

## Producción de bebida fermentada simbiótica de pataxte (*Theobroma bicolor*) adicionada con bacterias ácido lácticas

Pierina Díaz-Guerrero<sup>1</sup>, Dra. Beatriz Pérez-Armendáriz<sup>2</sup>, Dr. Gabriel Abraham Cardoso-Ugarte<sup>3</sup>

**Resumen:** El pataxte (*Theobroma bicolor*), fruto de la familia del cacao, es considerado un producto residuo debido a la poca difusión y conocimiento sobre las aplicaciones de su pulpa a pesar de contener compuestos fenólicos con actividad antioxidante. El uso de la pulpa para la elaboración de una bebida fermentada es una alternativa a las bebidas azucaradas, mostrando el potencial funcional de este descarte como super alimento y generador de biopolímeros. El objetivo del proyecto fue elaborar una bebida simbiótica a partir de pulpa de pataxte y aguamiel, utilizando bacterias ácido-lácticas como microorganismos fermentadores; estandarizar la bebida, evaluar la viabilidad, inocuidad y características físico-químicas y sensoriales. El diseño experimental se realizó con tres cepas ácido-lácticas (*Levilactobacillus brevis*, *Lactocaseibacillus paracasei* y *Lactiplantibacillus plantarum*) y tres tratamientos (0, 24 y 48h de fermentación) para un total de seis tratamientos y tres replicados. Se evaluó la concentración de sólidos solubles, pH, ácido láctico y características sensoriales (aparición, textura, sabor, aroma, aceptabilidad general). Estadísticamente no existió diferencias significativas en ninguna de las muestras ( $p < 0.05$ ), sin embargo, se seleccionó la muestra *L. Plantarum* 48h con  $3.2 \times 10^8$  UFC/mL ( $\pm 1.59$ ) para realizar futuros análisis, dado que existiera pérdida de carga microbiana, permaneciera dentro del rango  $1 \times 10^6$  UFC/mL.

**Palabras clave:** *Theobroma bicolor*, simbiótico, compuestos fenólicos, antioxidante.

### Introducción

El nombre científico del pataxte es *Theobroma bicolor* (Humb. & Bonpl.) perteneciente a la familia Malvaceae del género *Theobroma*. (Cuatrecasas, 1964). En México aún se considera una especie semidomesticada; las semillas se consumen como snack o para la elaboración de dulces, chocolate, bebidas refrescantes y la pulpa, en menor consumo, como fruta fresca (Parada, 2019; McCoy, 2019). El pataxte está compuesto por 23.76% de pulpa, 62.54% de cáscara y 13.70% de semillas (Gálvez; 2016). La pulpa fresca presenta un sabor fuerte y exótico, entre mango, melón, plátano, papaya, y guanábana. Su estudio ha reportado contenidos de teobromina, cafeína con ausencia de teofilina (Azurdía, 2016) y compuestos fenólicos entre los que destaca la 3-β-D-glucósido de quercetina con  $3,755 \text{ mg}/100\text{g} \pm 0,232$  (Sotero, 2011). El 3-β-D-glucosídico de quercetina (Q3G), también conocido como isoquercitrina, es un monoglucósido con potente actividad antioxidante, antiinflamatoria, neuroprotectora y antiproliferativa contra líneas celulares con cáncer. (MERCK, 2023). La pulpa presenta un comportamiento de flujo de tipo pseudoplástico ( $R^2 > 0.90$ ) o fluido no newtoniano, con característica viscosa (Sánchez, 2012) y una estructura molecular similar a la inulina (Castillo, 2020). El Aguamiel es la savia traslúcida secretada por la planta de agave con tonalidad ámbar, constituido principalmente por agua, azúcares, proteínas, vitaminas y minerales (Guzmán, 2018). Dentro de sus principales carbohidratos fermentables (cerca del 60%) son fructanos (Herrera, 2008), y fructooligosacáridos (Martínez, 2019) como la inulina, que presenta actividad prebiótica (Escalante, 2017).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son bacilos o cocos gram positivos, catalasa negativos que durante la metabolización anaerobia del azúcar producen ácido láctico como producto final único, principal o importante (Hernández, 2009) además de acetaldehído, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas, compuestos capaces de inhibir el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos mostrando actividad probiótica (Vasiee, 2014). Los probióticos son microorganismos vivos que confieren un efecto benéfico para la salud del hospedador, cuando se administran en cantidades adecuadas (FAO, 2006). Los requisitos funcionales de los probióticos incluyen tolerancia al pH ácido, enzimas, sales biliares, adherencia a las superficies epiteliales y actividad antagonista frente a los patógenos intestinales (Lacerda, 2013).

*Lactiplantibacillus plantarum* es utilizado dentro de la industria alimentaria por su actividad como cultivo iniciador y conservador, en el área médica y farmacológica ha destacado por sus cualidades antiinflamatorias, antidiabéticas, antiproliferativas, anticancerígenas y en el manejo de la obesidad (Di Renzo, 2018; Arasu, 2016; Schoch et al. 2020). *Levilactobacillus brevis* ha mostrado resistencia y viabilidad celular a pH 2.0 – 3.0 (Fang, 2018; Schoch et al. 2020) e inhibición de patógenos (Rönkä, 2003). *Lactocaseibacillus paracasei* reduce la

<sup>1</sup> Pierina Díaz-Guerrero es alumna de la Maestría en Biotecnología de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, [pierina.diaz@upaep.edu.mx](mailto:pierina.diaz@upaep.edu.mx)

<sup>2</sup> La Dra. Beatriz Pérez-Armendáriz es profesora investigadora de la Facultad de Biotecnología de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, miembro del Sistema Nacional de Investigadores, nivel I, [beatriz.perez@upaep.mx](mailto:beatriz.perez@upaep.mx)

<sup>3</sup> El Dr. Gabriel Abraham Cardoso-Ugarte es profesor investigador de la Facultad de Gastronomía de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, miembro del Sistema Nacional de Investigadores, nivel I, [gabrielabraham.cardoso@upaep.mx](mailto:gabrielabraham.cardoso@upaep.mx) (autor correspondiente)

incidencia de infecciones gastrointestinales y respiratorias comunes en niños y en edad avanzada (Belkacem, 2017; Schoch, 2020) presentando actividad antibacteriana y antifúngica (Chuang, 2011). Debido a lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue desarrollar una bebida fermentada a partir de pulpa de pataxte (*Theobroma bicolor*) y aguamiel, mediante la inoculación de bacterias ácido lácticas como microorganismos fermentadores, para obtener un alimento simbiótico.

## Metodología

### Estandarización de la fórmula no fermentada

El fruto de pataxte (*Theobroma bicolor*) fue recolectado del estado de Oaxaca. Se lavaron con agua y jabón en polvo, se realizó el quiebre y despulpado de manera manual con machete y cuchillos limpios, respectivamente. Se realizó este procedimiento hasta obtener 3,626g de pulpa de pataxte, y posteriormente se empacaron en bolsas de polietileno selladas al alto vacío con 200g de pulpa por bolsa, siendo 17 bolsas de 200g y 1 de 226g; se rotularon y se sometieron a proceso de congelación a  $-18^{\circ}\text{C}$ . El aguamiel (*Agave* spp.) se obtuvo de un mercado del municipio de San Andrés Cholula, en el estado de Puebla sometiéndose a un proceso de congelación de  $-18^{\circ}\text{C}$  y el agua potable fue de la marca Ciel.

