



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE CASCARILLA DE
CACAO (*Theobroma cacao* L.) OBTENIDOS POR SONICACIÓN DIRECTA**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

LAURA GABRIELA QUÉ VÁZQUEZ

DIRECTOR

DRA. ARELI CARRERA LANESTOSA

CO-DIRECTOR

DR. PEDRO GARCÍA ALAMILLA

VILLAHERMOSA, TABASCO, A MARZO DE 2025

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

En la ciudad de Villahermosa, el día 24 del mes marzo del año 2025, el que suscribe Laura Gabriela Qué Vázquez alumna del programa de Licenciatura en Ingeniería en Alimentos con número de matrícula 192C22005, adscrito a la División Académica de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis presentada para la obtención del título de Ingeniero en Alimentos titulada “CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE CASCARILLA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) OBTENIDOS POR SONICACIÓN DIRECTA” dirigida por la Dra. Areli Carrera Lanestosa y Co-dirigida por el Dr. Pedro García Alamilla.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 24 de marzo de 2025.



Laura Gabriela Qué Vázquez

COORDINACIÓN DE ESTUDIOS TERMINALES

Asunto: Autorización de impresión
de Trabajo Recepcional.
Fecha: 13 de marzo de 2025.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y
TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), le informo que, con base en el artículo 113 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo **autoriza** a la **C. Laura Gabriela Qué Vázquez**, con matrícula **192C22005**, egresado(a) de la Licenciatura de **Ingeniería En Alimentos** de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, la **impresión de su Trabajo Recepcional** bajo la modalidad de **Tesis**, titulado: "**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DE EXTRACTOS DE CASCARILLA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) OBTENIDOS POR SONICACIÓN DIRECTA**".

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE



M.V.Z. JORGE ALFREDO THOMAS TELLEZ
DIRECTOR



C.C.p.- Expediente Alumno.
Archivo

Carretera Villahermosa – Teapa Km. 25
R/A La Huasteca 2da Sección
Villahermosa, Tabasco. México. C.P. 86298
Tel. (+52 993) 3581500 ext. 6614
Correo electrónico: terminales.daca@ujat.mx

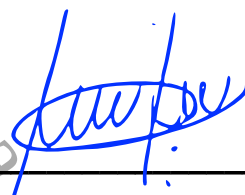
CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Villahermosa, Tabasco a 24 de marzo de 2025.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTORA en la producción, creación y/o realización de la obra denominada "CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE CASCARILLA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) OBTENIDOS POR SONICACIÓN DIRECTA".

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES



Laura Gabriela Qué Vázquez, Areli Carrera Lanestosa y Pedro García Alamilla.

TESTIGOS



Fanny Adabel González Alejo



Aydee Tobias Baeza

DEDICATORIA

A **Dios**, por ser mi guía constante, cuya presencia ha iluminado cada paso de este camino y por todo lo maravilloso que me ha permitido vivir en esta etapa de mi vida. Gracias por la sabiduría que orientó cada una de mis decisiones y la fortaleza que me sostuvo en los momentos difíciles. Todo logro de mi vida es fruto de tu amor y bendición infinita.

A mi abuela **Livi Tejero Otero (†)**, quien sigue siendo mi mayor compañía y fuente de fortaleza. Gracias por ser mi acompañamiento incondicional a lo largo de mi vida, por hacerme sentir que nunca y jamás estaré sola, por escuchar mis súplicas en los momentos de incertidumbre, cuando he creído que no puedo continuar. Este anhelo es tuyo, abuela. Te amo hasta el cielo.

A mi abuelo **Encarnación Qué Aristigues**, por su inquebrantable apoyo y por estar siempre pendiente de mí. Por motivarme, impulsarme y recordarme, con su amor y sabiduría, que siempre se puede seguir adelante. Esta culminación, es un reflejo de todo lo que he aprendido de usted. Lo amo por siempre.

A mi abuela, **Petra Vázquez Reyes**, por ser una inspiración contante y un pilar en mi vida. Te agradezco profundamente por criarnos con tanto amor, por tus sabios consejos y por regañarme cuando fue necesario para mi propio bien. Por siempre estar a mi lado, enseñándome con tu ejemplo y dándonos lo mejor de ti. Esta meta alcanzada es también tuya. Te amo mucho abuela, siempre estaré agradecida por todo lo que hiciste por mí y mis hermanos.

A mis padres, **José de Jesús Qué Tejero y María Antonia Vázquez Gómez**, mis más grandes bendiciones y el motor de mi vida. Agradezco cada sacrificio que hicieron para que pudiera alcanzar este sueño, por enseñarme con su ejemplo que el trabajo duro, la perseverancia y el amor son la clave para superar cualquier obstáculo. Cada desvelo, esfuerzo y renuncia que hicieron a lo largo de este camino es algo que llevaré en el corazón por siempre. Soy la persona que soy gracias a la crianza llena de valores, enseñanzas y amor que me brindaron desde el principio. Este trabajo es un pequeño reflejo de todo lo que me han dado: su presencia, fortaleza en los momentos difíciles y su fe en mí. Gracias por ser la luz que me guía, la voz que me motiva y el refugio al que siempre puedo volver. Con todo mi amor y eterna gratitud, este fruto de años de esfuerzo es para ustedes. Los amo.

A mis hermanos, **Andrea Eugenia Qué Vázquez y José Carlos Qué Vázquez**, por ser de mis mayores motivaciones. Gracias por estar siempre a mi lado, por sus palabras de aliento y por recordarme, sin saberlo, lo importante que es seguir adelante. Su apoyo constante y su amor

incondicional me han dado la fuerza para llegar hasta aquí. Ustedes son una parte esencial de mi vida, y este trabajo es un reflejo de la unión y el amor que compartimos. En este viaje, siempre serán mis compañeros, y sin su presencia, nada de esto tendría el mismo significado. El cierre de esta etapa es para ustedes, con todo mi corazón. Los amo profundamente.

A mis tías, **Victoria Eugenia Qué Tejero, Minerva Candelaria Qué Tejero y Laura Elena Qué Tejero**, por estar siempre al pendiente de mí, por su cariño y dedicación. Me siento muy afortunada por tenerlas, por consentirme, por impulsarme a ser una mejor persona cada día, por brindarme sus consejos y su amor incondicional. Cada uno de sus gestos y palabras ha dejado huella en mi vida, y sin su apoyo constante, no habría sido posible llegar hasta aquí. Este proyecto culminado es para ustedes, con todo mi cariño. Las amo mucho.

A mis primos, **Livi, Larissa y Rodrigo**, por su amor y comprensión en esta etapa de mi vida. Les agradezco por hacerme reír, por darme fortaleza, por estar siempre a mi lado y por ser más que mis primos, mis hermanos. Su presencia ha sido clave en mi camino, y este éxito es reflejo de su apoyo. Los amo mucho y siempre estaré agradecida por todo lo que me han dado.

A mi novio, **José Enrique Gallegos Castillo**, por ser mi apoyo en todo momento. Te agradezco por estar a mi lado, por brindarme tu amor, paciencia y fortaleza, por creer en mí incluso cuando he dudado de mí misma. Este objetivo alcanzado igual es tuyo, porque sin ti, este camino no habría sido el mismo. Te amo profundamente.

A los doctores, **Dr. Pedro García Alamilla y Dra. Areli Carrera Lanestosa**, por apoyarme en todo momento, por su paciencia y dedicación. Estoy muy agradecida por haberme dado la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por permitirme conocer a tan grandes personas y por arroparme con su sabiduría y empatía en cada paso de mi camino. Aprecio enormemente todo lo que me han enseñado y por ser tan grandes seres humanos conmigo. Este trabajo y crecimiento es gracias a su guía y confianza. Les estaré eternamente agradecida.

A la **Dra. Fanny Adabel González Alejo, Dra. Aydee Tobias Baeza y Dra. Diana Laura Rivera Torrez**, por apoyarme en todo momento, especialmente cuando no sabía o sentía que no podía, por guiarme, escucharme y darme consejos. Valoro inmensamente lo que han hecho por mí, por subirme los ánimos en los momentos en que dudaba de mí misma, por creer en mí y ayudarme a superarme. Su apoyo, cariño y amistad me ayudaron a crecer tanto en lo profesional como en lo personal. Estoy profundamente agradecida por todo lo que me han enseñado y por estar siempre a mi lado. Jamás imaginé que llegaría a conocer a mujeres tan excepcionales y que, además, serían mis amigas. Las quiero.

A **Tania Cristell Jiménez Pérez** y **Jair Sarrazaga Ramón**, por haberme acompañado durante estos cinco años de camino, por consolarme en los momentos difíciles, hacerme reír cuando más lo necesitaba y, sobre todo, por haber formado un equipo tan increíble. Tania, gracias por siempre estar allí cuando no entendía algo, por desvelarte conmigo y ser mi apoyo en cada paso que dábamos, solo tú y yo sabemos la amistad tan grande y sincera que formados. Jair, por tu paciencia, por hacer que incluso los días más difíciles fueran más llevaderos y por todo lo que hemos compartido juntos, risas, aventuras, charlas interminables, momentos de apoyo incondicional y recuerdos que siempre llevaremos en el corazón. Este sueño que compartimos es gracias a la amistad, al esfuerzo y al apoyo mutuo que siempre nos dimos. Estarán en mi corazón siempre. Los quiero.

A **amigos y conocidos**, que estuvieron y están presentes en mi camino y en mi vida. A aquellos que me apoyaron en cada paso, a los que me dieron su tiempo, su amistad y su cariño, que de alguna manera dejaron huella en mi camino. Esta culminación es por cada uno de ustedes, por sus palabras, gestos y compañía. Siempre estaré agradecida de todo corazón por ser parte de mi historia, ser una fuente de fuerza y alegría en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de tesis fue realizado en los Laboratorios de Biotecnología de Alimentos y de Ingeniería de Procesos ubicados dentro de la **División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA)**, bajo la dirección de la Dra. Areli Carrera Lanestosa y en co-dirección del Dr. Pedro García Alamilla. Fue financiado por el **Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Tabasco (CCYTET)**, a través del proyecto denominado **“Evaluación de la actividad antidiabética y antihipertensiva *in vitro* e *in vivo* de residuos agroalimentarios de Tabasco, como alternativa para la economía circular”** con clave de registro **“PRODECTI-2022-01/07”** además de **“Cristalización y polimorfismo de la manteca de cacao en granos de diferentes orígenes geográficos y su impacto en la calidad de chocolates finos”** financiado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica CONCYTEC del Perú.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	2
2.1 Cacao	2
2.1.1 Botánica	2
2.1.2 Composición proximal del cacao	4
2.1.3 Importancia y producción internacional, nacional y estatal	4
2.1.3.1 Importancia internacional	4
2.1.3.2 Importancia nacional	5
2.1.3.3 Importancia estatal	6
2.2 Subproductos del cacao	7
2.2.1 Procesos de transformación del cacao	8
2.2.1.1 Tostado	8
2.2.1.2 Refinación	8
2.2.1.3 Prensado	9
2.2.1.4 Atemperado	9
2.3 Residuos agroindustriales del cacao	9
2.3.1 Cáscara de mazorca	9
2.3.2 Mucílago	10
2.3.3 Cascarilla de cacao	11
2.4 Aprovechamiento de la cascarilla de cacao	12
2.5 Compuestos bioactivos	14
2.5.1 Polifenoles y flavonoides	14

2.5.2	Actividad biológica de los compuestos bioactivos	16
2.5.3	Capacidad antioxidante	16
2.6	Métodos de extracción convencionales y no convencionales	17
2.6.1	Extracción por sonicación directa	18
III.	JUSTIFICACIÓN	20
IV.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
V.	HIPÓTESIS	22
VI.	OBJETIVOS	23
VII.	METODOLOGÍA	24
7.1	Recolección, molienda y clasificación por tamaño de partícula	25
7.2	Proceso de extracción por sonicación del polvo de cascarilla de cacao	25
7.2.1	Obtención de los extractos	25
7.3	Análisis proximal de la cascarilla de cacao y matriz agotada	26
7.4	Caracterización por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) ...	26
7.5	Determinación del contenido de flavonoides totales (CFT)	27
7.6	Evaluación de la capacidad antioxidante	27
7.6.1	Ensayo de la capacidad antioxidante por el radical 1,1- difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)	27
7.6.2	Ensayo de la capacidad antioxidante por el radical catión 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS)	28
7.7	Diseño experimental y análisis estadístico	28
VIII.	RESULTADOS	29
8.1	Análisis proximal de la cascarilla de cacao y matriz agotada	29
8.2	Caracterización por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) ...	29
8.3	Determinación del contenido de flavonoides totales (CFT)	31
8.4	Evaluación de la capacidad antioxidante	32
8.4.1	Ensayo DPPH	32

8.4.2	Ensayo ABTS	33
IX.	DISCUSIÓN	35
9.1	Análisis proximal de la cascarilla de cacao y matriz agotada	35
9.2	Caracterización por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) ...	36
9.3	Determinación del contenido de flavonoides totales (CFT)	36
9.4	Evaluación de la capacidad antioxidante	37
9.4.1	Ensayo DPPH	37
9.4.2	Ensayo ABTS	38
X.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40
XI.	REFERENCIAS CITADAS	41
XII.	ANEXO	50
12.1	Abreviaturas y símbolos	50
12.2	Cronograma de actividades	51
12.3	Metodologías para análisis proximal	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Producción anual de cacao a nivel nacional en 2024.....	5
Tabla 2.	Municipios de las subregiones de la Región Grijalva.....	6
Tabla 3.	Clasificación de los métodos de extracción en directos o indirectos	18
Tabla 4.	Composición proximal del polvo de cascarilla de cacao (PCC) y matriz agotada (MAg).....	29
Tabla 5.	Señales detectadas de las vibraciones moleculares en el polvo de cascarilla de cacao (PCC) y matriz agotada (MAg).....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Árbol de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) con frutos en plantación de Tabasco.....	3
Figura 2.	Variedades de cacao.....	3
Figura 3.	Porcentajes de producción de cacao por regiones en el mundo.....	5
Figura 4.	Porcentajes de producción de cacao en los municipios de la Región Grijalva del Estado de Tabasco.....	7
Figura 5.	Diagrama de flujo del proceso de transformación y generación de subproductos del cacao en el laboratorio de ingeniería de procesos.....	8
Figura 6.	Cáscaras de mazorca de cacao.....	10
Figura 7.	Distribución de los granos de cacao al interior de la mazorca en un corte longitudinal.....	11
Figura 8.	Cascarilla de cacao obtenida después del proceso de tostado.....	12
Figura 9.	Alternativas para la valorización de la cascarilla de cacao.....	14
Figura 10.	Estructura básica de los flavonoides y sus subclases.....	15
Figura 11.	Esquema del mecanismo antioxidante de transferencia de electrones y neutralización de radicales libres.....	17
Figura 12.	Cambios en la célula vegetal durante el proceso de sonicación para la extracción de compuestos bioactivos.....	19
Figura 13.	Diagrama de flujo general de la metodología para la obtención, caracterización y evaluación de compuestos bioactivos del PCC.....	24
Figura 14.	Tamaños de partículas utilizados durante el proceso de sonicación para la extracción de compuestos bioactivos.....	25
Figura 15.	Proceso de la obtención de extractos por sonicación directa.....	26
Figura 16.	Espectros FT-IR del PCC y MAg en el intervalo de 4000-2500 cm ⁻¹	30
Figura 17.	Espectros FT-IR del PCC y MAg en el intervalo de 1750-500 cm ⁻¹	30
Figura 18.	Contenido de flavonoides totales (CFT) en extractos acuosos de cascarilla de cacao a diferentes tamaños de partículas; malla 80 (0.177µm), malla 60 (0.250µm), malla 40 (0.420µm), malla 20 (0.841µm) y tiempos de extracción. Las letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tamaños de partículas y tiempos de extracción por la prueba de Tukey (p≤0.05).....	32

- Figura 19.** Capacidad antioxidante en extractos acuosos de cascarilla de cacao evaluada mediante el ensayo DPPH por tamaños de partícula; malla 80 (0.177µm), malla 60 (0.250µm), malla 40 (0.420µm), malla 20 (0.841µm) y tiempos de extracción. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tamaños de partícula en cada tiempo de extracción, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)..... 33
- Figura 20.** Capacidad antioxidante en extractos acuosos de cascarilla de cacao evaluada mediante el ensayo de ABTS por tamaños de partícula; malla 80 (0.177µm), malla 60 (0.250µm), malla 40 (0.420µm), malla 20 (0.841µm) y tiempos de extracción. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los tamaños de partícula en cada tiempo de extracción de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)..... 34

TÍTULO

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE CASCARILLA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) OBTENIDOS POR SONICACIÓN

RESUMEN

Los residuos agroindustriales se han empezado a reutilizar para la obtención de biomoléculas de valor agregado, producción de biocombustibles, pigmentos, conservantes, o como fuente de compuestos bioactivos, debido a su bajo costo, alta disponibilidad y que pueden ser utilizados en la industria alimentaria, cosmética, y farmacéutica. Se utilizaron los residuos de la cascarilla de cacao como fuentes de compuestos bioactivos; evaluando el efecto de la sonicación directa sobre el contenido de flavonoides totales (CFT), la capacidad antioxidante del polvo de cascarilla de cacao (PCC) por técnicas espectrofotométricas del radical 2,2-Difenil-1-Picril-hidrazilo (DPPH) y 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS). El PCC y la matriz agotada (MAg) obtenida del proceso finalizado de extracción fueron analizadas por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR). Se observó que en las partículas de menor tamaño (malla 80), se obtuvo una mayor extracción del contenido de CFT, alcanzando valores de 10.6–20.50 mg EQ/g de muestra seca. Los extractos de PCC mostraron una mayor actividad antioxidante en partículas más pequeñas (malla 60 y 80). En el ensayo DPPH, los valores oscilaron entre 480.93–488.43 mM ET/g de muestra seca para la malla 60, mientras para el ensayo de ABTS se registraron entre 93.14–98.29 mM ET/g de muestra seca para la malla 80, observándose mejores resultados para las muestras evaluadas a mayor tiempo de extracción (30 min). Los resultados por FT-IR, mostraron cambios en la región de la huella dactilar lo que sugiere la presencia de vibraciones asimétricas hidroxilo (-OH) y vibraciones de estiramiento carbonilo (C=O). Estos hallazgos sugieren que el tamaño de partícula y el tiempo de extracción afectan la eficiencia del proceso de extracción y la capacidad antioxidante obtenida.

Palabras claves: Sonicación directa, CFT, DPPH, ABTS, FT-IR

ABSTRACT

Agroindustrial wastes are increasingly being repurposed to obtain value-added biomolecules, produce biofuels, extract pigments and preservatives, or serve as sources of bioactive compounds. This is due to their low cost, high availability, and potential applications in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries. Cocoa shell residues were utilized as a source of bioactive compounds, evaluating the effect of direct sonication on the total flavonoid content (CFT) and the antioxidant capacity of cocoa shell powder (PCC) using spectrophotometric techniques: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS). The PCC and the depleted matrix (MAG) obtained after the extraction process were analyzed using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). It was observed that smaller particle sizes (80 mesh) resulted in higher CFT extraction, reaching values of 10.6–20.50 mg QE/g of dry sample. PCC extracts exhibited greater antioxidant activity in smaller particles (60 and 80 mesh). In the DPPH assay, values ranged from 480.93–488.43 mM TE/g of dry sample for 60 mesh, while in the ABTS assay, values ranged from 93.14–98.29 mM TE/g of dry sample for 80 mesh, with the best results obtained at longer extraction times (30 min). FT-IR analysis revealed changes in the fingerprint region, suggesting the presence of asymmetric hydroxyl (-OH) and carbonyl (C=O) stretching vibrations. These findings indicate that particle size and extraction time significantly influence extraction efficiency and antioxidant capacity.

