Existe una gran demanda en el mercado nacional y la posibilidad de emplear la pulpa del fruto para la fabricación de mermeladas, néctares, licores, helados, chocolates, bebidas frías y calientes y pulpa refinada. Por otro lado, la semilla se emplea tostada con sal, mezclada con azúcar y achiote para elaborar dulces y brochetas a las brasas porque se refiere que poseen un sabor similar a las habas cocidas.

Por otra parte, de acuerdo a una encuesta realizada a productores de diferentes municipios del Estado de Chiapas, se reportó que el 6% de la siembra corresponde al género de cacao,

Theobroma bicolor. El pataste o pataxte es un género que se encuentra en peligro de extinción, se emplea para el uso local y para realizar combinaciones con el cacao (Avendaño *et al.*, 2011).

a)



b)



c)



Figura 1. *Theobroma bicolor* en México. a) Árbol (Campos, 2010) (PlanetaCacao, 2019), b) Fruto externo (foto de las autoras) y c) Fruto interno (foto de las autoras)

2.2 Antecedentes específicos

2.2.1 Composición nutrimental de *Theobroma bicolor*

El *Theobroma bicolor* posee propiedades nutricionales que lo caracteriza por su alto valor nutricional, además está compuesto principalmente por 23.76% de pulpa, 62.54% de cáscara y 13.20% del peso de la semilla (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016).

Así mismo es un fruto que aporta calorías, minerales, fibra, hidratos de carbono, grasa y proteínas. El tipo de grasa que se encontró en esta, se ha considerado como una manteca de clase buena, debido a que posee una capacidad antioxidante importante. Con respecto a su contenido nutricional, en la Tabla I se muestra esta información detallada en 100 g de la semilla y pulpa *Theobroma bicolor* (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016; Sotelo *et al.*, 1991). Parte de su composición está relacionada con un elevado contenido de ácidos grasos insaturados que son aquellos que establecen el sistema de protección para precaver la oxidación o envejecimiento. Se identificó un 57.64% de ácidos grasos saturados, entre los cuales sobresale el esteárico, respecto a los insaturados se encontró que contiene un 42.3% del cual, el 39.9% sólo pertenece al ácido oleico y el 2.2% al ácido linoleico (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016).

Tabla I. Constitución fisicoquímica y nutrimental de *Theobroma bicolor* (pataxte)

Parámetros	Semilla (100 g)	Pulpa (100 g)
Húmedad (%)	3.55	92.14
pH	6.03	-
Acidez	0.45	-
Cenizas (%)	3.52	1.74
Grasas (%)	50.35	17
Proteínas (%)	49.24	4.79
Carbohidratos (%)	21.3	1.25
Fibra (%)	-	0.83

Gálvez-Marroquin., *et al.* (2016), Sotelo, *et al.* (1991).

2.2.2 Semillas de *Theobroma bicolor*

Actualmente el chocolate es uno de los productos más vendidos, ya que es una pieza clave que no puede faltar en ninguna casa mexicana, ni en ningún restaurante que sirve platillos típicos, por su uso en platos fuertes y en postres. Además, que el *T. cacao* como sus derivados incluyendo el *T. bicolor* tienen un alto potencial como materia prima en la industria.

El tostado de las semillas *Theobroma bicolor*, conlleva un proceso, primero es necesario seleccionar el fruto procurando que se encuentre en buen estado, consecutivamente se extraen las semillas de manera cuidadosa con el apoyo de un cuchillo o machete y de forma manual se retira la pulpa del fruto y las semillas. Así mismo se exponen las semillas a una fermentación controlada a 45-50 °C por 7 días, moviendo y mezclando las semillas cada 24 horas, una vez fermentadas se deja secar por 7 días aproximadamente. Después de ese tiempo se separan nuevamente, seleccionando las de buena apariencia y calidad además se debe almacenar en bolsas de polietileno de alta densidad con el fin evitar el paso de la humedad y evitar algún deterioro. El tostado de las semillas de *T. bicolor*, se necesita debe ser a 130-150 °C en una estufa durante 25 a 35 minutos, esta acción permite amplificar la interacción compleja entre los precursores del sabor y el aroma. Por otra

parte, para utilizar las semillas en forma de pasta, se deben triturar hasta lograr una mezcla homogénea (Quinteros *et al.*, 2018).

2.2.3 Estructura física y composición de la semilla

La semilla de *pataxte* es una baya que mide entre 14 y 25 cm de longitud (Baudillo y Cubana, 2005). Su forma es ovalada plana, tiene un recubrimiento de un arilo grueso y fibroso, con sustancioso color (González y Torres., 2010). El arilo maduro del fruto se puede comer, tiene un sabor característico agradable, agridulce y también un aroma fuerte. (Quinteros *et al.*, 2018) señala que las semillas están cubiertas por pulpa blanca o amarilla de olor penetrante y sabor dulce, además un aroma similar a la guayaba y papaya.

a)



b)



c)



Figura 2. Semilla *Theobroma bicolor*. a) Semilla con cascara (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016), b) Semilla sin cáscara (foto de las autoras) y c) Semilla tostada y sin cáscara (Javaux y Terrien, 2021).

Algunos autores mencionan que el contenido nutrimental en el *T. bicolor* en las semillas depende de la variedad y de las condiciones ambientales por ejemplo la estación del año, condiciones climáticas y el tipo de suelo en donde es cultivado. El contenido de grasa en la semilla según Parada-Berríos *et al.* (2019) es de un aproximado de 33.81%. Al mismo tiempo, el contenido de hidratos de carbono varía dependiendo de forma en la que se recolectan los frutos, la etapa en la que se encuentre desde comienza a crecer hasta la maduración, además del tipo de genotipo, tiene 35.02 % de carbohidratos (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016; Parada-Berríos *et al.*, 2019).

En cuanto a las propiedades de proteína en ocasiones se identifican como elementos clave del valor nutricional debido a que son una fuente de péptidos bioactivos, en cambio pueden llegar a ser tóxicas o alergénicas en algunas personas. En el *T. bicolor* existe una actividad de proteasas y globulinas por lo que permiten la formación de precursores de aroma en el cacao. Por otro lado, el contenido de proteína es mayor destacado en las semillas que en la pulpa del producto, un aproximado de 31.3 mg/g (Pérez Moraa *et al.*, 2018). Es sustancial enfatizar que los micronutrientes en nuestro organismo permite diferentes funciones en nuestro cuerpo, entre ellos los minerales son importantes para las enzimas y las hormonas, aquellos indispensables o de mayor importancia en el ser humano son el calcio, fósforo, magnesio, potasio, cloro y azufre. Con respecto al contenido de algunos minerales en la semilla, aquellos que se encuentran en mayor concentración como el fósforo es de 0.26 mg y 9.3mg de potasio, al mismo tiempo el contenido de fibra cruda es de 11.64% (Parada-Berríos *et al.*, 2019).

2.2.4 Componentes nutricionales de interés en la semilla de *Theobroma bicolor*

2.2.4.1 Propiedades nutricionales de ácidos grasos esenciales de *Theobroma bicolor*

Los ácidos grasos son moléculas conformadas por átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno ordenados como una cadena de carbono con un grupo llamado carboxilo que se representa como -COOH en su extremo. De acuerdo a la longitud de su cadena, número, posición y configuración de dobles enlaces se puede clasificar en saturados, monoinsaturados o poliinsaturados. Los ácidos grasos insaturados poseen ácidos grasos con uno o más dobles enlaces en su molécula, se clasifican en ácido alfa linoléico (OMEGA-3), ácido linoleico (OMEGA-6) y ácido oleico (OMEGA-9) (Sanhueza *et al.*, 2015). Estos componentes se pueden obtener de la propia dieta a través de diversos alimentos: aceites de maíz, soya, aguacate, olivo, almendras, cacahuates, nueces, semillas de girasol, pepitas, aceitunas, salmón, atún blanco, pescado, sardina, arenque, entre otros. Debido a que favorecen la salud cardiovascular, el mantenimiento del sistema respiratorio, circulatorio y el cuidado de la piel y cabello; a su vez desarrollan múltiples funciones del organismo, como: disminuir la inflamación y proteger contra enfermedades cardiovasculares, así como también previene la formación de coágulos, colabora al mantenimiento cerebral, ayuda a la prevención de niveles de colesterol alto, etc; es importante consumirlos y hacerlos parte de nuestra vida diaria. Desde una perspectiva nutricional la relación en el consumo de dichos ácidos grasos debe ser (2:1) de ácido graso Omega-6: Omega 3 respectivamente (Coronado *et al.*, 2006).

Los ácidos grasos esenciales son aquellos que el organismo no puede sintetizar por sí solo a través de mecanismos metabólicos y se deben obtener a través de la dieta porque no se cuenta con las enzimas necesarias. Es recomendado que el consumo diario de los ácidos grasos esenciales monoinsaturados y poliinsaturados linoleico y alfa-linolénico, respectivamente, represente entre 1 y 2% de los lípidos totales de la dieta. En la serie OMEGA 6, se encuentra el ácido araquidónico (AA), uno de los más relevantes, tanto de la vía de la ciclooxigenasa como de la lipooxigenasa. Sirve como sustrato de la 5-LOX de neutrófilos para generar el leucotrieno A4 (LTA4) y B4 (LTB4), y así presentar un proceso inflamatorio, particularmente participan sustancias proinflamatorias como citocinas,

prostaglandinas, neuropéptidos y estímulos fisicoquímicos, estos inducen mecanismos de retroalimentación negativa mediante la generación de mediadores solubles y proteínas de señalización que permiten la regulación y resolución del proceso inflamatorios. En la serie OMEGA 3 se encuentran dos importantes ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga; el ácido eicosapentaenoico y docosahexaenoico los cuales evitan la inflamación ocasionada por los eicosanoides lo que les brinda la característica de antioxidantes (Cervantes *et al.*, 2014; Ibañez., 2018).

2.2.4.2 Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Theobroma bicolor*

Para la obtención del aceite de semilla, conocido como manteca vegetal, la grasa de las semillas es extraída mediante un prensado mecánico, filtración o centrifugación. La mayoría de los frutos que contienen semillas son comercializados para su uso comestible y para la aplicación industrial. Por ejemplo: se utilizan como aditivos para baños, lociones, cremas y jabones, pero también es conocido su alto uso en la cocina para la elaboración de postres y platillos típicos (Rodríguez-Pérez., 2005). La manteca vegetal tiene una vida útil limitada influida por su valor nutricional, la zona de cultivo, latitud, tipo de tierra y cuidados. Por otra parte, se puede almacenar bajo ciertas condiciones que amplían su vida de anaquel; por ejemplo, en un lugar fresco y protegido de la luz, para mantenerse intacta hasta por 2 años (Rodríguez-Pérez, 2006).

El *Theobroma* tiene diferentes especies, entre las cuales se encuentran *T. cacao*, *T. grandiflorum* y el *T. bicolor*, los tres contienen ácidos grasos insaturados entre 34.5% a 45.6% (Rodríguez-Pérez, 2006).

El *Theobroma bicolor* está compuesto de ácidos grasos insaturados, como omega 6 y 9, en proporción más alta se puede observar que el contenido de ácido oleico (35.34%) es mayor comparado otras especies, en la manteca de *Theobroma cacao* contiene (31.2 – 32.1%), dentro de sus funciones del ácido oleico se distingue su capacidad de reducir el colesterol de baja densidad (LDL) actuando como protector del sistema cardiovascular. Por otro lado, el ácido linoleico en *T. bicolor* se encuentra en mayor concentración (9.3%) que en la manteca de *T. cacao* (2.27 – 2.43%) este un ácido graso poliinsaturado pertenece

al grupo de los omegas 6 que se obtiene a partir de la hidrólisis, a partir de él, el cuerpo obtiene energía y produce otros ácidos grasos como por ejemplo el ácido araquidónico, además que protege el sistema inmunológico, reduce la concentración de triglicéridos en la sangre a través de la oxidación de ácidos grasos inhibiendo lipogénesis así como disminuir el riesgo de presentar enfermedades crónicas degenerativas (Jiménez y Palacios., 2021; y Castillo *et al.*, 2020).

Así mismo cuenta con ácido palmítico (39.23%), caracterizado por ser un aditivo utilizado en la industria de alimentos principalmente por sus propiedades como antiespumante y estabilizante para la elaboración de repostería, chocolates y derivados. Es importante mencionar que incluso contiene ácido esteárico (14.04%) sin embargo en menor proporción con relación a la manteca de *T.cacao* (35.47 - 36.29%) (Jiménez y Palacios., 2021; y Castillo *et al.*, 2020). La Tabla II muestra la composición de ácidos grasos de la semilla de *T. bicolor* comparado con el *T. cacao* en diferentes presentaciones.

Tabla II. Comparación de la composición química de ácidos grasos en semilla *Theobroma bicolor* y *Theobroma cacao*.

Ácidos grasos	Nomenclatura abreviada	<i>Theobroma bicolor</i> (%)	Barras de chocolate <i>Theobroma cacao</i> (%)	Manteca de cacao <i>Theobroma cacao</i> (%)	Masa de cacao <i>Theobroma cacao</i> (%)
Ácido palmítico	C16:0	39.23	35.78	-	28.41
Ácido esteárico	C18:0	14.04	23.94	35.47 – 36.29	36.39
Ácido oleico	<i>cis</i> 9-C18:1	35.34	31.43	31.2 – 32.1	29.90
Ácido linoleico	<i>c</i> 9,12-C18:2	9.3	5.04	2.27 – 2.43	3.10
Ácido mirístico	C14:0	0.91	-	-	-

% , Porcentaje

Adaptado de: (Aldas y Revilla., 2020; Jiménez y Palacios., 2021; Díaz y Hernández et al., 2020; y Castillo *et al.*, 2020).