### Selección de la fórmula no fermentada

Se prepararon 6 formulaciones de 1 litro con distintas concentraciones de pulpa de pataxte (100 – 200 g), aguamiel (50 – 250 ml) y agua potable (550 – 850 ml), con la finalidad de tener la concentración con mayor grado de aceptabilidad en la evaluación sensorial considerando los parámetros de apariencia, textura, sabor y aroma (Espinosa, 2007). La primera bebida se conformó por 100g de pulpa, 50 ml de aguamiel y 850 ml de agua potable, la segunda fórmula con 100 g, 150 ml y 750 ml, la tercera fórmula con 100 g, 250 ml y 650 ml, la cuarta fórmula con 200 g, 150 ml, 750 ml, la quinta fórmula con 200 g, 150 ml y 650 ml, y finalmente, la sexta fórmula con 200 g, 250 ml y 550 ml respectivamente. Posteriormente se envasaron individualmente y se refrigeraron a  $4^{\circ}\text{C}$ .

En cuanto a la selección de la concentración de mayor aceptabilidad general se realizó una primera evaluación sensorial con 20 jueces no entrenados, mediante pruebas de ordenamiento y pruebas de escala hedónica de 9 puntos para las 6 muestras de bebidas (Espinosa, 2007). Los resultados de las evaluaciones se analizaron mediante el análisis de varianza de un factor (ANOVA F) con comparaciones de Tukey en el programa Minitab, así como por el método de Diferencia Mínima Significativa (DMS) con un nivel de significancia del 5% ( $p < 0.05$ ), sin embargo ninguna de las 6 muestras mostraron diferencias significativas, por lo que se añadió el atributo costo por producción, como factor decisivo, determinando la concentración con 100 g de pulpa de pataxte, 150 mL de aguamiel y 750 mL de agua potable, como la muestra con aceptabilidad general y bajo costo de producción. Una vez seleccionada la concentración de la fórmula, se procedió a la pasteurización de la bebida a  $85^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos para la eliminación de microorganismos fermentativos del aguamiel (Chagua, 2020).

### Microorganismos

Se utilizaron las bacterias ácido lácticas *Levilactobacillus brevis*, *Lactocaseibacillus paracasei* y *Lactiplantibacillus plantarum* (UPAEP, México). Como pre inóculo se estandarizaron las bacterias en medio MRS a una DO de 0.9 de absorbancia, por espectrofotometría UV/VIS (Modelo VE-5100UV, Científica Vela Quin S.A. de C. V., México) a una lectura de 600 nm.

### Inoculación de BAL y fermentación

Por triplicado y de manera independiente se inocularon las bacterias *L. brevis*, *L. paracasei* y *L. plantarum* en una concentración del 2% (como estándar de bebida probiótica) en botellines con 10 ml de bebida. Se llevaron a incubación a  $37^{\circ}\text{C}$  por 48h; a las 0, 24 y 48h de fermentación se tomaron muestras por el método de dilución seriada y goteo en placa, colocando 100  $\mu\text{l}$  de la bebida inoculada en agar MRS considerando las diluciones  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$ , con el objetivo de conocer la viabilidad de la bebida para el crecimiento de las bacterias ácido lácticas inoculadas.

### Recuento microbiano

Para la determinación de microorganismos vivos, se realizó por triplicado en 3 tiempos (0, 24 y 48h) por el método de conteo en placa, considerando las diluciones  $1 \times 10^4$  a  $1 \times 10^8$  sembradas por el método de goteo en placa, colocando 100  $\mu\text{l}$  de la bebida inoculada en medio agar MRS con un tiempo de incubación de 48h a  $37^{\circ}\text{C}$ , seleccionando las réplicas con colonias contables de 30 a 300 UFC/mL, y considerando la fórmula de UFC por mililitro:  $\text{UFC/ml} = \text{N}^{\circ} \text{ de colonias por placa} \times \text{el factor de dilución/ ml de la muestra sembrada}$ .

### Caracterización de la fórmula estandarizada

La medición de azúcares solubles de las bebidas se realizó por triplicado mediante un refractómetro digital (ATAGO 3810 PAL-1) aplicando 2 gotas de muestra con pipetas desechables; las muestras estudiadas contenían

de manera independiente las cepas *L. brevis*, *L. paracasei* y *L. plantarum* en tres periodos de fermentación (0, 24 y 48h).

#### Concentración de pH y ác. láctico

Se inició con la medición de pH de las bebidas inoculadas y fermentadas por triplicado mediante un potenciómetro (Conductonic PC45. México) calibrado con soluciones tampón estándar de pH de 4.00, 7.00 y 9.00. La concentración de ácido láctico fue determinada mediante el método de titulación, por triplicado en tres tiempos de fermentación (0, 24 y 48h); se utilizaron 10 ml de cada muestra, se añadieron 3 gotas de fenolftaleína, y posteriormente por goteo, se descargó hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N en las muestras hasta notar un cambio de color hacia el tono rosa violeta, reportando los ml descargados de NaOH para cada muestra. La titulación se utiliza como guía para determinar el nivel de acidez del producto. Para obtener el porcentaje de acidez (%) se utilizó la ecuación (1), considerando el factor constante de ácido láctico de 0.09.

$$\% \text{acidez} = ((0.064) \times (\text{Normalidad de NaOH}) \times (\text{mL de NaOH utilizados})) / (\text{gramos de muestra}) \times 100$$

Ecuación 1. Fórmula para porcentaje de acidez

#### Evaluación sensorial

Se realizaron dos evaluaciones sensoriales, la primera con la finalidad de seleccionar la concentración de pulpa, aguamiel y agua con mayor aceptabilidad general para proseguir a la inoculación y fermentación. La segunda evaluación se realizó para seleccionar la muestra final con mayor grado de aceptabilidad de acuerdo con la cepa (*L. brevis*, *L. paracasei* y *L. plantarum*) y tiempo de fermentación (24h y 48h). Las evaluaciones consistieron en dos pruebas, una de escala hedónica de 9 puntos y otra de ordenamiento, esto con la finalidad de determinar el nivel de aceptabilidad de la bebida previa a la fermentación y post fermentación. Para cada evaluación participaron un grupo de 20 jueces de ambos sexos no entrenados, con 6 muestras de 50 mL de bebida a temperatura aprox. de 8° C; los parámetros que se midieron fueron apariencia, textura, aroma, sabor y aceptabilidad general, con 9 niveles de agrado: “Me gusta muchísimo, Me gusta mucho, Me gusta moderadamente, Me gusta poco, No me gusta ni me disgusta, Me gusta poco, Me disgusta moderadamente, Me disgusta mucho y Me disgusta muchísimo”. Se hizo la prueba de ordenamiento de mayor a menor agrado (Anexo A).

#### Prueba hedónica

La prueba hedónica, también considerada como prueba afectiva, se encuentra dentro de las mediciones escalares, las cuales mide de manera cuantitativa la intensidad de una propiedad sensorial con la ayuda de una escala, ya sea de 5, 7 ó 9 puntos de la escala hedónica. En este caso se consideró de 9 puntos por los 9 niveles de agrado tanto de manera positiva como negativa (Espinosa, 2007).