Keywords: Direct sonication, CFT, DPPH, ABTS, FT-IR

I. INTRODUCCIÓN

La cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) es un subproducto de la industria chocolatera que ha captado interés debido a su alto contenido de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes. La investigación sobre la capacidad antioxidante de los extractos de cascarilla de cacao ha ganado relevancia en campos como la ciencia de los alimentos, la farmacéutica, la bioquímica y la cosmética. Los antioxidantes son esenciales para proteger las células contra el daño provocado por los radicales libres, que pueden contribuir al desarrollo de enfermedades crónicas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y las neurodegenerativas (Cinar et al., 2021).

No obstante, hay áreas que aún no han sido exploradas en profundidad por la comunidad científica, como la influencia del tamaño de partícula en la capacidad antioxidante de los extractos. La sonicación, es una técnica que emplea ondas ultrasónicas para generar cavitación en la pared celular, facilita una mejor interacción entre el solvente y los compuestos bioactivos de interés (Kumar et al., 2021). Sin embargo, se conoce poco sobre el impacto que la sonicación y el tamaño de las partículas pueden tener en la capacidad antioxidante de los extractos de polvo de cascarilla de cacao.

Aunque se ha reconocido el potencial antioxidante de la cascarilla de cacao, no se ha profundizado lo suficiente para identificar y comprender completamente los aspectos de los procesos de extracción. La falta de información presenta una oportunidad para explorar los procesos de extracción y estudiar los efectos en la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de polvo de cascarilla de cacao (PCC) (Sánchez et al., 2023a).

Por lo tanto, este trabajo consistió en evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* de extractos de polvo de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) obtenidos mediante sonicación, considerando diferentes tamaños de partículas y tiempos de extracción.

Los resultados obtenidos podrían ser aplicados en la creación de nuevos productos alimenticios, aprovechando este subproducto, contribuyendo a la reducción de residuos y de la contaminación ambiental.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Cacao

El cacao tiene una historia que se remonta a más de 3,000 años. Este árbol, originario de la antigua Centroamérica, fue cultivado por las civilizaciones maya y azteca. Los olmecas y mayas atribuían al cacao un origen divino; la palabra *Theobroma*, derivada del griego "broma" y "theo", que significa "alimento de los dioses" (Scapagnini et al., 2014). El cacao forma parte del orden Malvales, perteneciendo a la familia Malvaceae, al género *Theobroma* y a la especie *cacao*.

Este árbol es caracterizado por ser tropical y subtropical, de hojas perennes, tiene su origen en las selvas neotropicales, destacando su presencia principalmente en la cuenca del Amazonas y la meseta de Guyana (Lachenaud et al., 2007).

El cacao es un producto agrícola importante, siendo sus semillas la base esencial para la elaboración de un alimento importante en la historia de la humanidad. Existen diversas variantes de la planta y se diferencian por las características morfológicas del fruto, su origen geográfico y sus atributos de sabor (Aprotosoai et al., 2016).

2.1.1 Botánica

El cacao es un árbol que generalmente alcanza una altura de entre 4 y 8 metros, su corteza presenta un color marrón grisáceo oscuro. Sus hojas, de forma ovada a obovada-elíptica, son simples, alternas y miden aproximadamente entre 20-35 cm de largo y 6-10 cm de ancho. Las flores, de color blanco, amarillo o rosa pálido, brotan directamente del tronco o en las ramas (Figura 1), en estructuras llamadas "cojines florales" (Jean-Marie et al., 2022).

El fruto, conocido como "Mazorca de cacao", varía en tamaño desde 10-20 cm de largo y 7-15 cm de ancho, con una forma que puede ser esférica o cilíndrica, la superficie del fruto es rugosa, marcada por diez surcos longitudinales, y su color varía entre verde brillante, verde oscuro, amarillo, rojo oscuro o una combinación de estos colores. Las semillas presentan un color café rojizo, son de forma ovalada y están ligeramente aplanadas, su tamaño oscila entre 20-30 mm, su ancho entre 12-16 mm y su grosor entre 7-12 mm, cada grano está cubierto por una capa de mucílago blanco comestible, que posee un sabor dulce y agradable (Araujo et al., 2020; Wood & Lass, 1985).

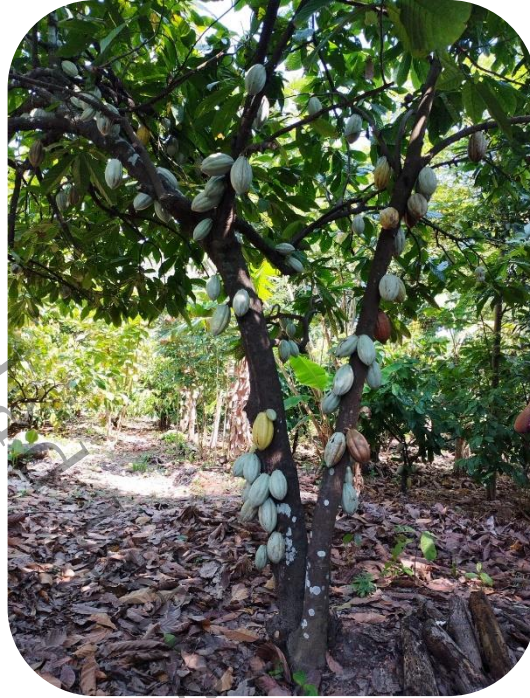


Figura 1. Árbol de cacao (*Theobroma cacao* L.) con frutos en plantación de Tabasco.
Nota: Imagen propia capturada en plantación de cacao.

El cacao se clasifica en dos principales grupos: el cacao criollo y el cacao forastero, en tiempos recientes, se ha creado una variedad llamada cacao trinitario (Figura 2), considerada como la mejor, la cual incorpora características de ambos grupos (De Souza et al., 2018). El criollo, que constituye entre el 5% y 10% de la producción de chocolate; el forastero, que abarca varias subvariedades y se utiliza aproximadamente el 80%, así como el trinitario, empleado en alrededor del 10 al 15% (Rusconi & Conti, 2010).

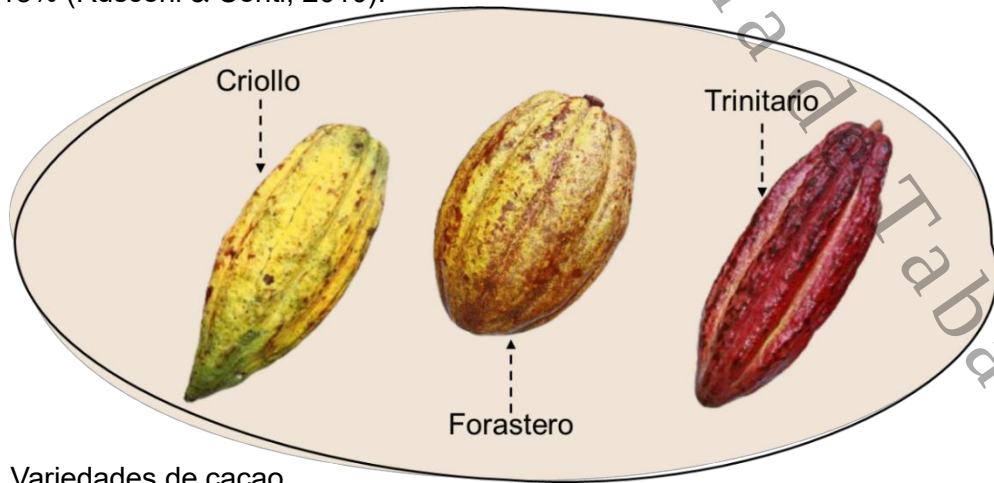


Figura 2. Variedades de cacao.
Nota: Imagen adaptada de Carvallo (2020).

2.1.2 Composición proximal del cacao

La composición proximal de los granos depende de diversos factores. En el caso de los granos de cacao, influyen aspectos como la madurez, la genética, el estrés, y las condiciones climáticas de la planta y del suelo (Chico, 2022).

La composición proximal de los granos de cacao seco incluye: humedad (5%), grasa (54%) (de la cual el 97% está constituida por glicerolípidos, especialmente triacilglicéridos, seguidos en menor porción por diglicéridos, monoglicéridos y fosfolípidos), proteína (12.5%), carbohidratos (6%), cenizas (2.6%), fibra (2.5%) y otros nutrientes, entre ellos compuestos polifenólicos (12-18%) como cafeína (0.2%) y teobromina (1.2%), además de celulosa (9%) (Sánchez et al., 2016; Servent et al., 2018).

2.1.3 Importancia y producción internacional, nacional y estatal

El cacao desempeña un papel de gran importancia a nivel global, nacional y estatal en la fabricación de chocolate y otros productos derivados.

2.1.3.1 Importancia internacional

El cacao se cultiva principalmente en América Latina (Belice, México, Ecuador, Perú, Costa Rica y Brasil), África Occidental (Costa de Marfil, Camerún, Ghana, Nigeria y Santo Tomé), y en Asia y Oceanía (Indonesia, Papúa Nueva Guinea, Malasia). La relevancia del cacao se remonta a siglos atrás, donde ha sido utilizado en tradiciones y celebraciones, lo que destaca su importancia como un producto básico a nivel mundial, presente en una amplia variedad de alimentos (The International Cocoa Organization, 2024b).

La producción de cacao está a cargo de pequeños agricultores, ya que más del 90% de los productores poseen parcelas de entre 2 y 5 hectáreas (The International Cocoa Organization, 2024a). El cacao puede integrarse en sistemas agroforestales, mediante su plantación bajo árboles de sombra (frutales, maderables o cítricos). Esto no solo permite a los agricultores diversificar sus ingresos, sino que también promueve la biodiversidad al crear hábitats para diversas especies de plantas, insectos y animales (Franzen & Borgerhoff Mulder, 2007).

Para el ciclo cacaotero 2023/24, se estima que los principales productores mundiales de cacao (Figura 3) son los países africanos, responsables del 70.2% de la producción global, destacando Costa de Marfil (40.1%) y Ghana (10.3%). América Latina participa con el 23.9% de la producción, siendo Ecuador (9.9%) el mayor productor del continente. Los países asiáticos aportan el 5.9%, con Indonesia (3.7%) como su principal productor (The International Cocoa Organization, 2024b).

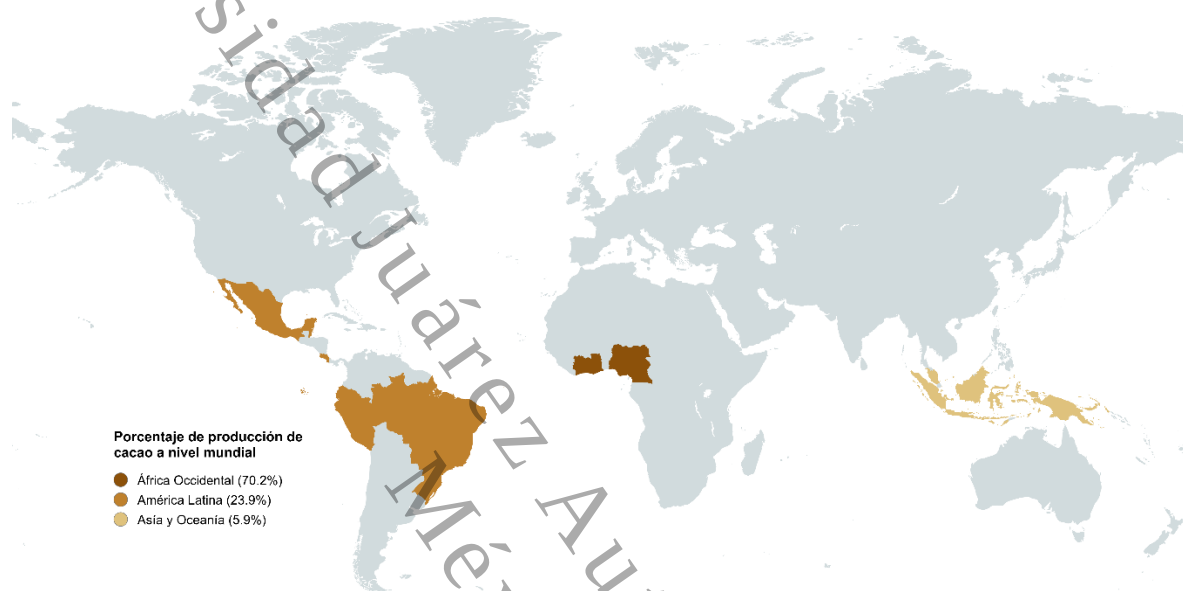


Figura 3. Porcentajes de producción de cacao por regiones en el mundo.

Nota. Adaptación con datos obtenidos de The International Cocoa Organization (2024b).

2.1.3.2 Importancia nacional

México tiene las condiciones ideales para el cultivo de cacao, destacándose tres estados como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Producción anual de cacao a nivel nacional en 2024.

Entidad	Sembrada (ha)	Cosechada (ha)	Producción (Ton)	Producción (%)
Tabasco	34,263.50	34,225.60	17,732.21	62.3
Chiapas	17,923.40	17,796.40	10,447.31	36.7
Guerrero	265.19	251.50	267.46	0.9

Nota: Adaptación con datos obtenidos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2024).

En Tabasco, el proceso de producción de cacao incluye varias etapas, desde la siembra y el cuidado de los árboles, hasta la cosecha, fermentación y secado de las semillas (Tadeo-Sánchez & Tolentino-Martínez, 2020).

En México, el cacao se ha convertido en un cultivo icónico que desempeña un papel fundamental en la economía y la herencia cultural, este cultivo con una larga historia tiene una presencia destacada en la cocina mexicana y es un ingrediente esencial en una variedad de bebidas y platos tradicionales (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021).

2.1.3.3 Importancia estatal

Tabasco se destaca como una región clave en la producción de cacao debido a sus condiciones climáticas y geográficas ideales para el cultivo. El cacao tabasqueño es conocido por su calidad y sabor únicos, la producción de cacao en Tabasco ha consolidado su posición como una actividad agrícola de gran importancia, creando empleo y contribuyendo significativamente a la economía del estado. La producción de cacao en Tabasco ha experimentado una modernización significativa, mejorando la calidad del producto y su competitividad en los mercados nacionales e internacionales. La producción de cacao en Tabasco se concentra en la Región Grijalva (Tabla 2), que abarca subregiones productivas y comprende de 11 municipios (Secretaría de Economía, 2016).

Tabla 2. Municipios de las subregiones de la Región Grijalva.

Chontalpa	Centro	Sierra
Cárdenas	Centro	Jalapa
Comalcalco	Jalapa de Méndez	Tacotalpa
Cunduacán	Nacajuca	Teapa
Huimanguillo		
Paraíso		

Nota: Adaptación con datos de la Secretaría de Economía, (2016).

La Figura 4, muestra los porcentajes de producción de cacao en los municipios del estado de Tabasco, iniciando con Cárdenas que genera 6,211.83 ton, seguido por Comalcalco con 4,448.21 ton, Cunduacán con 2,865.55 ton y Huimanguillo con 2,166.77 ton. Otros municipios incluyen Jalpa de Méndez con 826.20 ton, Paraíso con 553.74 ton, Tacotalpa con 264.29 ton, Teapa con 261.87 ton, Centro con 98.21 ton, Jalapa con 13.22 ton, Nacajuca con 12.68 ton y finalmente Macuspana con 9.64 ton (municipio perteneciente a la región del Usumacinta) (Secretaría de Economía, 2016; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2024).

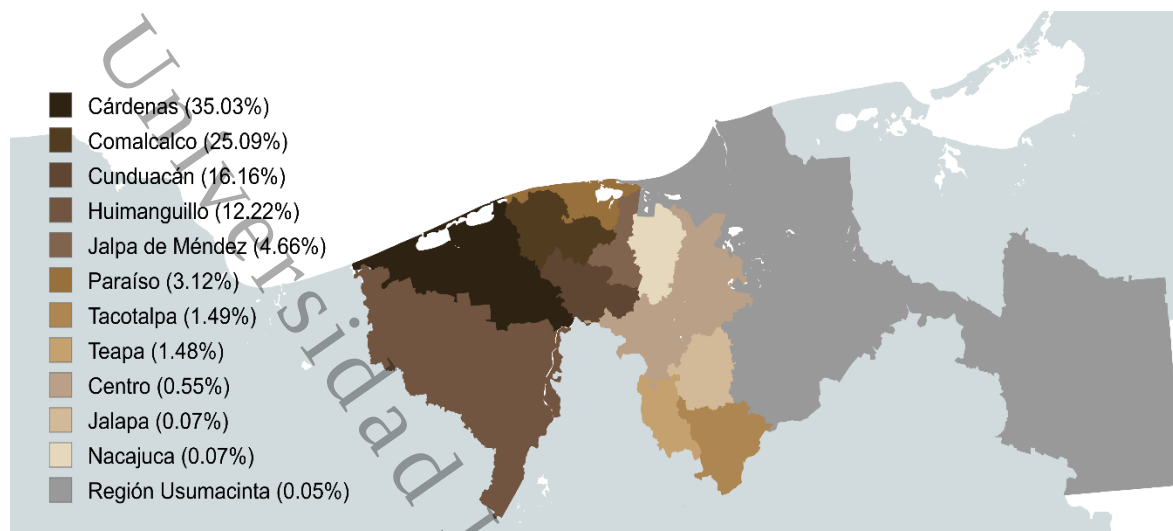


Figura 4. Porcentajes de producción de cacao en los municipios de la Región Grijalva del Estado de Tabasco.

Nota: Adaptación con datos obtenidos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2024).

A nivel internacional como nacional y estatal, gran parte del cacao producido se destina a la generación de diversos subproductos derivados de este fruto, que constituye la etapa de transformación posterior a la poscosecha.

2.2 Subproductos del cacao

Se calcula que alrededor del 65% del cacao molido a nivel mundial se somete a un proceso de prensado, del cual se obtiene aproximadamente un 55% de torta de cacao (cocoa) y un 45% de manteca de cacao, mientras que el 35% restante se destina a la producción de licor de cacao, que se emplea casi en su totalidad en la elaboración de chocolate (Araujo et al., 2020; Beg et al., 2017), dichos productos son generados por diversos procesos para la elaboración de chocolate como se observa en la Figura 5.

