

	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS		CÓDIGO	FO-GS-15
			VERSIÓN	02
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN		FECHA	03/04/2017
			PÁGINA	1 de 1
ELABORÓ		REVISÓ	APROBÓ	
Jefe División de Biblioteca		Equipo Operativo de Calidad	Líder de Calidad	

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTORES:

NOMBRE(S) NICOLAS SANTIAGO ALBEIRO APELLIDOS GUTIÉRREZ GOMEZ

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

DIRECTOR:

NOMBRE(S) NELSON ALFONSO APELLIDOS VEGA CONTRERAS

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS OBTENIDOS DE LA FERMENTACIÓN DEL MUCILAGO DEL CACAO (*Theobroma cacao*)

RESUMEN. El objetivo principal fue evaluar el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao (*teobroma cacao*). Con el fin de obtener el mucilago del cacao se utilizaron aproximadamente 15 kg de (*Theobroma cacao*) del cual se realizó la extracción del mucilago del cacao para posteriormente realizar su proceso de fermentación durante 5 días, tomando 1 muestra diaria para la medición de pH y grados Bx°, la identificación se realizó mediante cromatografía por HPLC/DAD, en la cual se detectaron compuestos como teobromina en mayor proporción, la determinación de la actividad antioxidante, se realizó por la decoloración del betacaroteno el cual decolora rápidamente sin la presencia de un antioxidante, lo que permitió concluir que de los compuestos fenólicos extraídos del mucilago del (*Theobroma cacao*) se pudo establecer que estos son una fuente importante de antioxidantes naturales siendo un posible sustituto de los antioxidantes de origen químico, que podrían ser aprovechados en la industria alimentaria.

PALABRAS CLAVES: cacao, fermentación, cromatografía de gases, antioxidante, compuestos fenólicos

CARACTERÍSTICAS

PÁGINAS: 71 PLANOS: ILUSTRACIONES: CD ROOM:

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS
OBTENIDOS DE LA FERMENTACIÓN DEL MUCILAGO DEL CACAO (*Theobroma cacao*)

NICOLAS SANTIAGO ALBEIRO GUTIÉRREZ GÓMEZ

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2022

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS
OBTENIDOS DE LA FERMENTACIÓN DEL MUCILAGO DEL CACAO (*Theobroma cacao*)

NICOLAS SANTIAGO ALBEIRO GUTIÉRREZ GÓMEZ

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Ingeniero Agroindustrial

Director

NELSON ALFONSO VEGA CONTRERAS

Magister Prácticas Pedagógicas

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2022

ACTA DE SUSTENTACIÓN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 13 DE JULIO DEL 2022

HORA: 10:00 AM

LUGAR: CREAD SALA 4

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

TITULO: EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS OBTENIDOS DE LA FERMENTACIÓN DEL MUCHLAGO DEL CACAO (*Theobroma cacao*)

MODALIDAD: INVESTIGACION

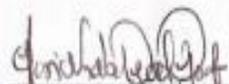
JURADOS: GLORIA ISABEL DUARTE DELGADO
HENRY JONATHAN GARCIA CARVAJAL
ALBERTO SARMIENTO CASTRO

DIRECTOR: NELSON ALFONSO VEGA CONTRERAS

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACIÓN
<u>NICOLÁS SANTIAGO ALBEIRO GUTIÉRREZ GÓMEZ</u>	<u>1641118</u>	<u>4.1</u>

OBSERVACIONES: APROBADO

FIRMA DE LOS JURADOS:


Gloria Isabel Duarte Delgado


Henry Jonathan Garcia Carvajal


Alberto Sarmiento Castro

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular


MARIBEL GOMEZ PEÑARANDA

Tabla de contenido

	pág.
Introducción	11
1. Problema	13
1.1 Título	13
1.2 Planteamiento de la investigación	13
1.3 Formulación del problema	16
1.4 Justificación	16
1.5 Objetivos	18
1.5.1 Objetivo general	18
1.5.2 Objetivos específicos	18
2. Marco referencial	20
2.1 Antecedentes	20
2.1.1 Internacionales	20
2.1.2 Nacionales	23
2.2 Marco Teórico	24
2.3 Marco Contextual	31
2.4 Marco Conceptual	33
2.5 Marco Legal	34
2.6 Hipótesis	38
3. Metodología	39
3.1 Tipo de investigación	39
3.2 Universo y Muestra	39

3.2.1 Universo	39
3.2.2 Muestra	39
3.3 Técnicas de recolección de datos	40
3.3.1 Bases de datos	40
3.3.2 Apuntes	40
3.3.3 Experimentos	40
3.4 Operacionalidad de Variables	40
3.4.1 Variables Independientes	40
3.4.2 Variables dependientes	40
3.5 Fases de la Investigación	41
3.5.1 Fase 1. Un protocolo de fermentación	41
3.5.2 Fase 2 La determinación de los compuestos fenólicos mediante cromatografía de gases	42
3.5.3 Fase 3 Determinación de la actividad oxidante	43
3.6 Instrumentos	44
3.7 Técnicas de Análisis	44
4. Resultados	45
4.1 Tabulación, análisis y discusión de resultados	45
4.2 Obtención del mucilago del <i>Theobroma cacao</i>	45
4.3 Fermentación	45
4.4 Determinación cuantitativa de compuestos fenólicos	47
4.5 Determinación de la actividad antioxidante	50
5. Conclusiones	55
6. Recomendaciones	57

Referencias

58

Anexos

62

Lista de tablas

	pág.
Tabla 1. Valores de pH y Grados Bx° del extracto.	47
Tabla 2. Compuestos fenólicos identificados por cromatografía	49
Tabla 3. Actividad antioxidante medida por la decoloración del β Caroteno a 470 nm	52

Lista de figuras

	pág.
Figura 1. Cultivo de cacao	26
Figura 2. Mazorca de Cacao	26
Figura 3. Proceso de extracción del mucilago de cacao	45
Figura 4. Activación de la levadura	46
Figura 5. Proceso fermentativo del mucilago de cacao	46
Figura 6. Disoluciones a diferentes concentraciones	50
Figura 7. Tubos de ensayo con las disoluciones a diferente concentración	50
Figura 8. Muestras en ultrasonido	51
Figura 9. Lectura en espectrofotómetro	51
Figura 10. Absorbancia vs concentración	52
Figura 11. Concentración vs absorbancia medida a los 10 minutos	53
Figura 12. Concentración vs absorbancia medida a los 40 minutos	53
Figura 13. Concentración vs absorbancia medida a los 90 minutos	54
Figura 14. Concentración vs absorbancia medida a los 120 minutos	54

Lista de anexos

pág.

Anexo 1. Fragmentogramas de masas obtenidos por UHPLC-ESI+-Orbitrap-MS de los compuestos de referencia y de extractos de las muestras	63
---	----

Introducción

El cacao es un árbol procedente de América que produce un fruto del mismo nombre que se puede utilizar como ingrediente para alimentos entre los que destaca el chocolate. El cacao es una fruta de origen tropical proveniente del árbol de cacao, siendo su nombre científico *Theobroma Cacao*. En griego significa "el alimento de los Dioses". Su uso se remonta a la época de los mayas, aztecas e incas, y desde entonces se ha usado tanto para fines nutricionales como médicos. El cacao cuenta con un alto índice de grasas sobre todo saturadas, y en menor medida, monoinsaturadas y poli insaturadas, hidratos de carbono y proteínas, pero también contiene magnesio, fósforo, potasio, teobromina, cafeína, antioxidantes y agua. (*Cacao: Propiedades, Origen, Beneficios, Qué Es e Información*, 2020). El cacao además destaca por tener un elevado aporte de energía, por lo que suele indicarse para aquellas personas que realicen actividades deportivas o ejercicio físico de manera intensa.

En Colombia existen alrededor de 35 mil familias productoras de cacao, la producción de cacao en el país es muy importante, es por esto que muchas familias han dado todo su esfuerzo y se han dedicado a través de los años para posicionar a Colombia en la lista de los mejores cacaos del mundo. El grano colombiano es reconocido a nivel mundial como fino de sabor y aroma, características que sólo posee el 5% de la producción mundial (Finagro, 2021).

La Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao, 2017) en su último reporte del primer trimestre del año 2017 informa que la producción de cacao se incrementó un 29% con relación al mismo período del año 2016, pasando de 11.374 a 14.672 toneladas. De acuerdo a los reportes generados por Agronet para el año 2014, entre los principales departamentos productores de

cacao a nivel nacional se encuentran Santander (26%), Arauca (10,6%), Norte de Santander (9,8%) y Antioquia (9,1%), con un porcentaje total de participación de más del 50%, (Agronet, 2017).

Los cultivos principalmente se destinan a la producción de chocolate, para la cual se hace uso de las semillas del cacao, descartando gran parte del fruto (Ramírez, Mantilla, Gabriela, & González, 2014). Estudios preliminares reportan que para producir una tonelada de semillas secas de cacao se producen 10 toneladas de residuos que incluyen la vaina de cacao húmedo, la pulpa de las semillas (mucilago) y las cascara (Ramírez et al., 2014). Los residuos obtenidos de este cultivo han sido utilizados principalmente para alimentación animal (porcinos y aves) e incorporados al suelo del cultivo como fertilizantes.

De esta última práctica se han reportado consecuencias negativas en cuanto a crecimiento microbiológico de suelos. Es por ello que con el presente proyecto se tiene como objetivo principal la evaluación del potencial antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación de los residuos sólidos en la poscosecha del cacao (*theobroma cacao*), para realizar este proyecto se inició con la extracción del mucilago del cacao proveniente del (*Theobroma cacao*) posterior a esto se realizó el proceso de fermentación, para la identificación de polifenoles se realizó mediante la técnica de cromatografía en la cual se detectaron compuestos como teobromina en mayor proporción, para establecer el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos, se realizó mediante el método decoloración del betacaroteno el cual decolora rápidamente sin la presencia de un antioxidante

1. Problema

1.1 Título

Evaluación del potencial antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*)

1.2 Planteamiento de la investigación

Según Procolombia (2015) Colombia cuenta con condiciones agroecológicas óptimas y excelentes materiales genéticos para la producción de cacao de grano fino, suave y un magnífico aroma. Por eso, en el mundo este producto colombiano es reconocido por ser de gran calidad. El cacao fino y de aroma, es una categoría que alberga solo el 5 % del grano mundialmente comercializado (International Cocoa Organization). Y en el caso de Colombia este grano es selecto y de uso exclusivo para la elaboración de chocolates finos por su punto de acidez y equilibrio.

Por sus cualidades el cacao es un producto en crecimiento constante que ofrece precios atractivos y preferenciales en el mercado internacional. Para el 2015 Colombia había exportado US\$74 millones a 33 países (Procolombia, 2015), entre ellos, México con US\$12,3 millones (16,6 % de participación), España con US\$9 millones (12,1 %), Estados Unidos con US\$7,9 millones (10,7 %), Países Bajos con US\$6,5 millones (8,7 %), Malasia con US\$6,4 millones (8,6 %).

La situación del cacao en Norte de Santander es desafiante dado que alcanzó a ser el tercer productor a nivel nacional, pero las plantaciones de este fruto en el departamento no están renovadas del todo, se realizan procesos de manera tradicional, hay baja producción, mal manejo postcosecha, bajos niveles de tecnificación y uso de tecnología. (Rodriguez et al., 2016). A pesar de este tipo de retos, el sector cacaotero de Norte de Santander presenta una serie de oportunidades por aprovechar, las cuales se han potenciado por factores como un posible escenario de postconflicto en la región de mayor producción que es el Catatumbo al hacer transición de cultivos ilícitos a lícitos como el cacao. Norte de Santander es un departamento potencialmente agrícola, gracias a sus variadas condiciones naturales que le permiten aprovechar sus tierras en una diversidad de cultivos, es así como en las tierras cálidas se cultiva arroz, caña de azúcar, cacao, yuca, sorgo, plátano y tabaco; en las tierras templadas café, caña panelera, cebolla cabezona y frutales, y en las tierras frías papa, trigo. (Rodriguez et al., 2016).

Según Badillo (2016), en Colombia, el primer productor ha sido el departamento de Santander, especialmente en la zona de los municipios de El Carmen y San Vicente de Chucurí, característicos no solo por la cantidad, sino también por la calidad; lo que motiva a plantear una solución para tratar, aprovechar y controlar la producción de la cascara de mazorca del cacao por ser el residuo más abundante y frecuente de la post cosecha.