#### Prueba de ordenamiento

La prueba de ordenamiento es considerada una prueba analítica que se subdivide en pruebas discriminatorias de diferenciación, las cuales permiten comparar dos o más productos, y por ende tener un ordenamiento de este (Espinosa, 2007).

#### Análisis estadísticos

El análisis de datos se realizó por triplicado. Los datos se sometieron a un análisis de varianza de un factor (ANOVA) mediante el programa estadístico Minitab versión 17. Los resultados obtenidos se expresaron como los valores medios  $\pm$  la D.E. de tres réplicas, la comparación de las medias se realizó mediante la distribución t de Student con el complemento Analysis Toolpak de Microsoft Excel y, para el análisis de componentes principales (PCA) se utilizó el programa CAT (Chemometric Agile Tool). La significación estadística de los resultados se determinó a un nivel de probabilidad de  $p < 0.05$ .

## Resultados y Análisis

#### Recuento microbiano

De acuerdo con los resultados obtenidos, se seleccionaron las diluciones -6, reportando para *L. brevis*  $10.5 \times 10^7$  UFC/mL ( $\pm 0.7$ ) a las 24h y  $1.3 \times 10^8$  UFC/mL ( $\pm 1.73$ ) a las 48h; *L. paracasei*  $20.3 \times 10^7$  UFC/mL ( $\pm 0.6$ ) a las 24h y  $2.2 \times 10^8$  UFC/mL ( $\pm 0.8$ ) a las 48h, y finalmente *L. plantarum* con  $19 \times 10^7$  UFC/mL ( $\pm 12.49$ ) a las 24h y  $3.2 \times 10^8$  UFC/mL ( $\pm 1.59$ ) a las 48h (Figura 1). Se realizó el estudio estadístico de medias t-student con un nivel de significancia del 95% para comparar el crecimiento microbiano entre cepas y tiempos de fermentación por triplicado, sin embargo, únicamente existió una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del grupo *L. brevis* y *L. plantarum* (Tabla 1).

Cabe destacar que, la viabilidad de las tres bacterias se encuentra dentro de la normativa NOM-181-SCFI-2010, cumpliendo con  $\geq 1 \times 10^6$  UFC/mL para considerarse bebida probiótica. A su vez, puede diferenciarse la

viabilidad de las bacterias heterofermentativas (*L. brevis*) de las homofermentativas (*L. plantarum* y *L. paracasei*) en el sustrato.

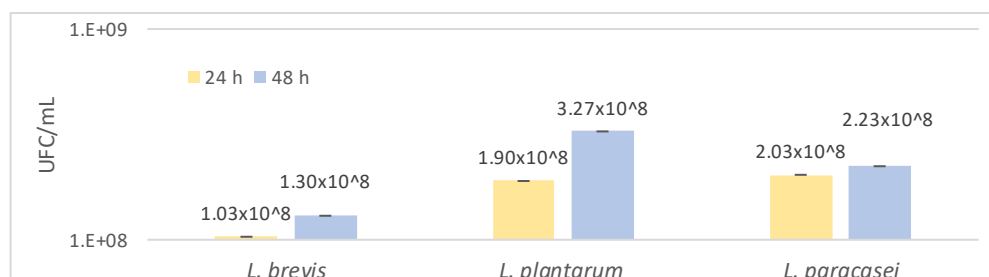


Figura 1. Carga microbiana (UFC/mL) por cepa y tiempo de fermentación.

Cepa	Br 24h	Pl 24h	Pa 24h	Br 48h	Pl 48h	Pa 48h
<i>L. Brevis</i> 24h	0	DNS	DNS	0.0471	DNS	DNS
<i>L. Plantarum</i> 24h		0	DNS	DNS	0.0281	DNS
<i>L. Paracasei</i> 24h			0	DNS	DNS	DNS
<i>L. Brevis</i> 48h				0	DNS	DNS
<i>L. Plantarum</i> 48h					0	DNS
<i>L. Paracasei</i> 48h						0

Tabla 1. Estudio estadístico t-student de UFC/mL.

DNS\* Diferencia no significativa (p <0.05). Br: *L. Brevis*; Pl: *L. Plantarum*; Pa: *L. Paracasei*.

### Pruebas microbiológicas

Se realizaron las pruebas microbiológicas considerando las normativas oficiales mexicanas NOM-092-SSA1-1994, NOM-111-SSA1-1994, NOM-112-SSA1-1994, NOM-115-SSA1-1994 y NOM-210-SSA1-2014, para comprobar la viabilidad de las BAL y descartar microorganismos patógenos como hongos, levaduras, enterobacterias, y coliformes totales. De los cuales el único resultado positivo se obtuvo en el medio PDA (hongos y levaduras) a las 48h, probablemente por el proceso de pasteurización de la bebida, aunque se sugiere realizar la caracterización microbiológica de la pulpa, debido a la nula información de la misma.

### Concentración de azúcares, pH y ácido láctico

En las tres muestras, el mayor nivel de concentración de azúcares solubles se obtuvo en las 24h de fermentación con  $4.00 \pm 0.00\%$  °Brix para *L. brevis*,  $3.97 \pm 0.06\%$  °Brix para *L. paracasei* y  $3.80 \pm 0.00\%$  °Brix para *L. plantarum* (Figura 2). Generalmente, la mayor concentración de azúcares solubles se reporta en la hora 0 y disminuye durante la fermentación, debido a que las bacterias ácido-lácticas (heterofermentativas u homofermentativas) metabolizan los azúcares en ácido láctico como principal producto final, reduciendo la concentración de azúcares solubles y aumentando la concentración de ácido láctico (Hu, G. et al., 2022; Aso, Y. et al., 2019). La diferencia de concentración de azúcares en la primera etapa fermentativa (0h) puede deberse a una variación en la temperatura de la muestra al momento de la medición, ya que el índice de refracción es dependiente de este parámetro y usualmente se mide a una temperatura de 20°C a diferencia de la muestra medida a 4°C (Hanna Instruments México, 2021). Sánchez (2012) menciona que el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los parámetros reológicos de la pulpa de pataxte condiciona que, a menor temperatura de almacenamiento, mayores son los valores en los índices de comportamiento del flujo (viscosidad).

Respecto al pH, al tiempo 0h de fermentación, las muestras iniciaron con un pH similar de  $5.02 \pm 0.1$ , tras 24h disminuyeron a un pH de  $3.70 \pm 0.1$  con mínima diferencia entre *Lactobacillus*; a las 48h existió diferencias estadísticamente significativas (Tabla 2) siendo *L. brevis* el pH más bajo de las muestras con  $3.25 \pm 0.53$  (Figura 3); al ser un lactobacilo heterofermentativo, tras el periodo de fermentación además del lactato, *L. brevis* pudo generar ácido acético como producto final, aumentando la concentración de ácido en el medio (Di Renzo, T. et al., 2018; Reale, A. et al. 2011).