2.2.1 Procesos de transformación del cacao

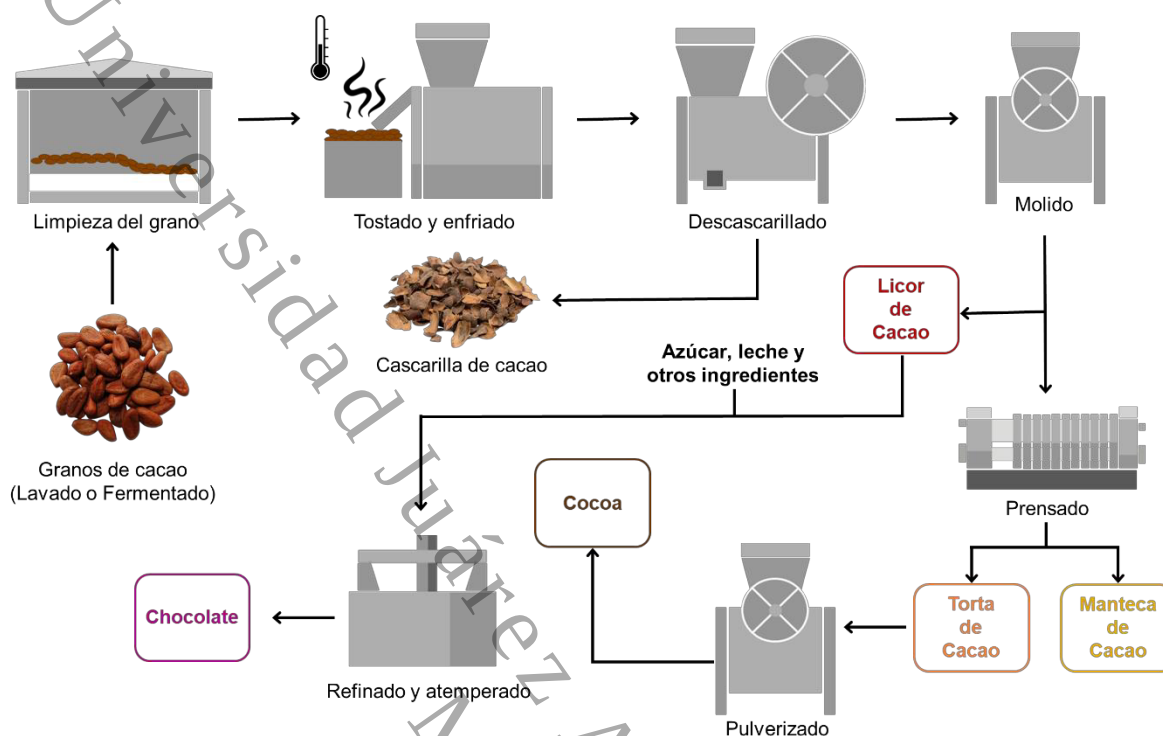


Figura 5. Diagrama de flujo del proceso de transformación y generación de subproductos del cacao en el laboratorio de ingeniería de procesos.

Nota: Adaptación de Sucden, (2024).

2.2.1.1 Tostado

El proceso de tostado del cacao desempeña un papel fundamental tanto a nivel tecnológico como sensorial, durante esta etapa, los granos se deshidratan, se eliminan compuestos indeseables que afectan el sabor, se desarrollan los perfiles finales de color y aromas característicos, además, este proceso facilita el desprendimiento de la cascarilla, la cual se retira mediante el descascarillado, logrando así un producto más limpio y preparado para las etapas posteriores de producción (Beg et al., 2017; Cherniienko et al., 2022; Peña-Correa et al., 2024).

2.2.1.2 Refinación

El refinado o conchado es la etapa más importante en la elaboración del chocolate, que consiste en mezclar, cizallar y airear la masa de chocolate mientras se calienta a temperaturas superiores a 40°C, este proceso homogeniza, elimina compuestos volátiles y humedad residual, mejorando la textura, el flujo de la masa, el color, el sabor y el aroma, según el tipo de chocolate, se ajusta el tiempo y temperatura para optimizar su calidad final (Cherniienko et al., 2022; Goya et al., 2022; Toker et al., 2019).

2.2.1.3 Prensado

Después de la molienda, el licor de cacao es sometido a un proceso de prensado para extraer dos subproductos: manteca de cacao y torta de cacao, esta última es pulverizada para transformarse en cocoa (Goya et al., 2022).

2.2.1.4 Atemperado

Este es un paso esencial en la producción de chocolate de alta calidad, que consiste en calentar, enfriar y mezclar la masa de chocolate proveniente del proceso de refinación, con el objetivo de formar una estructura cristalina estable en la grasa, y así asegurar una textura, sabor, propiedades de fusión y superficie brillante ideales característicos de un chocolate, por lo que este proceso es crucial para garantizar el desarrollo óptimo de estas cualidades (Barišić et al., 2019; Goya et al., 2022).

2.3 Residuos agroindustriales del cacao

La industria alimentaria cada año genera grandes cantidades de residuos, lo que provoca diversos problemas ambientales. Estos residuos se producen en diferentes etapas de la producción, desde las prácticas agrícolas hasta la obtención de la materia prima y el procesamiento, aunque estos residuos tienen un origen natural, una gestión incorrecta puede generar problemas ambientales y sociales. Entre estos problemas se incluyen la liberación descontrolada de CO₂ y partículas debido a la quema incontrolada, la contaminación de cuerpos de agua por lixiviados, la generación de olores desagradables y la proliferación de plagas e insectos (Romero-Sáez, 2022), por lo que es crucial lograr valorizar estos residuos en función de sus características (Soares et al., 2020).

En la industria del cacao, los principales ingredientes son los granos de cacao fermentados y secos, cuyo procesamiento da lugar a tres tipos de residuos: la cáscara de la mazorca de cacao, el mucílago y la cascarilla después del tostado (Ríos-Pérez et al., 2020).

En el proceso de producción del cacao solo el 10% del peso total de las mazorcas se utiliza con fines económicos, el 90% restante, suele descartarse como residuo. De este último porcentaje, la cáscara de la mazorca, el mucílago y la cascarilla representan el 70-80% del peso seco de la mazorca (Indiarto et al., 2021).

2.3.1 Cáscara de mazorca

Las cáscaras de las mazorcas de cacao (Figura 6), que se obtiene tras extraer los granos de cacao, están formadas por tres capas distintas: exocarpio, mesocarpio y endocarpio. Su composición proximal incluye un contenido de proteínas (5.9-9.1%), fibra (22.6-35.7%) y grasa

(1.2-10%), por otro lado, debido a su valor nutricional es ampliamente utilizada como alimentación para animales y aves de corral, biocombustibles, pirólisis y extracción de compuestos bioactivos (Indiarto et al., 2021).

No obstante, las cáscaras de mazorca degradadas en la superficie del suelo, pueden convertirse en una fuente de propagación de enfermedades vegetales, como la podredumbre negra de la mazorca, causada por el hongo *Phytophthora spp.*, la cual puede generar pérdidas significativas en el rendimiento agrícola cada año (Lu et al., 2018).



Figura 6. Cáscaras de mazorcas de cacao.
Nota. Imagen propia captura en plantación de cacao.

2.3.2 Mucílago

El mucílago de cacao, también llamado pulpa de cacao, es una mucosidad blanca y dulce que recubre los granos de cacao dentro de la mazorca (Figura 7). La composición proximal incluye agua (85.30%), sólidos totales (16.17%), ceniza (3.76%), grasa (3.54%), pectina (1-1.15%) y proteína (0.41%), esta pulpa de cacao es un medio altamente propicio para el crecimiento microbiano (Indiarto et al., 2021; Schwan & Wheals, 2004).

En la fermentación del cacao, se genera un líquido translúcido conocido regionalmente como miel de cacao, el cual contiene características químicas y sensoriales similares a la pulpa original, que es aprovechada por la industria alimentaria para la elaboración de mermeladas, jarabes, jaleas, licores y bebidas alcohólicas (Guirlanda et al., 2021).



Figura 7. Distribución de los granos de cacao al interior de la mazorca en un corte longitudinal.
Nota. Imagen propia.

2.3.3 Cascarilla de cacao

La cascarilla de cacao es el principal residuo generado de los granos de cacao (Figura 8), tras el proceso de tostado y descascarillado, representa entre el 10% y el 20% del peso del grano de cacao (Pagliari et al., 2022).

La composición proximal de la cascarilla del cacao incluye; humedad (7%), proteína (16.22%), grasa (4.07%), ceniza (7.15%) y fibra (62.93%) (Botella-Martínez et al., 2021). Sin embargo, su composición final también está influenciada por los procesos poscosecha como lavado, fermentado, secado y tostado, los cuales pueden alterar sus propiedades y los compuestos bioactivos presentes (Chico, 2022).

Los atributos de la cascarilla de cacao la convierten en una opción prometedora para varios sectores de las industrias, considerando su utilización en la elaboración de productos (Vásquez et al., 2019).

A nivel mundial, se producen aproximadamente 48 millones de toneladas anuales de residuos de cáscara de mazorca de cacao y alrededor de 700 mil toneladas de cascarilla de cacao (Quiceno-Suarez et al., 2024), lo que subraya la importancia de su adecuada gestión y aprovechamiento para reducir la contaminación ambiental y fomentar su valorización en diversos sectores industriales.



Figura 8. Cascarilla de cacao obtenida después del proceso de tostado.
Nota. Imagen propia.

2.4 Aprovechamiento de la cascarilla de cacao

El modelo de producción actual, basado en una economía lineal de "Extraer, Fabricar, Consumir, Desechar", está contribuyendo al aumento de residuos. En contraste, la economía circular propone que los residuos se conviertan en materias primas para la creación de nuevos productos. Lo que traería consigo importantes beneficios, como la reducción de la explotación de recursos naturales, la disminución de emisiones, el apoyo a la economía local, el fomento de la competitividad, la generación de empleos de alta calidad, el impulso a la innovación y la industrialización (Rojas et al., 2022).

Una alternativa prometedora para el uso de residuos orgánicos es su aplicación en la fabricación de biocombustibles, este enfoque innovador busca reducir la dependencia de combustibles fósiles y mitigar la emisión de gases de efecto invernadero perjudiciales (Stephen & Periyasamy, 2018). Otra aplicación del uso de la cascarilla de cacao puede ser la extracción de diversos compuestos bioactivos, actuando como fuente de nutraceuticos para la elaboración de diversos alimentos funcionales.

Estudios previos realizados por Jafari et al. (2023), evaluaron la capacidad antioxidante de extractos de cascarilla de cacao obtenidos por sonicación y secados por aspersión para su encapsulado. Los parámetros utilizados en la extracción fueron temperatura (45-65°C), tiempo de extracción (30-60 min) y la concentración de etanol (60-100%), la actividad antioxidante fue medida por el ensayo de DPPH y el poder antioxidante reductor férrico (FRAP). Los resultados establecieron que las condiciones óptimas para maximizar la capacidad de captura a través del ensayo DPPH (522.38 mM ET/100g de peso seco) fueron a temperatura (55°C), tiempo (45 min)

y concentración de etanol (60%), mientras que en el ensayo de FRAP las condiciones para obtención de la mayor capacidad antioxidante (1,197.68 mM ET/100g de peso seco) fueron a temperatura (55°C), tiempo (60 min) y concentración de etanol (60%). En otro estudio Murcia & Castañeda (2022), evaluaron la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales (CPT) de extractos etanólicos de cascarilla cacao en diferentes concentraciones en relación v/v de etanol y agua destilada: T1(100:0), T2(80:20), T3(60:40), T4(40:60), T5(20:80), T6(0:100). Los resultados fueron obtenidos por medio del ensayo DPPH y el método de Folin-Ciocalteu, los cuales mostraron que el mayor contenido de fenoles totales se encontró en el extracto T2(80:20) con 129.91 mg EAG/g. En la evaluación de la actividad antioxidante y determinación del IC50, se observó que el mejor valor IC50 (4.92 mg/mL) corresponde al extracto obtenido con 100% etanol y el valor inferior IC50 (12.54 mg/mL) con el extracto de agua destilada.

En un estudio realizado por Botella-Martínez et al. (2021), se determinó la capacidad antioxidante a diferentes tamaños de partícula (entre 417 μ m y 701 μ m) en medio acuoso. Los resultados que se obtuvieron se realizaron mediante 4 metodologías las cuales fueron el ensayo DPPH, ABTS, FRAP y ensayo de la capacidad quelante de iones ferrosos (FIC), en donde, se observó que los valores más altos de actividad antioxidante se obtuvieron en extractos de las partículas más finas con los siguientes valores para DPPH (5.53 mg ET/g), ABTS (11.55 mg ET/g), FRAP (7.62 mg ET/g) y FIC (0.54 mg ET/g).

Karim et al. (2014), determinaron la capacidad antioxidante, el CPT y CFT de mazorca y cascarilla de clones de cacao, que se asignaron con la siguiente nomenclatura; C1, C2, C3, C5, PBC y MIX (mezcla), la extracción se realizó en una disolución de etanol: agua (80/20% v/v) y baño de agua por 30 min, con temperatura de 35°C a 120 rpm. Para el CPT, se utilizó la metodología de Folin-Ciocalteu, el CFT se determinó por el ensayo colorimétrico de cloruro de aluminio y la capacidad antioxidante por la metodología de DPPH y FRAP. Los resultados en cuanto al CPT mostraron que el mayor contenido fue en C4 (41.35 mg EGA/g de extracto) mostrando un CPT significativamente más alto dentro de los grupos, seguido de C5 (37.90 mg EAG/extracto), PBC (35.91mg EGA/g extracto), MIX (32.59 mg EGA/g extracto), C1 (18.63 mg EGA/g extracto) y C3 (16.30 mg EGA/g extracto). En el CFT el valor más alto fue en C4 (27.44 mg ER/extracto), seguido de PBC (17.47 mg ER/extracto), Mezcla (10.54 mg ER/extracto) y C5 (7.15 mg ER/extracto). En la capacidad antioxidante se observó que a baja concentración (menos de 125 ppm), los extractos de cascarilla exhibieron un mayor efecto antioxidante, aunque significativamente menor que el ácido gálico. A 250 ppm y 500 ppm, ambos extractos de cascarilla de cacao tienen el mayor efecto eliminador del radical DPPH.

Ordoñez et al. (2019), evaluaron la capacidad antioxidante y el CPT de la cascarilla de cacao. La extracción fue realizada a temperatura ambiente por agitación con 2.5 g de muestra diluida en 25 mL de solución 50/50 v/v (agua/etanol). La capacidad antioxidante fue determinada por medio de los ensayos de DPPH y ABTS, mientras que el CPT fue realizado por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Los resultados obtenidos sobre la cascarilla de cacao reportaron en cuanto al CPT, un valor de 3.97 g EAG/100 g y en cuanto a la capacidad antioxidante para DPPH Y ABTS se observó, un valor de IC₅₀ (mg/mL) de 7.04 y 4.22.

En la Figura 9, ilustra las alternativas para la valorización de la cascarilla de cacao.

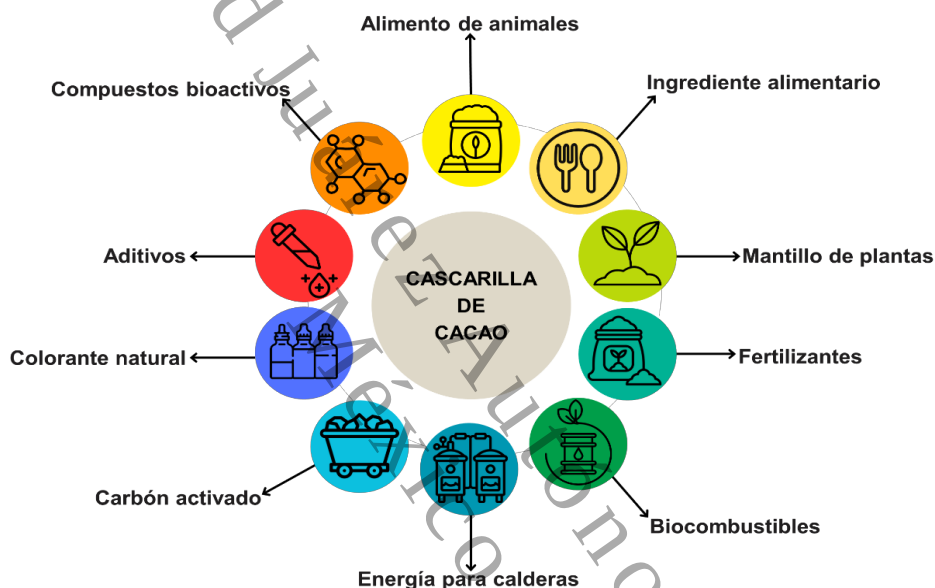


Figura 9. Alternativas para la valorización de la cascarilla de cacao.

Nota. Adaptación de Sánchez et al. (2023b).

2.5 Compuestos bioactivos

2.5.1 Polifenoles y flavonoides

Los polifenoles son compuestos bioactivos secundarios producidos a través del metabolismo de las plantas, conocidos por su estructura aromática y la presencia de grupos hidroxilo. Estos compuestos desempeñan múltiples funciones en las plantas, como la protección frente a factores externos, la coloración, el sabor, el crecimiento, la reproducción, la tolerancia al estrés y las interacciones planta-microorganismo (Soares & Oliveira, 2022).

Entre los compuestos polifenólicos del cacao, los flavonoides representan el grupo más abundante y diverso, estos se clasifican en subgrupos en función de la estructura de su anillo

heterocíclico, su grado de oxidación y el patrón de glicosilación. Entre las subclases más importantes se encuentran las flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas, flavon-3-oles, flavanoles y antocianinas (Faggio et al., 2017). La Figura 10 muestra algunas de las moléculas más representativas en forma general.

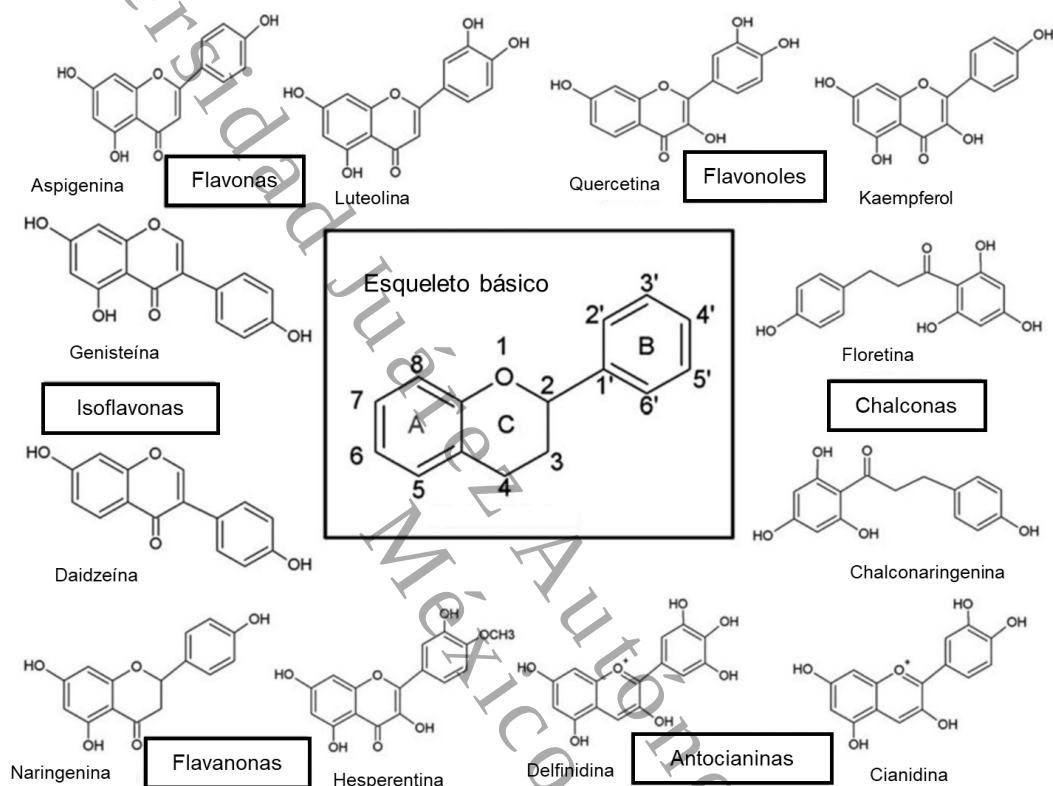


Figura 10. Estructura básica de los flavonoides y sus subclases.

Nota. Adaptación de Panche et al. (2016).

En los granos de cacao, los compuestos fenólicos predominantes, se pueden identificar en tres grupos principales: catequinas, que representan el 37% del contenido total, antocianidinas (4%) y proantocianidinas (58%) (Andújar et al., 2012).

Estudios previos han revelado que la cascarilla de cacao también es rica en compuestos bioactivos, principalmente flavonoides como las catequinas y las epicatequinas (Sánchez et al., 2023a), así como proantocianidinas, quercetinas y metilxantinas como teobromina, cafeína y, en menor medida la teofilina (Jumbo, 2022).