En la postcosecha, las cáscaras y el mucilago derivados del *Theobroma cacao*, son residuos acumulados y depositados por los cacao-cultores en una sola área del cultivo sin realizarles algún tipo de tratamiento o proceso, porque a la vez ellos carecen de técnicas y métodos que favorezcan el aprovechamiento de los mismos. Su disposición final en el terreno de cultivo trae a su vez una descomposición, hasta que se fermenta espontáneamente y se constituye en un

sustrato para la propagación de microorganismos patógenos al cultivo (Badillo, 2016) , como también, la forma cóncava de las cáscaras, en épocas de lluvias son depósito de agua que facilitan la multiplicación de insectos, que además son foco para la propagación de microorganismos. Actualmente, uno de los mayores problemas que enfrenta el departamento de Santander, es la recolección, reciclaje y disposición final de los residuos; sin importar su origen. Un claro ejemplo de éstos, son los residuos de la industria cacaotera que por su volumen, tamaño e incorrecta disposición final, están generando problemas ambientales, económicos y sociales para los agricultores, población cercana y entes gubernamentales. (Badillo, 2016).

La mayor preferencia por alimentos naturales y saludables por parte de la población ha obligado a la industria de la carne a incluir antioxidantes naturales en varios productos para retrasar la degradación oxidativa de los lípidos y proteínas, mejorar su calidad, darles un valor agregado, y reemplazar los posibles riesgos que puedan involucrar la utilización de antioxidantes artificiales. Los extractos obtenidos desde fuentes vegetales pueden cumplir una serie de funciones como ser colorantes, antioxidantes, saborizantes o agentes antimicrobianos, siendo una adecuada alternativa para su uso en carne y sus derivados.

Adicionalmente, la inclusión de antioxidantes naturales en los alimentos tiene beneficios para la salud humana, ya que protegen a los componentes celulares, como el DNA, las proteínas y lípidos del ataque de las sustancias reactivas al oxígeno. Tanto la oxidación de los lípidos y proteínas, la autólisis y la contaminación microbiológica de la carne y productos cárneos son una de las mayores causas del deterioro de su calidad y reducción de su vida útil. Esto puede producir cambios en los indicadores de calidad de la carne y en el valor nutricional del producto.

(Valenzuela, 2015).

Los componentes fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, que forman parte importante de la dieta humana. Dentro de la clasificación general se encuentran los fenoles, ácidos fenólicos y flavonoides, que constituyen un amplio grupo de sustancias químicas consideradas metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y propiedades. Existe un gran interés en estudiarlos debido a sus propiedades antioxidantes, su participación en procesos sensoriales de los alimentos naturales y procesados, además de sus posibles aplicaciones benéficas para la salud humana, tales como el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio.(Porras, 2009).

Es por ello que con este proyecto se buscó evaluar el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*)

1.3 Formulación del problema

¿Los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*) cuenta con las condiciones óptimas para ser una buena fuente antioxidante?

1.4 Justificación

En el municipio de Sardinata en Norte de Santander se encuentra ubicada la finca Versalles a 5 km aproximadamente del casco urbano del municipio donde actualmente este finca se caracteriza por sus cosechas de cacao la cual se recogen dos veces por año, a mano y con ayuda de herramientas de corte para separar el fruto maduro del árbol.

En algunas regiones la recolección se lleva a cabo durante todo el año, sobre todo en los meses de mayo a diciembre. La maduración de la mazorca se percibe principalmente por el color del fruto, presentando los frutos inmaduros color verde y rojo violeta que tras madurar cambian de color; así el color verde pasa a amarillo y el rojo violeta a anaranjado. Tras alcanzar la maduración se cortan y en algunos casos, se guardan los frutos cosechados bajo techo durante un periodo de 5 a 10 días antes de extraer los granos para que disminuyan los agentes químicos causantes de la astringencia y amargor del cacao así como para aumentar la intensidad del sabor. (Fernandez, 2016).

Según Badillo (2016), La producción del cultivo de cacao se realiza en tierras cubiertas por hábitat naturales por lo cual su realización continuamente incluye la pérdida de alguna o mucha de la biodiversidad del terreno, pero a esto hay que resaltar la poca utilización de tecnologías o maquinaria que afecten o contaminen al medio ambiente. Pero como toda agroindustria en el desarrollo de las etapas de su proceso genera residuos sólidos, los cuales algunos por sus propiedades físicas y químicas pueden ser usados como insumos en la producción de compuestos útiles en otros procesos industriales, para lo cual deja de ser residuo y es denominado “subproducto”. Un claro ejemplo de las diferentes alternativas para aprovechar éstos residuos generados en la cacao-cultura, es la posibilidad de extraer 10 gramos de pectina por cada 100 gramos de cascarilla de cacao. Adicional de la cáscara de mazorca de cacao se ha realizado estudios para el aprovechamiento como alimento de granja efectuando dificultades como la baja digestibilidad en los animales. La mayor preferencia por alimentos naturales y saludables por parte de la población ha obligado a la industria de la carne a incluir antioxidantes naturales en varios productos para retrasar la degradación oxidativa de los lípidos y proteínas, mejorar su calidad, darles un valor agregado, y reemplazar los posibles riesgos que puedan involucrar la

utilización de antioxidantes artificiales.(Valenzuela et al., 2015). Para llevar a cabo el proyecto se plantearon las siguientes fases para alcanzar la meta deseada, las cuales serían las siguientes:

Como primera fase se realizó la extracción del mucilago del cacao, como segunda fase se realizó un protocolo de fermentación para el mucilago del cacao, seguidamente se realizó la identificación de polifenoles mediante un análisis por cromatografía, como última fase se buscó establecer el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos mediante la decoloración del betacaroteno.

Con el presente proyecto se busca evaluar el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*), aprovechando así los residuos que se generan en el procesamiento del cacao que son muchos y por otra parte ayudando a disminuir en impacto que esta gran masa de residuos genera en el medio ambiente.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general. Evaluar el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*)

1.5.2 Objetivos específicos. Estandarizar el protocolo de fermentación del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*).

✓ Determinar los compuestos fenólicos presentes en el extracto mediante cromatografía de gases

✓ Establecer el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*).

2. Marco referencial

2.1 Antecedentes

2.1.1 Internacionales. Sotero et al., (2011) *Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en pulpa y semillas de cuatro frutales amazónicos de la familia *sterculiaceae**. Artículo científico sacado de la revista Sociedad Química del Perú.

Las especies de la familia *Sterculiaceae* en estudio fueron: cacao (*Theobroma cacao* L.), cacahuillo (*Herrenia nitida*), copoazú (*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng Schum) y macambo (*Theobroma bicolor* Humb & Bompl). La actividad antioxidante presenta los siguientes IC₅₀, mg/mL: cacao: 0,52; cacahuillo: 1,69; copoazú: 2,32 y macambo: 7,55. La mayor concentración de polifenoles se presentan en las semillas de cacao con 12101,46 mg/100g, de copoazú con 9691,94 mg/100g y en pulpa de macambo con 5738,81 mg/100g. Las mayores concentraciones de flavonoides fueron para las semillas de cacao y cacahuillo con 2037,16 y 1542,91 mg/100, respectivamente; por último, está la pulpa de macambo con 711,68 mg/100g; en antocianinas se obtuvo que la semilla del cacao presentó la mayor concentración con 638,02 mg/100g. Se cuantificó por HPLC ciertos flavonoides de los cuales se observó alta presencia de rutina trihidratada, tanto en semillas como en la pulpa de estos frutos, con valores de 7022, 0 a 10689,0 mg/100g para semillas de macambo y cacao, respectivamente. Alta concentración de quercitina en las semillas de copoazú con 18173,0 mg/100g y de cacahuillo con 17280,0 mg/100g.

Cynara et al., (2013) *Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (Cynara scolymus L.)*. Artículo científico sacado de la revista sociedad química del Perú.

Según Cynara et al., (2013) Como parte de un proyecto con la empresa Danper Perú, se evaluó el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de diversos extractos de alcachofa (*Cynara scolymus L.*), cultivada en el norte del Perú (provincia de La Libertad). El contenido de compuestos fenólicos expresados como mg de ácido gálico varía entre 93 y 117 mg por gramo de muestra, dependiendo del tipo de extracto analizado y de la forma de ser procesado. La actividad antioxidante de un gramo de la muestra con mayor contenido de compuestos fenólicos es comparable a la actividad de 47 mg de ácido gálico.

Velázquez et al., (2018) *Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales, Programa en Alimentos del Centro de la República (PROPAC)*. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. Artículo científico sacado de la revista Mexicana de ciencias agrícolas.

Según Velázquez et al.,(2018) en la actualidad, hay un incremento en el consumo de infusiones debido a sus propiedades benéficas, las cuales se atribuyen a la presencia de compuestos fenólicos. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el contenido fenólico, la capacidad antioxidante y la actividad antiinflamatoria de infusiones comerciales de hierbabuena (*Mentha piperita L.*), limón (*Cymbopogon citratos*), manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*), árnica (*Heterotheca inuloides*) y boldo (*Peumus boldus Molina*) obtenidas en un supermercado en 2009. El contenido de fenoles y la capacidad antioxidante se determinaron por

técnicas espectrofotométricas. Adicionalmente, la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos también se llevó a cabo por HPLC. La actividad antiinflamatoria se evaluó mediante la inhibición de la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2). La infusión de boldo presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos y la mayor capacidad antioxidante medida por la técnicas ABT, seguida de las infusiones de hierbabuena por el método de FRAP.

En las infusiones evaluadas se identificaron diez diferentes compuestos, encontrándose en mayor concentración los compuestos catequina, epigallocatequina galato, ácido rosmarínico y eriocitrina. En cuanto a la capacidad inhibitoria sobre COX-2, las muestras de manzanilla y limón presentaron los mayores porcentajes de inhibición, seguida de la infusión de boldo. En general, los resultados sugieren que las infusiones comerciales de boldo y hierbabuena muestran propiedades biológicas con beneficios potenciales a la salud.

Mendoza et al., (2015) *Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante presentes en tres variedades de berenjena cultivadas en el valle de Mexicali, Baja California*. Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, Yucatán, México.

Según Mendoza et al., (2015) en el presente trabajo se evaluó la calidad bioquímica de tres variedades de berenjena (Versátil, Barcelona y Esculentum) con potencial de ser cultivadas en condiciones de invernadero en el valle de Mexicali. A partir de frutos maduros se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. Los resultados mostraron que la variedad Esculentum fue la que presentó mayor contenido de actividad antioxidante (23,43 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extracto) no así de compuestos fenólicos totales en donde la variedad Versátil (8,13 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de peso fresco) fue la que mostró los mayores niveles de estos compuestos. Lo que

nos indica que la actividad antioxidante podría estar influenciada por la presencia de otros compuestos bioactivos. No obstante, la presencia de compuestos bioactivos en frutos de berenjena representa un parámetro de calidad, lo que podría ser útil para incrementar su cultivo y valor de producción en el valle de Mexicali. Futuros estudios deben ser encaminados para la determinación de otros compuestos bioactivos que podrían contribuir en la actividad antioxidante de las variedades de berenjena evaluadas y su impacto en la salud del consumidor.

2.1.2 Nacionales. Badillo (2016) *Aprovechamiento de la cascara de mazorca de cacao en la elaboración de carbono activo para el tratamiento de aguas residuales*. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Ambiental unidades tecnológicas de Santander Bucaramanga, Colombia.

Según Badillo (2016) En la post cosecha, las cáscaras y el exudado derivados del Theobroma cacao, son residuos acumulados y depositados por los cacao-cultores en una sola área del cultivo sin realizarles algún tipo de tratamiento o proceso, porque a la vez ellos carecen de técnicas y métodos que favorezcan el aprovechamiento de los mismos. Su disposición final en el terreno de cultivo trae a su vez una descomposición, hasta que se fermenta espontáneamente y se constituye en un sustrato para la propagación de microorganismos patógenos al cultivo. Numerosos desechos agrícolas son incinerados o tirados al suelo, ocasionando micro vertederos y con ellos contaminación ambiental, luego de ser retirados del fruto o de cumplir su ciclo en el cultivo. Varios productos químicos pueden ser elaborados a bajo costo a partir de desechos agrícolas como por ejemplo el carbón activado, pectinas, etanol, entre otros; para este caso, la producción de adsorbentes que rápidamente permiten el tratamiento de aguas contaminadas; en la industria cacaotera es de resaltar la cascara de mazorca de cacao, para la producción de este producto, ya

que presenta la ventaja de que se encuentra en grandes cantidades. El cacao se ha convertido en uno de los cultivos de mayor importancia y producción para el municipio de Santander a lo largo de la historia, pero a su vez no se ha presentado un aprovechamiento significativo de los residuos generados en ésta industria.