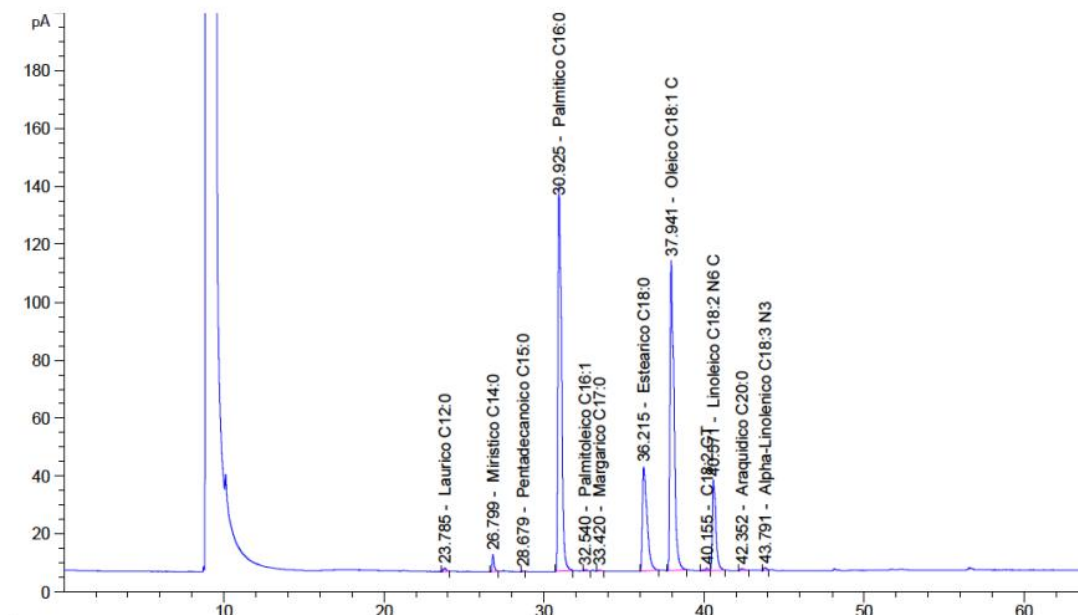


Figura 3. Perfil de ácidos grasos en semilla *Theobroma bicolor* (Castillo *et al.*, 2020).

2.2.4.3 Compuestos bioactivos en la semilla de *Theobroma bicolor*

Se conocen como componentes bioactivos a aquellos que además de cumplir con el requerimiento básico ejercen un efecto positivo adicional sobre la salud. Están presentes en diferentes alimentos que tienen influencia sobre la actividad celular y mecanismos fisiológicos (Hidalgo, 2018).

El fruto de *Theobroma bicolor* posee teobromina, cuya concentración más alta se encuentra en su cáscara con 925 mg y continúa en las flores con 725 mg en 100 g del fruto. Dicho compuesto de teobromina es un alcaloide de origen natural derivado de la purina, es importante debido a los efectos que ejerce sobre la salud, brinda un efecto estimulante sobre el sistema nervioso central (SNC), disminuyendo la fatiga, restaura la sensación de alerta, mejora la calidad del sueño, brinda claridad de pensamiento y una mejor coordinación corporal (Hidalgo, 2018).

Los ácidos grasos insaturados mencionados previamente son moléculas que cumplen múltiples funciones en el organismo, constituyen gran parte de la membrana de diversos tejidos de las células, son iniciadores del ácido araquidónico el cual es vital para darle endurecimiento a la mitocondria y son necesarias para la producción de hormonas prostaglandinas. Estos ácidos grasos influyen en la conservación de la piel, el cabello y el ciclo reproductivo, regulación de metabolismo de colesterol, favorecen la absorción de nutrimentos, regula la contracción muscular y de tensión arterial, además promueve y fortalece el desarrollo de células sanas (Badui, 2006).

2.2.5 Elaboración de alimentos funcionales

Los hábitos de alimentación de diferentes países han cambiado, pero principalmente en México, la mayor parte de comidas se centra en alto consumo de azúcares o grasas saturadas, cada vez son más comunes las enfermedades crónico-degenerativas relacionadas con la nutrición como la obesidad, diabetes, dislipidemias e hipertensión o problemas con el corazón. Durante la primera mitad del siglo XX, la buena alimentación consistió en consumir nutrientes esenciales, sin embargo, a finales del siglo XX, se comenzaron a comercializar alimentos industrializados con algunos compuestos bioactivos. Por ello, los alimentos funcionales se caracterizan por que contiene los nutrientes básicos, además tiene un efecto beneficioso para la salud ya que se agregan componentes biológicamente activos que cumplen una función específica. Así mismo ejercen su actividad en múltiples sistemas, especialmente el gastrointestinal, cardiovascular e inmunológico (Arias *et al.*, 2018).

Los alimentos funcionales se clasifican en seis categorías: prebióticos, probióticos y simbióticos, enriquecidos en fibra, ácidos grasos, compuestos fenólicos, fitoestrógenos, flavonoides y carotenoides. Los probióticos son el conjunto de alimentos fermentados por bifidobacterias y lactobacilos, en la industria alimentaria uno de los productos más comunes elaborados a partir de esta, es el yogurt y otros derivados lácteos fermentados. En cambio, los prebióticos se consideran el sustrato trófico del probiótico, los fructanos

tipo inulina (oligosacáridos no digeribles: inulina, hidrolizados enzimáticos de la inulina, oligofruetosacáridos (C2-10), fructosacáridos sintéticos de cadena larga) han sido unos de los pocos datos expuestos por las diferentes investigaciones, en manera natural se encuentran en el trigo, la cebolla, los plátanos, el ajo y los puerros. Asimismo, los simbióticos son el conjunto de un probiótico con un prebiótico, algunos de los productos vistos en la industria son los preparados lácteos ricos en fibra fermentados por bifidobacterias (Silveira *et al.*, 2003). Con relación a aquellos enriquecidos con fibra, la fibra dietética se aplica a aquellas sustancias de origen vegetal, en su mayor parte hidratos de carbono, no digeridas por las enzimas humanas y con la peculiaridad de ser parcialmente fermentadas por bacterias colónicas, los alimentos más usuales para este tipo de alimentos funcionales son panes, bollos y bebidas a otros tan variopintos como fiambres, patés o embutidos (Silveira *et al.*, 2003).

Por otra parte, los ácidos grasos, dentro de los de mayor importancia son las grasas insaturadas como ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) tipo omega 3, el ácido docosahexaenoico (DHA) y el eicosapentaenoico (EPA), algunos de los estudios realizados han sido enriqueciendo la dieta de las aves con aceite de pescado, linaza o colza. Los compuestos fenólicos constituyen al grupo de los micronutrientes como: fenoles, ácidos fenólicos, antocianinas, triterpenos, compuestos sulfurados, resveratrol, tioalilos, entre otros, siendo metabolitos secundarios de las plantas, dentro de las investigaciones relevantes se ha visto en frutas y verduras evaluando su pulpa o cáscara. En cambio, los fitoestrógenos, entre ellos las isoflavonas son compuestos bioactivos que poseen similitud estructural con los estrógenos, lo mayor visto en la industria es para la prevención o tratamiento de cáncer, unas de las estudiadas ha sido la soya, trigo y centeno. Los flavonoides son un grupo diverso de fitonutrientes, usualmente aquellos ricos en compuestos polifenólicos, son miel de abejas y propóleo e incluso frutas, verduras, semillas y flores. Además, los carotenoides compuestos antioxidantes, normalmente reportados en alimentos funcionales, son capaces de inhibir o retrasar las causas por los radicales libres, entre las investigaciones realizadas han sido en papas con altos niveles de

compuestos bioactivos como antocianinas y β -caroteno, además en harina de alga (*Ulva clathrata*) rica en carotenoides en la tortilla de maíz (Silveira *et al.*, 2003).

2.2.6 Evaluación sensorial

El análisis sensorial surgió durante la Segunda Guerra Mundial cuando la industria de alimentos buscó preparar las raciones para los soldados, esto con el objetivo de que dichos alimentos fueran atractivos y apetecibles (Calí, 2020).

La evaluación sensorial es un método empleado para valorar la calidad y características organolépticas de los alimentos a través de los sentidos y con base en esto es como se acepta o rechaza. Este tipo de proceso se realiza de manera estructurada con personal capacitado para identificar las características del producto y brindar un veredicto (Badui., 2006). El análisis sensorial de alimentos se realiza de modo normalizado, es decir, requiere el empleo de técnicas especializadas y estandarizadas con el objetivo de reducir la subjetividad de las respuestas. Es también importante considerar que está basado en un método experimental para evitar fallas psicológicas relacionadas con las muestras del alimento que evaluarán los jueces, se debe considerar que el lugar sea adecuado, la preparación y presentación de las mismas. Se utilizan balanzas, herramientas de medición indicadas y frascos codificados. Es imprescindible contar con un Panel de Evaluación Sensorial porque todos tienen alguna incapacidad sensorial que no permite reconocer determinadas moléculas porque el sistema neurológico no lo permite, sin embargo, dentro del Panel mencionado, lo que no puede identificar uno de los miembros, otro lo realiza (Calí, 2020).

El análisis sensorial requiere de diferentes aspectos, los aspectos ambientales se refieren a las interferencias que pueda afectar durante las pruebas, por ello según los expertos se recomienda contar con dos áreas independientes, es decir, la de preparación de muestras y la de evaluación. Durante este proceso, de manera ideal, la sala de evaluación debe estar dividida en cabinas con el fin de evitar distracciones y comunicación entre cada uno de los evaluadores, en cuanto a los aspectos prácticos, consiste en la unificación de las

muestras a evaluar, por ejemplo, la presentación, el efecto de contraste, el efecto de convergencia, preparación de muestras, temperatura, codificación, tamaño y cantidad de muestras y utensilios empleados. Así mismo, los aspectos informativos se enfocan únicamente a la organización e indicaciones antes de iniciar un análisis para un exitoso proceso y los aspectos humanos, en sí la participación de cada uno de los participantes, desde el punto de vista psicológico como fisiológico (Manfugás., 2020). Por otra parte, existen diferentes de pruebas sensoriales que se ponen en práctica en cada una de los diferentes análisis que pueden existir, como prueba de identificación de sabores básicos, prueba de umbral para el sabor, prueba de detección y reconocimiento de olores, prueba de identificación de colores primarios, prueba de identificación de textura, pruebas triangulares, entre otras (Manfugás., 2020).

2.2.7 Análisis proximal de alimentos

El análisis proximal de alimentos es la doctrina que se encarga del desarrollo, uso y estudio de los métodos analíticos para evaluar las características y constituyentes de la materia orgánica de los alimentos, tales como; humedad, cenizas, proteína, lípidos y fibra cruda. La información recabada a través de este método es de gran relevancia para la comprensión de los elementos que precisan las características de los alimentos y su composición nutrimental. El método que se seleccione está relacionado con las propiedades que requiera medición, el tipo de alimento a analizar y la justificación de llevar a cabo el análisis (Fon y Zumbado., 2019). Este análisis químico asume un papel muy importante para la nutrición y la industria, a través de estos procesos se puede conocer la calidad del alimento, las condiciones que debe llevar para que el mantenimiento sea efectivo y ayuda también a comprender los factores que determinan las propiedades del alimento, así como la habilidad para desarrollar y producir alimentos que sean nutritivos, atractivos y seguros para quien los consume (Muñoz *et al.*, 2014).

Dentro del análisis proximal se realizan diferentes pruebas bromatológicas para determinar las propiedades de los alimentos, por tanto la humedad es necesaria para las determinaciones analíticas sobre bases uniformes, estas son los solvente o medio de dispersión, adsorbida por la superficie interna o externa o por finos capilares por medio de la condensación capilar y la agua de hidratación, dentro de los métodos más comunes es el secado al horno, así mismo la determinación de cenizas representa su residuo inorgánico, después de que la porción orgánica y otras sustancias volátiles han sido oxidadas y evaporadas, el metal de esas sales forma un óxido o reacciona con otros aniones de la matriz. Por medio de la determinación de grasa, se puede obtener el contenido lipídico, incluyendo triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, fosfolípidos, esteroides, ácidos grasos libres, vitaminas liposolubles, pigmentos carotenoides, clorofila, etc. Usualmente uno de los métodos mayormente practicados es la extracción sólido-líquido. También la determinación de proteína el principal principio del método se basa en que la muestra es digerida en ácido sulfúrico en presencia de un catalítico y finalmente es destilada por hidróxido de sodio. Así mismo la determinación de fibra es considerada como una medida de la cantidad de componentes de origen vegetal que se encuentran en un alimento, sus métodos se clasifican en dos gravimétricos y métodos enzimático-químicos (González., 2004).

3. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

El *Theobroma bicolor* (*pataxte*, en México) es una especie de cacao de consumo importante en el siglo XVI sin embargo, a diferencia de otras especies de cacao, su producción y utilización se ha visto afectada con elevados costos económicos, ambientales y sociales debido a la presencia de una enfermedad fúngica llamada moniliasis que afecta de manera negativa la rentabilidad del cultivo y ha acabado con las plantaciones y árboles de *Theobroma bicolor*, por el elevado costo de emplear fungicidas y otras sustancias que no son efectivas y costosas (Avendaño *et al.*, 2011; Morato y Moreno., 2017). Existe un escaso manejo de dichas plantaciones debido al descuido de los productores y derrumbe de las cosechas por el deteriorado rendimiento, lo que nos lleva a la disminución y posteriormente pérdida de diversidad genética del cacao (Arrazate *et al.*, 2011). En México, el principal uso del *pataxte* es fomentar la maduración de otros frutos, de este modo se brinda una oportunidad de variedad en el mercado de las frutas exóticas que de otra manera se dificultará su distribución a nivel nacional. De las diversas especies de *Theobroma*, el *Theobroma cacao* es el que se cultiva para su comercialización. Otros tipos, como el *pataxte*, a pesar de sus cualidades nutrimentales y sensoriales, es una especie mesoamericana subutilizada que está en riesgo de desaparecer. En nuestro país existe evidencia de la existencia de cuatro ecotipos de *pataxte*, en su mayoría 1) fruto rugoso con pericarpio rugoso, después el 2) fruto de pericarpio liso, 3) fruto rugoso y, por último, el 4) fruto rugoso de cáscara suave (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016).

Actualmente el *Theobroma bicolor* funge como materia prima para el área agroindustrial y producción alimentaria por sus propiedades nutraceuticas como chocolate gourmet de gran calidad. No obstante, en México no se ha logrado explotar al máximo dicho fruto como demuestra la evidencia en otros países: en Perú y Colombia se elaboran diferentes productos como helado, atole, bebidas frescas y carbonatadas, licores, golosinas, entre otras (Gálvez-Marroquin *et al.*, 2016). La pregunta de investigación del presente estudio es: ¿Cuáles son las características nutrimentales, sensoriales y microbiológicas de *bites* de semilla de *Theobroma bicolor* (*Pataxte*)?

4. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que *Theobroma bicolor* es un fruto endémico mexicano cuya pulpa y semilla son comestibles y poseen gran valor nutricional, es un fruto poco conocido por las poblaciones de las ciudades (Avendaño *et al.*, 2011). Como ya se ha revisado en otras fuentes, la semilla de *Theobroma bicolor* posee un contenido nutrimental rico en proteínas y grasas, lo que ya lo convierte en un elemento útil para favorecer en la prevención y disminución del riesgo de enfermedades no transmisibles a la población en general. Con estas propiedades se puede emplear en la elaboración, enriquecimiento o mejora de las características y aceptabilidad general de otros productos del mercado ya existentes como suplementos o nuevos productos como snacks y aperitivos.