2.5.2 Actividad biológica de los compuestos bioactivos

Los compuestos polifenólicos presentan una amplia gama de efectos beneficiosos para la salud, destacándose por sus propiedades biológicas como antioxidantes, inmunoestimulantes y moduladores de la microbiota (Sánchez et al., 2023a).

Estos compuestos han demostrado tener efectos antiobesidad, antidiabéticos, antiinflamatorios, anticancerígenos y antihipertensivos (Cinar et al., 2021; Tušek et al., 2016).

Su capacidad antioxidante, es clave en la neutralización de radicales libres, lo que se debe a su estructura química, en particular al número y disposición de los grupos hidroxilo, la presencia de dobles enlaces y su capacidad para distribuir electrones. Esto les permite estabilizar radicales libres y conservar átomos de hidrógeno (Leyva-López et al., 2020).

El consumo de cacao ha sido asociado con diversos beneficios para la salud, como la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, incluidas las cardiovasculares, los trastornos metabólicos y el cáncer. Además, se ha observado que puede tener efectos positivos sobre el sistema nervioso, la función visual y la salud de la piel (Tušek et al., 2016).

2.5.3 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se describe como la capacidad de una sustancia o compuesto para prevenir o contrarrestar la oxidación de moléculas conocidas como "radicales libres", incluso en concentraciones mínimas, con el objetivo de reducir al mínimo el impacto causado por dichas moléculas (Benítez-Estrada et al., 2020).

Los radicales libres son átomos o moléculas que presentan la falta de un electrón en su último orbital, lo que los convierte en inestables y altamente reactivos, este daño oxidativo puede conducir al desarrollo de enfermedades crónicas como cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y trastornos inflamatorios (Rojo-Poveda et al., 2019).

Para alcanzar estabilidad, los radicales libres buscan adquirir electrones de otras moléculas como metabolitos primarios esenciales (carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas, enzimas y ácidos nucleicos) y secundarios (polifenoles, terpenoides, alcaloides, tocoferoles), estas moléculas reactivas se generan como parte del proceso metabólico normal, los antioxidantes son sustancias capaces de contrarrestar, estabilizar o reducir el daño causado por los radicales libres (Munteanu & Apetrei, 2021), como se observa en la Figura 11.

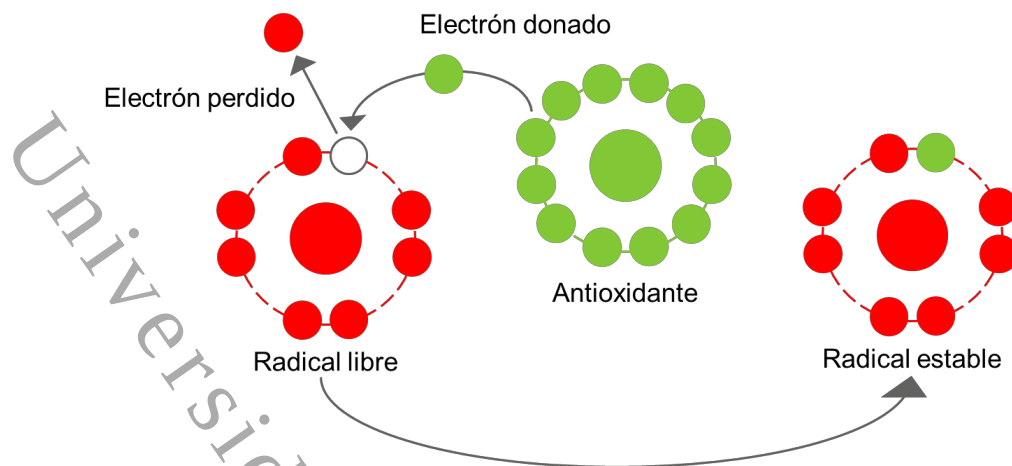


Figura 11. Esquema del mecanismo antioxidante de transferencia de electrones y neutralización de radicales libres.

Nota. Adaptación de Ramírez-Acosta & González-Hernández, (2024).

En este sentido, el consumo de alimentos ricos en antioxidantes, como frutas y verduras (naranjas, manzanas, champiñones, tomates, espárragos entre otras), cereales (maíz, trigo y arroz) y otros productos, se ha recomendado como una estrategia para prevenir y mitigar el daño oxidativo en el organismo (Arias et al., 2022; Domínguez-Pérez et al., 2020; Fărcaș et al., 2021). La capacidad antioxidante de un compuesto está ligada a su composición y concentración, por lo que es importante elegir métodos de extracción que permitan obtenerlos en mayor cantidad y calidad posible.

2.6 Métodos de extracción convencionales y no convencionales

La eficiencia de extracción de compuestos bioactivos depende de varios parámetros (Palma et al., 2023). Para obtener un extracto de alta calidad y aumentar la eficiencia de la extracción, es esencial elegir cuidadosamente el método de extracción, los métodos convencionales de extracción, como la Extracción Sólido-Líquido o Lixiviación (ESL), Extracción Soxhlet (ES), Extracción por Maceración (EM), Infusión, Percolación y Decocción (Jha & Sit, 2022; Jiménez-Amezcu et al., 2023), utilizados comúnmente para extraer compuestos bioactivos de materiales sólidos, presentan numerosas desventajas que hacen que estos enfoques sean poco económicos y altamente perjudiciales para el medio ambiente debido a su consumo excesivo de tiempo, energía, el uso de solventes tóxicos y bajos rendimientos (Pagliari et al., 2022).

Por lo anterior, se hace imperativo implementar nuevos métodos de extracción ecológicos que sean capaces de recuperar concentraciones elevadas de compuestos bioactivos, empleando condiciones respetuosas con el medio ambiente (Sánchez et al., 2023a). Recientemente, se han adoptado métodos ecológicos o tecnologías verdes que incluyen, Extracción Asistida por Microondas (EAM), Extracción Asistida por Sonicación (EAS), Extracción con Fluidos Supercríticos (EFS), Extracción Asistida por Enzimas (EAE), Extracción con Líquido Presurizado (ELP) y Campos Eléctricos Pulsados (CEP) (Jha & Sit, 2022).

En la Tabla 3, se observa la clasificación de los métodos de extracción de compuestos bioactivos en directos e indirectos. Los métodos directos involucran un contacto físico o químico continuo entre el solvente y la muestra, lo que permite extraer los compuestos de interés del material sólido hacia el solvente. Por otro lado, los métodos indirectos modifican el entorno de la extracción y la estructura celular mediante procesos físicos sin que exista un contacto directo con el solvente o el material sólido.

Tabla 3. Clasificación de los métodos de extracción en directos o indirectos.

Directos	Indirectos
Extracción Sólido-Líquido o Lixiviación (ESL) (Tušek et al., 2016).	Extracción Asistida por Sonicación (EAS)* (Dauber et al., 2024).
Extracción Soxhlet (ES) (Alara et al., 2018).	Extracción con Fluidos Supercríticos (EFS) (González-Alejo et al., 2019).
Extracción por Maceración (EM) (Čujić et al., 2016).	Extracción Asistida por Microondas (EAM) (Mao et al., 2023).
Percolación (Tăbărașu et al., 2024).	Campos Eléctricos Pulsado (CEF) (Razola-Díaz et al., 2024).
Decocción (Wang et al., 2023).	Extracción Asistida por Enzimas (EAE) (Sorndech et al., 2024).
Infusión (Panzl et al., 2022).	Extracción con Líquido Presurizado (ELP) (Echenique et al., 2024).

Nota: Elaboración propia

* La extracción asistida por sonicación puede realizarse de ambas maneras, utilizando equipos diferentes: de forma directa por sonda ultrasónica e indirecta con baño ultrasónico.

2.6.1 Extracción por sonicación directa

Las ondas ultrasónicas que se propagan a través de cualquier medio provocan una serie de compresiones y rarefacciones en las moléculas del medio, por lo que estas variaciones de presión inducen a la formación y, en última instancia, el colapso de burbujas dentro del líquido (Wen et al., 2018). Este proceso de creación, expansión y colapso de microburbujas en líquidos bajo la irradiación de ultrasonidos se conoce como "cavitación acústica" (Tiwari, 2015). El método de extracción por sonicación es conocido por su eficiencia y costos reducidos (Palma et al., 2023), como se observa en la Figura 12, el proceso de sonicación en las células vegetales para la extracción de compuestos bioactivos.

Es ampliamente reconocido que las condiciones aplicadas durante el proceso de extracción, tales como la temperatura, presión, tiempo, tamaño de partícula, selección del solvente, técnica utilizada y la proporción muestra-solvente, entre otros factores, influyen de manera significativa tanto en la cantidad como en la naturaleza de los compuestos bioactivos extraídos y, en

consecuencia, en la actividad biológica de los extractos obtenidos (Jiménez-Amezcu et al., 2023).

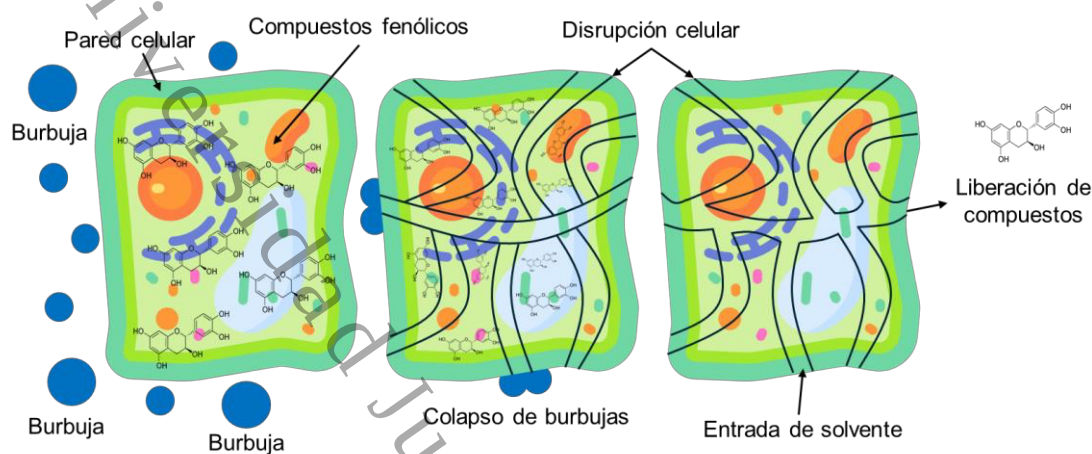


Figura 12. Cambios en la célula vegetal durante el proceso de sonicación para la extracción de compuestos bioactivos.

Nota. Adaptación de Medina-Torres et al. (2017).

III. JUSTIFICACIÓN

El aumento constante de población mundial ha generado una creciente preocupación por la salud y el bienestar, lo que ha impulsado la investigación en el campo de los antioxidantes naturales debido a sus beneficios potenciales que presentan para la humanidad. Los antioxidantes son compuestos capaces de neutralizar los radicales libres y reducir el daño oxidativo, el cual está relacionado con ser el causante de diversas enfermedades más comunes en la actualidad. Por ello, los antioxidantes naturales son vistos como una opción prometedora para mejorar la salud humana.

Las investigaciones sobre el cacao suelen enfocarse en el grano y sus productos derivados, mientras que la cascarilla de cacao, un subproducto de la industria cacaotera, ha sido en gran medida inexplorado. A pesar de su potencial, la cascarilla se considera un residuo agroindustrial, lo que resalta la necesidad de profundizar en su estudio para descubrir posibles beneficios o aplicaciones futuras, apoyando el modelo de producción denominado “economía circular”.

La sonicación es una técnica empleada para mejorar la extracción de compuestos bioactivos, convirtiéndose en una opción efectiva para extraer antioxidantes de matrices vegetales. Dicha técnica ofrece diversas ventajas, como la reducción de tiempos de extracción y el uso de menor cantidad de solvente, lo que la hace más eficiente y no perjudicial para el medio ambiente.

El enfoque de este trabajo no solo contribuirá a la valorización de un residuo agroindustrial, promoviendo un enfoque más sostenible en la cadena de producción del cacao, sino que permitirá valorizar el polvo de cascarilla de cacao como fuente accesible de antioxidantes naturales, con futuras aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica, bioquímica y cosmética. Además, la obtención de información para el desarrollo de nuevos productos, que podrían generar un impacto positivo en la salud pública, al ofrecer el consumo de antioxidantes naturales como alternativa a los sintéticos.

Debido a lo anterior la siguiente investigación tiene el objetivo de la evaluación de la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos de cascarilla de cacao obtenidos por sonicación directa.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Se obtendrán mejores resultados en el contenido de flavonoides totales y la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos de cascarilla de cacao con menor tamaño de partícula y mayor tiempo de sonicación directa?

V. HIPÓTESIS

Los extractos de cascarilla de cacao con menor tamaño de partícula y mayor tiempo de sonicación directa presentarán un mayor contenido de flavonoides totales y una mayor capacidad antioxidante *in vitro*.

VI. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto del tamaño de partícula de polvo de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) durante diferentes tiempos de extracción por sonicación directa sobre la capacidad antioxidante *in vitro*.

Objetivos específicos

- Caracterizar por análisis proximal el polvo de cascarilla de cacao (PCC) y matriz agotada (MAg) después de la extracción.
- Caracterizar por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier el polvo de cascarilla de cacao (PCC) y matriz agotada (MAg) después de la extracción.
- Evaluar el efecto del tamaño de partícula de polvo de cascarilla de cacao (PCC) extraída por sonicación directa sobre el contenido flavonoides totales (CFT) y la capacidad antioxidante.
- Evaluar el efecto del tiempo de extracción por sonicación directa de polvo de cascarilla de cacao (PCC) sobre el contenido de flavonoides totales (CFT) y la capacidad antioxidante.

VII. METODOLOGÍA

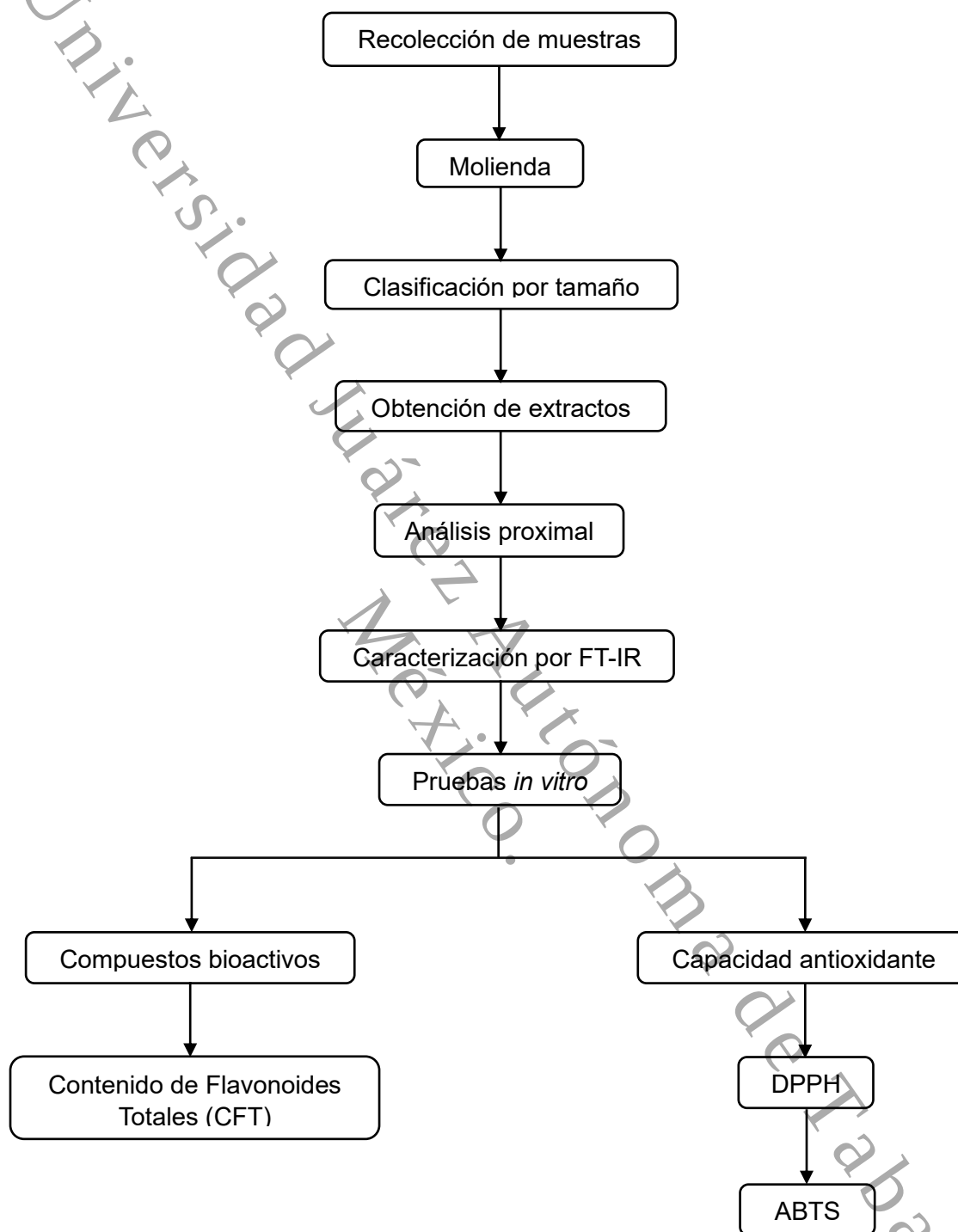


Figura 13. Diagrama de flujo general de la metodología para la obtención, caracterización y evaluación de compuestos bioactivos del PCC.

Nota. Elaboración propia.

7.1 Recolección, molienda y clasificación por tamaño de partícula

Las muestras de cascarilla de cacao fueron recolectadas del proceso de tostado y descascarillado llevado a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de Procesos; a partir de una diversidad de cacaos colectados en las regiones de Tabasco y Chiapas. El origen de las muestras se deriva del complejo trinitario mexicano que surgió como una mezcla entre los criollos y forasteros. Las muestras llegan al laboratorio, son tostadas bajo diferentes protocolos y se obtiene cascarilla como residuo. Para este estudio, se utilizó un promedio de 10 kg de una muestra compuesta.

Un lote de 1 kg de muestra compuesta de cascarilla de cacao se molió (Retsch, GM 200, Germany) y se realizó un tamizado con tamices de #20, #40, #60 y #80 (0.841 μm , 0.420 μm , 0.250 μm y 0.177 μm de abertura) (Figura 14) (Montinox, México) con ayuda de un agitador de tamices (ECO-WQS, ECOSHEL, Estados Unidos de América). Las muestras fueron almacenadas en frascos ámbar a 4°C hasta su análisis.

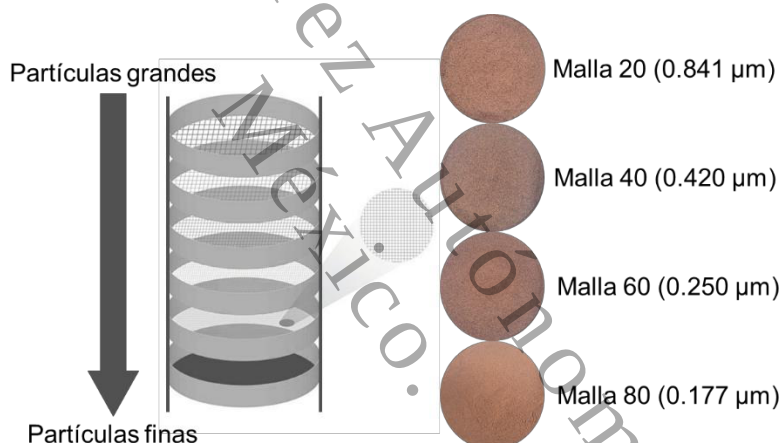


Figura 14. Tamaños de partículas utilizados durante el proceso de sonicación directa para la extracción de compuestos bioactivos.