Rojas (2013) *Extracción de polifenoles totales asistida por enzimas, a partir de residuos de la industria del cacao*. Artículo científico del grupo de biotransformación, escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia).

Según Rojas (2013), la explotación comercial del cacao, genera un volumen de residuos que puede utilizarse para la obtención de compuestos antioxidantes, entre otros usos. La cascarilla de cacao (tegumento), contiene un $23,3 \pm 0,4$ mg GAE g, bajo la metodología estándar de extracción de polifenoles totales. Éste residuo fue seleccionado para desarrollar un protocolo de extracción asistido por enzimas, donde se evaluó celulasa, pectinasa y una mezcla de ambas enzimas en diferentes concentraciones (25-75 U mL). Otras variables como concentración de sustrato, pH y tiempo de reacción fueron evaluadas, mediante un diseño central compuesto. La celulasa en una concentración de 75 U mL, un pH de 6,6; una concentración de cascarilla de 185 g L y un tiempo de reacción de 100 min, fueron las condiciones óptimas para obtener un extracto rico en polifenoles totales de 1,88 mg GAE mL, el cual fue validado posteriormente, obteniéndose una concentración de $1,527 \pm 0,013$ mg GAE mL.

2.2 Marco Teórico

Características generales del cacao

El árbol de cacao (*Theobroma cacao*) es una planta originaria del continente americano, pero se ha propagado alrededor del mundo, porque es utilizada como materia prima para la industria de los chocolates y a menor escala para la industria farmacéutica, alimenticia y de cosméticos obteniendo una gran demanda internacional. En la explotación cacaotera solo se aprovecha económicamente la semilla, que representa aproximadamente un 10% del peso del fruto fresco. Esta circunstancia se ha traducido en serios problemas ambientales tales como la aparición de olores fétidos y el deterioro del paisaje, así como también problemas de disposición, los desechos generados están constituidos en su mayoría por la cáscara, que además se considera un foco para la propagación de *Phytophthora* spp, causa principal de pérdidas económicas de la actividad cacaotera. (Badillo, 2016).

El cacao (*Theobroma cacao* L) es una planta que se encuentra de manera natural en los bosques de América del Sur, en las regiones del Amazonas y Orinoco. El cacao se cultiva en países que geográficamente se ubican en la franja tropical de la tierra, es una especie de origen americano y sin embargo la mayor producción de este cultivo se encuentra en África, continente que cuenta con tres grandes países productores que son: Costa de Marfil, Ghana y Nigeria, en Asia y Oceanía se encuentran como principales productores Indonesia, Nueva Guinea y Malasia y en América se destacan Brasil, Ecuador, Colombia y México. Según estimaciones realizadas por FEDECACAO, para finales del año 2013 se llegó a un área total sembrada de aproximadamente 155.000 hectáreas Se calcula además que el cultivo del cacao constituye la principal fuente de ingresos para unas 30.000 familias campesinas colombianas que derivan el su sustento.(Badillo, 2016).



Figura 1. Cultivo de cacao



Figura 2. Mazorca de Cacao

Características y tipos de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, que forman parte importante de la dieta humana. Dentro de la clasificación general se encuentran los fenoles, ácidos fenólicos y flavonoides, que constituyen un amplio grupo de sustancias químicas consideradas metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y propiedades. Existe un gran interés en estudiarlos debido a sus

propiedades antioxidantes, su participación en procesos sensoriales de los alimentos naturales y procesados, además de sus posibles aplicaciones benéficas para la salud humana, tales como el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio.

Esta revisión ofrece una visión de los grupos más importantes de compuestos fenólicos existentes en los alimentos vegetales, su metabolismo y biodisponibilidad. Al mismo tiempo se hace relevante la importancia de continuar con estudios que permitan poner de manifiesto el mecanismo de acción, así como la constitución intrínseca de los alimentos que contienen grupos fenólicos, utilizando sus características antioxidantes para el beneficio del ser humano.(Porrás, 2009).

Los tres grupos más importantes en los que se dividen los compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles. Químicamente los fenoles pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo a sus derivados funcionales, las antocianinas son otro grupo derivado de los fenoles, las cuales están distribuidas ampliamente en alimentos, especialmente en frutas y tejidos florales; son utilizadas como nutracéuticos en su forma seca y pulverizada. Son responsables del color rojo, azul, violeta y morado de casi todas las plantas, utilizándose en la industria alimenticia como colorantes. (Porrás, 2009, citando a Naczki, 2004).

FENOLES, ÁCIDOS FENÓLICOS Y ÁCIDOS FENILACETICOS

Los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos como el gálico, vainillínico, p- hidroxibenzoico, y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos. Por el contrario, existe poca información en la literatura científica sobre los ácidos fenilacéticos en los vegetales, Los ácidos fenólicos presentan generalmente actividad antioxidante en frutas, verduras y otras plantas. (Porras, 2009, citando a Wang, 2001).

ÁCIDOS CINÁMICOS, CUMARINAS E ISOCUMARINAS

Los ácidos cinámicos (cafeico, ferúlico, p- cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general, se hallan presentes en forma de derivados. Así por ejemplo, el ácido cafeico se encuentra esterificado con el ácido quínico como ácido clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y Criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido, mientras que los cromonoles son menos conocidos y se forman a partir de las antocianidinas ante el incremento del pH del medio. (Porras, 2009, citando a Martínez ef al., 2000).

LIGNANOS Y NEOLIGNANOS

Los lignanos, otra subclase de polifenoles biológicamente activos, tienen un puente de cuatro carbonos y dan origen a muchas y diferentes estructuras químicas presentes en la naturaleza(Porras, 2009, citando a Sarría, 2005). Estos son metabolitos de plantas de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de hidroxifenilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno. Los lignanos constituyen monómeros y dímeros

del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno. El término lignano se aplica cuando el compuesto está formado a partir de uniones entre el ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano (Porras, 2009, citando a Martínez et al., 2000).

TANINOS

Muchos flavonoides de los alimentos se polimerizan en las propias plantas o como resultado del procesamiento de los alimentos. Estos polímeros se conocen como taninos, los cuales son responsables de precipitar algunas proteínas y alcaloides para convertir la piel del animal en cuero (Porras, 2009, citando a Sarría, 2005). Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular comprendido entre 500 a 3000 Da (Daltons, unidad de masa atómica). Estos compuestos contienen un número importante de grupos hidroxilos entre otros grupos funcionales, siendo capaces de unirse a proteínas y otras macromoléculas. (Porras, 2009, citando a Martínez et al., 2000).

Los taninos se clasifican en dos grupos hidrolizables y no hidrolizables o condensados, estos últimos tienen como núcleo central un alcohol polihídrico como la glucosa y grupos hidroxilo que se encuentran esterificados parcial o completamente ya sea con el ácido gálico o el ácido hexahidroxidifénico, formando los galotaninos y elagitaninos respectivamente (Porras, 2009, citando a Chung et al. 1998).

FLAVONOIDES

Son una subclase de los polifenoles que se caracterizan por poseer estructuras C6-C3-C6 y dos o más anillos aromáticos, y por tener cada uno, al menos un hidroxilo aromático y conectar con un puente de carbono. Para los flavonoides, este puente consta de tres carbonos que se combinan con un oxígeno y dos carbonos de uno de los anillos aromáticos (anillo A) para formar un tercer anillo de 6-miembros (anillo C). Los flavonoides se dividen, a su vez, en subclases basadas en la conexión del anillo B al anillo C, así como en el estado de oxidación y en los grupos funcionales del anillo C. (Porrás, 2009, citando a Naczki, 2004).

El análisis del contenido en compuestos polifenólicos de un alimento es importante debido a la gran variedad de actividades biológicas que estos compuestos presentan, considerándose uno de los fitoquímicos alimentarios más importantes por su contribución al mantenimiento de la salud humana. La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante. Además de los efectos sobre la salud, muchos compuestos polifenólicos tienen un efecto sobre la calidad de los alimentos que los contienen, puesto que son responsables de algunas propiedades sensoriales. Su determinación puede realizarse por medio de diversos métodos. En este artículo se describe el ensayo Folin-Ciocalteu que se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin- Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm.(Martínez, 2015). Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas. Se trata de compuestos que intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas, así como en procesos defensivos contra agentes patógenos, depredadores o radiación ultravioleta.

Tradicionalmente se han considerado como sustancias antinutritivas debido al efecto adverso de uno de sus componentes principales, los taninos, en la digestibilidad de proteínas. Sin embargo, actualmente existe gran interés en estos compuestos debido a la gran variedad de actividades biológicas que presentan, considerándose uno de los compuestos fitoquímicos alimentarios más importantes por su contribución al mantenimiento de la salud humana (Martínez,2015). La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, el cual es debido a su habilidad para quelar metales, inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres. De hecho, diversas organizaciones internacionales, en el ámbito de la nutrición, recomiendan un consumo diario como mínimo de cinco raciones de fruta o verdura, para asegurar una adecuada ingesta de antioxidantes y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.(Martínez, 2015).

2.3 Marco Contextual

El presente proyecto se realizó en los laboratorios básicos agroindustriales de la sede Campos Elíseos de los Patios municipio de Norte de Santander, de la Universidad Francisco De Paula Santander de Cúcuta.

En estos laboratorios se organizan y ejecutan diferentes tipos de proyectos técnicos, sociales y ambientales, así como de extensión para el mejoramiento, tecnificación y solución a temas relacionados en la región y el país concernientes a las ciencias agrariapecuarias y del medio ambiente.

Dispone de recintos del conocimiento como:

- ✓ Laboratorio de Análisis de Aguas

- ✓ Planta Piloto de Procesamiento Agroindustrial

- ✓ Laboratorio de Biotecnología Vegetal

- ✓ Laboratorios de Genética Brassica y Molecular

- ✓ Laboratorios de Microbiología Aplicada

- ✓ Laboratorios de Bioprocesos

- ✓ Laboratorio de Sanidad Vegetal

- ✓ Laboratorio de Suelos Agrícolas y Museo de Entomología

- ✓ Laboratorios de Sanidad Animal

- ✓ Laboratorio de Nutrición Animal y Análisis de Alimentos

- ✓ Laboratorio de Reproducción Animal

- ✓ Laboratorio de Anatomía y Fisiología Animal

Estos espacios contribuyen con el estudiante en el desarrollo de procesos de producción agropecuaria y de cuidado del medio ambiente, al igual que en investigaciones básicas y aplicadas mediante los nuevos avances tecnológicos de las distintas ramas afines.

2.4 Marco Conceptual

Compuestos fenólicos: Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. Junto con las vitaminas, los compuestos fenólicos se consideran importantes antioxidantes en la dieta, por ejemplo, se encuentran presentes en frutas, hortalizas, raíces y cereales. Miles de compuestos fenólicos se encuentran en las plantas, y se clasifican en diferentes tipos de grupos funcionales, como se indica en este trabajo. Los compuestos fenólicos juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas, en el crecimiento y reproducción, y en la protección contra patógenos externos y el estrés, como la radiación UV y los depredadores. Ellos son responsables del color y las características sensoriales de las plantas y alimentos, por ejemplo, la astringencia de frutas y hortalizas.(Peñarrieta et al., 2014).

Fermentación: Proceso metabólico llevado a cabo por microorganismos, bacterias y levaduras bajo condiciones aeróbicas y anaerobias obteniendo energía y teniendo características físico-químicas controladas. La fermentación es un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico. Estos productos finales son los que caracterizan los diversos tipos de fermentaciones.(Bailón, 2012).

Conservación: Evita el crecimiento de microorganismos (como las levaduras) u otros microorganismos (aunque algunos métodos funcionan introduciendo bacterias u hongos

benignos en los alimentos), además de reducir la oxidación de las grasas que causan rancidez. La conservación de los alimentos también puede incluir procesos que inhiban el deterioro visual, como la reacción de pardeamiento enzimático en manzanas después de que se cortan durante la preparación de alimentos. Los sistemas de conservación de los alimentos son aquellos que evitan que las alteraciones antes mencionadas puedan llegar a producirse. Se expondrán de forma sintética los tratamientos más generales: frío, calor. (Juliarena, 2016).