La elaboración de los *bites* de semilla de *Theobroma bicolor* es una opción saludable de snack que podría beneficiar a la población general por sus propiedades nutrimentales entre las cuales destaca el contenido porcentual significativo de ácidos grasos esenciales (omega 6 y 9) entre ellos, el ácido oleico y linoleico que al ser ácidos grasos insaturados ejercen un efecto celular protector frente a los procesos oxidativos y conllevan menor asociación de enfermedades (Castillo *et al.*, 2020). Además, las ventajas de sus características físico-químicas donde la humedad refleja un valor porcentual bajo que permite que el producto se pueda almacenar durante más tiempo; y sensoriales, ya que la semilla de *Pataxte* posee un sabor, textura, olor y color agradable para los sentidos.

Además, en la actualidad en los campos de cultivo se produce con mayor frecuencia el *T. cacao*; sin embargo, existen una gran variedad de tipos de cacao entre estos, el *Theobroma bicolor*, pero los agricultores no le dan el uso correcto, usualmente solo utilizan como madurante de frutas o lo ingieren como fruta de temporada. Así mismo a pesar de su amplio potencial nutricional, tiene una baja importancia en la industria y la elaboración de productos novedosos en el país, por lo que representa un ejemplo del potencial y la diversidad agrícola desaprovechada.

Por las propiedades mencionadas, este producto es un alimento nutritivo y una alternativa saludable para la población por su contenido de nutrimentos, al mismo tiempo es esencial

promover el consumo de estos alimentos ya que son parte de nuestra gastronomía mexicana, cultura y tradiciones.

5. HIPÓTESIS

Hipótesis nula (H0): Las características nutrimentales, sensoriales y la calidad microbiológica no presentan diferencias entre las formulaciones de *bites* con concentración de 60% y 70% de *Theobroma bicolor*.

Hipótesis alterna (H1): La formulación de *bites* con 70% de *Theobroma bicolor* presentan mejores características nutrimentales y calidad microbiológica pero menor aceptabilidad sensorial que la formulación de *bites* con concentración de 60% de *Theobroma bicolor*.

6. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la composición nutrimental, la calidad microbiológica y las características sensoriales de *bites* a base de semilla de *Theobroma bicolor* elaborados con concentración de 60 y 70%, respectivamente.

Objetivos específicos

1. Procesar el fruto de *Theobroma bicolor* para la obtención de las semillas para obtención de la materia prima para la elaboración de los bites.
2. Optimizar las formulaciones de los *bites* de semilla de *Theobroma bicolor* en 2 concentraciones (60 y 70%).
3. Determinar la composición nutrimental de las 2 formulaciones de *bites* de semilla de *Theobroma bicolor* mediante el análisis bromatológico completo (humedad, cenizas, proteínas, fibra y grasas totales).
4. Identificar las características sensoriales (olor, sabor, color, textura, aceptabilidad general) de las 2 formulaciones de *bites* de semilla de *Theobroma bicolor* mediante una escala de Likert.
5. Evaluar la inocuidad microbiológica de las 2 formulaciones de bites de semilla de *Theobroma bicolor*.

7. METODOLOGÍA

7.1 Operacionalización de las variables

Tabla III. Variables operacionales

Variable	Clasificación	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Instrumento
Lípidos	Cuantitativa continua	Grupo de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno, que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque también contiene fósforo, y nitrógeno (Badui Dergal, 2006)	Se determinará la cantidad de lípidos que contiene los bites de semilla de pataxte por el método utilizado NMX-F-089-S-1978	Porcentaje (%)	Metodología Soxhlet de la NMX-F-089-S-1978
Proteínas	Cuantitativa continua	Las proteínas son grandes moléculas de aminoácidos, y se encuentran en los alimentos de origen animal y vegetal. Constituyen los principales componentes estructurales de las células y tejidos del cuerpo. Los músculos y los órganos están formados en gran medida por proteínas. Estas son necesarias para el crecimiento, el desarrollo y el mantenimiento del cuerpo y para reparar y reemplazar los tejidos gastados o dañados, así como para producir enzimas metabólicas y digestivas. (FAO, 2019)	Se determinará la cantidad de proteínas que los bites de semilla de pataxte tiene disponible mediante el método gravimétrico	Porcentaje (%)	Método Kjeldahl de la NMX-F-068-S-1980
Humedad	Cuantitativa continua	La humedad es un análisis que se lleva a cabo para conocer el contenido de agua que posee un alimento, ya que este es un constituyente abundante en el mismo. (Badui Dergal, 2006)	Mediante el empleo de una estufa a 136°C por 6 horas, se someterá la muestra para reducir el contenido de agua y obtener el resultado.	Porcentaje (%)	Metodología de la NMX-F-083-1986
Cenizas	Cuantitativa continua	Las cenizas es una determinación bromatológica realizada para conocer los componentes del residuo inorgánico del alimento cuando este es sometido a una temperatura de 500-600°C por un tiempo determinado.	Mediante el empleo de una mufla a 500-600°C se calentará la muestra del producto hasta obtener residuo orgánico.	Porcentaje (%)	Metodología de la NOM-F-066-S-1978
Fibra	Cuantitativa continua	Es la parte no digerible de los alimentos vegetales, como verduras, frutas, cereales, frijoles y legumbres. Hay dos tipos de fibras, solubles e insolubles. (Centro de Educación para la Salud de Kaiser Permanente, 2006)	Se determinará la cantidad de fibra que contiene los bites de semilla de pataxte por el método utilizado NMX-F-090-S-1978	Porcentaje (%)	Metodología de la NMX-F-090-S-1978

Tabla III. Variables operacionales (continuación...)

Variable	Clasificación	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Instrumento
Aroma	Cualitativa ordinal	El aroma es una propiedad organoléptica, esto por la presencia de diversas sustancias volátiles. (Convera Victor, 2014)	Mediante la utilización de esta escala, el sujeto tendrá que indicar en un rango del 1 (me gusta muchísimo) al 9 (me disgusta muchísimo), su preferencia por el producto.		Escala de Likert
Color	Cualitativa ordinal	Es una cualidad organoléptica que se puede apreciar por medio de la vista. Depende de como nuestros ojos detectan la luz reflejada y de como nuestro cerebro la procesa. (Convera Victor, 2014)	Mediante la utilización de esta escala, el sujeto tendrá que indicar en un rango del 1 (me gusta muchísimo) al 9 (me disgusta muchísimo), su preferencia por el producto.	1.-Me gusta muchísimo 2.- Me gusta mucho 3.-Me gusta 4.-Me gusta poco 5.-Ni me gusta ni me disgusta 6.-Me disgusta poco 7.-Me disgusta 8.- Me disgusta mucho 9.-Me disgusta muchísimo	Escala de Likert
Textura	Cualitativa ordinal	Conjunto de propiedades físicas que dependen de la estructura tanto macroscópica como microscópica del alimento y que puede ser percibida por medio de receptores táctiles de la piel y los músculos bucales, así como también a través de los receptores químico del gusto y los receptores de la vista. (Manfugás., 2020)	Mediante la utilización de esta escala, el sujeto tendrá que indicar en un rango del 1 (me gusta muchísimo) al 9 (me disgusta muchísimo), su preferencia por el producto.		Escala de Likert
Sabor	Cualitativa ordinal	Percepción global integrada por excitaciones de los sentidos del gusto y el olfato, sensación que ciertos compuestos producen en la superficie de la lengua, el paladar y los receptores trigeminales. (Badui Dergal, 2006)	Mediante la utilización de esta escala, el sujeto tendrá que indicar en un rango del 1 (me gusta muchísimo) al 9 (me disgusta muchísimo), su preferencia por el producto.		Escala de Likert
Aceptación general	Cualitativa ordinal	Es el examen de las propiedades organolépticas de un producto, realizable con los sentidos (F.C Ibañez 2001)	Mediante la utilización de esta escala, el sujeto tendrá que indicar en un rango del 1 (me gusta muchísimo) al 9 (me disgusta muchísimo), su preferencia por el producto.		Escala de Likert

7.2 Tipo de estudio

El presente estudio consta de una finalidad analítica con una dirección temporal transversal, así mismo es de enfoque cuantitativo y tipo experimental que consta de nueve variables.

7.3 Población y muestra

La población está formada por 11204 estudiantes de la licenciatura escolarizada de la Universidad Popular Autónoma de Puebla, pero la muestra que realizó la evaluación sensorial de los productos fue constituida por un total de 20 sujetos, de los cuales 10 fueron hombres y 10 mujeres.

7.4 Criterios de inclusión, exclusión y exclusión crítica

Criterios de inclusión: Frutos maduros, completos, no presentan magulladuras ni moho en el exterior o interior. Tienen una coloración verdosa brillante y amarillo.

Criterios de exclusión: Frutos maduros de cáscara dura que presentan magulladuras y moho en el interior o exterior. Poseen una coloración oscura en la cáscara de la fruta.

Criterios de eliminación: Frutos maduros completos que no presentan magulladuras, sin embargo, al abrirse presentaron un color oscuro y enmohecido.

7.5 Métodos y técnicas

7.5.1 Obtención de materia prima

El fruto de *Theobroma bicolor* procedente de la comunidad de Teotitlán del Valle, se obtuvo en el Mercado Orgánico de la Cosecha en el Estado de Oaxaca, México. Se compraron 21 kilogramos en total de fruto sano y fresco de color brillante, joven, sin hongos ni magulladuras.

7.5.2 Limpieza de la semilla de *Theobroma bicolor*

Para llevar a cabo la limpieza y desinfección de la semilla, se lavaron con esponja y jabón, en un recipiente grande se colocaron 8 litros de agua y se añadió solución de yodo a una

concentración del 3% por cada 1000 ml de agua. Se dejaron reposar los frutos durante 5-10 minutos hasta que se secaron por completo. Previo a la abertura de los frutos, se limpió la mesa de acero inoxidable con agua, jabón y después con un agente desinfectante, así como el hacha y tabla para cortar, para asegurar la calidad microbiológica de la semilla y pulpa. En una tabla para cortar, con ayuda de un hacha se abrieron cada uno de los frutos de los cuales se separó la pulpa de la fruta, la semilla y la cáscara. Previo al empaque de las mismas, se pesó el contenido del fruto y se colectó en bolsa ziploc siguiendo una numeración que se asignó a cada fruto.

7.5.3 Secado de semilla

Para dicho procedimiento se lavaron las semillas a corriente de agua purificada, se presionaron y movieron sobre un tamiz de acero, posteriormente con ayuda de un cepillo de cerdas rígidas se tallaron para retirar el resto de mucílago pegado a la semilla. En un recipiente se colocó agua purificada y cuando llegó a su punto de ebullición, en un colador de cocina se colocaron las semillas para sumergirlas durante 1 minuto y generar un proceso de desinfección. Se secaron con toalla de papel y se colocaron sobre una charola de aluminio/ base de madera al sol durante 3 días, conforme pasaban los días se voltearon y al término de estos la semilla se encontró completamente seca y disponible para el retiro de la cáscara.

7.5.4 Formulación de *bites* a base de semilla de *Theobroma bicolor*

Para la formulación se emplearon dos concentraciones distintas de *pataxte*, con un 60% y 70%. En la Tabla IV se muestran las formulaciones de las dos muestras empleadas para esta investigación.

Tabla IV. Formulaciones de *bites* a base de *Theobroma bicolor*

Formulación	Ingredientes
1.- Formulación 60%	60 % de pataxte, 10 % de manteca de cacao, 15 % de aceite de olivo, 0.5 % de sal y 14.5 % de azúcar.
2.- Formulación 70%	70 % de pataxte, 10 % de manteca de cacao, 15 % de aceite de olivo, 0.5 % de sal y 4.5 % de azúcar.

7.5.5 Determinación de humedad

Para la determinación de humedad se utilizó el método de la NMX-F-083-1986, por lo que en primer lugar es necesario enumerar la charola de metal, consecutivamente colocar un poco de arena y colocar en la estufa de 100°C por 24 horas. Al finalizar ese tiempo, sacar las charolas de la estufa a 100°C, colocar en un desecador por 10 minutos y pesar la charola con arena en una balanza analítica, tarar y agregar 2 g de muestra. Nuevamente situar la charola en el desecador, dejar por 10 minutos. Con ayuda de unas pinzas poner la charola en la estufa a 100°C, esperar hasta al día siguiente. Una vez que la muestra esté seca por completo, sacar de la estufa, pasar al desecador y esperar 10 minutos. Así mismo pesar la charola con arena y la muestra en la balanza analítica. Posteriormente realizar la determinación por triplicado y reportar los resultados mediante la siguiente **Ecuación 1**.

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{(Mh - Ms)}{M} 100$$

(Ec. 1)

En donde:

Mh= Masa en gramos de charola con muestra húmeda.

Masa en gramos de charola con muestra seca.