El pH óptimo para el crecimiento de las bacterias ácido-lácticas se sitúa entre 6.2 y 8.5 (Hu, G. et al., 2022); en este estudio se inició con un pH de  $5.02 \pm 0.1$  para las tres cepas, reportando la menor carga microbiana de *L. brevis* a las 24h con  $10.5 \pm 0.7 \times 10^7$  UFC/mL, concentración mayor a  $1 \times 10^6$  UFC/mL para considerarse bebida probiótica, comprobando la resistencia a pH bajos y viabilidad de los microorganismos en la bebida.

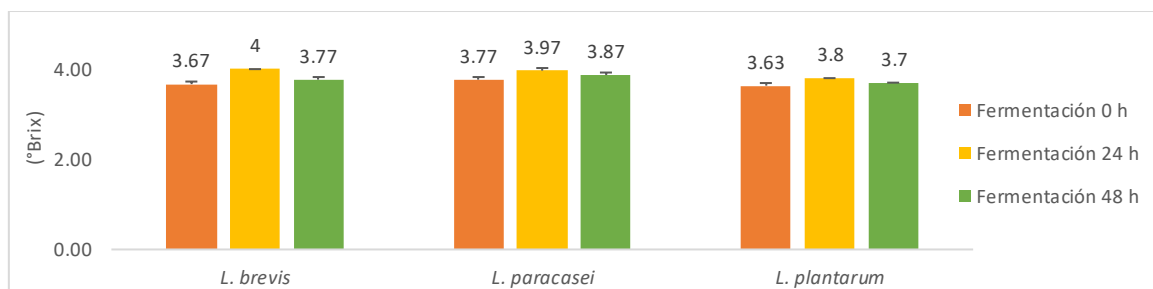


Figura 2. Concentración de sólidos solubles (°Brix) en tres tiempos de fermentación (0, 24 y 48h).

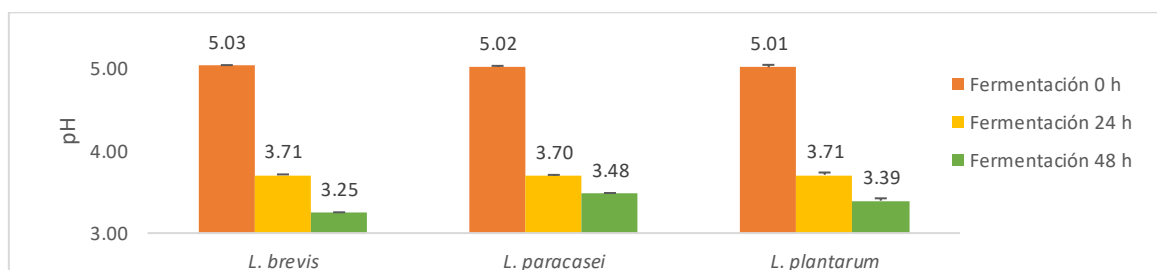


Figura 3. Estadios de pH durante la fermentación (0, 24 y 48h).

	<i>Br</i> 0h	<i>Pl</i> 0h	<i>Pa</i> 0h	<i>Br</i> 24h	<i>Pl</i> 24h	<i>Pa</i> 24h	<i>Br</i> 48h	<i>Pl</i> 48h	<i>Pa</i> 48h
<b><i>L. Brevis</i> 0h</b>	0	DNS	0.0286	0.0212	0.0226	0.0195	0.0137	0.0154	0.0167
<b><i>L. Plantarum</i> 0h</b>		0	DNS	0.0234	0.0249	0.0214	0.0149	0.0169	0.0182
<b><i>L. Paracasei</i> 0h</b>			0	0.0218	0.0233	0.0201	0.0140	0.0159	0.0171
<b><i>L. Brevis</i> 24h</b>				0	DNS	DNS	0.0010	0.0016	0.0037
<b><i>L. Plantarum</i> 24h</b>					0	DNS	0.0003	0.0007	0.0028
<b><i>L. Paracasei</i> 24h</b>						0	0.0025	0.0031	0.0041
<b><i>L. Brevis</i> 48h</b>							0	0.0018	0.0022
<b><i>L. Plantarum</i> 48h</b>								0	0.0032
<b><i>L. Paracasei</i> 48h</b>									0

Tabla 2. Análisis estadístico t-student de pH (p<0.05).

DNS: Diferencia no significativa; Br: L. Brevis; Pl: L. Plantarum; Pa: L. Paracasei.

El ácido láctico se produce por catálisis mediante la lactato deshidrogenasa tras el consumo de azúcares solubles (Aso, Y. et al., 2019), polioles o alcoholes de azúcar (Wang, Y. et al., 2021), incluso, BAL como *Levilactobacillus brevis* y *Leuconostoc* pueden reducir directamente la fructosa a manitol (Jeske, S. et al., 2018), lo que explicaría la concentración de ácido láctico de *L. brevis* tras 24h a diferencia de las cepas restantes (Figura 4). En este sentido, el nivel de concentración de ácido láctico y acético dependen principalmente del metabolismo de los azúcares del cultivo iniciador y del suministro de sustrato, aunque las condiciones de fermentación que pueden afectar a la viabilidad del cultivo, como la temperatura o la capacidad buffer, también pueden determinar el nivel de liberación de ácidos en el medio (Peyer, L. et al., 2016; Helland, M. et al., 2004). Ahmad, A. et al. (2022) mencionan que a partir de fermentaciones ácido lácticas se pueden producir biopolímeros de ácido poliláctico (PLA) como alternativa a productos basados en petróleo, teniendo impacto en diversas áreas incluyendo la biomédica y el empaquetado de alimentos. Las concentraciones de ácido láctico obtenidas de la fermentación de la pulpa de pataxte y aguamiel, muestra el potencial que tiene el fruto *Theobroma bicolor* no sólo como alimento simbiótico, también como sustrato candidato para la generación de biopolímeros.

#### Evaluaciones sensoriales y análisis estadísticos

La temperatura de la bebida se sirvió entre los 4-10° C, en un horario de 9-17 h con muestras de 50 mL, una galleta integral y un vaso con agua potable para limpiar el paladar. La evaluación consistió en una prueba afectiva o hedónica (de 9 puntos) y una prueba discriminativa de ordenamiento. La primera evaluación sensorial se realizó con la finalidad de estandarizar la bebida a partir de diversas concentraciones de ingrediente s.

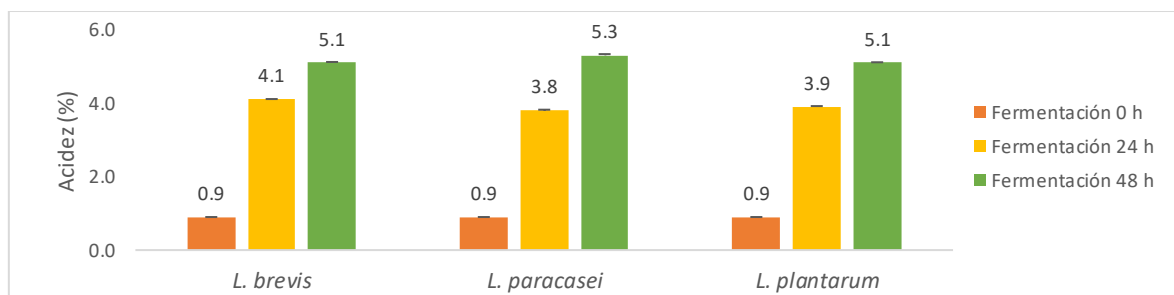


Figura 4. Porcentaje de acidez en tres tiempos de fermentación (0, 24 y 48h).