Cascarilla de cacao: Es el subproducto que se obtiene después de secar el grano de cacao, fermentarlo y tostarlo, representan cerca del 12% de la semilla.(Badillo, 2016).

Antioxidantes: Un antioxidante dietético es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológicos, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos. Se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa. (Coronado, 2015).

2.5 Marco Legal

Ley 99 de 1993 del Congreso Nacional de Colombia. Tiene como objetivo minimizar la generación de residuos, evitando que se produzcan o reduciendo sus características contaminantes y generar la capacidad técnica para el manejo y tratamiento de los residuos que necesariamente se van a producir a pesar de los esfuerzos de minimización

Ley 23 de 1973 del Congreso Nacional de Colombia. Tiene como objetivo prevenir y controlar la contaminación del medio ambiente, buscar el mejoramiento, la conservación y restauración de los recursos naturales renovables para defender la salud y bienestar de todos los habitantes del territorio nacional.

Ley 09 de 1979 del Congreso Nacional. Reglamenta los procedimientos y las medidas que se deben adoptar para la regulación, legislación y control de los descargos de residuos y materiales que afectan o pueden afectar las condiciones Sanitarias del ambiente.

Resolución 4124 De 1991 del Ministerio de Salud. Por lo cual se reglamenta el Título V Alimentos, de la Ley 09 de 1979, en cuanto concierne a los ANTIOXIDANTES que se pueden utilizar en alimentos.

Resolución 2606 De 2009. Ministerio de la Protección Social. Por la cual se establece el Reglamento Técnico sobre los requisitos que deben cumplirlos aditivos alimentarios que se fabriquen, procesen, envasen, almacenen, transporten, expendan, importen, exporten, comercialicen y se empleen en la elaboración de alimentos para consumo humano en el territorio nacional.

CODEX STAN 192-1995. Norma General para los Aditivos Alimentarios. En los alimentos sólo se reconocerá como adecuado el uso de los aditivos alimentarios que se indican en esta Norma. Únicamente se estudiará la inclusión en la presente Norma de los aditivos alimentarios a los cuales se ha asignado una ingestión diaria admisible (IDA) o cuya inocuidad² ha quedado establecida, con arreglo a otros criterios, por el Comité Mixto FAO/OMS de

Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA)³, y de aquellos a los que el Codex ha atribuido una designación con arreglo al Sistema Internacional de Numeración (SIN). Se considera que el uso de aditivos de acuerdo con las disposiciones de esta Norma se encuentra tecnológicamente justificado.

CAC/GL 36-1989. Nombres Genéricos y Sistema Internacional de Numeración de Aditivos Alimentarios. La intención del sistema internacional de numeración de aditivos alimentarios (SIN) es que sea un sistema de denominación armonizado para aditivos alimentarios como alternativa al uso del nombre específico. .La incorporación en el SIN no implica la aprobación por el Codex del uso como aditivo alimentario. La lista incluye los aditivos que no han sido evaluados por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en aditivos alimentarios (JECFA). CX/FA 11/43/2. Programa Conjunto de la FAO/OMS Sobre Normas Alimentarias Comité del Codex Sobre Aditivos. En el documento se aborda la aplicación de los principios de análisis de riesgos por el Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios (CCFA) y el Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos (CCCF), por un lado, y el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), por otro. En relación con los temas que no pueda abordar el JECFA, este documento no excluye la posibilidad de que se consideren recomendaciones formuladas por otros órganos especializados internacionalmente reconocidos, en la medida en que lo apruebe la Comisión.

CAC/GL 36-1989. Nombres Genéricos y Sistema Internacional de Numeración de Aditivos Alimentarios. La intención del sistema internacional de numeración de aditivos alimentarios (SIN) es que sea un sistema de denominación armonizado para aditivos alimentarios como alternativa al uso del nombre específico. .La incorporación en el SIN no implica la

aprobación por el Codex del uso como aditivo alimentario. La lista puede incluir los aditivos que no han sido evaluados por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en aditivos alimentarios (JECFA).

NTC 756. Frutas Y Hortalizas Frescas. Toma de Muestras. Esta norma establece el método para la extracción de muestras en frutas y hortalizas frescas enteras.

NTC 1325. Industrias alimentarias. Productos cárnicos procesados no enlatados. Esta norma establece los requisitos que debe cumplir los productos cárnicos procesados no enlatados.

GTC 86 de 2003. Guía Técnica Colombiana. Guía para la implementación de la gestión integral de residuos – GIR –. Esta guía presenta directrices para realizar una gestión integral de residuos, considerando las siguientes etapas de manejo: Generación (minimización), Separación en la fuente, presentación diferenciada, almacenamiento, aprovechamiento, transporte, tratamiento y disposición de los residuos; todas estas actividades enmarcadas dentro de un ciclo de mejoramiento continuo.

GTC 24 de 2009. Guía Técnica Colombiana. Gestión ambiental. Residuos sólidos. Guía para la separación en la fuente. Brinda las pautas para realizar la separación de los materiales que constituyen los residuos no peligrosos en las diferentes fuentes de generación: doméstica, industrial, comercial, institucional y de servicios. Igualmente da orientaciones para facilitar la recolección selectiva en la fuente.

2.6 Hipótesis

Hipótesis Alternativa: Los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*) cumplirá con las condiciones óptimas para ser una buena fuente antioxidante

Hipótesis Nula: Los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao (*Theobroma cacao*) No cumplirá con las condiciones óptimas para ser una buena fuente antioxidante.

3. Metodología

3.1 Tipo de investigación

El tipo de metodología a emplear es cuasi experimental y exploratoria ya que se caracteriza porque el sujeto de estudio no se selecciona de forma aleatoria, sino que se encuentra o establece previamente. Esta investigación se fundamentó en la manipulación del mucilago proveniente de (*Theobroma cacao*) en la evaluación del potencial antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la fermentación del mucilago del cacao aplicando la determinación por cromatografía de gases para la determinación de los compuestos fenólicos, seguidamente estableciendo su potencial antioxidante de los compuestos fenólicos

3.2 Universo y Muestra

3.2.1 Universo. El universo a estudiar es la producción de cacao (*Theobroma cacao*), en Norte de Santander la cual equivale a 8.315 toneladas/año (Vásquez-Barajas et al., 2018).

3.2.2 Muestra. La muestra está compuesta por el 0,001803% con respecto a la producción total de cacao (*Theobroma cacao*) anual en el departamento Norte de Santander, cuyo peso equivale a 15 kg de mazorcas de cacao y 1300 ml del extracto (mucilago).

3.3 Técnicas de recolección de datos

3.3.1 Bases de datos. Se recopilará información de páginas web científicas, de artículos científicos, guías acerca del cacao (*Theobroma cacao*) y revistas científicas.

3.3.2 Apuntes. En la recolección de la información se emplearon formatos, los cuales fueron diseñados de acuerdo a la fase de investigación, como también se emplearon mediciones con equipos: medición del pH y medición de °Brix.

3.3.3 Experimentos. Se realizarán experimentos para la extracción de los compuestos fenólicos, posteriormente se harán pruebas aplicando diferentes compuestos fenólicos a los diferentes productos cárnicos para determinar cuáles son los compuestos que mejor realizan la conservación del producto.

3.4 Operacionalidad de Variables

3.4.1 Variables Independientes. Concentración de los compuestos fenólicos del extracto

3.4.2 Variables dependientes. Concentración de compuestos fenólicos

La cantidad de solvente (Etanol) a utilizar.

3.5 Fases de la Investigación

3.5.1 Fase 1. Un protocolo de fermentación. En la fermentación del cacao se realizara un proceso espontáneo que consta de dos etapas: la primera etapa de hidrólisis o fase alcohólica y la segunda etapa de oxidación.

En el primer día, se realizara la primera etapa la fermentación, tiene lugar la hidrólisis que se llevara a cabo a temperatura de 40 °C, y en la que levaduras que se encuentran en la pulpa del fruto, transforman los azúcares del mucílago en alcohol (que posteriormente con la ayuda del oxígeno, se transformará en ácido acético). Enzimas peptinolíticas y otras glicosidasas producirán mediante la degradación de los polisacáridos, la licuación de la pulpa de los frutos, que comienza a fluir. Esto facilitara el acceso del aire provocando entre el segundo y cuarto día la oxidación (del alcohol hasta el ácido acético por la acción de bacterias acéticas). El pH desciende desde 6,5 hasta aproximadamente 4,5 a la vez que la temperatura aumenta a 45-50 °C. Entre el quinto y séptimo día, se predominaran las reacciones de oxidación y condensación de los compuestos fenólicos (Fernandez, 2016).

Durante la etapa de la fermentación, disminuirá el sabor amargo de la teobromina y se producirán aminoácidos, con lo que se generan los compuestos precursores del aroma y sabor característicos del cacao. Una almendra de cacao bien fermentada se caracteriza porque presenta un color café intenso o marrón, es gruesa o hinchada y la cáscara se separa fácilmente. El aroma es agradable y su sabor amargo. Por el contrario, una almendra sin fermentar o mal fermentada presenta un color violáceo en su interior, es aplanada, con la cáscara difícil de separar y un sabor astringente con aroma desagradable.

Por tanto, el color violeta es característico de un producto mal fermentado con altos contenido de compuestos (poli)fenólicos y está relacionado con un débil sabor a chocolate, los granos fermentados se lavaran, en algunas ocasiones, para eliminar los restos de mucílago y disminuir los riesgos de contaminación por moho. A continuación se desecaran para su almacenamiento hasta reducir el contenido de humedad, la pérdida de agua hincha la cascarilla y por tanto, facilita su desprendimiento posterior. Durante el secado de los granos se extenderán bajo el sol o se colocan en cobertizos con calor artificial (aire caliente o calentamiento por radiación IR), pasando de un 55% de humedad a tan solo un 5 o 7% ((Fernandez, 2016).

3.5.2 Fase 2 La determinación de los compuestos fenólicos mediante cromatografía de gases. Como segunda fase del proceso de investigación se realizará un análisis por cromatografía de gases la cual busca identificar la presencia de polifenoles en la muestra.

La cromatografía es un método físico de separación en el cual los componentes a ser separados son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es estacionaria mientras la otra se mueve en una dirección definida. Los componentes son separados por sus diferentes tasas de migración (IUPAC). La cromatografía puede ser clasificada por su utilidad y en base al material que se utilice como eluyente para separar los solutos. De acuerdo a su utilidad la cromatografía se clasifica en: analítica, utilizada para determinar los químicos presentes en una mezcla y en que concentración; y preparativa, utilizada para purificar grandes cantidades de químicos.(Olguín & Rodríguez, 2004).

Para realizar la separación mediante cromatografía de gases, se inyectara una pequeña cantidad de la muestra en una corriente de un gas inerte a elevada temperatura; esta corriente de

gas, atraviesa la columna cromatografía que separará los componentes de la mezcla por medio de un mecanismo de partición (cromatografía gas – líquido), de adsorción (cromatografía gas – sólido) o, en muchos casos, por medio de una mezcla de ambos. Los componentes separados, emergerán de la columna a intervalos discretos y pasarán a través de algún sistema de detección adecuado, o bien serán dirigidos hacia un dispositivo de recogida de muestras. (*Cromatografía de Gases*, n.d.)

3.5.3 Fase 3 Determinación de la actividad oxidante. En recipientes color ámbar, se coloca 1 mL de solución de β -caroteno (0.4 mg / mL en cloroformo) se dejan evaporar hasta la sequedad una noche, al día siguiente se agregan 0.02 mL de ácido linoleico, 0.2mL de Tween 20 y 0.2 mL de los extractos crudos. Las muestras se agitan y posteriormente se agregaron 20mL de agua oxigenada al 5% y se leyendo la absorbancia a 470nm. En seguida, las muestras se sometieron a autooxidación térmica en baño a 40°C, leyendo su absorbancia cada 10 minutos durante 120 minutos. Se prepara un estándar con ácido ascórbico y un control con metanol al 80%, además de un blanco con agua destilada. El valor de la actividad antioxidante se calcula como un porcentaje de inhibición relativa para el control, la actividad antioxidante (AA) se determina con la siguiente ecuación (Al Saikhan et al., 1995).

$$AA = (R_{control} - R_{muestra}) * 100$$

*R*_{control}

Dónde:

$$R=(\ln A_0)$$

$$A_t/t$$

R = Velocidad de degradacion de la muestra control.