M= Masa de la muestra en gramos

7.5.6 Determinación de cenizas

Para la determinación de cenizas se utilizó la metodología de la NMX-F-066-S-1978, de la que se requiere el siguiente procedimiento. Inicialmente se requiere marcar con ayuda de un lápiz el crisol a emplear, consecutivamente colocar el crisol en una estufa a 100°C por 24 horas, posteriormente a ese tiempo poner el crisol en un desecador por 10 minutos con el apoyo de unas pinzas y pesar en una balanza analítica. Tarar la balanza, colocar 1 gramo de muestra y devolver al desecador. Con el apoyo de unas pinzas, con precaución meter el crisol en una mufla, vigilar a que llegue hasta 550°C; a partir de ese momento cronometrar 2 horas hasta que la muestra se incinere. Una vez pasado ese tiempo, dejar enfriar la mufla durante 1 hora, por último, abrir la mufla con apoyo de guantes y pinzas (evitar exponer la cara) sacar el crisol, colocarlo en el desecador por 10 minutos, pesar la muestra junto con el crisol y realizar la determinación del porcentaje de cenizas. Se recomienda para una mejor precisión realizar el proceso por triplicado. Una vez obtenidos los resultados del experimento se calcula el porcentaje de cenizas por triplicado con la **Ecuación 2**.

$$\% \text{ cenizas} = \frac{P - p \times 100}{M}$$

M

(Ec. 2)

En donde:

P= Peso del crisol con las cenizas en gramos

p= Peso del crisol vacío en gramos

M= Peso de la muestra en gramos

7.5.7 Determinación de lípidos

Para la determinación de extracto de etéreo se utilizó la metodología Soxhlet de la NMX-F-089-S-1978, que consiste en una serie de pasos descritos a continuación. Preparar el cartucho, colocar una pequeña porción de algodón y con una etiqueta para poder identificar el cartucho, así mismo colocar en el horno de secado a 100 °C por 24 horas. Armar el equipo Soxhlet para realizar correctamente la prueba, colocar 150 ml de éter de petróleo y 10 perlitas de cristal en el matraz bola que se requiera utilizar. Encender el recirculador, la bomba, esperar a que llegue hasta 7 grados aproximadamente. Sacar los cartuchos que se colocaron un día antes en el horno de secado y colocar en el desecador. Esperar 10 minutos y posteriormente pesar con algodón y sin etiqueta, retirar algodón del cartucho, tarar la balanza analítica y pesar 4 a 5 gramos de muestra y volver a colocar el algodón. Una vez que el recirculador llegue a 7 y que los cartuchos con las muestras ya están en la cámara, prender la campana de extracción y encender las parrillas hasta 3 grados, esperar a que haga correctamente los sifoneos y que la gotita caiga sobre el algodón por 4 a 6 horas. Después de ese tiempo, apagar las parrillas conforme termine el último sifoneo, apagar todo el equipo. Sacar los cartuchos de la cámara y meterlos al horno de secado a 100 °C por 24 horas; una vez que el cartucho esté seco, sacar de la estufa y colocar en un desecador, pesar en la balanza analítica. La determinación de grasa se realiza por triplicado y se registran los resultados obtenidos, así como sus observaciones. Una vez obtenidos los resultados se calcula el porcentaje de éter de petróleo por triplicado con la **Ecuación 3**.

$$\text{Porcentaje de Extracto Etéreo} = \frac{P-p}{M} (100)$$

M

(Ec. 3)

En donde:

P= Peso en gramos del cartucho con muestra y algodón

p= Peso en gramos del cartucho con muestra seca y algodón

M= Peso en gramos de la muestra

7.5.8 Determinación de proteína

Para la determinación de proteína cruda se utilizó el método de Kjeldahl de la NMX-F-068-S-1980 que consiste en una serie de pasos, los cuales se dividen en dos partes.

Digestión: Para iniciar el proceso, primero es necesario etiquetar el matraz de Kjeldahl que se va a emplear para poder identificarlo. En una balanza analítica, determinar masa de 1 g de muestra y pasar cuantitativamente a un matraz Kjeldahl. Agregar 10 g de sulfato de sodio, 0.5 g de sulfato, dos cucharaditas de perlas de vidrio y dentro de una campana de extracción y dentro de ella colocar 20 ml de ácido sulfúrico concentrado con ayuda de una pipeta y una bomba de pipeta. Posicionar el matraz en el digestor y calentar con precaución a una temperatura de 2°C hasta que el material se encuentre carbonizado, aumentar la temperatura ligeramente a los 15 minutos y así consecutivamente hasta llegar a una temperatura máxima de 4° C hasta que aclare, alcance un tono verde esmeralda o turquesa y disminuya la cantidad de vapor producido. Durante el proceso de digestión, se recomienda girar ligeramente el matraz con guante de protección para evitar que la materia sea perdida. Por último, apagar el equipo y dejar que se enfríe por un tiempo determinado.

Destilación: Retirar el matraz de Kjeldahl del digestor, medir con una probeta 100 ml de agua destilada y añadir al matraz, mover circularmente hasta que se disuelva la muestra. Agregar con otra probeta 100 ml de NaOH al 40 % (preparado previamente), integrar perfectamente hasta lograr obtener un todo distinto (azul turquesa a azul marino o negro) y secar la base del matraz con un trozo de papel. Colocar el matraz en la destilación, verificar que el tapón de corcho selle correctamente. Así mismo, en un matraz Erlenmeyer de 250 ml colocar 100 ml de ácido bórico preparado previamente. Añadir 4 gotas de indicador mixto de nitrógeno y etiquetar para identificarlo, de manera inmediata conectar el matraz al sistema de destilación. A continuación, destilar hasta que el amoniaco pase por completo, aumentar la temperatura progresivamente iniciando a 2.5°C y llegar como máximo a 3°C.

Las gotas de destilado deben hacer cambiar el color del indicador de violeta a verde. Por último, retirar el matraz recibidor y titular el destilado con ácido clorhídrico 0.1 N (es de suma importancia hacerlo de manera cuidadosa hasta el viraje de color a tono lila suave, sin llegar a tono rosa fucsia. Para calcular el % de proteínas en la muestra se realizan los cálculos presentados en la **Ecuación 4**.

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{V \times F \times 0.014}{m} \times 100$$

(Ec. 4)

En donde:

V= Volumen de ácido clorhídrico empleado en la titulación

F=Factor de conversión de nitrógeno a proteína

m= Masa de la muestra de gramos

0.014= Miliequivalentes del nitrógeno

7.5.9 Determinación de fibra cruda

Para la determinación de fibra cruda se utilizó el método de la NMX-F 090-S-1978. Previamente se debe extraer 2 gr de muestra obtenida de la determinación del extracto etéreo para realizar duplicados, así mismo se debe resguardar en una porción de papel aluminio. Para iniciar el procedimiento un día antes de hacer el proceso, colocar el crisol en una estufa a 100°C por 24 horas. Al día siguiente colocar el crisol en un desecador por 10 minutos y pesar 1 gr de muestra en una balanza analítica y colocar en un matraz de bola. Añadir en un vaso precipitado 200 ml de H₂SO₄ a 1.25% y calentar la solución en una parrilla a 150°C aproximadamente hasta hervir o esté completamente caliente. Agregar el H₂SO₄ a 1.25% al matraz de bola, al que se le agregó previamente 1 g de muestra. Posicionar el vaso en el aparato sobre la placa caliente pre ajustada para que hierva durante

30 minutos. Retirar el matraz de bola y llevar a cabo el filtrado mediante un vaso Kitasato de 500 ml, colocar un embudo Buchner con papel filtro. Enjuagar la muestra con 75 ml de agua destilada y vaciar sobre el papel filtro. A continuación, transferir el residuo de la muestra con ayuda de una espátula y situar nuevamente al matraz de bola. Añadir en un vaso precipitado 200 ml de NaOH a 1.25% y calentar la solución en una parrilla a 150°C aproximadamente hasta hervir o esté completamente caliente. Transferir el NaOH al 1.25% hirviendo y calentar a ebullición durante 30 minutos. Retirar el matraz de bola y filtrar en el vaso Kitasato de 500 ml, con el embudo Buchner y papel filtro utilizado anteriormente. Trasladar el residuo obtenido del filtrado a un crisol a masa constante y secar en una estufa de 100°C por un periodo de 12 horas. Sacar el crisol de la estufa a 100°C, colocar en el desecador por 10 min para mantener a peso constante, pesar la masa en gramos del residuo seco (muestra seca + crisol) en la balanza analítica. Introducir la muestra a una mufla para calcinar, esperar a que llegue a 550°C, a partir de ese momento cronometrar 30 minutos. Dejar que se enfríe y determinar su masa final (muestra cenizas + crisol). Para calcular el % de fibra cruda en la muestra se realizan los cálculos presentados en la **Ecuación 5**.

$$\text{Porcentaje de fibra cruda} = \frac{(M_s - M_c) 100}{M}$$

(Ec. 5)

En donde:

M_s = Masa en gramos del residuo seco (muestra seca + crisol)

M_c = Masa en gramos de la muestra en cenizas (muestra cenizas + crisol).

M = Masa de la muestra en gramos

7.5.10 Determinación de la inocuidad microbiológica

Para la determinación de inocuidad microbiológica se basó en la NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de

microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. Es necesario, para cualquier tipo de prueba en primer lugar, esterilizar el material en una autoclave a 121°C durante 15 minutos. Apagar y dejar reposar por una hora o hasta que la temperatura esté a 25°C. Después de ese tiempo, preparar las disoluciones, aproximadamente 10 diluciones seriadas, es decir:

Disolución inicial: 9 ml de agua peptonada + 1 gr de la muestra = dilución 10-1

- 9 ml de agua peptonada + 1 mL de la dilución 10-1
- 9 ml de agua peptonada + 1 mL de la dilución 10-2
- 9 ml de agua peptonada + 1 mL de la dilución 10-3

Se toma 1 ml de la disolución anterior hasta llegar a 10-10

7.5.10.1 Determinación de mohos y levaduras

Para la determinación de mohos y levaduras, se requiere preparar agar papa dextrosa con anticipación y esterilizar en una autoclave. Además, utilizar una caja Petri por dilución, en total 10 cajas Petri. En este procedimiento, se siembra la muestra en cada una de las placas por siembra a profundidad; se toma 1 ml con una pipeta estéril diferente para cada disolución, se agrega a la placa Petri y posteriormente se agrega el agar con cuidado, procurando mezclar el medio sobre una superficie lisa. Esperar que la mezcla se solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal, así mismo preparar una caja control con agar, consecutivamente añadir sobre las orillas cinta testigo. Para verificar la esterilidad por último incubar a 36° C por 48 horas.

7.5.10.2 Determinación de coliformes totales

En la determinación de coliformes totales, previamente preparar caldo bilis verde brillante (VB) al 2%. Después agregar en tubos de ensayo 10 ml de caldo bilis VB al 2% y una campana Durham por cada uno y se esterilizan. Posteriormente, en cada tubo colocar 1ml de la muestra a analizar por cada dilución hasta obtener 10 diluciones e incubar a 36°C

por 48 horas. Una vez transcurrido ese tiempo verificar si la campana Durham sube del fondo del tubo, si es así quiere decir que existe un indicador de producción de gases por microorganismos, incluso en algunos casos puede notar una ligera coloración blanca y turbidez. De ser necesario se realiza una prueba confirmativa para la determinación de coliformes totales a los tubos que presenten resultados positivos. Para ello, se requiere colocar 2 tubos con caldo bilis VB al 2% y caldo luria; añadir 1 mL del tubo con resultados positivos a los tubos e incubar a 36°C por 48 horas. Igualmente, preparar previamente agar eosina y azul de metileno, simultáneamente colocar 2 cajas de Petri para cada disolución con agar EMB (agar con Eosina y azul de metileno), agregar 1 ml del tubo con resultado positivo a la caja Petri con agar y sembrar por agotamiento e incubar a 36°C por 48 horas.

7.5.10.3 Determinación de mesófilos

En la determinación de mesófilos se necesita preparar previamente agar estándar; de las disoluciones previamente preparadas con agua peptonada colocar el agar en cajas Petri, en total utilizar 10 cajas Petri y esperar a que solidifique, con ayuda de un asa y mechero realizar sembrado por estrías, de cada una de las disoluciones e incubar durante 48 horas a 36 °C.

7.6 Recursos humanos, materiales y financieros

7.6.1 Recursos humanos

Dentro de los recursos humanos se encuentra la directora del proyecto de investigación MCA Diana Morales Koelliker que desempeñó como actividades la revisión de estructura, diseño experimental, formulación de producto, cálculo y análisis estadístico del trabajo de investigación, así como el seguimiento del proyecto. Angélica Solis Fagoaga, alumna de nutrición realizó la primera parte del protocolo y adecuó las formulaciones del producto. Diana Islas Mexquititla, estudiante de la Licenciatura en Nutrición participó en el proyecto

de investigación mediante: elaboración de muestras del producto, análisis bromatológico, sensorial y microbiológico, recopilación de datos, obtención y análisis de resultados, corrección de protocolo y redacción de las secciones de resultados de la investigación. Con la ayuda de 20 sujetos voluntarios y la participación de dos alumnas del Programa Jóvenes Investigadores en Ciencias de la Salud y afines, Ariadna Leticia Lara Morales y Juliana Hernández Jiménez se realizó la evaluación sensorial del producto.

7.6.2 Recursos materiales

El área física donde se llevó a cabo la elaboración de muestras de investigación de los bites de *Theobroma bicolor* fue en el Laboratorio de Gastronomía Clínica. Para la elaboración de la formulación se emplearon los siguientes ingredientes: cacao, semilla de pataxte, manteca de cacao, azúcar, aceite de olivo y sal. Respecto a los utensilios de cocina, se utilizaron; machete, tablas para cortar, guantes de plástico, bolsas ziploc®, estufa, Thermomix®, cuchara de madera, cuchara de aluminio, báscula digital, moldes y dos contenedores herméticos de vidrio para verter la mezcla final.

El análisis bromatológico se realizó en el Laboratorio de suelos, Laboratorio de investigación biotecnológica, Laboratorio de Medicina molecular y Laboratorio de ingeniería biomédica. Para estos análisis se emplearon los siguientes materiales: crisoles, espátulas, báscula digital, matraz Erlenmeyer, matraz Khjendahl, extractor Soxhlet, balanza analítica, guantes de asbesto, pipeta, pinzas de metal, lentes de seguridad, estufa, mufla, campana de extracción, perlas de ebullición, desecador, filtros, vasos de precipitado y cajas Petri. Así como sustancias químicas tales como; ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido bórico al 4%, NaOH al 45%, solución de rojo de metilo, HCL 0.1 N, H₂SO₄ 1.25%, NaOH 1.25% y etanol. El cálculo de la formulación del producto y la recopilación de datos acerca del análisis bromatológico, se empleó la herramienta de Microsoft Office Excel 2019 además de una computadora Matebook D14 (Huawei, China).

Respecto a la escala de Likert de evaluación sensorial de 9 puntos se elaboró con la herramienta Microsoft Office Word 2019. Su impresión se realizó en hoja blanca tamaño carta en blanco y negro. Se emplearon así mismo 20 piezas de lápices marca dixon metrico número 2 para contestar el formato impreso. Las pruebas de análisis sensorial se utilizaron en el pasillo de los fundadores del campus central de la UPAEP.

7.5 Recursos financieros

Los recursos necesarios para la planeación y ejecución del proyecto (Tabla V) fueron facilitados por el Fondo de Investigación de la UPAEP a través del proyecto “Elaboración de productos alimenticios con base en ingredientes funcionales con beneficio potencial para la salud”.

Tabla V. Recursos financieros

RECURSOS	MONTO (Pesos mexicanos MN)
Thermomix (1 pieza)	\$29,999.00
Cuchillo chef (1 pieza)	\$549
Báscula digital de cocina (1 pieza)	\$599
Estufa (1 pieza)	\$3,999
Mesa de acero inoxidable (1 pieza)	\$4,245
Espátula de plástico (1 pieza)	\$65
Olla de barro (1 pieza)	\$120
Aceite de oliva (1 litro)	\$75
Manteca de cacao (200 gramos)	\$78
Azúcar estándar (1 kilo)	\$32.90
Sal (1 kilo)	\$15.90
Tabla para picar (1 pieza)	\$25
Hacha (1 pieza)	\$159
Guantes de plástico (1 paquete)	\$16.50
Bolsas de plástico Ziploc (1 paquete)	\$54.90

Tabla V. Recursos financieros (continuación...)