En el análisis de resultados por ANOVA, para determinar la bebida con mayor grado de aceptación, se concluyó que no existió diferencia significativa en ninguna de las muestras, por lo que se añadió la variable de precio (kg/L), seleccionando la muestra con mayor aceptabilidad y menor costo por producción, que corresponde a la fórmula de 100 g de pulpa, 250 mL de aguamiel y 650 mL de agua potable (Tabla 3).

Fórmula	Apariencia Media	Textura Media	Sabor Media	Aroma Media	Aceptabilidad General Media
10% pulpa 5% aguamiel 85% agua	5.45 ± 1.27 <sup>A</sup>	4.25 ± 1.55 <sup>BC</sup>	4.65 ± 1.13 <sup>AB</sup>	5.65 ± 1.59 <sup>A</sup>	4.30 ± 1.08 <sup>AB</sup>
10% pulpa 15% aguamiel 75% agua	5.60 ± 1.72 <sup>A</sup>	5.55 ± 1.76 <sup>AB</sup>	5.20 ± 1.88 <sup>AB</sup>	5.40 ± 1.84 <sup>A</sup>	4.95 ± 1.76 <sup>A</sup>
10% pulpa 25% aguamiel 65% agua	5.70 ± 1.49 <sup>A</sup>	6.25 ± 1.33 <sup>A</sup>	5.95 ± 1.53 <sup>A</sup>	6.10 ± 1.61 <sup>A</sup>	5.55 ± 1.50 <sup>A</sup>
20% pulpa 5% aguamiel 75% agua	5.05 ± 1.35 <sup>A</sup>	5.00 ± 1.74 <sup>ABC</sup>	4.25 ± 1.61 <sup>B</sup>	5.45 ± 1.57 <sup>A</sup>	4.15 ± 1.38 <sup>AB</sup>
20% pulpa 15% aguamiel 65% agua	4.50 ± 1.35 <sup>A</sup>	4.00 ± 1.94 <sup>C</sup>	3.90 ± 2.12 <sup>B</sup>	4.95 ± 2.21 <sup>A</sup>	3.45 ± 1.79 <sup>B</sup>
20% pulpa 25% aguamiel 55% agua	5.60 ± 1.50 <sup>A</sup>	5.35 ± 1.59 <sup>ABC</sup>	5.55 ± 2.39 <sup>AB</sup>	5.75 ± 1.77 <sup>A</sup>	4.60 ± 2.01 <sup>AB</sup>

Tabla 3. Resultados de la primera evaluación sensorial para la estandarización de la bebida; sin fermentación.  
<sup>ABC</sup> Las medias que comparten letra en la misma columna no muestran diferencia significativa entre ellas (p<0.05).

Se realizó una segunda evaluación sensorial con el objetivo de seleccionar la bebida con mayor grado de aceptabilidad tras el proceso de fermentación, ya que cada bacteria proporciona distintos atributos al alimento durante su fermentación, por ejemplo, la percepción "ácida" del ácido láctico en las bebidas ha mostrado propiedades para calmar la sed, por lo que se ha aprovechado este atributo para crear productos refrescantes (Peyer, L. C. et al., 2016; Warner, R., 2010).

Posterior a la fermentación, para aumentar la aceptabilidad de la bebida, se endulzó con un edulcorante de mesa "Stevia" de una marca comercial conocida en una concentración al 0.4% (en 450 ml de bebida), que por porción (un sobre de 1 gramo) contiene: 0 kcal (7,5 kJ), 0 mg de grasas totales, 0 mg de sodio, 0 g de hidratos de carbono, 0 g de fibra dietética, 0 g de proteínas, por lo que puede ser apto para personas con patologías como diabetes. Es importante mencionar que en la bebida no se percibió el resabio amargo reducido que pueden generar el uso de algunos edulcorantes. Se utilizó la técnica visual de diagrama radial, para obtener una idea general de los resultados obtenidos en la segunda evaluación sensorial (Figura 5). A pesar de que visualmente la muestra con *L. brevis* fermentada a 24h mostraba el mayor grado de aceptabilidad, en el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la bebida con la cepa y el tiempo de fermentación más aceptable, se observó que no existió diferencia significativa para ninguna de las muestras (Tabla 4).

Cepa	Tiempo fermentación	Apariencia Media	Textura Media	Sabor Media	Aroma Media	Aceptabilidad General Media
<i>L. brevis</i>	24 h	6,65 ± 1,78 <sup>A</sup>	7,00 ± 1,68 <sup>A</sup>	6,70 ± 1,89 <sup>A</sup>	6,75 ± 1,94 <sup>A</sup>	6,85 ± 1,78 <sup>A</sup>
<i>L. brevis</i>	48 h	6,15 ± 1,69 <sup>A</sup>	6,40 ± 1,66 <sup>A</sup>	5,20 ± 2,21 <sup>A</sup>	5,90 ± 1,83 <sup>A</sup>	5,65 ± 1,72 <sup>A</sup>
<i>L. paracasei</i>	24 h	6,40 ± 1,50 <sup>A</sup>	6,10 ± 1,91 <sup>A</sup>	6,45 ± 1,50 <sup>A</sup>	6,10 ± 1,71 <sup>A</sup>	6,50 ± 1,31 <sup>A</sup>
<i>L. paracasei</i>	48 h	6,55 ± 1,84 <sup>A</sup>	6,95 ± 1,46 <sup>A</sup>	6,50 ± 1,85 <sup>A</sup>	6,10 ± 2,10 <sup>A</sup>	6,55 ± 1,79 <sup>A</sup>
<i>L. plantarum</i>	24 h	6,60 ± 1,75 <sup>A</sup>	6,10 ± 2,12 <sup>A</sup>	6,20 ± 1,79 <sup>A</sup>	6,25 ± 1,88 <sup>A</sup>	6,50 ± 1,39 <sup>A</sup>
<i>L. plantarum</i>	48 h	6,40 ± 1,78 <sup>A</sup>	6,70 ± 1,75 <sup>A</sup>	5,55 ± 2,43 <sup>A</sup>	6,05 ± 1,70 <sup>A</sup>	6,30 ± 1,52 <sup>A</sup>

Tabla 4. Resultados de la segunda evaluación sensorial post-fermentación.

<sup>A</sup> Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa entre ellas (p<0.05).

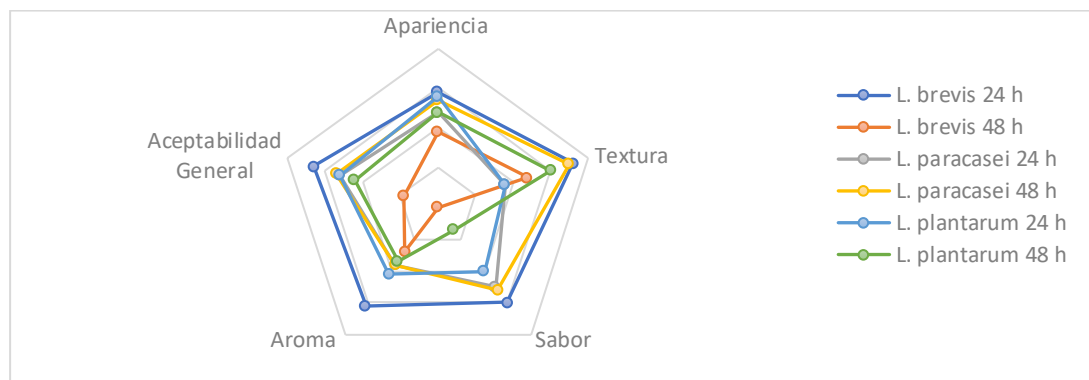


Figura 5. Diagrama radial de la evaluación sensorial post-fermentación, representando la media de los atributos.