A₀ = Absorbancia de la muestra control en el tiempo cero.

A_t = Absorbancia de la muestra control en el tiempo t.

3.6 Instrumentos

Los instrumentos que se utilizaron en este proyecto están basados en la información de las bases de datos, apuntes, y la realización de parte experimental.

3.7 Técnicas de Análisis

La información se procesó mediante tablas de frecuencia y graficas correspondientes utilizando el programa Excel 2016 y SPSS MODELER, se establecerá con el asesor estadístico las pruebas a utilizar

4. Resultados

4.1 Tabulación, análisis y discusión de resultados

En el desarrollo de la investigación se tuvo en cuenta aspectos fundamentales como la obtención del mucilago, proceso fermentativo y la determinación de la actividad antioxidante con el fin de cumplir los objetivos establecidos.

4.2 Obtención del mucilago del *Theobroma cacao*

Con el fin de obtener el mucilago del cacao se utilizaron aproximadamente 15 kg de *Theobroma cacao* del cual se realizó la extracción del mucilago del cacao como se observa en la figura 3.



Figura 3. Proceso de extracción del mucilago de cacao

4.3 Fermentación

El proceso de fermentación se realizó durante 5 días a temperatura ambiente, utilizando una levadura comercial que tiene características que proporcionan un mejor aroma y es un producto

100% natural y fresco, el cual se activó en una solución al 10 % de sacarosa durante un periodo tiempo de 10 minutos en la incubadora a 27 °C. Ver figura 4. Se llevó un control de cada 12 horas, realizando una toma de muestra para analizar pH y grados Bx°.



Figura 4. Activación de la levadura

El proceso de fermentación se llevó a cabo en un vaso fermentador de vidrio sellado por un tapón de corcho natural, al cual se le añadió una manguera con el fin de producir una trampa de aire, permitiendo la salida de CO₂ producido por la fermentación y a su vez impidiendo la entrada de cualquier producto contaminante; Ver figura 5. Mientras que por la otra vía se dejó libre para la toma de muestra.



Figura 5. Proceso fermentativo del mucilago de cacao

Como resultado se obtuvo 1300 ml del extracto fermentativo del cual se midieron valores de pH del cual se obtuvo como resultado valores entre 3.90 y 4.04, en lo que de acuerdo (López 2011), son valores extremadamente ácidos. Esto se deben a la presencia de diversos ácidos orgánicos fundamentalmente el ácido cítrico (Lima et al., 2011). Así mismo se midieron los grados Bx° el cual vario en un valor 16 a 19 grados Bx°. Ver tabla 1, valores que son comunes en los procesos de los fermentativos acusados por microorganismo (Penha 1998). Otro estudio realizado para el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) alcanzó rangos promedio entre 15 a 22, siendo estos valores comparables a los obtenidos en este trabajo (Cubillos 2017).

Tabla 1. Valores de pH y Grados Bx° del extracto.

Día	pH	Grados Bx°
0	3,90	16
1	3,91	16
2	3,98	17
3	4,02	17
4	4,04	18
5	4,05	19

4.4 Determinación cuantitativa de compuestos fenólicos

Para el análisis por cromatografía se realizó La preparación de las muestras analizadas disolviendo la muestra en una mezcla de metanol: agua al 0.2% en ácido fórmico (1:1), Vórtex (5 min) y posterior sonicacion por 5 min y seguidamente inyección al equipo cromatográfico.

Se utilizó un Cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiencia (UHPLC), Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.), equipado con una bomba binaria de gradiente (HP G3400RS), un inyector automático de muestras (WPS 300TRS) y una unidad termostada para la columna (TCC 3000). La interfaz del LC-MS fue la electronebulización (ESI) y el espectrómetro de masas fue de alta resolución con un sistema de detección de corrientes de iones Orbitrap. Operado en modo positivo con un voltaje de capilar de 4,5 kV. Se utilizó una Columna Hypersil GOLD Aq (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.; 100 x 2.1 mm, 1.9 μm de tamaño de partícula) a 30 °C, La fase móvil fue A: una solución acuosa de 0,2% de formiato de amonio y B: acetonitrilo con 0,2% de formiato de amonio.

La condición inicial de gradiente fue de 100% A, cambiando linealmente hasta 100% B (8 min); se mantuvo durante 4 min; el retornó a las condiciones iniciales en 1 min; el tiempo total de corrida fue de 13 min, con 3 min para post-corrída. La identificación de los compuestos se realizó usando el modo de adquisición full scan y la extracción de corrientes iónicas (EIC) correspondientes a los $[\text{M}+\text{H}]^+$ de compuestos de interés, medición de masas con exactitud y precisión de $\Delta\text{ppm} < 1$ y usando una solución-mix estándar de los compuestos (sustancias certificadas estándar), para la cuantificación de los analitos de interés se realizaron curvas de calibración empleando los materiales de referencia certificados.

De acuerdo con lo anterior se obtuvieron los siguientes compuestos fenólicos que se reportan en la tabla 2. Siendo la teobromina el compuesto fenólico reportado con abundancia del 34.7mg/kg, siendo este el de mayor representación, donde de acuerdo con (Buchelli 2001), los contenidos de polifenoles alcaloides como la cafeína y teobromina, indican la calidad organoléptica del cacao.

Las concentraciones de los demás compuestos identificados fueron bajas lo cual es un buen indicador antioxidante ya que previene significativamente la oxidación de sustratos (Payne et al., 2010).

Tabla 2. Compuestos fenólicos identificados por cromatografía

Compuesto	t _R , min	NMC*, mg kg ⁻¹	Concentración en las muestras, mg kg ⁻¹
			992731-01-EB MUESTRA DE MUCILAGO DE CACAO
Teobromina	2,7	0,1	34,7
Teofilina	2,9	0,1	< 0,1
Epigallocatequina (EGC)	2,9	0,1	< 0,1
Catequina (C)	3,1	0,1	< 0,1
Epicatequina (EC)	3,3	0,1	< 0,1*
Ácido p-hidroxibenzoico	3,3	0,1	< 0,1
Cafeína	3,1	0,1	2,3
Ácido cafeico	4,0	0,1	< 0,1
Ácido vanílico	3,3	0,1	< 0,1
Epigallocatequina galato (EGCG)	3,3	0,1	< 0,1
Ácido p-cumárico	3,6	0,1	< 0,1
Epicatequina galato (ECG)	3,7	0,1	< 0,1
Ácido felúrico	3,8	0,1	< 0,1
Quercetina	4,5	0,1	0,1
Ácido rosmarínico	4,0	2,0	< 2,0
Cianidina	3,8	0,1	< 0,1
Luteolina	4,5	0,1	< 0,1*
Kaempferol	5,0	0,1	< 0,1
Ácido trans-cinámico	4,8	0,4	< 0,4
Naringenina	4,9	0,1	< 0,1
Pelargonidina	3,6	0,1	< 0,1
Apigenina	4,9	0,1	< 0,1*
Pinocebrina	5,9	0,1	< 0,1
Ácido carnósico	7,5	0,4	< 2,0
Ácido ursólico	8,8	0,1	< 0,1
Cianidina 3-rutinosido	3,0	0,1	< 0,1
Pelargonidina 3-glucósido	3,1	0,1	< 0,1
Quercetina 3-glucósido	3,6	0,1	< 0,1
Kaempferol 3-glucósido	3,8	0,1	< 0,1
Rutina	3,5	0,1	< 0,1
Ácido gálico	2,1	0,1	< 0,1

* Detectado por debajo del nivel mínimo de cuantificación y por encima del nivel mínimo de detección

Nota: Nivel mínimo de cuantificación (NMC=2NMD), tiempo de retención (t_R) y resultados de la determinación de compuestos fenólicos en extractos, por UHPLC-ESI+-Obitrap-MS en la(s) muestra(s). Fuente: Recuperado de Laboratorio CROMM-MASS.

4.5 Determinación de la actividad antioxidante

Al Saikhan et al., (1995) estableció que para la determinación de la actividad antioxidante se aplicó el método de la decoloración del Betacaroteno, la cual se preparó una solución stock con 0.08 gramos de Betacaroteno en 60 ml de cloroformo, y se realizaron unas disoluciones de concentración de 0.1, 0.3, 0.4 y 0.6 respectivamente en frascos de color ámbar como se muestra en la figura 6, las cuales fueron dejadas evaporar hasta la sequedad en una noche, al día siguiente se agregaron a cada frasco 0.02 mL de ácido linólico, 0.2 mL de Tween 20 y 0.2 mL de los extractos crudos ,ver figura 7.



Figura 6. Disoluciones a diferentes concentraciones



Figura 7. Tubos de ensayo con las disoluciones a diferente concentración

Las muestras se agitan y posteriormente se agregan 20 mL de agua oxigenada al 5% y se lee la absorbancia a 470 nm, posteriormente las muestras son sometidas a ultrasonido en baño a 40 °C como se muestra en la figura 8, luego se lee su absorbancia cada 10 minutos durante 120 minutos para mirar su variación. Ver figura 9.



Figura 8. Muestras en ultrasonido

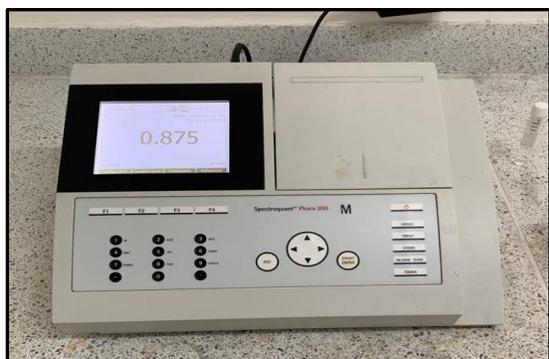
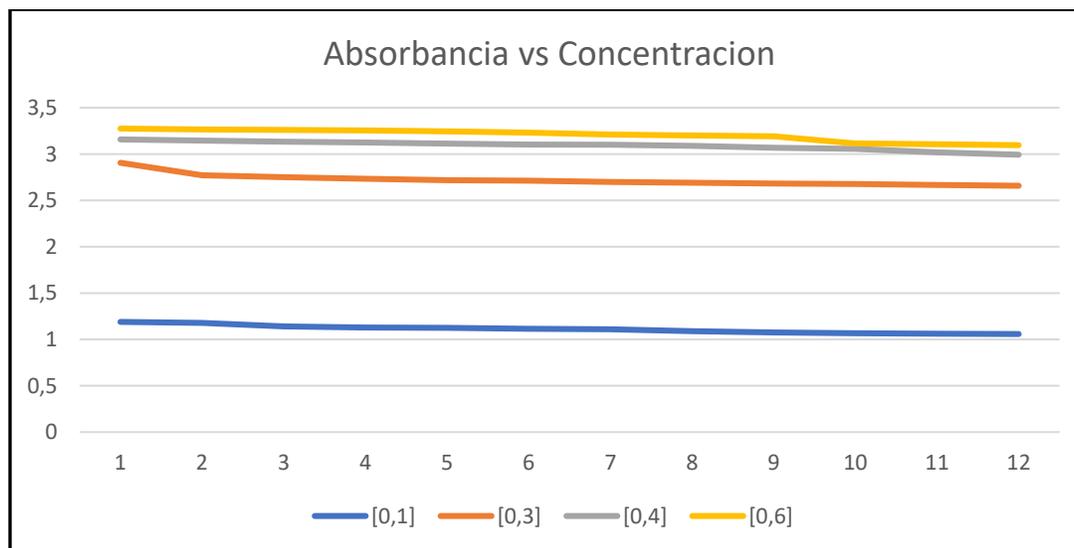


Figura 9. Lectura en espectrofotómetro

A continuación en la tabla 3, se muestran los resultados obtenidos de las diferentes lecturas de absorbancias realizadas a las muestras a diferente concentración 0.1, 0.3, 0.4 y 0.6 con el fin de analizar su variación respecto al tiempo, podemos observar que la absorbancia fue disminuyendo con el paso del tiempo desde que se tomó a los 10 minutos después de salir del ultrasonido hasta los 120 minutos después.