RECURSOS	MONTO (Pesos mexicanos MN)
Frutos de pataxte (21 piezas)	\$1, 529.96
Plumón permanente (2 piezas)	\$55
Masking tape (1 pieza)	\$17.90
Plumas negras Inkjoy (50 piezas)	\$189
Báscula digital con sensibilidad de 0.1 mg (1 pieza)	\$12, 922
Moldes de silicona	\$320
Cajas Petri (20 piezas)	\$200
Desecador (1 pieza)	\$3,305.36
Espátula (1 pieza)	\$135
Pinzas (1 pieza)	\$93.23
Guantes de asbesto (1 par)	\$578
Estufa con termostato y termómetro (1 pieza)	\$20, 998
Parrilla eléctrica de placa con termostato (1 pieza)	\$20, 655.52
Estufa a 100°C (1 pieza)	\$2,999
Muffla (1 pieza)	\$52, 873.68
Perlas de vidrio (15 piezas)	\$200
Matraz Kjeldahl (4 piezas)	\$1,703.38
Aparato Kjeldahl (1 pieza)	\$109, 880
Matraz Erlenmeyer 500 ml (4piezas)	\$366.40
Crisoles de porcelana (6 piezas)	\$378.68
Cartuchos de extracción Whatman para Soxhlet (6 piezas)	\$32.52
Matraces de bola de 250 ml para equipo Soxhlet (4 piezas)	\$2,120
Vasos de precipitados de 150 ml (4 piezas)	\$265.52
Extractor Soxhlet 500 ml	\$1,635.36
Charola de metal	\$85.00
Vaso Kitasato 500ml	\$435.00
Papel filtro	\$193.00
Embudo Buchner 110 ml	\$455.00
Vaso de precipitado 1000ml	\$274.00
Pipeta de 10 ml	\$199.00
Pipeta de 1 ml	\$100.00
Tubo de ensayo	\$179.78
Recirculador y enfriador de agua	\$16,800.00

Tabla V. Recursos financieros (continuación...)

RECURSOS	MONTO (Pesos mexicanos MN)
Ácido clorhídrico (500ml)	\$430.00
Ácido sulfúrico (1000ml)	\$325.60
Éter de petróleo (500ml)	\$600.00
Sulfato de sodio (500g)	\$450.00
Sulfato cúprico (100g)	\$380.00
Hidróxido de sodio (500g)	\$300.00

7.7 Análisis estadístico

Los estudios estadísticos se realizaron mediante análisis de tendencia central con media, moda y mediana, así como medidas de dispersión como rango, desviación estándar y varianza. para las variables para la determinación de las características de composición nutrimental tales como; hidratos de carbono, proteínas, lípidos, fibra, humedad y cenizas. También las variables cualitativas presentes en las características sensoriales como color, olor, sabor, textura y aceptabilidad general se mostrarán mediante tablas de frecuencia absoluta y relativa elaboradas en hoja de cálculo de Excel Microsoft Office 2019. Se efectuará análisis de varianza central ANOVA con el paquete estadístico Minitab 18 ® con en el que se buscará un nivel de significancia de $p < 0.05$ y un intervalo de confianza de 95%,

7.8 Consideraciones éticas

Para esta investigación se pondrán a consideración la NOM-120-SSA1-1994 Bienes y Servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas que reafirman que la elaboración del producto será bajo buenas prácticas de higiene y sanidad, reduciendo el riesgo de intoxicaciones a la población consumidora. Para la determinación de humedad, cenizas, lípidos, proteínas, fibra cruda

y microbiología las metodologías se apegan a lo establecido en las Normas Mexicanas (NMX), específicamente NMX-F-090-S-1978, NMX-F-083-1986, NMX-F-066-S-1978, NMX-F-068-S-1980, NMX-F-089-S-1978 y NOM-210-SSA1-2014. En todos los casos mencionados previamente se prevé la optimización de recursos y manejo adecuado de residuos.

El panel de evaluación sensorial se conformó por sujetos voluntarios que evaluaron sensorialmente 1 g de los productos elaborados con ingredientes de denominación GRAS (Generally Recognized as Safe). Respecto a los catadores, no se coaccionó de forma alguna su participación, no se capturaron datos personales de estos ni se compensó económicamente su participación. Finalmente, el proyecto fue aprobado para su ejecución por el Comité Interno de Investigación en Nutrición en el mes de octubre del año 2021.

7.9 Cronograma de actividades

Tabla VI. Cronograma

AÑO, MESES Y SEMANAS	AÑO 2021								AÑO 2022											
	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	
1. Búsqueda de literatura																				
2. Selección de tema																				
3. Redacción de protocolo																				
4. Pruebas bromatológicas																				
5. Prueba microbiológica																				
6. Prueba sensorial																				
7. Redacción y análisis de resultados																				
8. Redacción de discusión																				
9. Redacción de conclusiones y recomendaciones																				
10. Entrega de proyecto final																				
11. Presentación de examen de grado																				

8. RESULTADOS

8.1 Limpieza del fruto

Durante la limpieza de fruto de *Theobroma bicolor*, se presentaron ciertas pérdidas debido a que había frutos dañados, principalmente debido a la aparición de hongos, la falta de manejo adecuado en los cultivos y por los cambios ambientales en general durante la producción.

a)



b)



c)



Figura 4. Limpieza del fruto *Theobroma bicolor* a) desinfección del fruto (foto de las autoras), b) separación de la pulpa y semilla (foto de las autoras) y c) limpieza de la semilla (foto de las autoras).

8.2 Rendimiento de los frutos

A continuación, se muestra en la siguiente Tabla VII el rendimiento de los frutos empleados para la obtención de semilla y posterior elaboración de los *bites* a base de *Theobroma bicolor*.

Tabla VII Rendimiento de la semilla y pulpa en los frutos de *Theobroma bicolor*

Frutos (#)	Semillas (%)	Pulpa (%)
1	21.4	19.3
2	22.4	23.8
3	21.0	23.3
4	18.3	21.0
5	13.4	19.6
6	25.4	19.1
\bar{x}	20.3	21.0
DE	0.04	0.02
CV	20.17	9.96

\bar{x} , Media
DE, Desviación estandar
CV, Coeficiente de variación

a)



b)



Figura 5. Rendimiento del fruto *Theobroma bicolor*. a) rendimiento de la pulpa (foto de las autoras) y b) rendimiento de la semilla (foto de las autoras).

8.3 Formulación de *bites*

Para la formulación de los *bites* a base de *Theobroma bicolor*, se llevó a cabo el siguiente procedimiento: En una olla de barro, tostar la semilla de pataxte a fuego medio-bajo para retirar la cáscara de manera más sencilla, remover con una pala de madera para evitar que se quemara y se permita un tostado uniforme en todas las semillas. En una Thermomix, licuar las semillas hasta que se haga una mezcla fina y colocar en un recipiente. En una báscula pesar en recipientes individuales; la sal, azúcar, pataxte, aceite de oliva y manteca de cacao. Cuando estén listos los ingredientes, colocar en la Thermomix el pataxte con la manteca de cacao, es necesario elevar la potencia para que comience a calentarse y mezclarse adecuadamente. Cuando la manteca de haya desintegrado y fusionado por completo, añadir el azúcar y la sal, permitir que se integre unos minutos, al cabo de este tiempo, con una espátula, retirar de las paredes la mezcla y añadir por último el aceite de oliva, permitir que se mezcle y emulsifique con los ingredientes ya añadidos. Colocar la mezcla en moldes de silicona para dar forma y dejar enfriar a temperatura ambiente hasta solidificar, por último, en un recipiente de vidrio hermético colocar los *bites* para conservar.

a)



b)



c)



60%

70%

Figura 6. Formulación de *bites*. a) Mezcla de ingredientes en Thermomix (foto de las autoras), b) Mezcla en moldes de silicona y solidificación y (foto de las autoras) c) Bites en ambas concentraciones (60% y 70%) en recipiente hermético (foto de las autoras).

9.4 Análisis bromatológico

En relación al análisis bromatológico de los *bites* a base de semilla *Theobroma bicolor* se realizó por triplicado cada prueba y en muestras de los productos a dos concentraciones (60% y 70%) respectivamente, por lo que los resultados obtenidos fueron: humedad $2.20 \pm 0.03\%$ (60%) y $2.79 \pm 0.18\%$ (70%) cenizas $3.93 \pm 0.26\%$ (60%) y $4.69 \pm 0.38\%$ (70%), proteína $3.5 \pm 0.29\%$ (60%) y $4.9 \pm 0.45\%$ (70%), extracto de etéreo $47.14 \pm 3.41\%$ (60%) y $51.72 \pm 0.29\%$ (70%) y fibra $25.72 \pm 2.22\%$ (60%) y $40.29 \pm 3.55\%$ (70%).

El análisis estadístico de los resultados brindados por el análisis bromatológico de humedad, cenizas, proteínas, extracto etéreo y fibra no presentaron diferencias significativas entre las muestras analizadas ($p > 0.05$).

9.4.1 Determinación de humedad

Tabla VIII Datos experimentales para determinación de humedad

Formulación	Muestra	% humedad	\bar{x}	DE	CV	p
60%	7	2.22	2.20	0.03	1.30	0.139
	11	2.18				
70%	6 (1)	2.66	2.79	0.18	6.50	
	10	2.92				

\bar{x} , Media; DE, Desviación estandar; CV, Coeficiente de variación; p, Valor p

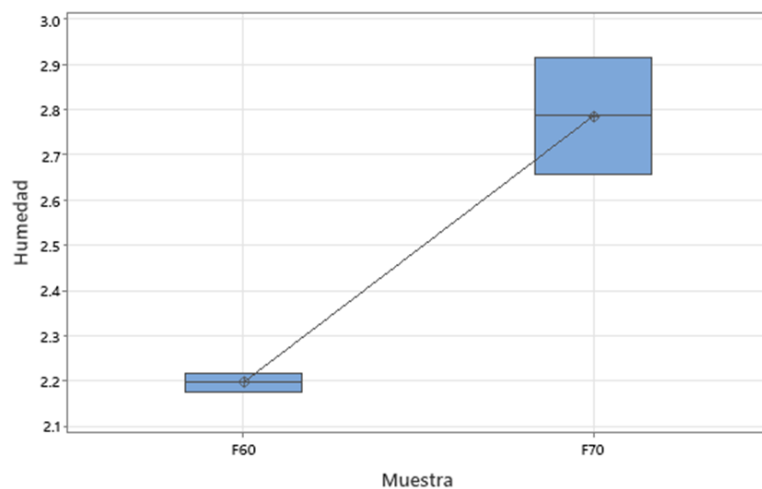


Figura 7. Gráfica de caja de la determinación de humedad en *bites* de *Theobroma bicolor*.



Figura 8. Determinación de humedad. a) Muestras húmedas y b) Muestras secas (fotos de las autoras).

9.4.2 Determinación de cenizas

Tabla XI. Datos experimentales para determinación de cenizas

Formulación	Muestra	% cenizas	\bar{x}	DE	CV	p
60%	1	3.81	3.93	0.26	6.6	0.064
	2	4.23				
	3	3.75				
	5	4.59				
70%	7	4.38	4.69	0.38	8.0	
	25	5.11				

\bar{x} , Media; DE, Desviación estandar; CV, Coeficiente de variación; p, Valor p

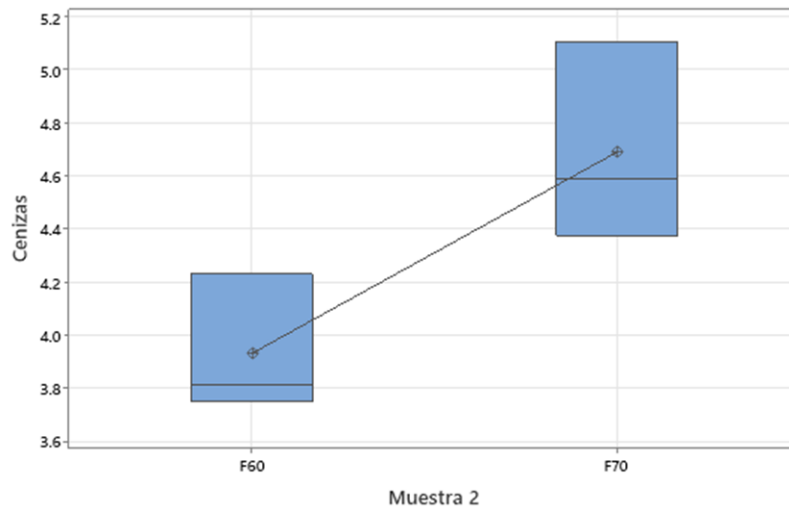


Figura 9. Gráfica de caja de la determinación de cenizas en *bites* de *Theobroma bicolor*.



Figura 10. Determinación de cenizas. a) Muestras en mufla a 550°C (foto de las autoras) y b) Muestras en cenizas (foto de las autoras).

9.4.3 Determinación de lípidos

Tabla X. Datos experimentales para determinación de lípidos

Formulación	Muestra	% lípidos	\bar{x}	DE	CV	p
60%	60c	49.55	47.14	3.41	7.2	0.309
	60d	44.73				
70%	60b	51.52	51.72	0.29	0.6	
	70a	51.93				

\bar{x} , Media; DE, Desviación estandar; CV, Coeficiente de variación; p, Valor p

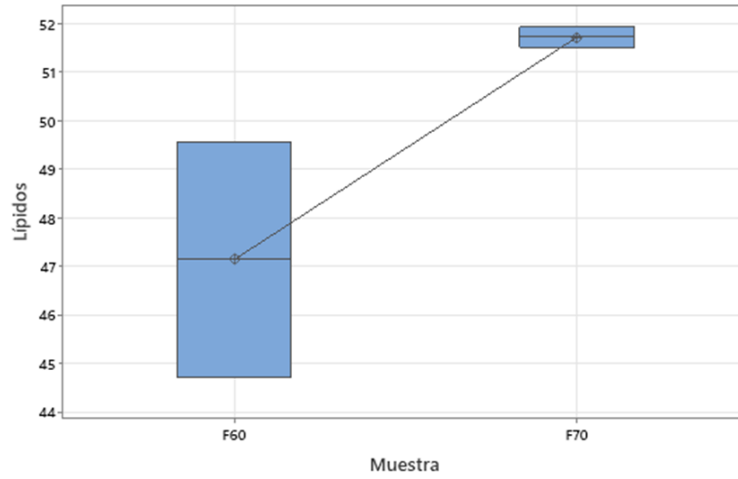
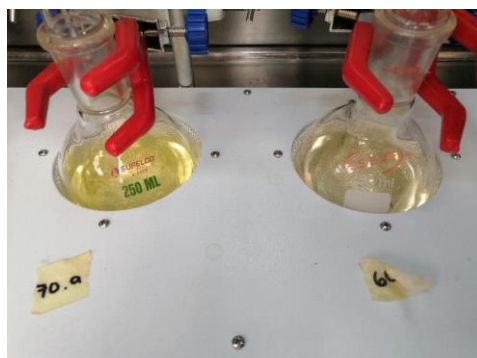


Figura 11. Gráfica de caja de la determinación de lípidos en *bites* de *Theobroma bicolor*.

a)



b)



c)



Figura 12. Determinación de lípidos. a) Recuperación de extracto etéreo mediante el método Soxhlet (foto de las autoras), b) Comparación de color según la recuperación de extracto etéreo de ambas concentraciones (foto de las autoras) y c) Secado de cartuchos en horno a 100 °C (foto de las autoras).