Paralelamente, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para simplificar la dimensionalidad de las variables correlacionadas, mostrando dispersión de matrices sin grado de similitud (Figura 6). Concluyendo en ambos estudios estadísticos que no existió diferencia significativa de las muestras, por lo tanto, se seleccionó la muestra con mayor concentración de UFC/mL (*L. plantarum* / 48h /  $3.2 \pm 1.59 \times 10^7$  UFC/mL) a fin de realizar los próximos análisis propuestos (resistencia a simulación de fluidos gastrointestinales y antibióticos y, vida de anaquel) con las características fisicoquímicas y sensoriales obtenidas (Tabla 5).

Característica	Valor
Microorganismo	<i>L. plantarum</i>
Tiempo de fermentación	48 h
UFC/mL	$3.2 \times 10^8 (\pm 1.59)$
pH	3.39
Contenido de sólidos solubles (%)	3.7
Acidez titulable (ác. láctico %)	5.1
Aceptación general	$6,55 \pm 1,79$
Color	Amarillo maíz

Tabla 5. Características fisicoquímicas y sensoriales de la bebida.

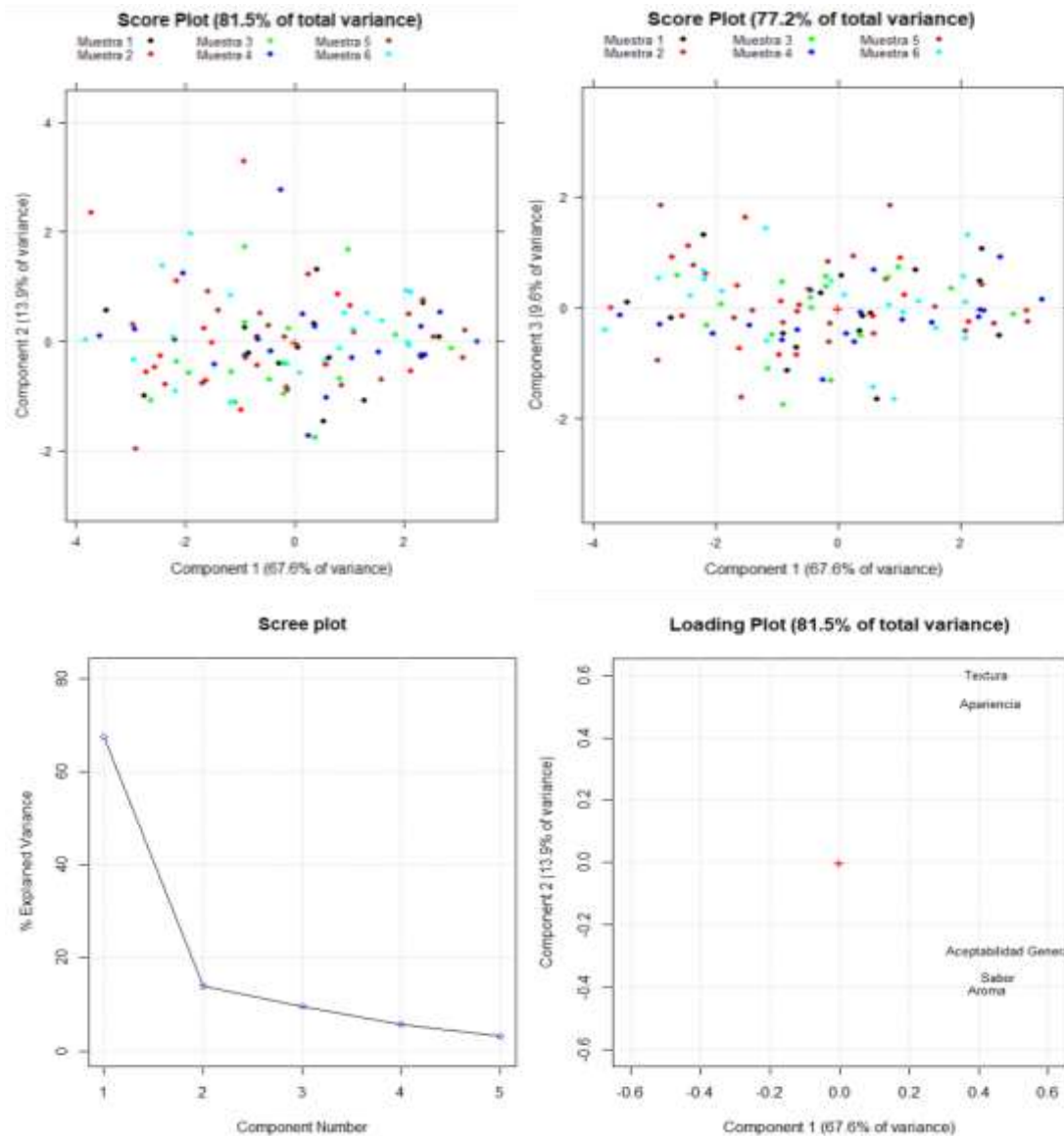


Figura 6: Análisis de Componentes Principales de la bebida sin diferencias entre las muestras. Muestra 1 (*L. brevis* 24h); Muestra 2 (*L. brevis* 48h); Muestra 3 (*L. paracasei* 24h); Muestra 4 (*L. paracasei* 48h); Muestra 5 (*L. plantarum* 24h); Muestra 6 (*L. plantarum* 48h).

Se estandarizó la fórmula de la bebida fermentada con 100 g de pulpa, 250 mL de aguamiel y 650 mL de agua potable. Los resultados microbiológicos mostraron que las tres cepas de bacterias ácido-lácticas son capaces de crecer en sustratos de pulpa de pataxte y aguamiel, alcanzando más de  $10.5 \times 10^7$  UFC/mL ( $\pm 0.7$ ) después de 24h de fermentación e incluso  $3.2 \times 10^8$  UFC/mL ( $\pm 1.59$ ) tras 48h, comprobando la viabilidad de bacterias ácido-lácticas en la bebida. En las pruebas microbiológicas, no se encontraron enterobacterias y coliformes totales, únicamente fue positivo para hongos y levaduras, sin embargo, aún no existe reporte de la microbiología de la pulpa de pataxte. Sensorialmente, la percepción de la muestra con mayor grado de aceptación general fue con la cepa *L. brevis* a las 24h de fermentación ( $6,85 \pm 1,78$ ) aunque, estadísticamente no existió diferencias significativas en ninguna de las muestras ( $p < 0.05$ ), por ende, todas las muestras eran candidatas. No obstante, por estrategia se seleccionó la muestra con *L. plantarum* 48h para realizar los futuros análisis, dado que existiera pérdida de carga microbiana, se mantendría dentro del rango  $1 \times 10^6$  UFC/mL.