Tabla 3. Actividad antioxidante medida por la decoloración del β Caroteno a 470 nm

TIEMPO (min)	Concentración (0,1)	Concentración (0,3)	Concentración (0,4)	Concentración (0,6)
0	1,331	1,572	1,633	1,76
Muestra sometida a ultrasonido en baño a 40 °C				
10	1,189	2,906	3,158	3,275
20	1,179	2,772	3,145	3,265
30	1,140	2,751	3,134	3,260
40	1,128	2,733	3,124	3,255
50	1,125	2,718	3,113	3,245
60	1,115	2,713	3,103	3,231
70	1,110	2,700	3,100	3,211
80	1,089	2,690	3,088	3,201
90	1,075	2,682	3,069	3,191
100	1,067	2,676	3,057	3,115
110	1,062	2,666	3,019	3,106
120	1,058	2,658	2,993	3,096

**Figura 10. Absorbancia vs concentración**

El betacaroteno decolora rápidamente sin la presencia de un antioxidante, en caso contrario este neutraliza los radicales libres formados, (Kang et al., 2006), lo que demuestra una disminución de la absorbancia, lo que hace que este pierda su color naranja característico

(Velioglu y Mazza, 1998). Ver las figuras 11, 12,13 y 14. Lo que demuestra que el mucilago del de *Theobroma cacao* es una fuente de gran importancia de antioxidantes naturales, ya que este presenta una alta actividad antioxidantes. En la figura 11, se puede observar la primera toma de la absorbancia a los 10 después de las muestras estar sometidas a ultrasonido a 40 °C.

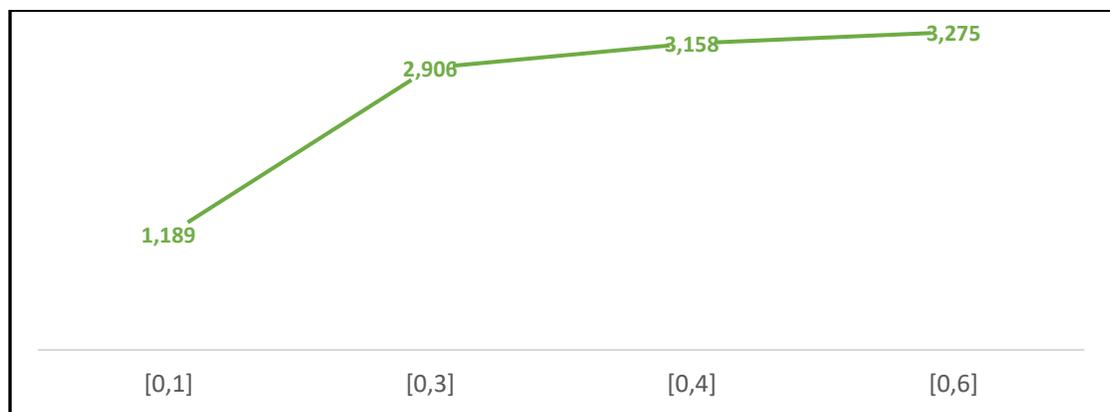


Figura 11. Concentración vs absorbancia medida a los 10 minutos

En la figura 12, se puede observar la disminución de la absorbancia a los 40 minutos respecto a la toma de la primera que fue solo a los primero 10 minutos.

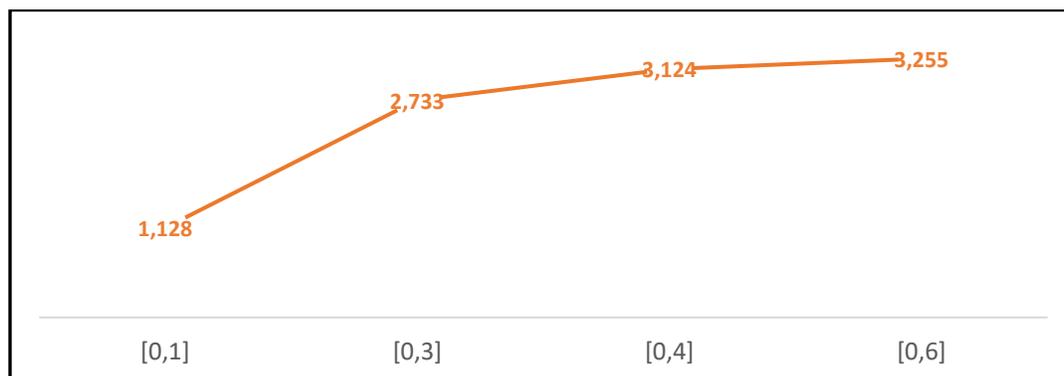


Figura 12. Concentración vs absorbancia medida a los 40 minutos

En la figura 13, se puede observar la disminución de la absorbancia a los 90 minutos respecto a la toma anterior que fue a los 40 minutos.

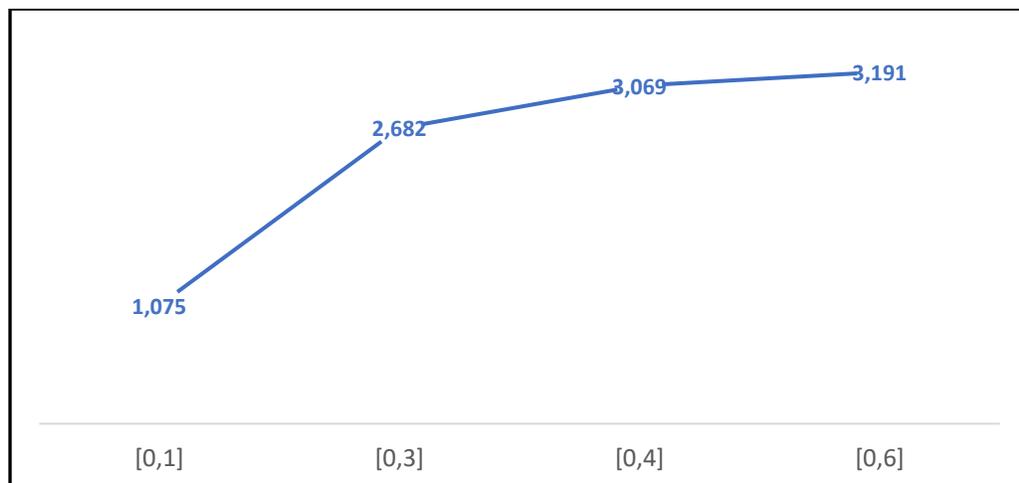


Figura 13. Concentración vs absorbancia medida a los 90 minutos

En la figura 14, se puede observar la disminución de la absorbancia a los 120 minutos respecto a la toma anterior que fue a los 90 minutos.

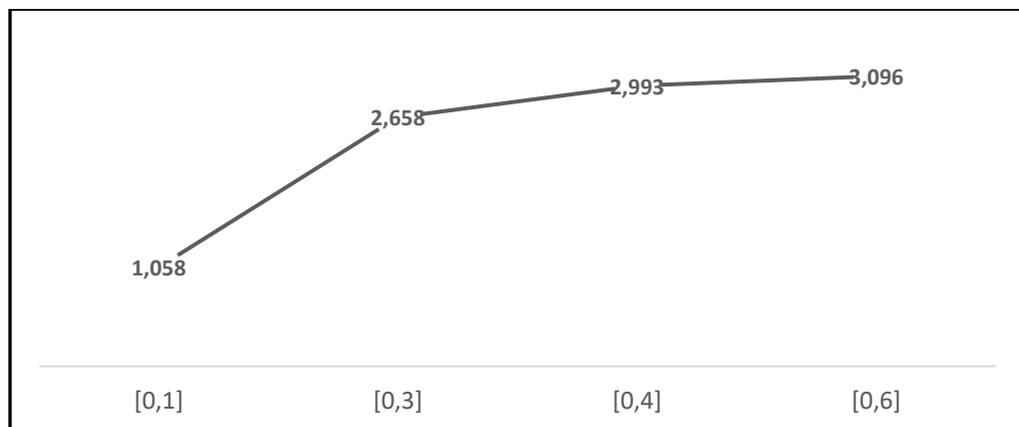


Figura 14. Concentración vs absorbancia medida a los 120 minutos

5. Conclusiones

Se logró implementar un protocolo de fermentación del mucilago del cacao el cual se realizó durante 5 días a temperatura ambiente. Tomando una muestra cada 12 horas para analizar pH, obteniendo como resultado un rango de 3.90 – 4.04 valores ácidos y para los grados Bx° vario en un rango de 16-19 grados Bx° valores que es común en procesos fermentativos, gracias a esto se logró la fermentación del mucilago del cacao *Theobroma cacao*, para poder someter la muestra a su análisis y así obtener resultados positivos de las propiedades antioxidantes incorporadas en los residuos sólidos de *Theobroma cacao* (mucilago).

Se logró identificar los compuesto fenólicos presentes en el mucilago del cacao *Theobroma cacao* mediante el análisis por cromatografía realizada por el laboratorio CROMM-MASS. Se evidencio la presencia de diversos compuestos fenólicos siendo la teobromina el compuesto fenólico reportado con mayor abundancia del 34.7mg/kg. Finalmente se establece que los compuestos identificados son una fuente importante de antioxidantes naturales.

Finalmente se evaluó el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos extraídos del extracto de *Theobroma cacao* (mucilago) a través del método de la decoloración del Betacaroteno donde se preparó una solución stock con 0.08 gramos de Betacaroteno en 60 ml de cloroformo; se realizaron unas disoluciones de concentración de 0.1, 0.3, 0.4 y 0.6 en frascos color ámbar, fueron dejadas evaporar durante una noche y al siguiente día se agregaron a cada frasco 0.02 mL de ácido linóleo, 0.2 mL de Tween 20 y 0.2 mL de los extractos crudos (mucilago de cacao). Las muestras se agitan y seguidamente se agregan 20 mL de agua oxigenada al 5% y se leyó la absorbancia a 470 nm, posteriormente las muestras son sometidas a ultrasonido en baño a 40 °C,

leyendo su absorbancia cada 10 minutos durante 120 minutos. De acuerdo con la información obtenida se puede afirmar que el betacaroteno se decolora rápidamente sin la presencia de un antioxidante, en caso contrario este neutraliza los radicales libres formados, lo que demuestra una disminución de la absorbancia, lo que hace que este pierda su color naranja característico, sin embargo es importante mencionar que el mucilago del *Theobroma cacao* es una buena fuente potencial antioxidante

6. Recomendaciones

Se recomienda evaluar la aplicación de compuestos fenólicos y antioxidantes naturales provenientes del mucilago del cacao *Theobroma cacao* en productos cárnicos embutidos con la finalidad de estudiar el comportamiento y su vida útil.

Se sugiere realizar un estudio más completo a cada compuesto obtenido en los resultados de la cromatografía de gases para una aplicabilidad en los productos de la industria cárnica alimentaria.

Referencias

- Bailón. (2012). *Fermentaciones industriales* "Rodolfo César Bailón Neira.
- Botero, N., Londoño¹, L. V., & Rojas, y L. F. (2013). Extracción de polifenoles totales asistida por enzimas, a partir de residuos de la industria del cacao. *Biotechnology Letters*, 35(7), 1035–1043. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1169-7>
- Cacao: Propiedades, Origen, Beneficios, Qué es e Información.* (2020).
<https://cuidateplus.marca.com/alimentacion/diccionario/cacao.html>
- Cienfuegos Jovellanos Fernandez, E. (2016). *Estudio del contenido de compuestos bioactivos del cacao y su aplicación en la obtención de un ingrediente rico en (poli)fenoles para el diseño de un chocolate enriquecido. TDR (Tesis Doctorales En Red)*, 1–13.
<https://doi.org/10.17161/bi.v1i0.3>
- Coronado H., M., Vega & León, S., Gutiérrez T., R., Marcela, V. F., & Radilla V., C. (2015). Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutricion*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- Cynara, L., Cruzado, M., Pastor, A., Castro, N., & Cedrón, C. (2013). Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 79(1), 57–63.
- Cubillos, A. (2017). Estudio de los cambios físicos y químicos durante la maduración del

cacao. *Proyecto de Investigación*, 37.,

<https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/2847/andres%20felipe%20bojaca%20tesis.pdf?sequence=10&isAllowed=y>

Finagro. (2021). *Inteligencia de mercado: Cacao*.

https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basic-page/files/ficha_cacao_version_ii.pdf

González-Mendoza, D., Troncoso-Rojas, R., Ceceña Durán, C., Grimaldo-Juárez, O., Zamora-Bustillo, R., & Ruiz-Sánchez, E. (2015). Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante presentes en tres variedades de berenjena cultivadas en el Valle de Mexicali, Baja California. *Idesia*, 33(3), 17–21. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292015000300003>

Juliarena, P.; Gratton, R. (2016). Conservación de los alimentos. En *Tecnología, ambiente y sociedad*. <http://www.exa.unicen.edu.ar/catedras/tecnoambiente/CAP03.pdf>

Lizeth, C., & Badillo, M. (2016). *Aprovechamiento de la cascara de mazorca de cacao en la elaboración de carbono activo para el tratamiento de aguas residuales*. 78.