Nota. Adaptación de Jordan, (2023).

7.2 Proceso de extracción por sonicación del polvo de cascarilla de cacao

7.2.1 Obtención de los extractos

La concentración fue de 1 g de polvo de cascarilla de cacao a diferentes tamaños de partículas en 100 mL de agua desionizada. La extracción por sonicación directa (Biobase Biotech Co., Ltd, Model 650 W, China) con sonda, temperatura controlada (30°C) y potencia de amplitud de 50% de 650 W de forma intermitente (1 s ON/1 s OFF) (Figura 15). La sonda se sumergió a 1.5 cm en la solución dentro de una caja en oscuridad y con protección de sonido. Las muestras fueron extraídas a 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min. Después de la extracción, se centrifugaron a 7280x g por

10 min (HERMLE, Z236K, Germany) para obtener el sobrenadante, el cual fue almacenado a 4°C.

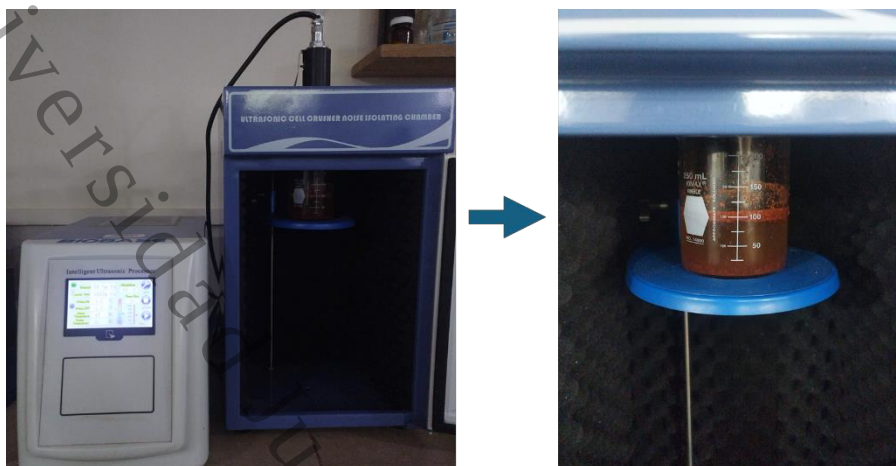


Figura 15. Proceso de la obtención de extractos por sonicación directa.

Nota. Elaboración propia.

7.3 Análisis proximal de la cascarilla de cacao y matriz agotada

El análisis proximal se le realizó al polvo de cascarilla de cacao (PCC) con tamaño de partícula de 0.177 μm (malla 80) y a la matriz agotada (MAG) del polvo de cascarilla de cacao obtenido posterior al proceso de sonicación directa, secado y llevado a peso constante.

El análisis proximal se llevó a cabo de acuerdo con lo establecido en las normas oficiales mexicanas, para humedad (PROY-NOM-211-SSA1-2002), cenizas (PROY-NMX-F-607-NORMEX-2020), proteína cruda (NOM-F-68-S-1980), grasa cruda (PROY-NMX-F-615-NORMEX-2018), fibra cruda (NOM-F-90-S-1978) (En el anexo 12.3 se describen brevemente las metodologías utilizadas, reportadas en base seca). Los carbohidratos se determinaron por diferencia, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Carbohidratos} = (\text{humedad} + \text{cenizas} + \text{proteína} + \text{grasa} + \text{fibra}) - 100$$

7.4 Caracterización por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

El PCC y la MAG fueron analizados mediante espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR por sus siglas en inglés) utilizando un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) con un cristal de Selenuro de Germanio (Perkin Elmer Spectrum V 10.6.2.1159, Frontier, USA). Los espectros se obtuvieron en un rango de 4000 a 500 cm^{-1} , con una resolución de 4 cm^{-1} y mediante 32 escaneos por muestra (Palacios-Hinestroza et al., 2020). Para cada análisis, se

utilizaron 0.5 g de polvo de cascarilla de cacao y de matriz agotada. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado a una temperatura ambiente de 22°C. El cristal (GeSe) se limpió con acetona (C_3H_6O) después de cada medición y se realizó un barrido de fondo. Los datos de los gráficos fueron procesados mediante corrección de línea base, suavizado y normalización.

7.5 Determinación del contenido de flavonoides totales (CFT)

El CFT se estimó utilizando el método basado en cloruro de aluminio descrito por Zhishen et al. (1999), con algunas modificaciones. En un tubo de ensayo de 10 mL, se mezclaron 200 μ L de extracto con 800 μ L de agua desionizada y 150 μ L de $NaNO_2$ al 5%. La solución se dejó reposar en ausencia de luz durante 5 min. Luego, se añadieron 150 μ L de $AlCl_3$ al 10% y se dejó reposar durante 6 min en ausencia de luz. Posteriormente, se agregaron 2 mL de $NaOH$ al 4% y, finalmente, se añadieron 1.7 mL de agua desionizada para alcanzar un volumen final de 5 mL. La absorbancia de la solución se midió a 410 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10 UV, Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). La curva de calibración se estableció en un rango de 100 a 1000 μ g/mL. El contenido total de flavonoides se expresó en equivalentes de quercetina por gramo de muestra seca (mg EQ/g muestra seca). Todos los análisis de los extractos se realizaron por triplicado.

7.6 Evaluación de la capacidad antioxidante

7.6.1 Ensayo de la capacidad antioxidante por el radical 1,1- difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)

Para evaluar la capacidad de captura de radicales libres de los extractos, se siguió la metodología propuesta por Shimada et al. (1992) con modificaciones, que consistió en emplear el radical 1,1- difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). En tubos de ensayo de 10 mL se agregó 150 μ L de extracto, seguido de 1,350 μ L de DPPH (0.1 mM en etanol). La muestra se agitó en un vortex durante 10 segundos, se dejó reaccionar durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegida de la luz. Posteriormente, se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10 UV, Thermo Electron Corporation, Estados Unidos de América) a una absorbancia de 517 nm. Como control negativo, se empleó agua desionizada en lugar de la muestra y para el blanco se utilizó etanol al 95%. La curva de calibración se estableció en un rango de 33 a 535 mM/mL. Los resultados de la capacidad antioxidante se expresaron en equivalentes de trolox por gramo de muestra seca (mM ET/g muestra). Todos los análisis de los extractos se llevaron a cabo por triplicado.

7.6.2 Ensayo de la capacidad antioxidante por el radical catión 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS)

La capacidad antioxidante se determinó siguiendo el método de Pukalskas et al. (2002) con ligeras modificaciones, empleando el radical catión 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS). El radical catión ABTS^{•+} se generó disolviendo 19.2 mg de ABTS en 5 mL de solución salina tampón con fosfato (PBS 0.01 M, pH 7.4), preparada previamente, y añadiendo posteriormente 5 mL de K₂S₂O₈. La mezcla se dejó reposar en oscuridad a temperatura ambiente durante 16-17 h antes de su uso. Para analizar los compuestos antioxidantes, se diluyó 1 mL del radical ABTS^{•+} en 30 mL de buffer PBS hasta alcanzar una absorbancia de 0.8 ± 0.030 , medida a una longitud de onda de 734 nm. En tubos de ensayo, se añadió una alícuota de 10 µL de extracto y 990 µL del radical ABTS diluido. La muestra se agitó en un vórtex durante 10 segundos y se dejó reaccionar durante 6 minutos a temperatura ambiente, protegida de la luz. Al concluir la reacción, se midió la absorbancia a 734 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10 UV, Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). Como blanco, se utilizó PBS. La curva de calibración se estableció en un rango de 0.5 a 3.5 mM/mL. Los resultados de la capacidad antioxidante se expresaron en equivalentes de trolox por gramo de muestra seca (mM ET/g muestra seca). Todos los análisis de los extractos se realizaron por triplicado.

7.7 Diseño experimental y análisis estadístico

Con la finalidad de determinar el efecto del tamaño de partículas sobre la capacidad antioxidante del PCC, se llevó a cabo un diseño completamente al azar con variable repetida en el tiempo. Se utilizaron cuatro tamaños de partículas con tres réplicas con seis puntos en la variable repetida (5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos). Las variables de respuesta fueron el contenido de flavonoides totales, capacidad antioxidante por DPPH y ABTS. El análisis estadístico se llevó a cabo aplicando un ANOVA y prueba de comparación múltiple de Tukey ($p < 0.05$) usando MATLAB R2014a.

VIII. RESULTADOS

8.1 Análisis proximal de la cascarilla de cacao y matriz agotada

En la tabla 4, se presenta el análisis proximal del PCC y MAg. Se observó un aumento significativo en el contenido de humedad tras el proceso de sonicación directa, incrementando de 7.45% a 9.17%. El contenido de proteína presenta diferencias significativas con una ligera disminución de 13.92% a 13.23%. Para el contenido de grasa, no se detectaron diferencias significativas, con valores que oscilaron entre 11.25% y 10.12%. El contenido de ceniza evidenció un incremento significativo, mostrando valores de 6.83% a 8%. Se observaron diferencias significativas en el contenido de fibra, que aumentó considerablemente de 13.25% a 18.20%. Finalmente, se evidenció la disminución significativa en el contenido de carbohidratos de 47.30% a 41.28%.

Tabla 4. Composición proximal del polvo de cascarilla de cacao (PCC) y matriz agotada (MAg).

Variables (%)	PCC	MAg
Humedad	7.45±0.21 ^b	9.17±0.03 ^a
Proteína	13.92±0.12 ^a	13.23±0.02 ^b
Grasa	11.25±0.84 ^a	10.12±0.17 ^a
Ceniza	6.83±0.14 ^b	8±0.04 ^a
Fibra	13.25 ±0.89 ^b	18.20 ±1.01 ^a
Carbohidratos	47.30±2.35 ^a	41.28±0.75 ^b

Promedios con letras iguales entre columnas no son diferentes estadísticamente por la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) $\pm$ desviación estándar.

Nota: Elaboración propia.

La caracterización por análisis proximal destaca los cambios en la composición nutricional de las muestras tras el tratamiento de sonicación directa, de forma particular en el incremento en la humedad y la fibra.

8.2 Caracterización por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

En las Figuras 16 y 17 se presenta todo el intervalo de la región del infrarrojo medio (4000-400 cm^{-1}) separadas con la finalidad de mostrar los cambios más evidentes y destacando regiones específicas donde se observan señales de picos o bandas significativos.

En la Figura 16, se observó una señal de banda ancha la región de 3300-3284 cm^{-1} asociada a las vibraciones de estiramiento de -OH (Mumbach et al., 2022) para MAg, en comparación con

el PCC. La Figura 17, de igual forma, muestra que a 1740 cm^{-1} , se detecta un pico de intensidad que se atribuye al estiramiento del grupo carbonilo C=O (Barišić et al., 2020).

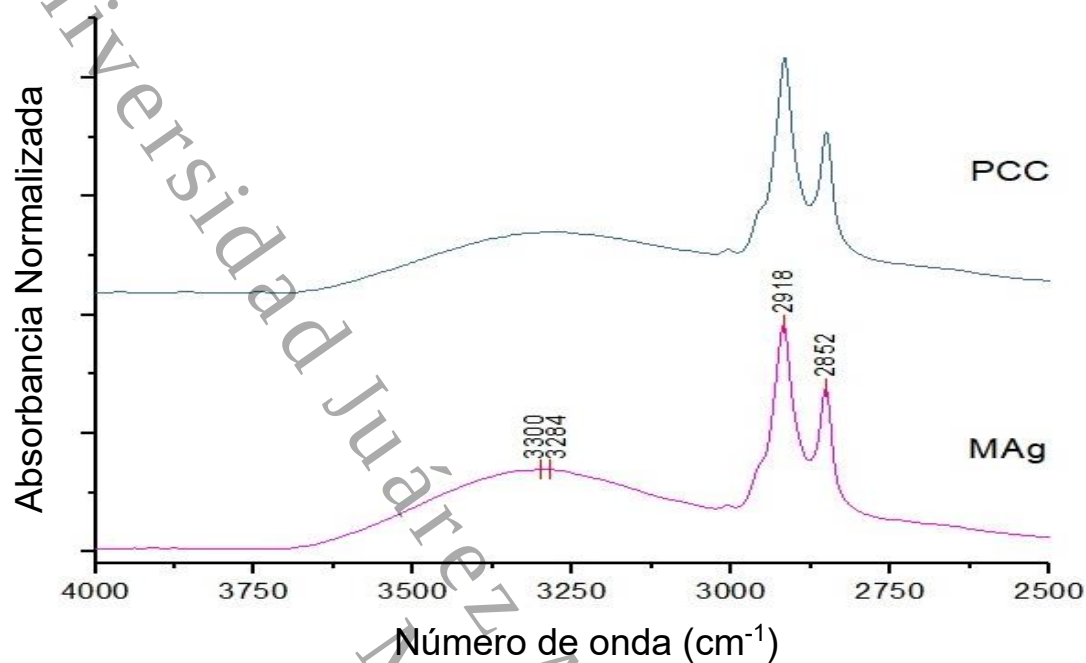


Figura 16. Espectros FT-IR del PCC y MAg en el intervalo de 4000-2500 cm^{-1} .

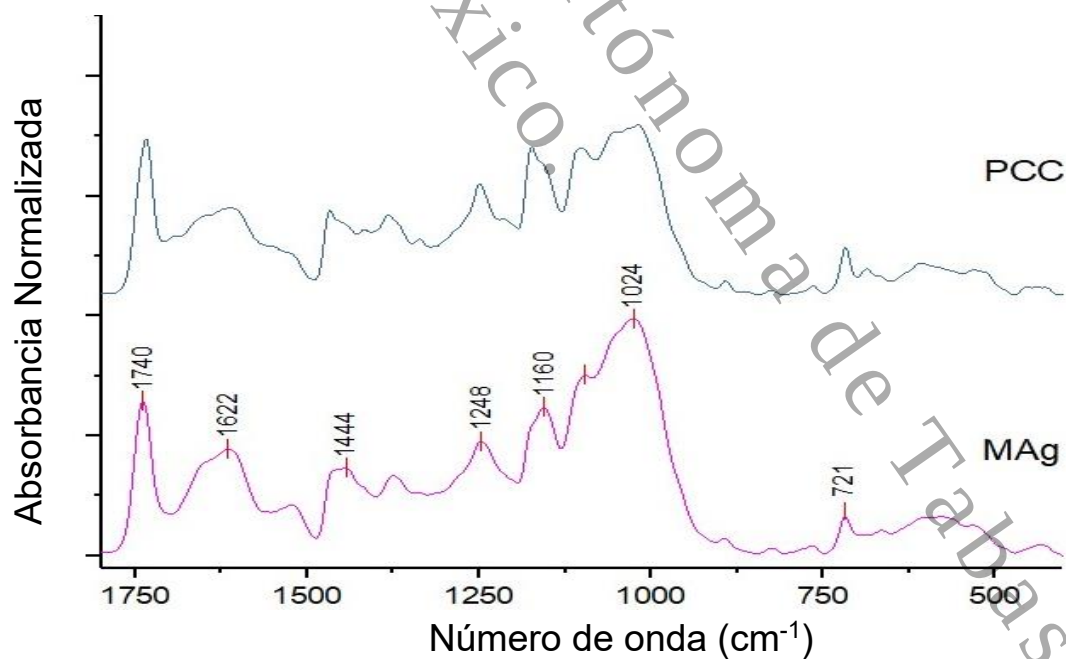


Figura 17. Espectros FT-IR del PCC y MAg en el intervalo de 1750-500 cm^{-1} .

En la Tabla 5, se presentan las señales asignadas de las vibraciones moleculares en el PCC y MAg.

Tabla 5. Señales detectadas de las vibraciones moleculares en el polvo de cascarilla de cacao (PCC) y matriz agotada (MAg).

ID	No. De onda	Asignación	Referencia
1	3300-3284	-OH	Mumbach et al., 2022
2	2918-2852	$\nu_{as,s}(\text{CH}_2; \text{CH}_3)$	Vesela et al., 2007
3	1740	$\nu(\text{C=O})$	Schulz & Baranska 2007; Vesela et al., 2007
4	1622	$\nu(\text{C=O})$	Christou et al., 2018
5	1444	$\delta(\text{CH}_2)$	Christou et al., 2018; Schulz & Baranska 2007; Vesela et al., 2007
6	1248	C-O, C-N	Christou et al., 2018
7	1160	$\nu(\text{C-O})$	Schulz & Baranska 2007; Vesela et al., 2007
8	1024	$\delta(\text{C-O}), \delta(\text{C-C}), \delta(\text{C-N})$	Christou et al., 2018; Schulz & Baranska 2007; Vesela et al., 2007
9	721	$\nu_{as}(\text{CH}_2)$	Lozada-García et al., 2013

as:asimétrico; s:simétrico

Nota. Elaboración propia.

8.3 Determinación del contenido de flavonoides totales (CFT)

El CFT en extractos acuoso de cascarilla de cacao se observa en la Figura 18. El análisis estadístico indicó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para diferentes tamaños de partículas y tiempos de extracción. Los resultados indicaron que para la malla 80, los valores oscilaron entre 10.60 – 20.50 mg EQ/g de muestra seca, mientras que en la malla 60 se registraron entre 9.40 – 14.25 mg EQ/g de muestra seca. En el caso de la malla 40, el contenido fluctuó entre 7.25 – 11.05 mg EQ/g de muestra seca, y finalmente, en la malla 20, los valores estuvieron en un rango de 10.30 – 16 mg EQ/g de muestra seca. Los resultados mostraron de forma general que hubo un incremento lineal en el CFT como función del tiempo de extracción. Además, el mayor CFT se presentó con el número de malla 80, que indica que el tamaño de partícula más pequeño fue donde se logró una mejor extracción.