### Conclusiones

Se desarrolló una bebida fermentada no láctea y no alcohólica simbiótica, a base de pulpa de pataxte (*Theobroma bicolor*), y aguamiel de *Agave* spp., adicionada con la bacteria *Lactiplantibacillus plantarum*. Se obtuvo una bebida con: (i) ingredientes estandarizados con aceptación general positiva y a menor costo, (ii) fuente de compuestos fenólicos, como la isoquercitina, provenientes de la pulpa de pataxte, (iii) prebióticos, como la inulina derivada de la pulpa y aguamiel, (iv) viabilidad probiótica y, como producto final de su fermentación (v)



ácido láctico, así como (vi) aceptación general positiva hacia los atributos obtenidos de la fermentación. Por sus características fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y nutricionales, es una bebida simbiótica fermentada no láctea, no alcohólica e inocua, ideal como alternativa a las bebidas azucaradas y estimulantes. Con este proyecto se busca promover el uso y consumo de productos nacionales mexicanos, así como el rescate de frutos en peligro de extinción como el *Theobroma bicolor*.

### Limitaciones

En México no existe una normativa o guía para la producción del árbol de *Theobroma bicolor*, por lo tanto, no hay sembradíos comerciales y la accesibilidad al fruto de pataxte es relativamente complicada. La cosecha generalmente es anual (dependiendo de las condiciones climáticas) por lo que no se obtiene con frecuencia, y el sabor de la pulpa puede ser considerado inusual por lo que puede existir el rechazo.

### Recomendaciones

Se propone realizar: (i) caracterización microbiológica de la pulpa para aislamiento e identificación de microorganismos endógenos, (ii) análisis de actividad probiótica de la bebida para cuantificación de bacterias viables, (iii) estudio de vida de anaquel de la bebida para el control y calidad del producto, (iv) cuantificación de isoquercetina presente en la bebida para posible nutraceutico.

### Referencias

- Ahmad, A., Banat, F., Alsafar, H. et al. (2022). An overview of biodegradable poly (lactic acid) production from fermentative lactic acid for biomedical and bioplastic applications. *Biomass Conv. Bioref.* <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02581-3>
- Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ilavenil, S., Choi, K. C., & Sriganesh, S. (2016). In vitro importance of probiotic *Lactobacillus plantarum* related to medical field. *Saudi journal of biological sciences*, 23(1), S6–S10. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.022>
- Aso, Y.; Hashimoto, A.; Ohara, H. (2019). Engineering *Lactococcus lactis* for D-lactic acid production from starch. *Curr. Microbiol.*, 76, 1186–1192.
- Azurdia, C. (2016). Plantas Mesoamericanas Subutilizadas en la Alimentación Humana. El caso de Guatemala: una revisión del pasado hacia una solución actual. Consejo Nacional de Áreas Protegidas y Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación. Documento técnico No. 11-2016.
- Belkacem, N., Serafini, N., Wheeler, R. (2017). *Lactobacillus paracasei* feeding improves immune control of influenza infection in mice. *PLoS ONE*, 12 (9), e0184976
- Castillo, H. (2020). Evaluación del potencial como alimento funcional de semillas y pulpa del fruto de pataxte (*Theobroma bicolor*). [Tesis de Maestría] UPAEP Puebla. Departamento de Ciencias Biológicas.
- Chagua, P., Malpartida, R.J., Ruiz, A. (2020). Tiempo de pasteurización y su respuesta en las características químicas y de capacidad antioxidante de aguamiel de *Agave americana* L. *Journal of High Andean Research*, 22(1), 45-57
- Chuang, LC., Huang, CS., Ou, LW. (2011). Probiotic *Lactobacillus paracasei* effect on cariogenic bacterial flora. *Clin Oral Invest.*, 15, 471–476
- Cuatrecasas, J. (1964). Cacao and its allies: A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. *Contr US Natl Herb*, Vol. 35. (6), 379-607.
- Di Renzo Tiziana, Reale Anna, Boscaino Floriana, Messia Maria C. (2018). Flavoring Production in Kamut®, Quinoa and Wheat Doughs Fermented by *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, and *Lactobacillus brevis*: A SPME-GC/MS Study. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 9. DOI=10.3389/fmicb.2018.00429
- Escalante, A. (2017). ¿Probióticos en el pulque? *Bioteología en Movimiento*, 9, 26-29.
- Espinosa, J. (2007). Evaluación sensorial de los alimentos. Editorial Universitaria. 39-56.
- Fang, F., Xu, J., Li, Q. (2018) Characterization of a *Lactobacillus brevis* strain with potential oral probiotic properties. *BMC Microbiology*, 18, 221.
- FAO. (2006). Probióticos en los alimentos - Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. *Estudios FAO Alimentación y Nutrición*, 85, 52. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a0512s/a0512s.pdf>
- Gálvez, LA., Reyes, AL., Avendaño, CH. (2016). Pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.): especie subutilizada en México. *Agroproductividad*, 9(1), 41-47.
- Guzmán, R. & Contreras, JA. (2018). Aguamiel and its fermentation: Science beyond tradition. *Mexican Journal of Biotechnology*, 3(1), 1-22.
- Hanna Instruments México. (2021, 7 de septiembre). *Medición de la maduración de la fruta por medio de % Brix*. [video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=ZYdMYW5Z0iI>
- Hernández, A. (2009). Evaluación del potencial probiótico de cepas de *Lactobacillus* para su uso en un alimento funcional. [Tesis de Maestría] IPN Tlaxcala. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada.
- Helland, M. H., Wicklund, T., & Narvhus, J. A. (2004). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings. *International Dairy Journal*. 14, 957e965. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.03.008>.
- Hu, G.; Jiang, H.; Zong, Y.; Datsomor, O.; Kou, L.; An, Y.; Zhao, J.; Miao, L. (2022). Characterization of Lactic Acid-Producing Bacteria Isolated from Rumen: Growth, Acid and Bile Salt Tolerance, and Antimicrobial Function. *Fermentation*. 8, 385. <https://doi.org/10.3390/fermentation8080385>