9.4.4 Determinación de proteína

Tabla XI. Datos experimentales para determinación de proteína

Formulación	Muestra	% proteína	\bar{x}	DE	CV	p
60%	60(1)	8.35	8.41	0.29	3.5	0.066
	60(2)	8.73				
	60(3)	8.15				
70%	70(1)	9.79	9.29	0.45	4.9	
	70(2)	8.89				
	70(3)	9.20				

\bar{x} , Media; DE, Desviación estandar; CV, Coeficiente de variación; p, Valor p

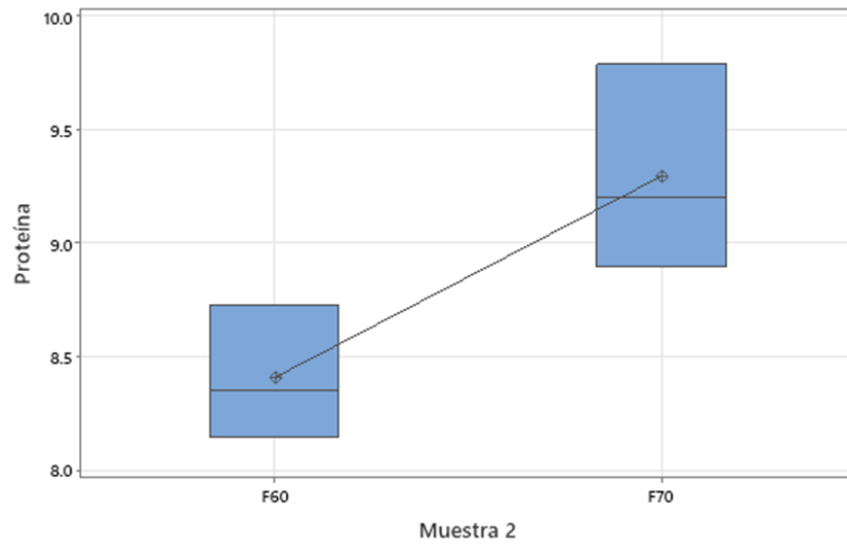


Figura 13. Gráfica de caja de la determinación de proteína en *bites* de *Theobroma bicolor*.





Figura 14. Determinación de proteína. a) Digestión (foto de las autoras), b) Destilación (foto de las autoras) y c) Cambio de color (foto de las autoras).

9.4.5 Determinación de fibra

Tabla XII Datos experimentales para determinación de fibra

Formulación	Muestra	% fibra	\bar{x}	DE	CV	p
60%	2	24.15	25.72	2.22	8.6	0.128
	60	27.29				
70%	3	42.81	40.29	3.55	8.8	
	4	37.78				

\bar{x} , Media; DE, Desviación estandar; CV, Coeficiente de variación; p, Valor p

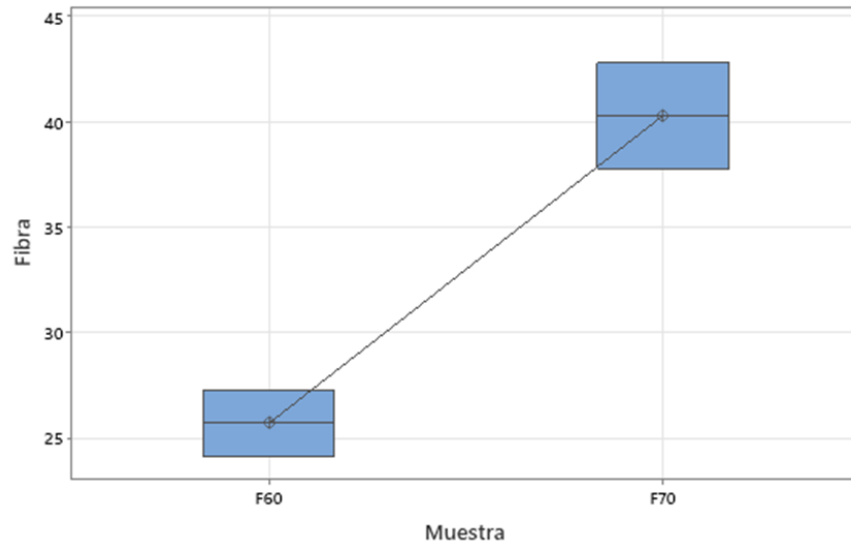
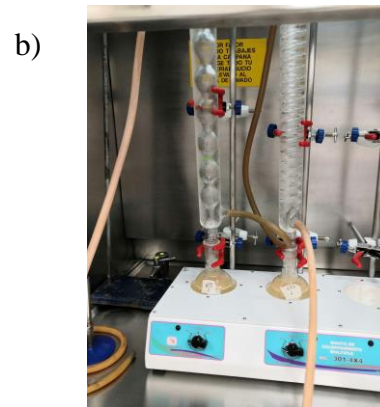
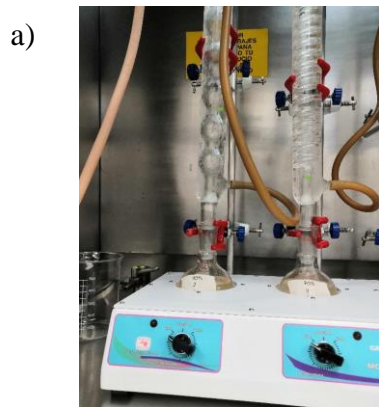


Figura 15. Gráfica de caja de la determinación de proteína en *bites* de *Theobroma bicolor*.



c)



d)



Figura 16. Determinación de fibra. a) Matraz con muestra y H_2SO_4 a 1.25% (foto de las autoras), b) Matraz con muestra y $NaOH$ al 1.25% (foto de las autoras), c) Filtración de muestra (foto de las autoras) y d) Calcinación a $550^\circ C$ (foto de las autoras).

9.5 Análisis de la inocuidad microbiológica

9.5.1 Moho y levaduras

Durante la prueba de moho y levaduras los bites a base de semilla *Theobroma bicolor*, no presentaron ningún microorganismo de interés.

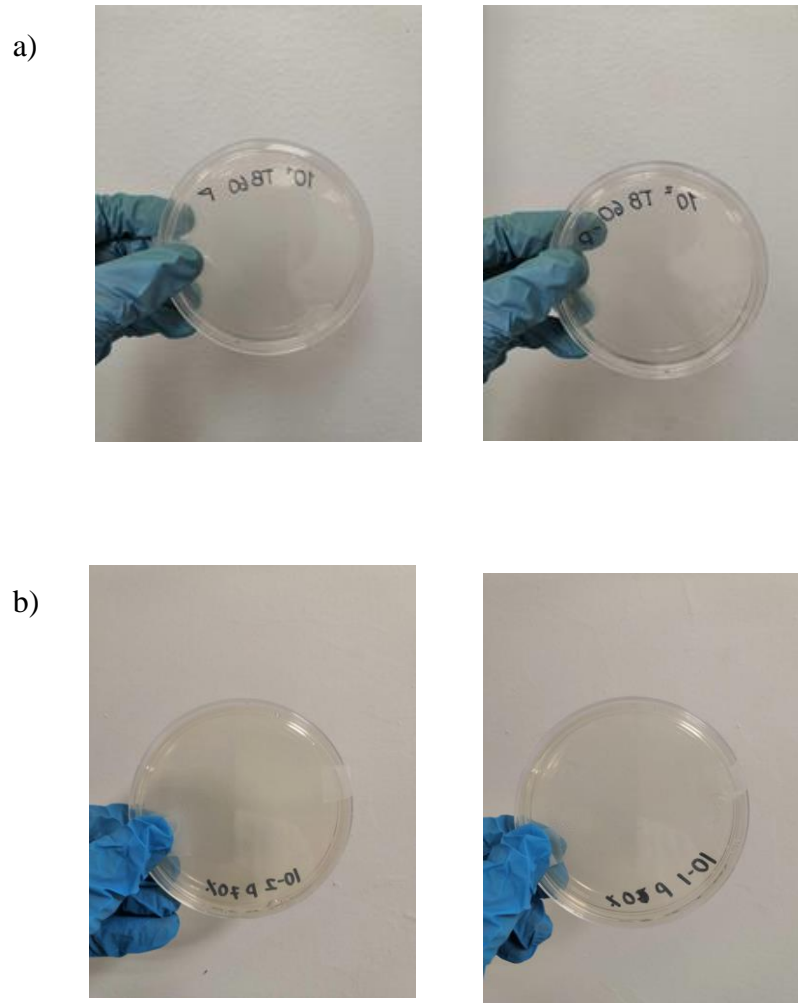


Figura 17. Determinación de moho y levaduras. a) Moho y levaduras en muestra de concentración a 60% (foto de las autoras) y b) Moho y levaduras en muestra de concentración a 70% (foto de las autoras).

9.5.2 Coliformes totales

En la prueba de coliformes totales se verificó que en los bites a base de semilla *Theobroma bicolor* se encontraban libres de microorganismos de la familia de las Enterobacterias.

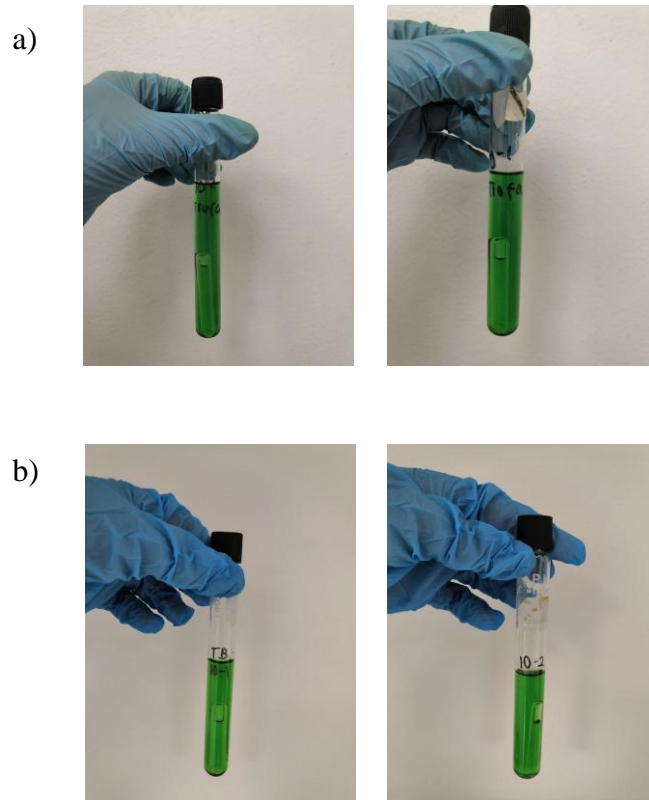


Figura 18. Determinación de coliformes totales. a) Coliformes totales en muestra de concentración a 60% (foto de las autoras) y b) Coliformes totales en muestra de concentración a 70% (foto de las autoras).

9.5.3 Mesófilos

En la prueba de mesófilos la mayor parte de las diluciones fueron libres de bacterias mesófilas, sin embargo, en la concentración de 70% se encontró un crecimiento

microbiológico solamente en la dilución 10^{-7} . Se considera que fue posible una contaminación del material durante el procedimiento por lo aislado que fue el resultado. Cabe recalcar que los estafilococos responsables de infecciones como *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, con regularidad se presentan en las carnes rojas, aves de corral y los productos con huevo, por lo que es poco probable que estén presentes en los bites a base de semilla *Theobroma bicolor*.

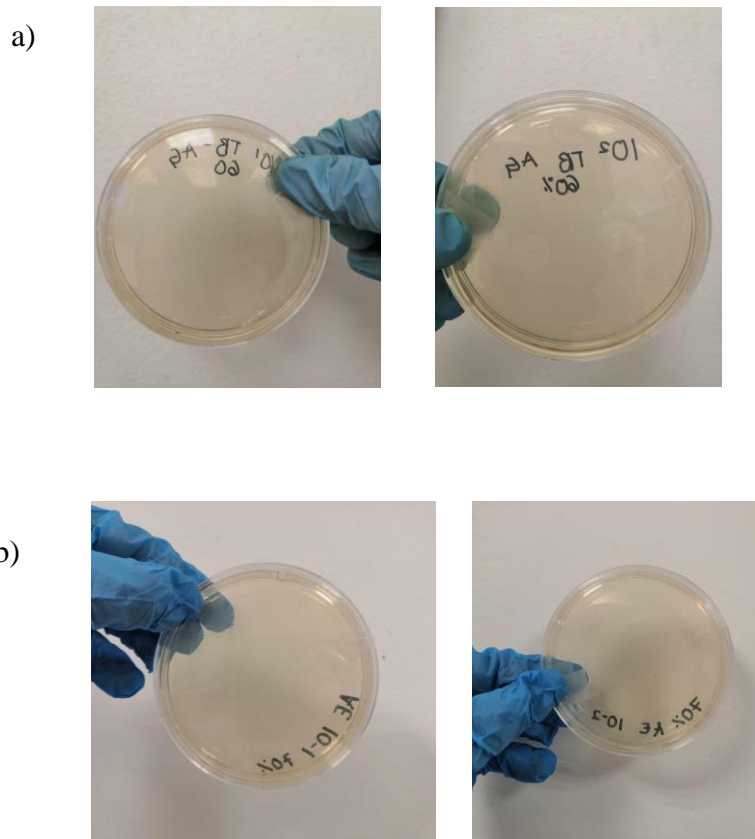


Figura 19. Determinación de mesófilos a) Mesófilos en muestra de concentración a 60% (foto de las autoras) y b) Mesófilos en muestra de concentración a 70% (foto de las autoras).