[http://repositorio.uts.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2691/R-DC-95_Oscar_Clara_Pto Residuos Cacao.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uts.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2691/R-DC-95_Oscar_Clara_Pto%20Residuos%20Cacao.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Martínez, G., & López, F. (2015). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu Apellidos, nombre*. [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/GarciaMartínez et al.pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/GarciaMartínez%20et%20al.pdf?sequence=1)

Muñoz-Velázquez, E. E., Rivas-Díaz, K., Loarca-Piña, M. G. F., Mendoza-Díaz, S., Reynoso-Camacho, R., & Ramos-Gómez, M. (2018). Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(3), 481–495.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v3i3.1443>

Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. In *Bolivian Journal of Chemistry* (Vol. 31, Issue 2).

Porras. (2009). *Fenoles en Alimentos.pdf*. [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)

Procolombia. (2015). *La exportación del cacao y sus derivados | Colombiatrade - Compradores*. <http://www.procolombia.co/compradores/es/explore-oportunidades/cacao-y-sus-derivados>

Rodriguez, L. A., Cáceres, Y. O. L., & Barajas, E. F. V. (2016). El cacao en Norte de Santander, oportunidades y retos. *Gestión y Desarrollo Libre*, 17–32.

Sotero, V., Maco, M., Vela, J., Merino, C., Dávila, É., & García, D. (2011). Antioxidant evaluation and phenolic compounds in pulp and seeds of four fruits from the Sterculiaceae family. *Rev Soc Quím Perú*, 77(1), 66–74.

Valenzuela, C., Patricio Pérez, V., Correspondencia, D., Profesor, :, & Pérez, P. (2015).

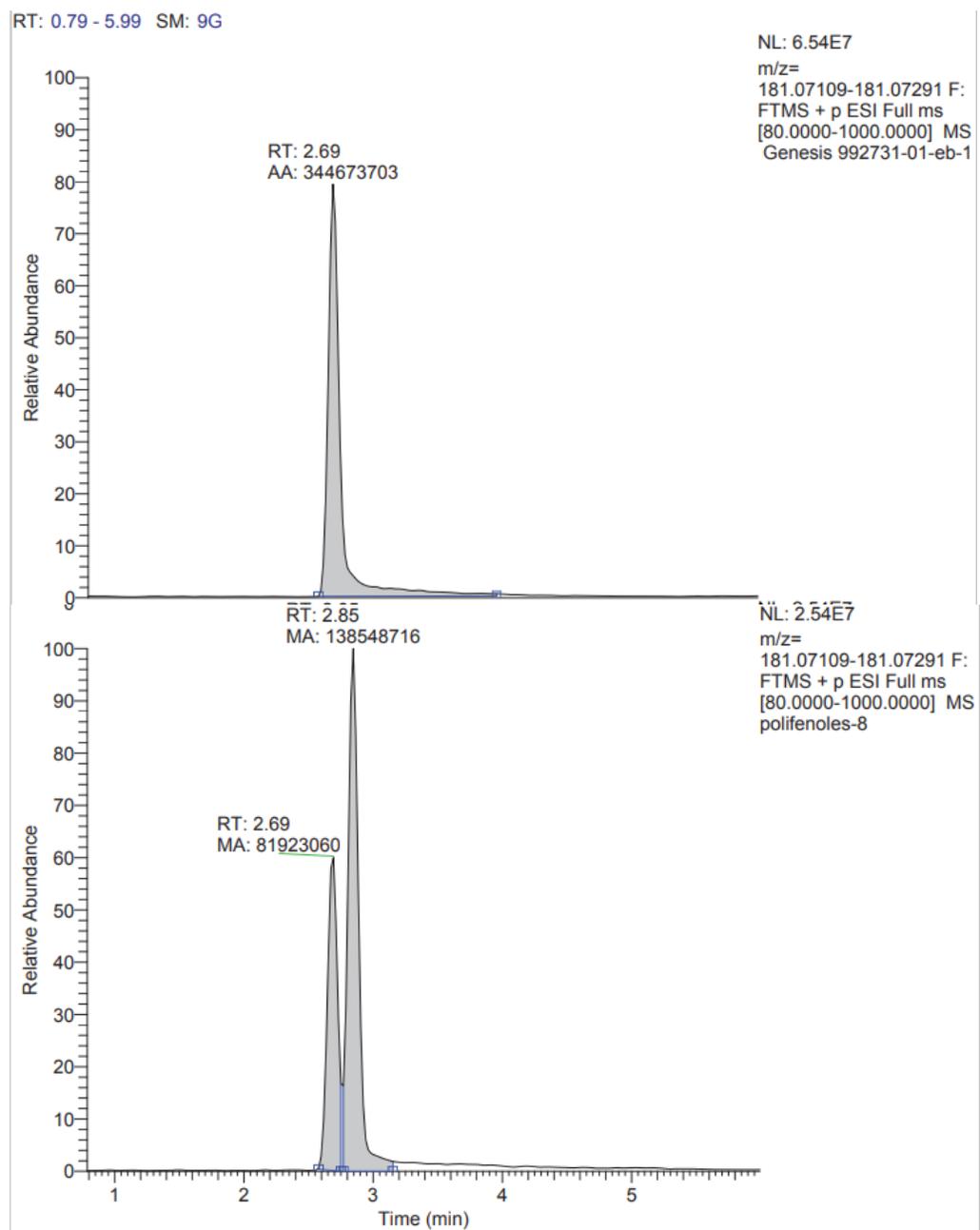
Artículos de actualización. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000200012>

Vásquez-Barajas, F., Eduardo, García-Torres, Emilio, N., Bastos-Osorio, Marcela, L., Lázaro-Pacheco, & Mauricio, J. (2018). Análisis económico del sector cacaoero en Norte de Santander, Colombia y a nivel internacional Economic analysis of the cocoa sector in Norte de Santander State, Colombia and at an international level. *Rev. Investig. Desarro. Innov*, 8(2), 237–250. <https://doi.org/10.19053/20278306.v8.n2.2018.7963>

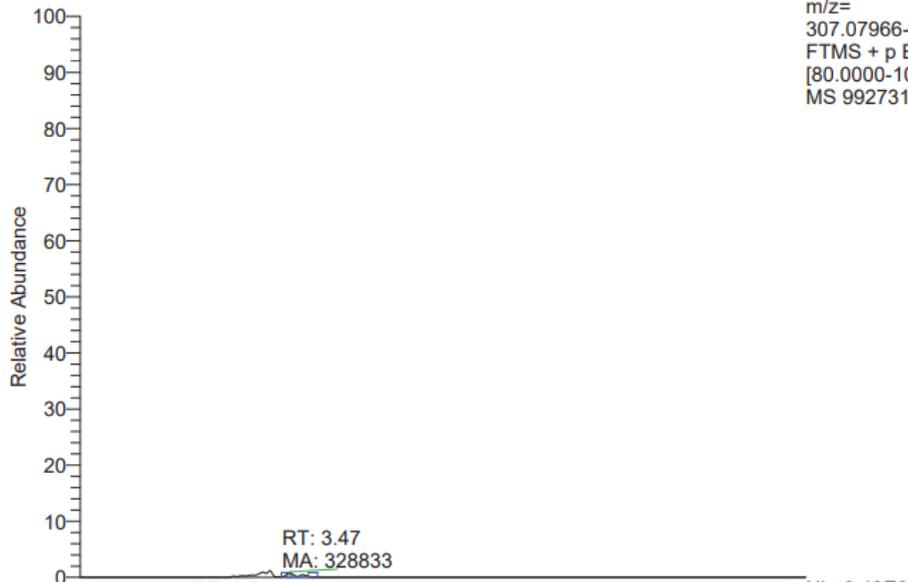
Velioglu, Y.S., Mazza, G.L., Gao and B.D. Oomah, 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4113-4117

Anexos

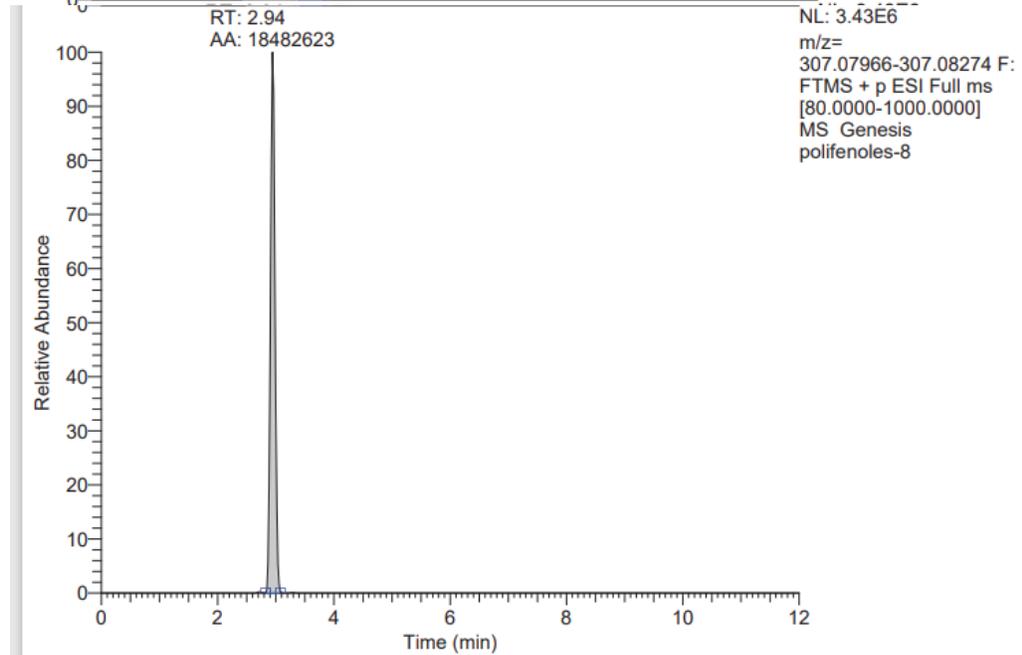
Anexo 1. Fragmentogramas de masas obtenidos por UHPLC-ESI+-Orbitrap-MS de los compuestos de referencia y de extractos de las muestras