- Jeske, S., Zannini, E., Lynch, K., Coffey, A., and Arendt, E. (2018). Polyol-producing lactic acid bacteria isolated from sourdough and their application to reduce sugar in a quinoa-based milk substitute. *Int. J. Food Microbiol.* 286, 31–36. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.013
- Jurado-Gómez, et al. (2021). Adición de un probiótico de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado en el alimento para pollos. *Universidad y Salud*, 23(2), 151-161. Epub May 01, 2021. <https://doi.org/10.22267/rus.212302.227>
- Lacerda, C., Thorsen, L., Freitas, R. (2013). Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* isolates from Brazilian food products. *Food Microbiology*, 36, 22-29
- Ljungh, Å., Lan, J., Yanagisawa, N. (2002). Isolation, Selection and Characteristics of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 14(Suppl. 3), 4-6
- Martínez, MA., Wong, JE., Aguilar, P. (2019). Valor Funcional de Bebidas Tradicionales con Posible Potencial Prebiótico. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 13(22), 8-14
- MERCK. (2023). Quercetin 3-β-D-glucoside. <https://www.sigmaaldrich.com/IT/it/product/sigma/17793>
- McCoy, JA., Young, JH., Nifong, JM. (2019). Species for Medicinal and Social Use with an Emphasis on *Theobroma cacao* L. (Cacao), *Nicotiana tabacum* L. (Tobacco), *Actaea racemosa* L. (Black Cohosh), and *Humulus lupulus* L. (Hops). En: North American Crop Wild Relatives, Volume 2, (pp. 645-692), U.S. Government
- NOM-111-SSA1-1994. (1994). Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. México. [En línea]. Disponible en: [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0)
- NOM-092-SSA1-1994. (1994). Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México. [En línea] Disponible en: [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4721115&fecha=29/07/1994&print=true](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4721115&fecha=29/07/1994&print=true)
- NOM-112-SSA1-1994. (1994). Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. México. [En línea]. Disponible en: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69535.pdf>
- NOM-115-SSA1-1994. (1994). Bienes y servicios. Método para la determinación de Staphylococcus aureus en alimentos. México. [En línea]. Disponible en: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69539.pdf>
- NOM-181-SCFI-2010. (2010). Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. México. [En línea]. Disponible en: <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4209/seeco/seeco.htm>
- NOM-210-SSA1-2014. (2014). Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. [En línea]. Disponible en: [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015#:~:text=1.1%20Esta%20Norma%20tiene%20por,%2D%20Ap%20C3%A9ndice%20A%20Normativo.](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015#:~:text=1.1%20Esta%20Norma%20tiene%20por,%2D%20Ap%20C3%A9ndice%20A%20Normativo.)
- Parada, FA., Vásquez, EA., Lovo, LM. (2019). Rescate de patashite (*Theobromabicolor* Humb & Bonpl.) y cushta (*Theobroma angustifolium*) dos especies promisorias en peligro de extinción en El Salvador. *Revista Minerva*, 2(1), 109-122
- Peyer Lorenzo C., Zannini Emanuele, Arendt Elke K. (2016). Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 54, 17-25. ISSN 0924-2244. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.009>.
- Reale, A., Di Renzo, T., Succi, M. et al. (2011). Identification of lactobacilli isolated in traditional ripe wheat sourdoughs by using molecular methods. *World J Microbiol Biotechnol.* 27, 237–244 . <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0448-x>
- Rönkä, E., Malinen, E., Saarela, M. (2003). Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*. *International Journal of Food Microbiology*, 83:63-74
- Sánchez, V. (2012). Propiedades reológicas y calidad de la composición de pulpas de *Theobroma grandiflorum* (Copoazú) y *Theobroma bicolor* (Maraco). *Momentos de Ciencia*, 9(2), 176-181.
- Sánchez, L. et al. (2020). Seguridad biológica de *Lactobacillus plantarum* 22 LMC con potencialidad probiótica. *Revista de Salud Animal*, 42(2), e10. Epub 01 de agosto de 2020. Recuperado en 15 de noviembre de 2021, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2020000200004&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2020000200004&lng=es&tlng=es).
- Schoch CL, et al. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database (Oxford)*. : [baaa062](https://doi.org/10.1093/database/baaa062). PubMed: [32761142](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32761142/) PMC: [PMC7408187](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32761142/).
- Sotero, V. et al. (2011). Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en pulpa y semillas de cuatro frutales amazónicos de la familia *Sterculiaceae*. *Revista Sociedad Química Perú*. 77 (1).
- Vasiee, AR., Tabatabaei F., Mortazavi, A. (2014). Isolation, identification and characterization of probiotic *Lactobacilli* spp. from Tarkhineh. *International Food Research Journal*, 21(6), 2487-2492
- Warner, R. (2010). Patent No.: US 2010/0092622 A1, 1(19), 2008e2011. Disponible en: <https://patentimages.storage.googleapis.com/19/3a/dd/6e1c48753376f6/US20100092622A1.pdf>
- Wang Yaqi, Wu Jiangtao, Lv Mengxin, Shao Zhen, Hungwe Meluleki, Wang Jinju, Bai Xiaojia, Xie Jingli, Wang Yanping, Geng Weitao. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 9. ISSN=2296-4185 DOI: 10.3389/fbioe.2021.612285

### Notas Biográficas

Pierina Díaz Guerrero es Maestra en Biotecnología y biomedicina con especialidad en Biomedicina por Universidad de Jaén, Licenciada en Nutrición por Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Pertenece a la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería (SMBB) y Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM). Su primera línea de investigación se centra en el desarrollo de productos a base de prebióticos, probióticos y alimentos funcionales; revalorización y extracción enzimática de compuestos de interés provenientes de residuos orgánicos; desarrollo de nutraceuticos con capacidad antioxidante y antimicrobiana. Su segunda línea de investigación está orientado al consumo de semilla de chía y su efecto protector en el riesgo cardiovascular; consumo de alimentos funcionales y sus aplicaciones en la nutrición clínica y, los cambios del ciclo vigilia-sueño modifican la ingesta de alimentos ricos en hidratos de carbono.

La Dra. Beatriz Pérez Armendáriz realizó su doctorado en Ciencias con especialidad en Biotecnología por el Instituto Politécnico Nacional, Maestría en Biotecnología e Ingeniero en alimentos por la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel 1, desde 2012 hasta la fecha. Pertenece a la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería (SMBB). En su primera línea de investigación su investigación versa sobre Alimentos funcionales con Proyectos en la producción de probióticos a partir de bebidas tradicionales mexicanas (pulque y aguamiel) y producción de nuevos productos a partir de los recursos agrícolas endémicos de la región centro Sur, en esta área de investigación se cuentan con 3 patentes otorgadas, para explotación del sector agrícola, asociadas a mejora la salud en específico en la regulación de la microbiota intestinal. En la segunda línea, la Dra. Pérez se ha enfocado en trabajos sobre Biotecnología ambiental, en la recuperación de suelos agrícolas contaminados por derrames de hidrocarburos o agroquímicos utilizando sistemas de fitorremediación y composta en la región Centro. Cuenta con 35 publicaciones indizadas nacionales e internacionales, 3 certificados de patente en el área de Biotecnología agroalimentaria. Un libro y 7 capítulos de libros, hasta 2021 ha dirigido más de 50 tesis de licenciatura, maestría y doctorado y 2 estancias posdoctorales. Además de 25 años de experiencia en docencia universitaria en los niveles de pregrado y posgrado. Desde 2011 se integró a la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Actualmente es profesor-investigador de la Facultad de Biotecnología en UPAEP.

Gabriel Abraham Cardoso Ugarte es Doctor y Maestro en Ciencia de Alimentos por parte de la Universidad de las Américas Puebla y Licenciado en Gastronomía por parte de la Universidad Autónoma del Estado de México. Es profesor-investigador de la Facultad de Gastronomía en la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla (UPAEP) y miembro del Sistema Nacional de Investigadores (Nivel 1) desde 2018. Es autor de artículos científicos en revistas indizadas internacionales y 3 capítulos arbitrados. Actualmente, dirige tesis de licenciatura y posgrado en las facultades de Gastronomía y Biotecnología de la UPAEP. Sus líneas de investigación se enfocan a la extracción y empleo de aceites esenciales como antioxidantes y antimicrobianos en sistemas alimentarios, encapsulación de compuestos bioactivos y formulación de alimentos funcionales.