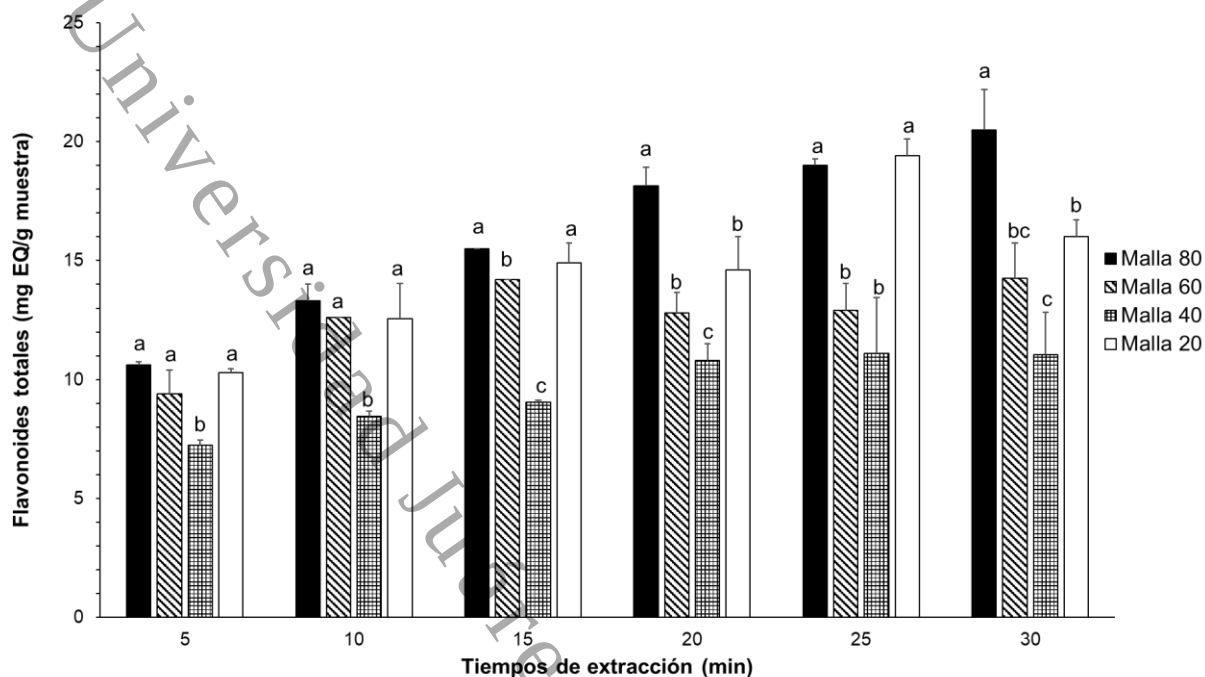


Figura 18. Contenido de flavonoides totales (CFT) en extractos acuosos de cascarilla de cacao a diferentes tamaños de partículas; malla 80 (0.177 μm), malla 60 (0.250 μm), malla 40 (0.420 μm), malla 20 (0.841 μm) y tiempos de extracción. Las letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tamaños de partículas y tiempos de extracción por la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

8.4 Evaluación de la capacidad antioxidante

8.4.1 Ensayo DPPH

En la Figura 19, se presentan los resultados de la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de la cascarilla de cacao, evaluados con el método DPPH. El análisis estadístico mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) según el tamaño de malla y tiempo de extracción. En la malla 80, los valores oscilaron entre 468.93 y 482.35 mM ET/g de muestra seca, mientras que en la malla 60 se alcanzaron valores más altos, entre 480.93 y 488.43 mM ET/g de muestra seca. Para la malla 40, los resultados estuvieron en un rango de 430.52 a 481.52 mM ET/g de muestra seca, y en la malla 20, variaron de 429.27 a 466.43 mM ET/g de muestra seca. El comportamiento de los resultados para DPPH presentaron un incremento lineal como función del tiempo de extracción con excepción de la malla 60 donde los cambios no fueron significativos ($p \leq 0.05$). Los extractos acuosos obtenidos en malla 20 y 40 fueron los que presentaron los datos más bajos de capacidad antioxidante de forma general comparados con las otras mallas en función de los tiempos de extracción.

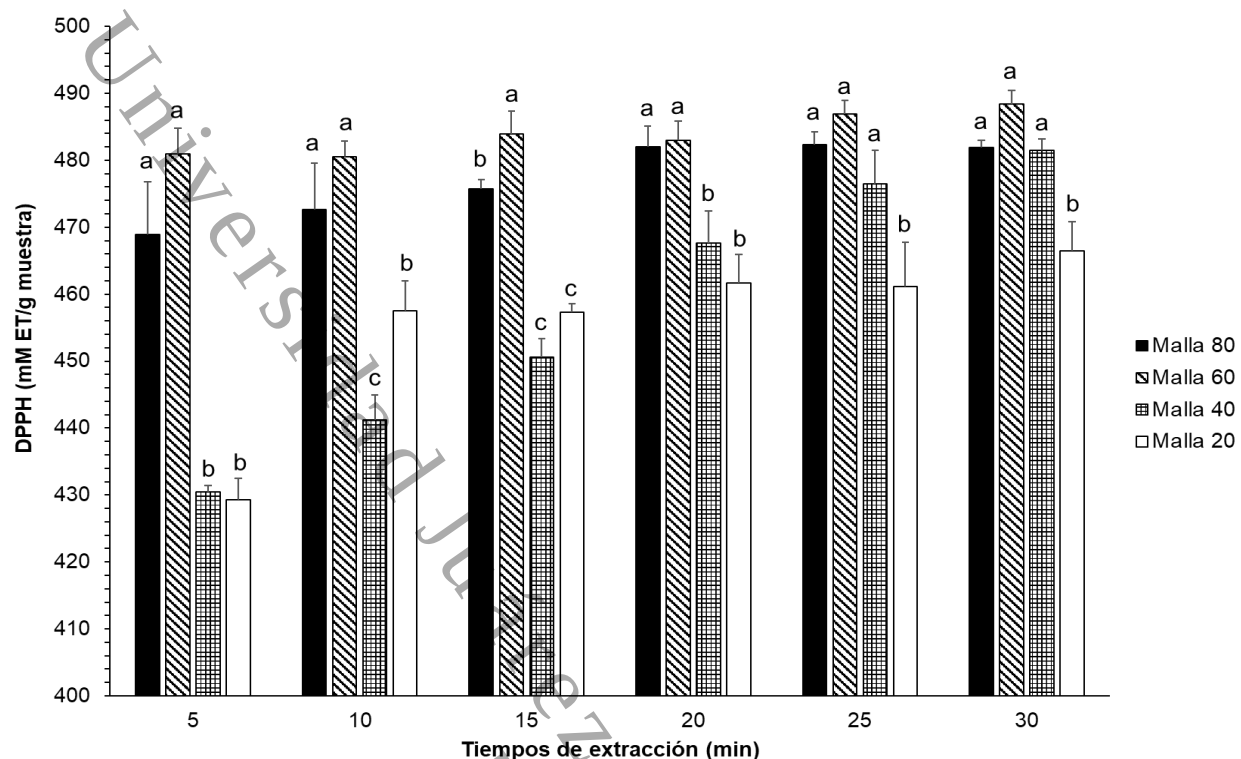


Figura 19. Capacidad antioxidante en extractos acuosos de cascarilla de cacao evaluada mediante el ensayo DPPH por tamaños de partícula: malla 80 (0.177 μ m), malla 60 (0.250 μ m), malla 40 (0.420 μ m), malla 20 (0.841 μ m) y tiempos de extracción. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tamaños de partícula en cada tiempo de extracción, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

8.4.2 Ensayo ABTS

La capacidad antioxidante de los extractos acuosos de cascarilla de cacao mediante el ensayo ABTS, se muestran en la Figura 20. Los resultados indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre el tamaño de partícula y tiempo de extracción. En la malla 80, los valores oscilaron entre 93.14 y 98.29 mM ET/g de muestra seca, mientras que para la malla 60 se registraron entre 83.34 y 97.09 mM ET/g de muestra seca. En el caso de la malla 40, los resultados fluctuaron entre 79.89 y 90.03 mM ET/g de muestra seca, y en la malla 20, los valores estuvieron entre 80.90 y 94.52 mM ET/g de muestra seca. Esto pone de manifiesto el impacto del tamaño de partícula en la eficiencia de la extracción antioxidante bajo este método.

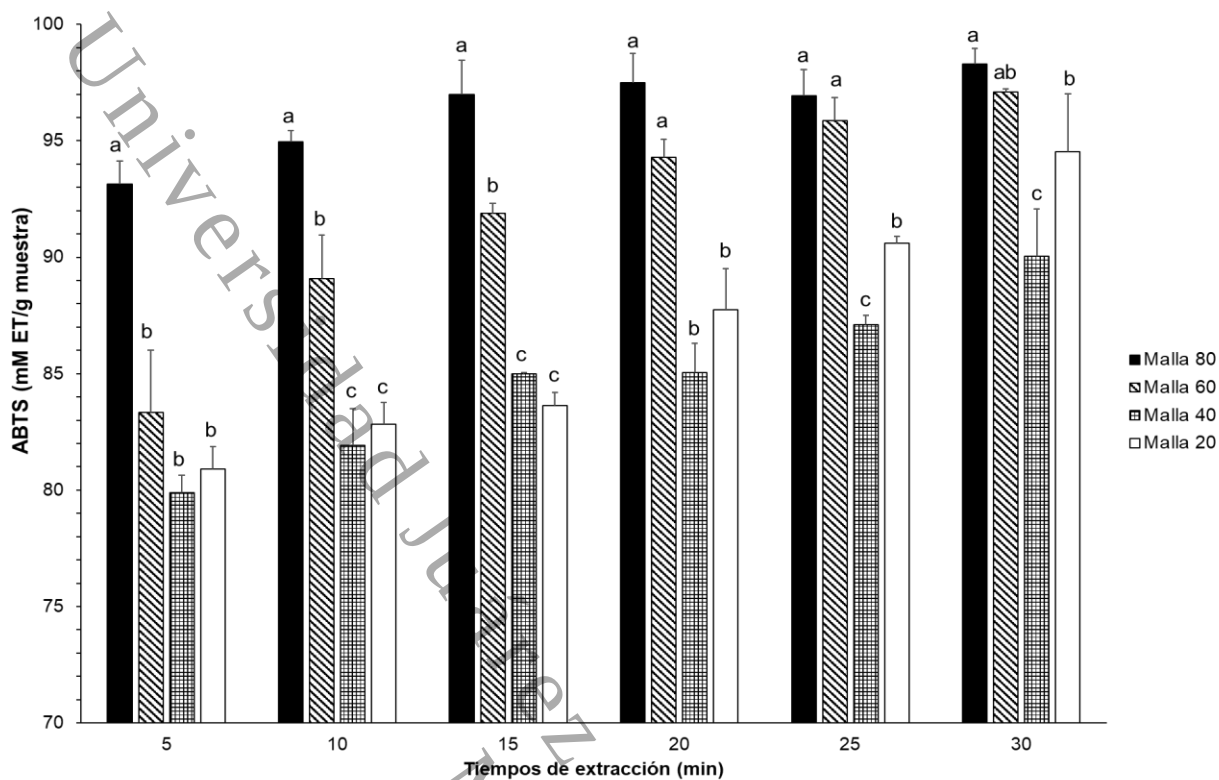


Figura 20. Capacidad antioxidante en extractos acuosos de cascarilla de cacao evaluada mediante el ensayo de ABTS por tamaños de partícula; malla 80 (0.177 μ m), malla 60 (0.250 μ m), malla 40 (0.420 μ m), malla 20 (0.841 μ m) y tiempos de extracción. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los tamaños de partícula en cada tiempo de extracción de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

IX. DISCUSIÓN

9.1 Análisis proximal de la cascarilla de cacao y matriz agotada

En una revisión realizada por Rojo-Poveda et al. (2020), mostró en el análisis proximal para cascarilla de cacao un rango de humedad de 3.60% a 13.3%, valores que se encuentran dentro del rango obtenido en este estudio (Tabla 4). Sin embargo, el aumento en la humedad obtenida para la MAg posterior al tratamiento de sonicación directa, sugiere retención de agua en la muestra, indicando cambios a nivel estructural, sin embargo, no fueron determinados en el presente estudio. Respecto al contenido de grasa, se encontraron valores superiores en comparación con los reportados por Rojo-Poveda et al. (2020), los cuales publicaron un rango de 1.50% a 8.49%.

En otra investigación realizada por Djali et al. (2023), los resultados del análisis proximal de cascarilla de cacao de diferentes variedades, métodos de procesamiento, molido y tamizado con malla 60 mostraron valores superiores en la variable de proteína, con un rango de 15.70% a 18.79%. La discrepancia observada podría atribuirse a la degradación de péptidos en aminoácidos libres durante el proceso de tratamiento y además a la variedad de cacao de donde es obtenida la cascarilla. En cuanto al contenido de cenizas, los valores reportados por Djali et al. (2023), estuvieron en un rango de 6.48% a 8.21%, valores similares a lo reportado en el presente estudio (Tabla 4); posiblemente debido a una mayor concentración de minerales por la eliminación de componentes volátiles en la muestra.

Finalmente, en relación al contenido de fibra y carbohidratos, los valores reportados por Djali et al. (2023), presentaron similitudes, con un rango de 15.54% a 21.50% y de 7.85% a 70.25%. El incremento en la fibra observado en este estudio podría atribuirse a la ruptura de las células inducida por la sonicación durante la extracción. El incremento de la fibra total en el residuo de cascarilla de cacao coincide con la reducción de los carbohidratos (Tabla 4). Según Wu et al., (2022), este aumento en la fibra dietaria está relacionado con el proceso de deslignificación de la biomasa residual en ciertos productos, una observación que también ha sido reportada por Geng et al., (2022). Estos hallazgos resaltan las variaciones en la composición nutricional de la cáscara de cacao bajo diferentes condiciones de procesamiento y tratamiento por efecto de la sonicación.

Cabe mencionar que la composición de la cascarilla puede verse influenciada por factores como las condiciones climáticas de la zona de cultivo, la variedad de cacao, las condiciones de procesamiento (fermentación, secado y temperatura de tostado).

9.2 Caracterización por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Los resultados encontrados en la Figura 16, para las señales donde se presentó una banda ancha entre 3300-3284 cm^{-1} puede ser debido a las condiciones de extracción por sonicación sobre las moléculas que involucran -OH como radical, el cual está vinculado a una diversidad de compuestos fenólicos como los flavonoides. Estos cambios se deben a la ruptura celular por efecto de cavitación. En los picos de 2918 y 2852 cm^{-1} se encontraron las vibraciones tanto simétricas como asimétricas de extensión atribuidas a grupos C-H, grupos metilo (CH_3) y metileno (CH_2), característicos en lípidos (Grillo et al., 2019) vinculado con señales a 1740 cm^{-1} asociada con ácido carboxílicos. En cuanto a la Figura 17, es la región denominada de huella dactilar, donde la interpretación es más compleja por la diversidad de señales encontradas, notándose que existe una mejor definición en los picos de las señales detectadas antes y después del proceso de extracción. Esta mejora en la suavización de las señales es efecto del proceso de extracción por sonicación directa. En esta región se observó el estiramiento del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$); este grupo funcional es distintivo de ácidos carboxílicos y compuestos carbonílicos, abarcando aldehídos, cetonas y ésteres. Asimismo, se observó un pico a 1622 cm^{-1} , asociado con el estiramiento de la amida I en las proteínas. Además, se identificó un pico a 1444 cm^{-1} , atribuido a la vibración de deformación de los grupos CH_2 y CH_3 en los carbohidratos (polisacáridos) (Grillo et al., 2019), en donde se observó un desplazamiento. En 1248 cm^{-1} , se destaca un pico que ha sido identificado como amida III y anillo fenólico. Al comparar ambas muestras, no se detectan diferencias notables en la intensidad o en la forma de este pico. El pico localizado en 1160 cm^{-1} ha sido atribuido a esteres mientras que en 1024 cm^{-1} se identifica un pico relacionado con diversas vibraciones atribuidas a carbohidratos, especialmente polisacáridos y por último el pico de 721 cm^{-1} asignado como la flexión asimétrica en el plano, vinculado con la superposición de vibraciones de balanceo de grupos de CH_2 y vibraciones de extensión fuera del plano de olefinas disustituidas en cis. Además, sugiere la presencia de una cadena lineal con 4 o más grupos de CH_2 (Grillo et al., 2019).

9.3 Determinación del contenido de flavonoides totales (CFT)

Rebollo-Hernanz et al. (2021), determinaron el CFT en cascarilla de cacao, empleando un tamaño de partícula reducido y agua como solvente en diferentes proporciones. La extracción se llevó a cabo bajo condiciones controladas, variando parámetros como temperatura (30-100°C), tiempo (5-90 min), acidez (0-2% ácido cítrico) y relación sólido-líquido (0.02-0.05 g/ml). Los resultados obtenidos oscilaron entre 4.93 y 12.69 mg EQ/g de muestra. Sin embargo, estos

valores son inferiores a los obtenidos en el presente estudio (Figura 18), probablemente debido a diversos factores, como el origen, variedad, condiciones de cultivo y manejo, los procesos poscosecha, así como los parámetros de extracción utilizados, que podrían haber influido en la eficiencia de la recuperación de compuestos bioactivos. De igual manera, Wiyono et al., (2020) evaluaron el CFT en la cascarilla de cacao, utilizando un mayor tamaño (malla 8) y etanol como solvente. El proceso de extracción incluyó maceración y sonicación variando parámetros como la concentración de etanol (25-75%), pH (2,5-5,6) y tiempo de sonicación (20-60 min). Los resultados del estudio oscilaron 0.042 – 0.344 mg EQ/mL. Estos valores son notablemente inferiores a los obtenidos en el presente estudio (Figura 18), lo que podría atribuirse al mayor tamaño de partícula utilizado y a las diferentes condiciones de extracción empleadas, factores que impactan en la liberación de compuestos bioactivos.

Por otro lado, Lessa et al. (2018), evaluaron el CFT en cascarilla de cacao, tanto en cacao fresco como fermentado. Para ello, emplearon extractos obtenidos mediante agitación durante 1h, utilizando partículas con un tamaño de 200 μm y dos tipos de solventes: agua desionizada e hidroetanol (80:20), en una proporción de 1:7 g/mL. Los resultados obtenidos para materiales natural fueron de 31.5 mg EQ/100 g (acuoso) y 37.5 mg EQ/100 g (hidroetanol). En contraste, para el material fermentado, los valores disminuyeron a 21 mg EQ/100 g (acuoso) y 23 mg EQ/100 g (hidroetanol). Cabe destacar que los extractos con hidroetanol mostraron mayor cantidad de flavonoides en ambos casos. Sin embargo, los valores reportados en este estudio (Figura 18) son superiores a los obtenidos, esta diferencia podría atribuirse al empleo de la sonicación como método de extracción y a las partículas de menor tamaño, lo que probablemente favoreció una mayor eficiencia en la extracción.

9.4 Evaluación de la capacidad antioxidante

9.4.1 Ensayo DPPH

Botella-Martínez et al. (2021), evaluaron el efecto del tamaño de partículas en la capacidad antioxidante de la cascarilla de cacao en tres tamaños de partícula: grande ($> 701 \mu\text{m}$), intermedio (entre 417 y 701 μm) y pequeño ($< 417 \mu\text{m}$). La extracción se realizó mediante agitación, utilizando una relación sólido-líquido de 1:10 y agua acidificada con ácido ortofosfórico (0.1%) como solvente. Los valores de capacidad antioxidante oscilaron entre 9.39 y 22.09 mM ET/g, siendo el tamaño de partícula más pequeño el que mostró los mejores resultados. Sin embargo, estos valores son inferiores a los reportados en el presente estudio (Figura 19), lo que sugiere que el tamaño de partícula y el método de extracción utilizado desempeñan un papel importante en la liberación de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante. En otro

estudio, Jafari et al. (2023), reportaron resultados significativos en cascarilla de cacao con el uso de etanol como solvente y el método de sonicación indirecta. Las condiciones de extracción incluyeron la concentración de etanol (60-100%), temperatura (45-65°C) y tiempo (30-60 min). Los valores de la capacidad antioxidante obtenida oscilaron entre 246.13 y 522.38 mM ET/100g de peso seco, superando los valores del presente estudio (Figura 19). Esto podría deberse a las condiciones prolongadas de sonicación, temperatura y el uso de etanol como solvente, lo que sugiere que la optimización de estas variables podría ser el punto de partida para una máxima extracción de antioxidantes en la cascarilla de cacao. Por otro lado, Ramos-Escudero et al. (2023), aplicaron sonicación indirecta para extraer antioxidantes de la cascarilla de cacao, modificando parámetros de secado como temperatura (50-70°C), tiempo (3-5h) y presión (50-150mbar), utilizando etanol como solvente. Los valores de la capacidad antioxidante obtenidos en esta investigación oscilaron entre 0.21 – 0.24 mM ET/g de muestra, resultados inferiores a los obtenidos en el estudio (Figura 19). Lo que vuelve a resaltar la importancia de las variables en la extracción de compuestos bioactivos.

La extracción de compuestos bioactivos de extractos de cascarilla de cacao aumenta considerablemente con el tiempo. Se observa una extracción más efectiva en intervalos de tiempo más largos durante el proceso de sonicación directa, especialmente cuando se emplea un tamaño de partícula más reducido.