A partir de que las pruebas de determinación de moho y levaduras, coliformes totales y mesófilos y tal son negativas se confirma que los *bites* a base de semilla *Theobroma bicolor* son totalmente inocuos por lo que el producto es adecuado para el consumo de la población.

9.6 Análisis sensorial

La evaluación sensorial fue realizada por 20 estudiantes voluntarios de la licenciatura escolarizada de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Los resultados en los atributos de Textura, Color y Aroma no obtuvieron una diferencia significativa entre las muestras analizadas ($p > 0.05$). En cambio, el Sabor, un atributo fundamental para la selección de alimentos, mostró diferencias estadísticas entre las muestras ($p = 0.000$) lo que impactó la evaluación de la Aceptación global ($p = 0.021$). Con ello se identificó que los panelistas evaluadores prefirieron la formulación de 70%.

Tabla XIII. Datos de la determinación de textura

Formulación	\bar{x}	DE	p
60%	5.65	1.79	0.862
70%	5.55	1.82	

\bar{x} , Media; DE, Desviación estandar; p, Valor p

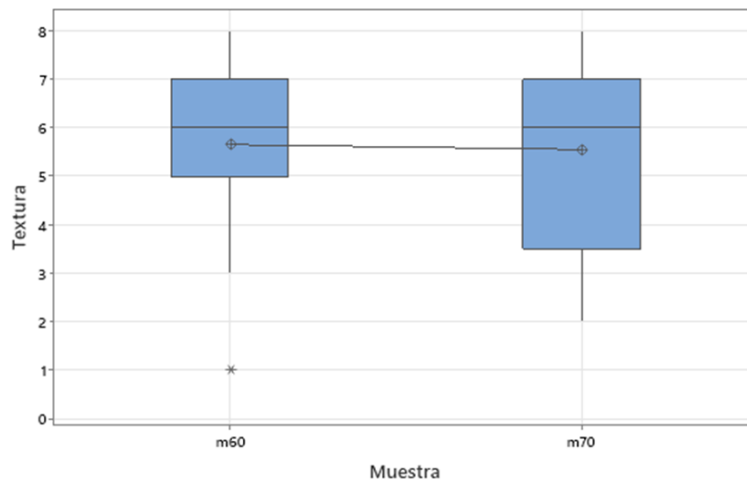


Figura 20. Gráfica de caja evaluación de la Textura de las muestras de *bites* de *Theobroma bicolor*

Tabla XIV. Datos de la determinación de color

Formulación	\bar{x}	DE	p
60%	5.40	1.64	0.421
70%	5.80	1.47	

\bar{x} , Media; DE, Desviación estandar; p, Valor p

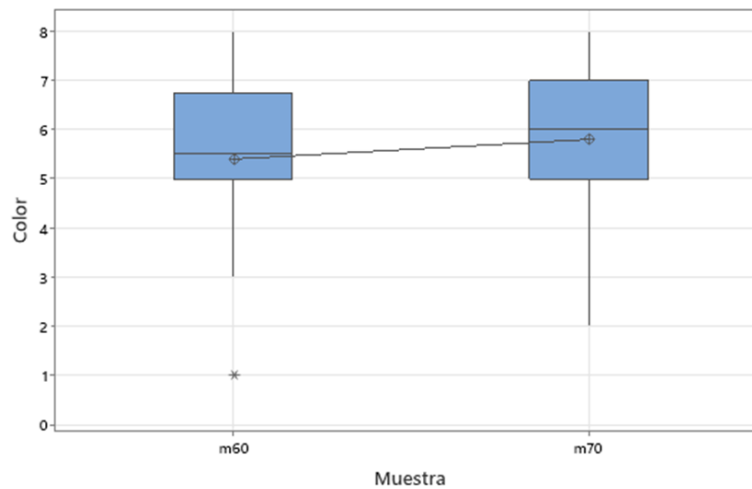


Figura 21. Gráfica de caja evaluación del color de las muestras de *bites* de *Theobroma bicolor*

Tabla XV. Datos de la determinación de aroma

Formulación	\bar{x}	DE	p
60%	5.75	1.52	0.792
70%	5.90	2.02	

\bar{x} , Medía; DE, Desviación estandar; p, Valor p

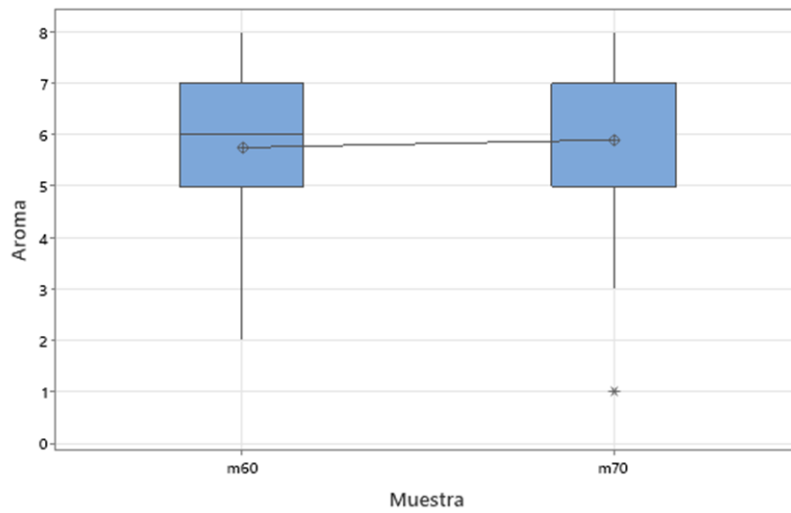


Figura 22. Gráfica de caja evaluación del Aroma de las muestras de *bites* de *Theobroma bicolor*

Tabla XVI. Datos de la determinación de sabor

Formulación	\bar{x}	DE	p
60%	3.50	1.61	0.000
70%	5.65	1.90	

\bar{x} , Medía; DE, Desviación estandar; p, Valor p

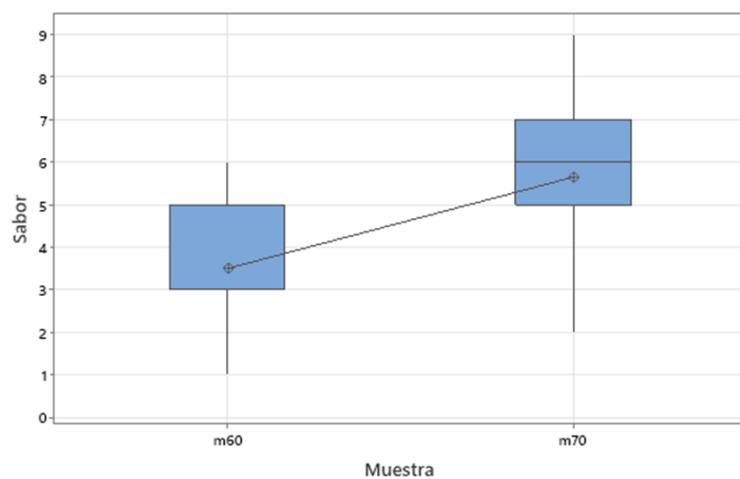


Figura 23. Gráfica de caja evaluación del Sabor de las muestras de *bites* de *Theobroma bicolor*

Tabla XVII Datos de la determinación de aceptación global

Formulación	\bar{x}	DE	p
60%	4.80	1.54	0.021
70%	5.95	1.47	

\bar{x} , Media; DE, Desviación estandar; p, Valor p

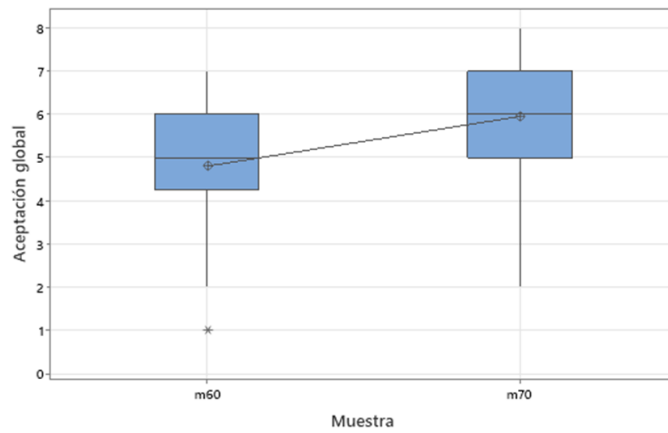


Figura 24. Gráfica de caja evaluación de la Aceptación global de las muestras de *bites* de *Theobroma bicolor*

a)



Figura 25. Análisis sensorial. a) Determinación de aceptabilidad de bites en ambas concentraciones (foto de las autoras).

9. DISCUSIÓN

Con los resultados obtenidos del análisis bromatológico y siguiendo los lineamientos de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas pre envasados, información comercial y sanitaria; que establece la información comercial y sanitaria que debe contener el etiquetado del producto pre envasado destinado al consumidor final, de fabricación nacional o extranjera, se elaboró la declaración nutrimental de los *bites* en ambas concentraciones, donde se tomó en cuenta el contenido de energía, proteína, hidratos de carbono correspondiente a azúcares y azúcares añadidos, grasas especificando las grasas saturadas y trans, así como el contenido de fibra y sodio presente en cada uno. Además, se realizaron cálculos tomando en cuenta la energía presente por un gramo de nutrimento (proteína, hidratos de carbono y grasas), los kilojules presentes por kilocalorías y los resultados obtenidos del análisis bromatológico para determinar el contenido de cada nutrimento en unidades de medida por 100 g y por porción (15g). A continuación, se muestra su declaración nutrimental (Tabla XVIII y XIX).

Tabla XVIII. Declaración nutrimental de *bites* a base de semilla *Theobroma bicolor* en concentración de 60%

Declaración nutrimental	Por 100 g	Por porción (15g)
Contenido energético	611 kcal (2556 kJ)	90 kcal (377 kJ)
Proteínas (g)	8	1
Grasas totales (g)	50	7
Grasas saturadas (g)	PDE	PDE
Grasas trans (mg)	PDE	PDE
Hidratos de carbono disponibles (g)	13	2
Azúcares (g)	0	0
Azúcares añadidos (g)	13	2
Fibra dietética (g)	26	4
Sodio (mg)	PDE	PDE

PDE, Pendiente de determinar

Tabla XIX. Declaración nutrimental de *bites* a base de semilla *Theobroma bicolor* en concentración de 70%

Declaración nutrimental	Por 100 g	Por porción (15g)
Contenido energético	667 kcal (2790.73 kJ)	100 kcal (418.4 kJ)
Proteínas (g)	9	1
Grasas totales (g)	52	8
Grasas saturadas (g)	PDE	PDE
Grasas trans (mg)	PDE	PDE
Hidratos de carbono disponibles (g)	5	Menos de 1
Azúcares (g)	0	0
Azúcares añadidos (g)	5	Menos de 1
Fibra dietética (g)	40	6
Sodio (mg)	PDE	PDE

PDE, Pendiente de determinar

El etiquetado nutrimental siempre ha sido obligatorio en la etiqueta de los productos pre envasados, y comprende la declaración nutrimental y la información nutrimental complementaria su fin es ser una herramienta para que los consumidores puedan seleccionar los alimentos que consumen de manera responsable e informada, sin embargo, pocos conocían como interpretarlo. Por tanto, a partir del año 2020 se realizaron modificaciones a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, en la cual se incluía el nuevo etiquetado frontal, que consiste en mostrar de manera veraz, directa, clara, sencilla y visible, cuando un producto pre envasado presenta un contenido en exceso de energía, nutrimentos críticos e ingredientes que representen un riesgo a la salud en un consumo excesivo, y el cual comprende sellos de advertencia como exceso de calorías, sodio, azúcares, grasas saturadas y trans o leyendas como “Contiene cafeína, evitar en niños” o “contiene edulcorantes, no recomendable en niños”. Para su determinación en los *bites*, al ser un producto sólido fue indispensable identificar si el producto contenía ≥ 275 kcal totales, ≥ 10 % del total de energía proveniente de azúcares libres y grasas saturadas, ≥ 1 % del total de energía proveniente de grasas trans y ≥ 1 mg de sodio por kcal o ≥ 300 mg. En la figura 26 y 27 se muestran los sellos de los *bites* a base de *T.bicolor* en ambas concentraciones.



Figura 26. Sello del etiquetado frontal para la formulación de 60% de los *bites* a base de semilla *Theobroma bicolor*.



Figura 27. Sello del etiquetado frontal para la formulación de 70% de los *bites* a base de semilla *Theobroma bicolor*.

La evaluación bromatológica de los *bites* de semilla *Theobroma bicolor* en ambas concentraciones (60 y 70%) no tuvo una diferencia significativa en su composición nutrimental. Al compararlo con otros chocolates o productos compuestos por *Theobroma cacao*, la cantidad de grasa presente en los diferentes productos a base de *T.bicolor* y *T.cacao*, usualmente no tienen una diferencia significativa, sin embargo es importante destacar que son los que otorgan las propiedades de fusión al chocolate. La proteína presente entre cada producto varía, algunas características se deben a la existencia de una actividad de proteasas y globulinas por lo que permiten la formación de precursores de aroma en el cacao. La fibra presente en cualquier especie de cacao de acuerdo a Tinajero-Carrizales *et al.*, (2021) se caracteriza por estar compuesta principalmente por fibra insoluble, es por ello los *bites* a base de semilla *T. bicolor* tienen mayor proporción. Así mismo, las cenizas son el resultado de la cantidad de minerales presente en cada producto, por ello es que tienen diferencias mínimas. Tinajero-Carrizales *et al.*, (2021) menciona que las diferencias en el contenido de humedad de se deben al tamaño de semilla; por lo que el mayor tamaño de semilla aumenta su volumen y en consecuencia tiene mayor superficie de contacto con la humedad lo que permite mayor absorción.

Tabla XX. Comparación de la composición entre los *bites* a base de semilla *T.bicolor* a 70% y productos de *T.cacao* a 70%.

	<i>Bites Theobroma bicolor</i> 70% (%)	Chocolate Lindt Excellence 70% <i>Theobroma cacao</i> (%)	Chocolate Turin 70% cacao <i>Theobroma cacao</i> (%)	Barras de chocolate <i>Theobroma cacao</i> (%)
Proteína	9.29	7	9.29	-
Grasas	51.72	48	39	43.68
Fibra	40.29	7	13.4	28.87
Humedad	2.79	-	-	7.35
Cenizas	4.69	-	-	4.01

% . Porcentaje

Entre ambas formulaciones respectivamente, los *bites* de semilla *T.bicolor* a 70% fue mayormente preferida por los evaluadores por su sabor primordialmente debido a que se considera que este se caracterizaba por ser un chocolate amargo, así mismo de acuerdo al etiquetado nutrimental frontal solo cuenta con un sello y se caracteriza por tener un menor contenido de azúcares añadidos en comparación con la formulación de 60%, sin embargo en base a la declaración nutrimental sus diferencias no son significativas, además que su costo de los *bites* a 60% es de \$43.54 pesos y los de 70% es de \$49.27 pesos por 100g del producto, teniendo una diferencia mínima de \$5.73 pesos; por tanto la opción que se optaría para su comercialización a futuro sería la de 70%.

El *Theobroma bicolor* un fruto que formó parte de nuestra gastronomía mexicana, es una especie cercana al cacao que fue extensamente utilizada en la América precolombina y se consumía con constancia, caracterizado por su alto potencial con sabores y aromas gratos al paladar. Incluso, en algunas regiones de México ésta especie tiene importancia por sus usos en bebidas tradicionales y como ingrediente del chocolate. En las últimas décadas, el fruto ha sufrido causas de extinción de producción debido a la sobreexplotación, la fragmentación, la pérdida del hábitat y la pérdida de la elasticidad de los sistemas. Por su importancia en nuestra cultura, ha tenido lugar el rescate del fruto para industria alimentaria actual en la elaboración de productos nuevos e innovadores para el consumo de la población en general. El Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) tiene como objetivo colaborar en la mejora de cultivos estratégicos, entre especie de *Theobroma*, como el *T. bicolor* debido a que desde la llegada de la “moniliasis” a México, particularmente en el norte de Chiapas en febrero de 2005, ha provocado pérdidas en la producción de diferentes especies de cacao, por tanto se busca aumentar la producción y rendimiento, además de implementar tecnología en el campo (Parada-Berrios *et al.*, 2019; INIFAP, 2022).

10. CONCLUSIÓN

Los *bites* tipo chocolate de semilla *T. bicolor* pueden emplearse como una colación o snacks destinada a la población en general, de acuerdo a sus características nutrimentales que se destacan, pudimos notar que al ser el *T. bicolor* en ambas concentraciones (60 y 70%) un tipo de cacao, su contenido de lípidos es amplio y relacionado a otros tipos de chocolates, sin embargo, esta investigación no es suficiente para afirmar su contenido específicamente de perfil de ácidos grasos.

Así mismo, aunque su composición nutrimental de ambos bites no obtuvieron diferencias significativas, de acuerdo con la evaluación de las características sensoriales el producto de mayor aceptabilidad por parte del grupo de evaluadores fueron los *bites* en concentración de 70% ya que dicho producto presentó preferencia en función a los atributos sensoriales de sabor y aceptabilidad general.

Además, se demostraron que los *bites* en ambas presentaciones (60 y 70%) durante la formulación se cumplió con los parámetros de Buenas Prácticas Higiénicas (BPH), dando como resultado productos inocuos que se enmarcan dentro del nivel de buena calidad y apto para el consumo humano, libre de mohos y levaduras, coliformes totales y mesófilos.

11. RECOMENDACIONES

1. Realizar nuevas investigaciones sobre los hallazgos con respecto al fruto de *Theobroma bicolor*, ya que es un producto con potencial económico y sociocultural en México.
2. Se recomienda realizar estudios sobre los compuestos bioactivos presentes en los *bites* a base de semillas de *Theobroma bicolor*.
3. Realizar la determinación del perfil de ácidos grasos en los *bites* a base de *Theobroma bicolor*.
5. Determinar las características funcionales presentes en los *bites* a base de *Theobroma bicolor*.
6. Compartir la información obtenida con las industrias alimentarias y así dar a conocer el potencial del fruto en la población en general.

12. ANEXOS

Anexo 1

CARTA DE NO CONFLICTO DE INTERÉS PARA EL PROYECTO

Estimado _____

En cumplimiento a lo dispuesto sobre el estudio en el proyecto de investigación titulado **“Evaluación nutricional, microbiológica y sensorial de *bites* tipo chocolate de semilla *Theobroma bicolor*”** la que suscribe Diana Islas Mexquititla, bajo la dirección de la MCA Diana Morales Koelliker, se compromete a acatar todas las acciones de autores, implicadas en la investigación que estén relacionadas por tal motivo se declara no tener ninguna relación económica, personal, política o interés financiera que pueda influir en nuestro juicio. Así mismo manifiesto bajo protesta de decir verdad, que ninguno de los involucrados en el proyecto presentan conflicto de intereses con las y los involucrados en intervenir en cualquier etapa del procedimiento correspondiente, ya que entre dichas personas referidos no existe relación o vínculo alguno de carácter benéfica, monetaria, bienes o suicidios durante la investigación de dicho tema.

Por lo tanto, se declara que todo participante, autor, o dicha persona que intervenga en el proyecto presentado asumen su responsabilidad y colaboración en el mismo. Del mismo modo es importante recalcar que dicha investigación fue evaluada y aceptada formalmente por el comité de ética en investigación de salud perteneciente al decanato de Ciencias de la Salud UPAEP, con fecha 30 de septiembre de 2021.

ATENTAMENTE

DIANA ISLAS MEXQUITITLA

Anexo 2

PAPELETA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Escala de Likert de 9 puntos

Nombre de la persona: _____
 Fecha: _____

Indicaciones: Toma un bite, percibe su (textura, color, aroma y sabor) y analiza la aceptación global del producto. Es necesario colocar una marca " X " en una casilla para cada categoría. Por favor no llenes más de una casilla porque esa respuesta no será considerada.

COD.	Me gusta muchísimo 😄	Me gusta mucho 😊	Me gusta 😊	Me gusta poco 😊	Ni me gusta, ni disgusta 😐	Me disgusta 😞	Me disgusta poco 😞	Me disgusta mucho 😞	Me disgusta muchísimo 😞
TEXTURA									
COLOR									
AROMA									
SABOR									
ACEPTACIÓN GLOBAL									

13. REFERENCIAS

- Avendaño, C., Villareal, J., Campos, E., Gallardo, E., Mendoza, A., Aguirre, J., Sandoval, A., Espinosa, S. (2011). Diagnóstico del cacao en México. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México, 1, 44-45.
- Arias Lamos, D., Montaña Díaz, L.N., Velasco Sánchez, M.A., y Martínez Girón, J. (2018). Alimentos funcionales: avances de aplicación en la agroindustria. *Tecnura*, 22(57), 55-68.
- Aldas Morejón, J. P., y Revilla Escobar, K. Y. (2020). Estudio del proceso fermentativo del cacao nacional (*Theobroma cacao*) considerando distintos tipos y su incidencia en las características físico-químicas y sensoriales [tesis de licenciatura, Universidad Técnica Estatal de Quevedo] Repositorio Institucional UN. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/5184/1/T-UTEQ-124.pdf>.
- Badui, S. (2006). Química de los alimentos. Edo de México, México: Pearson Educación, 4, 245-258.
- Calí, J. (2020). Análisis sensorial de los alimentos. *Fruticultura y diversificación*, 36(1), 34-37.
- Castillo, H., Cardoso, G., Armendáriz, B., Juárez, Z. (2020) Evaluación del potencial como alimento funcional de semillas y pulpa del fruto del pataxte (*Theobroma bicolor*) [tesis de maestría Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla no publicada].
- Coronado, M., Vega, S., Gutiérrez, R., García, B. y Díaz, G. (2006). Los ácidos grasos OMEGA-3 y OMEGA-6: Nutrición, Bioquímica y Salud. *Facmed*, 25(3), 72-79.
- Cervantes, R., Cervantes, A. y Presno, J. (2014). Mecanismos de señalización involucrados en la resolución de la inflamación. *Gaceta Médica de México*, 440-449.
- Díaz, R. O., & Hernández, M. S. (2020). Theobromas de la Amazonia Colombiana: una alternativa saludable. *Información tecnológica*, 31(2), 3-10.

- Fon, M., Zumbado, H. (2019). Análisis proximal en alimentos. Fundamentos teóricos y técnicas experimentales, *Coloquium*, Ecuador, 1(1), 17-74.
- García, D., Sotero, V., Mancini, D., Pavan Torres, R., & Mancini Filho, J. (2011). Evaluación de la actividad antioxidante "In vivo" de tres frutos de la amazonía: *Gustavia augusta* L., *Grias neuberthii* Macbr y *Theobroma bicolor*. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 77(1), 44-55.
- Gálvez-Marroquin, L. A., Reyes-Reyes, A. L., Avendaño-Arrazate, C. H., Hernández-Gómez, E., Mendoza-López, A., y Díaz-Fuentes, V, H. (2016). PATAXTE (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.): ESPECIE SUBUTILIZADA EN MÉXICO. *Agroproductividad*, 9(1) ,41-47.
- González, A., Torres, M, G. (2010). *Manual Cultivo de Macambo*. Iquitos, Perú: Instituto de Investigadores de la Amazonía Peruana. Recuperado de http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/manuales-boletines/macambo/estudio_macambo.pdf.
- Gonzales, R. (2004). Actualización de la Composición proximal del Pan de Consumo Popular en Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de CCQQ y Farmacia. Guatemala, 22-37.
- Ibañez, A. (2018). Los ácidos grasos esenciales: prevención y tratamiento de la inflamación. *Unican*, 1-41.
- Hernández G, M., Casas F, A., Martínez W, O., & Galvis V, J. (1998). Caracterización fisicoquímica y fisiológica del fruto de maraco (*Theobroma bicolor* H.B.K.) durante su desarrollo. *Agronomía Colombiana*. 4, 172-180.
- Hidalgo, L. J. (2018) Comprobación de la actividad antioxidante y evaluación de la actividad citotóxica de *Theobroma bicolor* procedente de Samayac, Suchitepéquez. *Química farmaseutica*, [tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala] Repositorio Institucional UN. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF1502.pdf>
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). (2022). Cuatro variedades de cacao resistentes a moniliasis

<https://www.gob.mx/inifap/es/articulos/registra-inifap-cuatro-variedades-de-cacao-resistentes-a-moniliasis?idiom=es>

- Jiménez Peña, C. R., & Palacios Hilario, A. Y. (2021). Optimización de la extracción de manteca de cacao (*theobroma cacao* L.) por lixiviación utilizando la metodología de superficie de respuesta [tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Santa] Repositorio Institucional UN. <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/3810/52338.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Manfugás, J. E. (2020). Evaluación sensorial de los alimentos. Editorial Universitaria (Cuba), 1 (2), 11-16.
- Morejón, I. F. B., Torres, D. N., & Curay, E. R. R. (2020). Desarrollo de barras de cacao (*theobroma cacao*) “chocolate”, para aprovechar sus propiedades bioactivas, en la asociación de mujeres de “San Gerardo” del cantón Echeandía. *Revista Pertinencia Académica*. ISSN 2588-1019, 4(5), 58-67.
- Morató, J., & Moreno, M. A. (2017). Conocimiento ecológico tradicional asociado a la elaboración del Siaabgez, bebida tradicional de la comunidad zapoteca de Teotitlán del Valle, Oaxaca, México. (Tesis de posgrado). Universidad Politécnica de Cataluna, Barcelona, España.
- Muñoz, A., Vega, J y Vera, J. (2014). Determinación de análisis proximal de productos alimenticios, Nuevo Chimbote, Perú, 1-25.
- Planeta, Cacao.[@PlanetaCacao]. (2019, 1 de febrero). *Theobroma bicolor*, familia del cacao. Consultado el 13 de junio de 2022. [tuit] <https://twitter.com/planetacacao/status/1091328995071676416>
- Pérez Moraa, W., Jorin Novo, J., & Melgarejoa, L. (2018). Substantial equivalence analysis in fruits from three *Theobroma* species through chemical composition and protein profiling. *Elsevier*.496-504
- Parada Berríos, F., Vásquez Osegueda, E., Lovo Lara, L., Arias de Linares, A., & Molina Escalante, M. (2019) Rescate de patashte (*Theobroma bicolor* Humb & Bonpl.) y

- cushta (*Theobroma angustifolium*) dos especies promisorias en peligro de extinción en El Salvador. 2(1), 109-122
- 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.) *Ciencia Agroindustrial*, 8 (1), 28.
- Rendón, A., González, Graciela., Oble, M., Ojeda, Virginia., Parra, E., Pérez, E y Ramirez, L. (1998). *THEOBROMA BICOLOR HUMB. & BONPL. (STERCULIACEAE, "CUAPATALTLE") EN EL MUNICIPIO DE AYUTLA DE LOS LIBRES GUERRERO. COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS HUERTOS Y ASPECTOS ETNOBOTÁNICOS*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 63, 75-84.
- Rodríguez-Pérez, W. (2006). Estudio comparativo de la composición de ácidos grasos de aceite de semilla de plantas de la Amazonia Colombiana, *Momento ciencia*, 2 (2), 75-80.
- Ríos, M. (2015). Estudio del Arte para la Elaboración de Productos de Snack a partir del Macambo (Doctoral dissertation, Tesis de Grado. Universidad de la Amazonia Peruana. Iquitos (Perú)).
- Sotelo, A., Álvarez, R. (1991). Chemical Composition of Wild *Theobroma* Species and Their Comparison to the Cacao Bean. *J. Agric.Food Chem*, 39(11), 1940-1942.
- Sanhueza, J., Durán. S., Torres, J. (2015). Los ácidos grasos dietarios y su relación con la salud. *Nutrición hospitalaria*, 32 (3), 1362-1364.
- Sotelo, A., Álvarez, R. (1991). Chemical Composition of Wild *Theobroma* Species and Their Comparison to the Cacao Bean. *J. Agric.Food Chem*, 39(11), 1940-1942.
- Silveira Rodríguez, M. B., Monereo Megías, S., & Molina Baena, B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos? *Revista española de salud pública*, 77, 317-331.
- Sanclemente Barreiro, A. B., & Tigrero Bajaña, J. B. (2018). Sustitución de *Theobroma* Cacao por *Theobroma* (Pataxte) Y su aplicación en repostería (Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química).

Tinajero-Carrizales, C., González-Pérez, A. L., Rodríguez-Castillejos, G. C., Castañón-Nájera, G., & Ruíz-Salazar, R. (2021). Comparación proximal en cacao (*Theobroma cacao*) y Pataxte (*T. bicolor*) de Tabasco y Chiapas, México. *Polibotánica*, (52), 135-149.