9.4.2 Ensayo ABTS

Martínez et al. (2012), evaluaron diferentes subproductos del cacao, incluida la cascarilla de dos localizaciones de Ecuador, aplicando dos métodos de extracción. El primer método fue maceración con etanol absoluto, realizada durante 24h con una relación sólido-líquido de 1:2(m/v). En el segundo, combinaron sobrenadantes obtenidos mediante agitación durante 60 min a temperatura ambiente, utilizando dos mezclas de solventes: metanol-agua-HCl (50% v/v, pH 2) y acetona-agua (70:30 v/v), ambas con relación de 1:4. Los resultados mostraron extractos obtenidos con metanol-acetona presentan una capacidad antioxidante entre 0.00445 y 0.00456 mM ET/g de muestra seca, mientras que los obtenidos con etanol oscilaron entre 0.00256 – 0.00289 mM ET/g de muestra seca, valores menores a los obtenidos en el estudio (Figura 20). Estos valores inferiores, sugieren que tanto las técnicas de extracción como la elección del solvente juegan un papel crucial en la eficiencia de la extracción de compuestos antioxidantes en cascarilla de cacao.

En otro estudio de Delgado-Ospina et al. (2023), realizaron extractos de cascarilla de cacao mediante extracción por infusión, utilizando partículas de tres tamaños: grande (A), intermedio

(B) y pequeño (C). Los extractos se prepararon con una relación de 1:100, utilizando agua a 96°C y agitando durante 1 min. Los resultados mostraron que el tamaño de partículas más pequeño obtuvo la mejor capacidad en el ensayo ABTS, con un valor de 0.208 mM ET/100 mL, mientras que los tamaños de partícula más grandes presentaron valores de 0.172 y 0.194 mM ET/100 mL. Estos valores resultaron inferiores a los obtenidos en este estudio (Figura 20); sin embargo, muestran un comportamiento similar en cuanto a la influencia del tamaño de partícula. Por otra parte, Llerena et al. (2023), evaluaron la capacidad antioxidante de subproductos de cacao de dos variedades Nacional X Trinitario-tipo y CCN-51. Para ello, prepararon, extractos con una relación sólido-líquido de 60 mg/mL, empleando como solvente una mezcla de metanol, agua y ácido fórmico (70:30:0.1; v/v/v). La extracción se realizó mediante agitación y sonicación indirecta durante 5 y 10 min. Los resultados mostraron una mayor capacidad antioxidante en la variedad CCN-51, con 171.32 mg ET/g de peso seco, mientras que la variedad Nacional X Trinitario-tipo obtuvo de 167.06 mg ET/g de peso seco. Estos valores fueron menores a los obtenidos en el presente estudio (Figura 20), lo cual podría deberse a la diferencia en los solventes, el tipo de extracción y el tiempo de sonicación utilizados. Nuevamente se evidencia que la extracción óptima de compuestos bioactivos se logra durante los períodos extensos de sonicación, especialmente al emplear tamaños de partícula reducidos.

X. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El proceso de extracción por sonicación modificó la composición del PCC afectando significativamente el contenido de humedad, proteína, cenizas y fibra reflejándose en la MAg.

La espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier permitió evidenciar cambios en la región específica del grupo funcional -OH y evidenció cambios en la región de huella dactilar por efecto del proceso de extracción por sonicación.

El proceso por sonicación sobre el PCC tuvo un efecto significativo de forma positiva sobre la capacidad antioxidante y CFT, permitiendo que se incrementaran de forma general en función del tiempo. El tamaño de partícula más reducido fue el que presentó las mejores condiciones de extracción sobre las variables de respuesta en el presente estudio.

La principal recomendación es profundizar en los estudios de extracción por sonicación utilizando técnicas de microscopía electrónica de barrido y transmisión para observar cambios a nivel morfológico y estructural. Además, de evaluar el perfil de compuestos bioactivos a través de una técnica cromatográfica.

XI. REFERENCIAS CITADAS

- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2018). Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11, 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.07.003>
- Andújar, I., Recio, M. G., Giner, R. M., & Ríos, J. L. (2012). Cocoa Polyphenols and Their Potential Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1-23. <https://doi.org/10.1155/2012/906252>
- Aprotosoiaie, A. C., Luca, S., & Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products—An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73-91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Araujo, L. S., Tapia, W., & Villamarín Ortiz, A. (2020). Verificación del método analítico de espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito para la cuantificación de cadmio en almendra de cacao (*Theobroma cacao*). *La Granja*, 31(1), 46-60. <https://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.04>
- Arias, A., Feijoo, G., & Moreira, M. T. (2022). Exploring the potential of antioxidants from fruits and vegetables and strategies for their recovery. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 77, 102974. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.102974>
- Barišić, V., Flanjak, I., Kopjar, M., Benšić, M., Jozinović, A., Babić, J., Šubarić, D., Miličević, B., Doko, K., Jašić, M., & Ačkar, Đ. (2020). Does High Voltage Electrical Discharge Treatment Induce Changes in Tannin and Fiber Properties of Cocoa Shell? *Foods*, 9(6), 810. <https://doi.org/10.3390/foods9060810>
- Barišić, V., Jozinović, A., Flanjak, I., Šubarić, D., Babić, J., Miličević, B., Jokić, S., Grgić, I., & Ačkar, Đ. (2019). Effect of Addition of Fibres and Polyphenols on Properties of Chocolate – A Review. *Food Reviews International*, 37(3), 225-243. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1701008>
- Beg, M. S., Ahmad, S., Jan, K., & Bashir, K. (2017). Status, supply chain and processing of cocoa—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 108-116. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.007>
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Botella-Martínez, C., Lucas-Gonzalez, R., Ballester-Costa, C., Pérez-Álvarez, J. Á., Fernández-López, J., Delgado-Ospina, J., Chaves-López, C., & Viuda-Martos, M. (2021). Ghanaian Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Bean Shells Coproducts: Effect of Particle Size on Chemical Composition, Bioactive Compound Content and Antioxidant Activity. *Agronomy*, 11(2), 401. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020401>
- Carvalho, J. A. (2020). *Tipos de Cacao: Criollo, trinitario y forastero, ¿qué son?* Le Vice Chocolat. <https://levicechocolat.com/blogs/articulos/tipos-de-cacao-criollo-trinitario-y-forastero-conoces-la-diferencia>

- Cherniienko, A., Pawełczyk, A., & Zaprutko, L. (2022). Antimicrobial and Odour Qualities of Alkylpyrazines Occurring in Chocolate and Cocoa Products. *Applied Sciences*, 12(22), 11361. <https://doi.org/10.3390/app122211361>
- Chico, M. F. (2022). Valorization of Cocoa by Products: Applications and Perspectives in the Food Industry. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 29(2), 57-101. <https://doi.org/10.31243/aci.v29i2.1857>
- Cinar, Z., Atanassova, M., Tumer, T., Caruso, G., Antika, G., Sharma, S., Sharifi-Rad, J., & Pezzani, R. (2021). Cocoa and cocoa bean shells role in human health: An updated review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103, 104115. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104115>
- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, 194, 135-142. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008>
- Dauber, C., Romero, M., Chaparro, C., Ureta, C., Ferrari, C., Lans, R., Frugoni, L., Echeverry, M. V., Calvo, B. S., Trostchansky, A., Miraballes, M., Gámbaro, A., & Vieitez, I. (2024). Cookies enriched with coffee silverskin powder and coffee silverskin ultrasound extract to enhance fiber content and antioxidant properties. *Applied Food Research*, 4(1), 100373. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100373>
- De Souza, P. A., Moreira, L. F., Sarmento, D. H. A., & Da Costa, F. B. (2018). Cacao—Theobroma cacao. En *Exotic Fruits* (pp. 69-76). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00010-1>
- Delgado-Ospina, J., Esposito, L., Molina-Hernandez, J. B., Pérez-Álvarez, J. Á., Martuscelli, M., & Chaves-López, C. (2023). Cocoa Shell Infusion: A Promising Application for Added-Value Beverages Based on Cocoa's Production Coproducts. *Foods*, 12(13), 2442. <https://doi.org/10.3390/foods12132442>
- Djali, M., Santasa, K., Indiarito, R., Subroto, E., Fetriyuna, F., & Lembong, E. (2023). Proximate Composition and Bioactive Compounds of Cocoa Bean Shells as a By-Product from Cocoa Industries in Indonesia. *Foods*, 12(17), 3316. <https://doi.org/10.3390/foods12173316>
- Domínguez-Pérez, L. A., Beltrán-Barrientos, L. M., González-Córdova, A. F., Hernández-Mendoza, A., & Vallejo-Cordoba, B. (2020). Artisanal cocoa bean fermentation: From cocoa bean proteins to bioactive peptides with potential health benefits. *Journal of Functional Foods*, 73, 104134. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104134>
- Echenique, J. V. F., Alvarez-Rivera, G., Luna, V. M. A., Antonio, A. F. V. D. C., Mazalli, M. R., Ibañez, E., Cifuentes, A., & Oliveira, A. L. D. (2024). Pressurized liquid extraction with ethanol in an intermittent process for rice bran oil: Evaluation of process variables on the content of β -sitosterol and phenolic compounds, antioxidant capacity, acetylcholinesterase inhibitory activity, and oil quality. *LWT*, 207, 116650. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116650>
- Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2017). Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. *European Journal of Pharmacology*, 807, 91-101. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.04.009>
- Fărcaș, A., Drețcanu, G., Pop, T. D., Enaru, B., Socaci, S., & Diaconeasa, Z. (2021). Cereal Processing By-Products as Rich Sources of Phenolic Compounds and Their Potential Bioactivities. *Nutrients*, 13(11), 3934. <https://doi.org/10.3390/nu13113934>

- Franzen, M., & Borgerhoff Mulder, M. (2007). Ecological, economic and social perspectives on cocoa production worldwide. *Biodiversity and Conservation*, 16(13), 3835-3849. <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9183-5>
- Geng, N., Song, J., Luo, S., Li, Y., Wu, G., Liu, C., & Wu, C. (2022). Ultrasound-assisted enzymatic extraction of soluble dietary fiber from fresh corn bract and its physio-chemical and structural properties. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 14(2), 119-130. <https://doi.org/10.15586/qas.v14i2.1101>
- González-Alejo, F. A., Barajas-Fernández, J., & García-Alamilla, P. (2019). Extracción de compuestos solubles de la cascarilla de cacao con CO₂ supercrítico. Caso de metilxantinas y grasa. *CienciaUAT*, 13(2), 128. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i2.1073>
- Goya, L., Kongor, J. E., & De Pascual-Teresa, S. (2022). From Cocoa to Chocolate: Effect of Processing on Flavanols and Methylxanthines and Their Mechanisms of Action. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 14365. <https://doi.org/10.3390/ijms232214365>
- Grillo, G., Boffa, L., Binello, A., Mantegna, S., Cravotto, G., Chemat, F., Dizhbite, T., Lauberte, L., & Telysheva, G. (2019). Analytical dataset of Ecuadorian cocoa shells and beans. *Data in Brief*, 22, 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.11.129>
- Guirlanda, C. P., Da Silva, G. G., & Takahashi, J. A. (2021). Cocoa honey: Agro-industrial waste or underutilized cocoa by-product? *Future Foods*, 4, 100061. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100061>
- Indiarto, R., Raihani, Z. R., Dewi, M. P., Aquila, Z. R., & Efendi, M. Y. (2021). A Review of Innovation in Cocoa Bean Processing By-Products. *International Journal of Emerging Trends in Engineering Research*, 9(8), 1162-1169. <https://doi.org/10.30534/ijeter/2021/22982021>
- Jafari, S., Karami, Z., Shiekh, K., Kijpatanasilp, I., Worobo, R. W., & Assatarakul, K. (2023). Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Cocoa Shell and Their Encapsulation in Gum Arabic and Maltodextrin: A Technology to Produce Functional Food Ingredients. *Foods*, 12(2), 412. <https://doi.org/10.3390/foods12020412>
- Jean-Marie, E., Jiang, W., Bereau, D., & Robinson, J.-C. (2022). Theobroma cacao and Theobroma grandiflorum: Botany, Composition and Pharmacological Activities of Pods and Seeds. *Foods*, 11(24), 3966. <https://doi.org/10.3390/foods11243966>
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579-591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Jiménez-Amezcu, I., González-Prada, A., Díez-Municio, M., Soria, A. C., Ruiz-Matute, A. I., & Sanz, M. L. (2023). Simultaneous microwave-assisted extraction of bioactive compounds from aged garlic. *Journal of Chromatography A*, 1704, 464128. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464128>
- Jordan. (2023). *8 datos sobre el tamaño de las partículas que te dejarán boquiabierto* [Text/html]. Fote Heavy Machinery; Maquinaria Foto. <https://www.ftmmachinery.com/es/blog/8-terminology-about-particle-size.html>
- Jumbo, S. A. (2022). *Estudio del contenido de los compuestos bioactivos de la cascarilla del grano de Theobroma* [Universidad Central del Ecuador].

<https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/09a797b8-e12b-40d2-9530-c2ad587fce0/content>

- Karim, A., Azlan, A., Ismail, A., Hashim, P., & Abdullah, N. (2014). Antioxidant properties of cocoa pods and shells. *Malaysian Cocoa Journal*, 8(1), 49-56.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
- Lachenaud, Ph., Paulin, D., Ducamp, M., & Thevenin, J.-M. (2007). Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. *Scientia Horticulturae*, 113(4), 313-321. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.05.016>
- Lessa, O. A., Reis, N. D. S., Leite, S. G. F., Gutarra, M. L. E., Souza, A. O., Gualberto, S. A., De Oliveira, J. R., Aguiar-Oliveira, E., & Franco, M. (2018). Effect of the solid state fermentation of cocoa shell on the secondary metabolites, antioxidant activity, and fatty acids. *Food Science and Biotechnology*, 27(1), 107-113. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0196-x>
- Leyva-López, N., Lizárraga-Velázquez, C. E., Hernández, C., & Sánchez-Gutiérrez, E. Y. (2020). Exploitation of Agro-Industrial Waste as Potential Source of Bioactive Compounds for Aquaculture. *Foods*, 9(7), 843. <https://doi.org/10.3390/foods9070843>
- Llerena, W., Samaniego, I., Vallejo, C., Arreaga, A., Zhunio, B., Coronel, Z., Quiroz, J., Angós, I., & Carrillo, W. (2023). Profile of Bioactive Components of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) By-Products from Ecuador and Evaluation of Their Antioxidant Activity. *Foods*, 12(13), 2583. <https://doi.org/10.3390/foods12132583>
- Lu, F., Rodriguez-Garcia, J., Van Damme, I., Westwood, N. J., Shaw, L., Robinson, J. S., Warren, G., Chatzifragkou, A., McQueen Mason, S., Gomez, L., Faas, L., Balcombe, K., Srinivasan, C., Picchioni, F., Hadley, P., & Charalampopoulos, D. (2018). Valorisation strategies for cocoa pod husk and its fractions. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 14, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.07.007>
- Mao, Y., Gerrow, A., Ray, E., Perez, N. D., Edler, K., Wolf, B., & Binner, E. (2023). Lignin recovery from cocoa bean shell using microwave-assisted extraction and deep eutectic solvents. *Bioresource Technology*, 372, 128680. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128680>
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) co-products. *Food Research International*.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*, 7(3), 47. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
- Mumbach, G. D., Alves, J. L. F., Da Silva, J. C. G., Di Domenico, M., De Sena, R. F., Marangoni, C., Machado, R. A. F., & Bolzan, A. (2022). Pyrolysis of cocoa shell and its bioenergy potential: Evaluating the kinetic triplet, thermodynamic parameters, and evolved gas analysis using TGA-FTIR. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(3), 723-739. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01058-5>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

- Murcia Artunduaga, K. S., & Castañeda, M. D. R. (2022). Evaluación del contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de extractos etanólicos de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 53-66. <https://doi.org/10.22490/21456453.4717>
- Norma Mexicana NMX-F-607-NORMEX-2020,. (s. f.). *NMX-F-607-NORMEX-2020, Alimentos-Determinación de Cenizas en Alimentos-Método de Prueba*. Diario Oficial de la Federación. Recuperado 12 de noviembre de 2024, de https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5641716&fecha=01/02/2022#gsc.tab=0
- Norma Mexicana NMX-F-615-NORMEX-2018. (s. f.). *NMX-F-615-NORMEX-2018, Alimentos-Determinación de Extracto Etereo (Método Soxhlet) en Alimentos-Método de Prueba*. Diario Oficial de la Federación. Recuperado 12 de noviembre de 2024, de https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5565079&fecha=05/07/2019#gsc.tab=0
- Norma Oficial Mexicana NOM-F-68-S-1980. (s. f.). *NOM-F-68-S-1980, Alimentos Determinación de Proteínas*. Diario Oficial de la Federación. Recuperado 12 de noviembre de 2024, de https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4858024&fecha=04/08/1980#gsc.tab=0
- Norma Oficial Mexicana NOM-F-90-S-1978. (s. f.). *NOM-F-90-S-1978 Determinación de Fibra Cruda en Alimentos*. Recuperado 12 de noviembre de 2024, de https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4799842&fecha=27/03/1979#gsc.tab=0
- Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-211-SSA1-2002. (s. f.). *PROY-NOM-211-SSA1-2002, Productos y servicios. Métodos de prueba fisicoquímicos. Determinación de humedad y sólidos totales en alimentos por secado en estufa. Determinación de arsénico, cadmio, cobre, cromo, estaño, hierro, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio y zinc en alimentos, agua y hielo aptos para consumo humano, bebidas y aditivos alimentarios por espectrofotometría de absorción atómica*. Diario Oficial de la Federación. Recuperado 12 de noviembre de 2024, de https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=691912&fecha=14/08/2003#gsc.tab=0
- Ordoñez, E. S., Leon-Arevalo, A., Rivera-Rojas, H., & Vargas, E. (2019). Quantification of total polyphenols and antioxidant capacity in skins and seeds from cacao (*Theobroma cacao* L.), tuna (*Opuntia ficus indica* Mill), grape (*Vitis Vinífera*) and uvilla (*Pourouma cecropiifolia*). *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 175-183. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.02>
- Pagliari, S., Celano, R., Rastrelli, L., Sacco, E., Arlati, F., Labra, M., & Campone, L. (2022). Extraction of methylxanthines by pressurized hot water extraction from cocoa shell by-product as natural source of functional ingredient. *LWT*, 170, 114115. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114115>
- Palacios Hinestroza, H., Urena-Saborio, H., Zurita, F., Guerrero De León, A. A., Sundaram, G., & Sulbarán-Rangel, B. (2020). Nanocellulose and Polycaprolactone Nanospun Composite Membranes and Their Potential for the Removal of Pollutants from Water. *Molecules*, 25(3), 683. <https://doi.org/10.3390/molecules25030683>
- Palma, A., Ruiz-Montoya, M., Díaz, M. J., Giráldez, I., & Morales, E. (2023). Optimization of bioactive compounds by ultrasound extraction and gas chromatography—Mass spectrometry in fast-growing leaves. *Microchemical Journal*, 193, 109231. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109231>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>

- Panzl, M. V., Menchaca, D., & Rodríguez-Haralambides, A. (2022). Analysis of polyphenols and xanthines in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) infusions by high-pressure extraction and ultra-high performance liquid chromatography. *Applied Food Research*, 2(2), 100192. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100192>
- Peña-Correa, R. F., Ataç Mogol, B., & Fogliano, V. (2024). The impact of roasting on cocoa quality parameters. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(13), 4348-4361. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2141191>
- Pukalskas, A., Van Beek, T. A., Venskutonis, R. P., Linssen, J. P. H., Van Veldhuizen, A., & De Groot, A. E. (2002). Identification of Radical Scavengers in Sweet Grass (*Hierochloa odorata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 2914-2919. <https://doi.org/10.1021/jf011016r>
- Quiceno-Suarez, A., Cadena-Chamorro, E. M., Ciro-Velásquez, H. J., & Arango-Tobón, J. C. (2024). By-products of the cocoa agribusiness: High value-added materials based on their bromatological and chemical characterization. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 77(1), 10585-10599. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v77n1.107738>
- Ramírez-Acosta, E., & González-Hernández, J. C. (2024). *Antioxidantes producidos por microalgas*. Saber Más. <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/la-ciencia-en-pocas-palabras/512-numero-57/989-antioxidantes-producidos-por-microalgas.html>
- Ramos-Escudero, F., Casimiro-Gonzales, S., Cádiz-Gurrea, M. D. L. L., Cancino Chávez, K., Basilio-Atencio, J., Ordoñez, E. S., Muñoz, A. M., & Segura-Carretero, A. (2023). Optimizing vacuum drying process of polyphenols, flavanols and DPPH radical scavenging assay in pod husk and bean shell cocoa. *Scientific Reports*, 13(1), 13900. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40815-0>
- Razola-Díaz, M. D. C., Genovese, J., Tylewicz, U., Guerra-Hernández, E. J., Rocculi, P., & Verardo, V. (2024). Enhanced extraction of procyanidins from avocado processing residues by pulsed electric fields pre-treatment. *LWT*, 212, 116952. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116952>
- Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Segovia, Á., Bartolomé, B., Aguilera, Y., & Martín-Cabrejas, M. A. (2021). Extraction of phenolic compounds from cocoa shell: Modeling using response surface methodology and artificial neural networks. *Separation and Purification Technology*, 270, 118779. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118779>
- Ríos-Pérez, F., Soto-Simental, S., Quintero-Lira, A., Piloni-Martini, J., & Güemes-Vera, N. (2020). Harina de cáscara de vaina de cacao: Una opción para el aprovechamiento de residuos agroindustriales. *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, 6(11), 5-7. <https://doi.org/10.29057/icap.v6i11.5322>
- Rojas, L. F., Zapata, P., & Ruiz-Tirado, L. (2022). Agro-industrial waste enzymes: Perspectives in circular economy. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 34, 100585. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100585>
- Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Mateus-Reguengo, L., Bertolino, M., Stévigny, C., & Zeppa, G. (2019). Effects of Particle Size and Extraction Methods on Cocoa Bean Shell Functional Beverage. *Nutrients*, 11(4), 867. <https://doi.org/10.3390/nu11040867>
- Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Zeppa, G., & Stévigny, C. (2020). Cocoa Bean Shell—A By-Product with Nutritional Properties and Biofunctional Potential. *Nutrients*, 12(4), 1123. <https://doi.org/10.3390/nu12041123>

- Romero-Sáez, M. (2022). Los residuos agroindustriales, una oportunidad para la economía circular. *Tecnológicas*, 25(54), e2505. <https://doi.org/10.22430/22565337.2505>
- Rusconi, M., & Conti, A. (2010). Theobroma cacao L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research*, 61(1), 5-13. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.08.008>
- Sánchez, Á. S., González, J. A., Avalos, V., Ávalos, D., & Zaldívar, J. M. (2016). Caracterización bromatológica de los productos derivados de cacao (Theobroma cacao L.) en la Chontalpa, Tabasco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(14), 2817-2830.
- Sánchez, M., Ferreira-Santos, P., Gomes-Dias, J. S., Botelho, C., Laca, A., & Rocha, C. M. R. (2023a). Ohmic heating-based extraction of biocompounds from cocoa bean shell. *Food Bioscience*, 54, 102886. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102886>
- Sánchez, M., Laca, A., Laca, A., & Díaz, M. (2023b). Cocoa Bean Shell: A By-Product with High Potential for Nutritional and Biotechnological Applications. *Antioxidants*, 12(5), 1028. <https://doi.org/10.3390/antiox12051028>
- Scapagnini, G., Davinelli, S., Di Renzo, L., De Lorenzo, A., Olarte, H. H., Micali, G., Cicero, A. F., & Gonzalez, S. (2014). Cocoa Bioactive Compounds: Significance and Potential for the Maintenance of Skin Health. *Nutrients*, 6(8), 3202-3213. <https://doi.org/10.3390/nu6083202>
- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The Microbiology of Cocoa Fermentation and its Role in Chocolate Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205-221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2021). *Cacao, cultivo con historia tangible en nuestro presente*. Gobierno de México. <http://www.gob.mx/agricultura/articulos/cacao-cultivo-con-historia-tangible-en-nuestro-presente>
- Secretaría de Economía. (2016). *Nueva Denominación de Origen para el Cacao Grijalva*. Gobierno de México. <http://www.gob.mx/se/articulos/nueva-denominacion-de-origen-para-el-cacao-grijalva?idiom=es>
- Servent, A., Boulanger, R., Davrieux, F., Pinot, M.-N., Tardan, E., Forestier-Chiron, N., & Hue, C. (2018). Assessment of cocoa (Theobroma cacao L.) butter content and composition throughout fermentations. *Food Research International*, 107, 675-682. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.070>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2024). *Avance de Siembras y Cosechas*. Gobierno de México. https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/
- Shimada, Kazuko., Fujikawa, Kuniko., Yahara, Keiko., & Nakamura, Takashi. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(6), 945-948. <https://doi.org/10.1021/jf00018a005>
- Soares, I., Gomes, D. C., & Rodrigues, C. E. (2020). Simultaneous green extraction of fat and bioactive compounds of cocoa shell and protein fraction functionalities evaluation. *Food Research International*, 11, 109622. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109622>
- Soares, T. F., & Oliveira, M. B. P. P. (2022). Cocoa By-Products: Characterization of Bioactive Compounds and Beneficial Health Effects. *Molecules*, 27(5), 1625. <https://doi.org/10.3390/molecules27051625>

- Sorndech, W., Auranwiwat, C., Ployetchara, T., & Butseekhot, S. (2024). Enhancing bioactive compounds extraction from noni leaves (*Morinda citrifolia*) by enzymes-assisted extraction. *Journal of Agriculture and Food Research*, 18, 101310. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101310>
- Stephen, J. L., & Periyasamy, B. (2018). Innovative developments in biofuels production from organic waste materials: A review. *Fuel*, 214, 623-633. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.11.042>
- Sucden. (2024). *Diagrama de flujo del proceso—Cacao—Productos y servicios—Sucden*. Sucden. <https://www.sucden.com/es/products-and-activities/cocoa/process-flowchart/>
- Tăbărașu, A.-M., Găgeanu, I., Vlăduț, N.-V., Matache, M.-G., & Anghelache, D.-N. (2024). EXPERIMENTAL RESEARCH ON THE EXTRACTION OF POLYPHENOLS FROM NETTLE, LAVENDER AND SAGE USING THE PERCOLATION METHOD. *INMATEH Agricultural Engineering*, 678-687. <https://doi.org/10.35633/inmateh-73-58>
- Tadeo-Sánchez, J. M., & Tolentino-Martínez, J. M. (2020). El cacao Grijalva de Tabasco: Dinámicas socio territoriales en torno a su producción Tabasco. *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 30(56). <https://doi.org/10.24836/es.v30i56.1002>
- The International Cocoa Organization. (2024a). *Economy*. ICCO. <https://www.icco.org/economy/>
- The International Cocoa Organization. (2024b). *Production of cocoa beans*. ICCO. https://www.icco.org/wp-content/uploads/Production_QBCS-L-No.-3.pdf
- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>
- Toker, O. S., Palabiyik, I., & Konar, N. (2019). Chocolate quality and conching. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 446-453. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.047>
- Tušek, A. J., Benković, M., Cvitanović, A. B., Valinger, D., Jurina, T., & Kljusurić, J. G. (2016). Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols, antioxidants and extraction yield from Asteraceae plants. *Industrial Crops and Products*, 91, 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.015>
- Vásquez, Z. S., De Carvalho Neto, D. P., Pereira, G. V. M., Vandenberghe, L. P. S., De Oliveira, P. Z., Tiburcio, P. B., Rogez, H. L. G., Góes Neto, A., & Soccol, C. R. (2019). Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. *Waste Management*, 90, 72-83. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.04.030>
- Wang, L., Hou, L., Han, S., Guo, H., & Bai, L. (2023). Extraction and determination of terpenoids from Zexie Decoction based on a porous organic cage-doped monolithic cartridge. *Journal of Chromatography B*, 1218, 123648. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2023.123648>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., & Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 538-549. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.018>
- Wiyono, T., Nurhayati, R., Herawati, E. R. N., & Laila, U. (2020). The effect of time, pH and solvent composition on cocoa shell polyphenol extraction and its antioxidant activity: Response surface method approach. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 462(1), 012029. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/462/1/012029>

- Wood, G. A. R., & Lass, R. A. (1985). *Cocoa*. Longman Scientific and Technical.
<https://books.google.com.mx/books?id=Jle7vgEACAAJ>
- Wu, Y., Yao, S., Narale, B. A., Shanmugam, A., Mettu, S., & Ashokkumar, M. (2022). Ultrasonic Processing of Food Waste to Generate Value-Added Products. *Foods*, 11(14), 2035.
<https://doi.org/10.3390/foods11142035>
- Zhishen, Tang., & Wu J. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559.
[https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00102-2)

XII. ANEXO

12.1 Abreviaturas y símbolos

°C: Grados Celsius

AlCl₃: Cloruro de aluminio

ANOVA: Análisis de varianza

C₃H₆O: Acetona

CEP: Campos Eléctricos Pulsados

CFT: Contenido de Flavonoides Totales

cm: Centímetros

cm³: Centímetro cúbico

CO₂: Dióxido de carbono

CuSO₄: Sulfato de cobre

EAE: Extracción Asistida por Enzimas

EAM: Extracción Asistida por Microondas

EAS: Extracción Asistida por Sonicación

EFS: Extracción con Fluidos
Supercríticos

ELP: Extracción por Líquido
Pasteurizado

EM: Extracción por Maceración

ER: Equivalente de rutina

ES: Extracción Soxhlet

ESL: Extracción Sólido-Líquido

g: Gramos

GeSe: Seleniuro de germanio

h: Horas

H₂SO₄: Ácido sulfúrico

HCl: Ácido clorhídrico

K₂S₂O₈: Persulfato de potasio

Kg: Kilogramos

m/v: Masa/Volumen

m: Metros

M: Molar

mbar: Milibar

mg: Miligramos

min: Minutos

mL: Mililitro

mm: Milímetro

mM: Milimol

N: Normalidad

Na₂SO₄: Sulfato de sodio

NaCO₃: Carbonato de sodio

NaNO₂: Nitrito de sodio

NaOH: Hidróxido de sodio

nm: Nanómetros

ON/OFF: Encendido/apagado

ppm: Partes por millón

rpm: Revoluciones por minuto

s: Segundo

ton: Toneladas

v/v: Volumen/Volumen

W: Watts

µg: Microgramo

µL: Microlitros

µm: Micrómetro

12.2 Cronograma de actividades

Actividades	Meses											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Recolección de muestras	■	■	■	■								
Acondicionamiento de la muestra	■	■	■	■								
Caracterización por análisis proximal		■	■	■	■							
Obtención de extractos			■	■	■	■						
Determinación de flavonoides totales				■	■	■	■					
Determinación de la capacidad antioxidante					■	■	■	■	■			
Análisis estadístico de datos						■	■	■	■	■		
Interpretación de resultados								■	■	■	■	■
Redacción de tesis									■	■	■	■
Proceso de titulación											■	■

12.3 Metodologías para análisis proximal

Determinación de humedad: La determinación de la humedad se realizó utilizando la metodología descrita en el Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-211-SSA1-2002. Donde un gramo de muestra se pesó en una cápsula a peso constante, se llevó a secado en estufa durante 24 h a 100 ± 5 °C. La humedad se expresó en porcentaje siguiendo la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{\text{Peso de la capsula con muestra seca} - \text{Peso de la capsula vacía}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

Determinación de cenizas: La determinación de cenizas se realizó de acuerdo con la Norma Mexicana NMX-F-607-NORMEX-2020. En un crisol a peso constante, se pesó un gramo de muestra, que se colocó en una mufla a una temperatura de 600 °C para calcinar la muestra. Los resultados se expresaron en porcentaje con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Cenizas} = \frac{(\text{Crisol} + \text{residuo}) - (\text{Peso del Crisol})}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

Determinación de proteína: Para la determinación de proteína se hizo mediante la metodología de la Norma Oficial Mexicana NOM-F-68-S-1980, haciendo uso del equipo de Kjeldahl. Donde se colocaron 2 g de la muestra en un matraz Kjeldahl, y se añadieron 2 g de CuSO_4 , 10 g de Na_2SO_4 y 25 cm^3 de H_2SO_4 , la mezcla se llevó a digestión hasta su carbonización, para luego aclarar la disolución. Posteriormente se agregaron de 400 a 430 cm^3 de agua, 3 o 4 gránulos de zinc y 50 cm^3 de NaOH 1:1. El matraz se conectó al sistema de destilación, y a la salida del refrigerante un matraz Erlenmeyer de 500 cm^3 con 50 cm^3 de ácido bórico y unas gotas del reactivo Tashiro como indicador. Se destiló el amoníaco y se tituló el destilado con ácido clorhídrico 0.1 N. Se calculo el nitrógeno en la muestra mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Nitrogéno} = \frac{V \times N \times 0.014 \times 100}{m}$$

Donde:

V es el volumen de HCl, N es la normalidad del HCl, m es la masa en gramos, 0.014 son los miliequivalentes de nitrógeno. La cantidad de Proteínas se generó al multiplicar el % de Nitrógeno por el factor 6.25.

Determinación de grasa: El contenido total de grasa se determinó con la metodología descrita en la Norma Mexicana NMX-F-615-NORMEX-2018, empleando el método Soxhlet. Los matraces a peso constante se instalaron en el equipo y en cartuchos de celulosa se colocaron 2 g de muestra, posteriormente se llevó a reflujo durante 5 h. Se utilizó la siguiente ecuación para determinar el contenido de grasa:

$$\% \text{ de Grasa} = \frac{\text{Peso del matraz con grasa} - \text{Peso del matraz a peso constante}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

Determinación de fibra: Mediante la Norma Oficial Mexican NOM-F-90-S-1978, se determinó la fibra cruda en donde 2 g de muestra se transfirieron a un vaso de 600 mL, se agregó 1 g de asbesto y 200 mL de ácido sulfúrico al 1.25 %, el vaso se situó en el equipo de extracción por 30 min, la muestra se filtró y se enjuago con agua destilada hirviendo hasta alcanzar un pH igual al del agua destilada. La muestra se colocó de nuevo en un matraz con 200 mL de NaOH al 1.25 % y se llevó a ebullición por 30 min. La muestra se enfrió, filtró y lavó con agua destilada hirviendo hasta un pH igual al del agua destilada nuevamente. El residuo se colocó en un crisol a peso constante, se dejó secar por 2 h a 130 °C y se determinó su masa, posteriormente se calcinó a 600 °C por 30 min. Se enfrió y se determinó su masa. Mediante la siguiente ecuación de cálculo el porcentaje de fibra cruda:

$$\% \text{ de Fibra cruda} = \frac{(Ps - Pp) - (Pc - Pcp)}{m} \times 100$$

Donde Ps = masa en gramos del residuo seco a 130°C, Pp = masa en gramos de papel filtro, Pcp = masa en gramos de las cenizas del papel, m = masa de la muestra en gramos y Pc = masa en gramos de las cenizas.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DE EXTRACTOS DE CASCARILLA DE CACAO (Theobroma cacao L.) OBTENIDOS POR SONICACIÓN DIRECTA

INFORME DE ORIGINALIDAD

1 %

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1 gacetajuchiman.ujat.mx
Internet

227 palabras — 1 %

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS

< 50 PALABRAS

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
JEFATURA DE ESTUDIOS TERMINALES

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de la tesis	Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> de extractos de cascarilla de cacao (<i>theobroma cacao</i> L.) obtenidos por sonicación directa
Autor de la tesis	Laura Gabriela Qué Vázquez
ORCID	https://orcid.org/0009-0009-8974-7197
Resumen de la tesis	Los residuos agroindustriales se han empezado a reutilizar para la obtención de biomoléculas de valor agregado, producción de biocombustibles, pigmentos, conservantes, o como fuente de compuestos bioactivos, debido a su bajo costo, alta disponibilidad y que pueden ser utilizados en la industria alimentaria, cosmética, y farmacéutica. Se utilizaron los residuos de la cascarilla de cacao como fuentes de compuestos bioactivos; evaluando el efecto de la sonicación directa sobre el contenido de flavonoides totales (CFT), la capacidad antioxidante del polvo de cascarilla de cacao (PCC) por técnicas espectrofotométricas del radical 2,2-Difenil-1-Picril-hidrazilo (DPPH) y 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS). El PCC y la matriz agotada (MAg) obtenida del proceso finalizado de extracción fueron analizadas por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR). Se observó que en las partículas de menor tamaño (malla 80), se obtuvo una mayor extracción del contenido de CFT, alcanzando valores de 10.6–20.50 mg EQ/g de muestra seca. Los extractos de PCC mostraron una mayor actividad antioxidante en partículas más pequeñas (malla 60 y 80). En el ensayo DPPH, los valores oscilaron entre 480.93–488.43 mM ET/g de muestra seca para la malla 60, mientras para en ensayo de ABTS se registraron entre 93.14–98.29 mM ET/g de muestra seca para la malla 80, observándose mejores resultados para las muestras evaluadas a mayor tiempo de extracción (30 min). Los resultados por FT-IR, mostraron cambios en la región de la huella dactilar lo que sugiere la presencia de vibraciones asimétricas hidroxilo (-OH) y vibraciones de estiramiento carbonilo (C=O). Estos hallazgos sugieren que el tamaño de partícula y el tiempo de extracción afectan la

	eficiencia del proceso de extracción y la capacidad antioxidante obtenida.
Palabras claves	Sonicación directa, CFT, DPPH, ABTS, FT-IR
Referencias citadas	Dauber, C., Romero, M., Chaparro, C., Ureta, C., Ferrari, C., Lans, R., Frugoni, L., Echeverry, M. V., Calvo, B. S., Trostchansky, A., Miraballes, M., Gámbaro, A., & Vieitez, I. (2024). Cookies enriched with coffee silverskin powder and coffee silverskin ultrasound extract to enhance fiber content and antioxidant properties. <i>Applied Food Research</i>, 4(1), 100373. https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100373 Delgado-Ospina, J., Esposito, L., Molina-Hernandez, J. B., Pérez-Álvarez, J. Á., Martuscelli, M., & Chaves-López, C. (2023). Cocoa Shell Infusion: A Promising Application for Added-Value Beverages Based on Cocoa's Production Coproducts. <i>Foods</i>, 12(13), 2442. https://doi.org/10.3390/foods12132442 Djali, M., Santasa, K., Indarto, R., Subroto, E., Fetriyuna, F., & Lembong, E. (2023). Proximate Composition and Bioactive Compounds of Cocoa Bean Shells as a By-Product from Cocoa Industries in Indonesia. <i>Foods</i>, 12(17), 3316. https://doi.org/10.3390/foods12173316 Jafari, S., Karami, Z., Shiekh, K., Kijpatanasilp, I., Worobo, R. W., & Assatarakul, K. (2023). Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Cocoa Shell and Their Encapsulation in Gum Arabic and Maltodextrin: A Technology to Produce Functional Food Ingredients. <i>Foods</i>, 12(2), 412. https://doi.org/10.3390/foods12020412