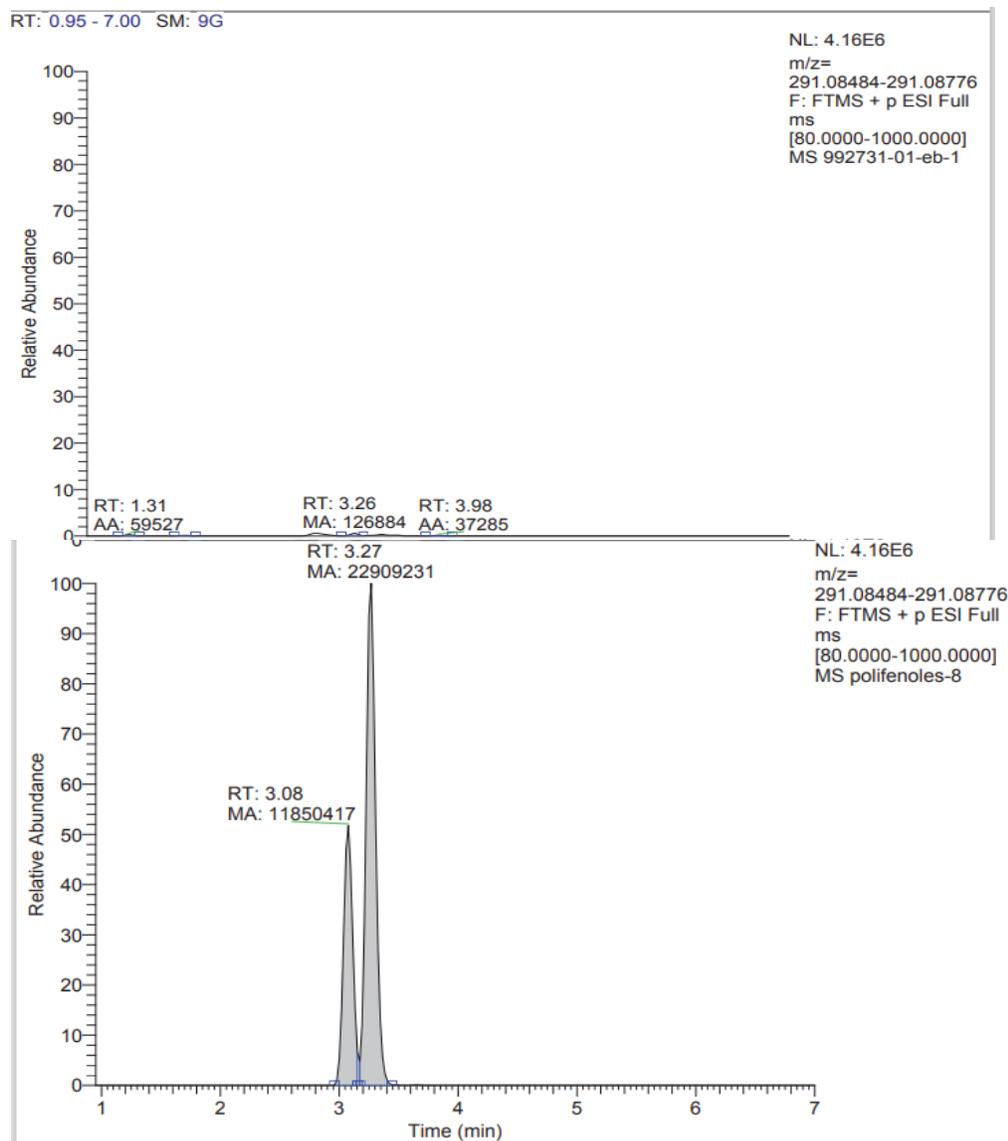
RT: 0.00 - 12.01 SM: 9G

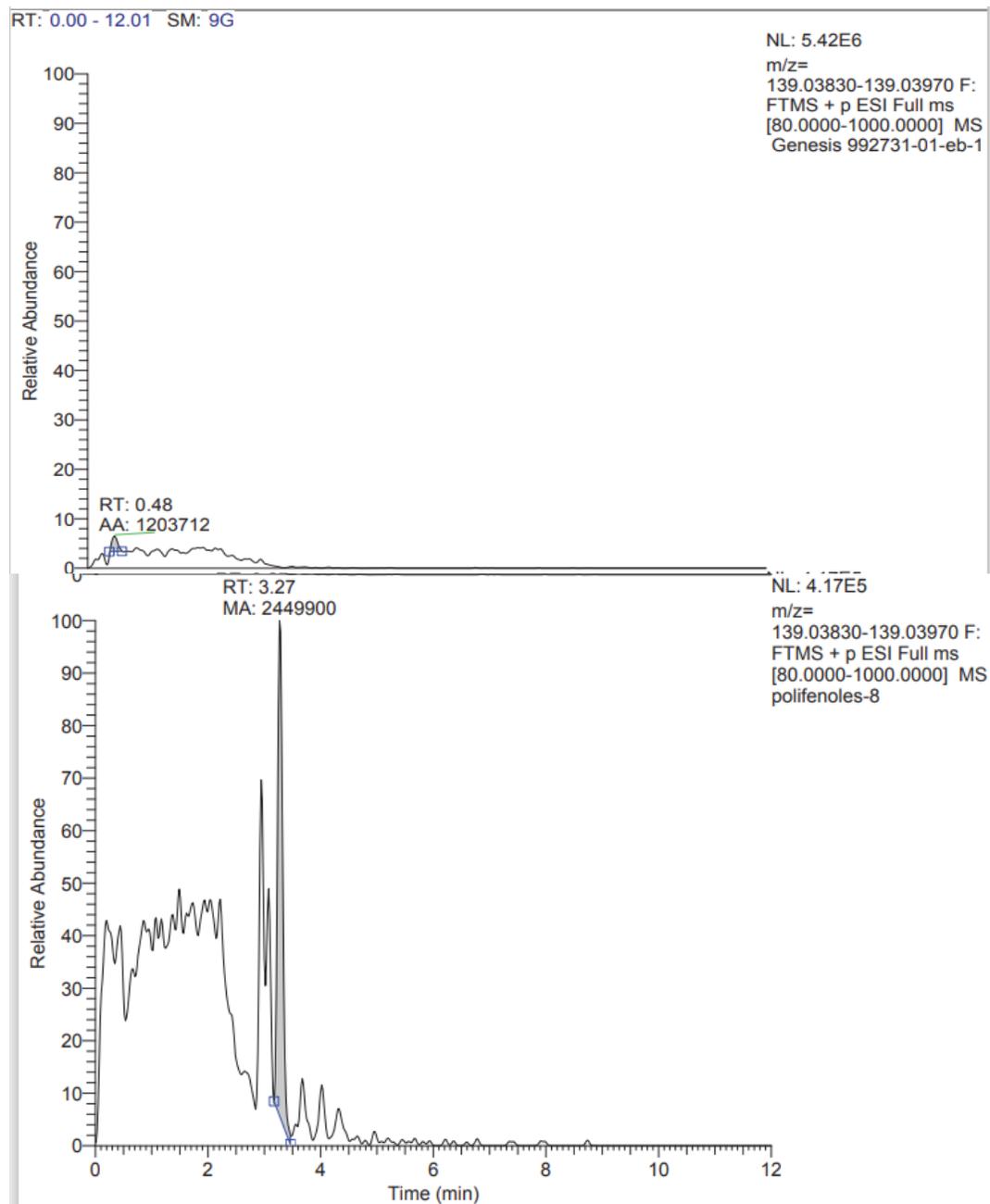


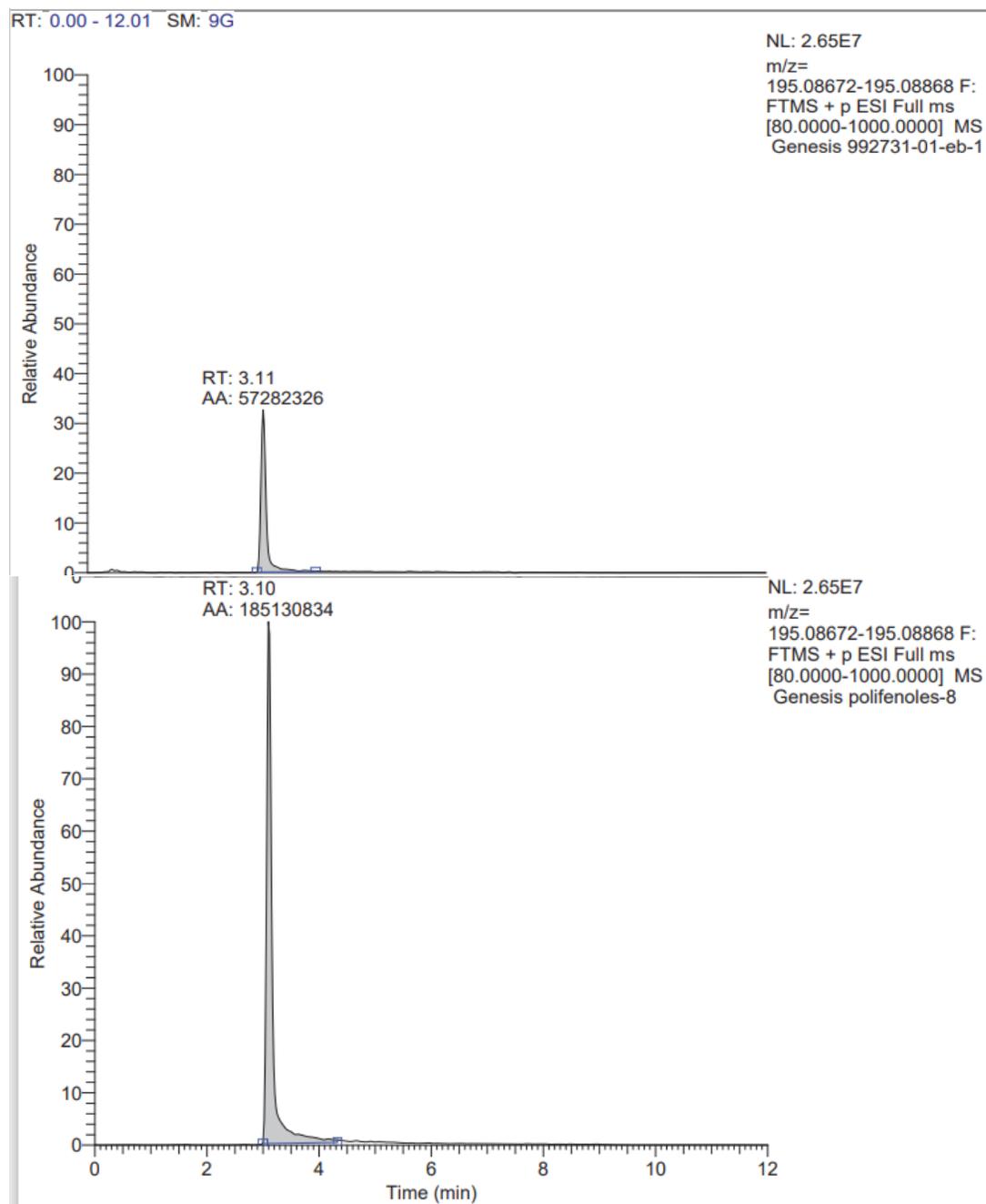
NL: 3.43E6
m/z=
307.07966-307.08274 F:
FTMS + p ESI Full ms
[80.0000-1000.0000]
MS 992731-01-eb-1



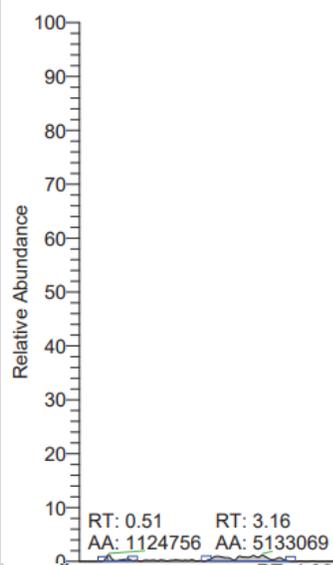
NL: 3.43E6
m/z=
307.07966-307.08274 F:
FTMS + p ESI Full ms
[80.0000-1000.0000]
MS Genesis
polifenoles-8



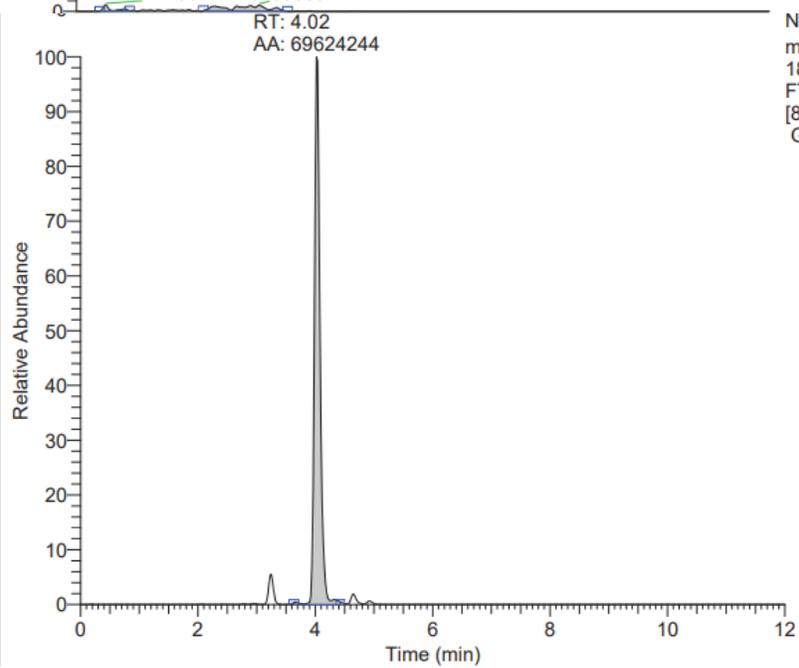




RT: 0.00 - 12.01 SM: 9G



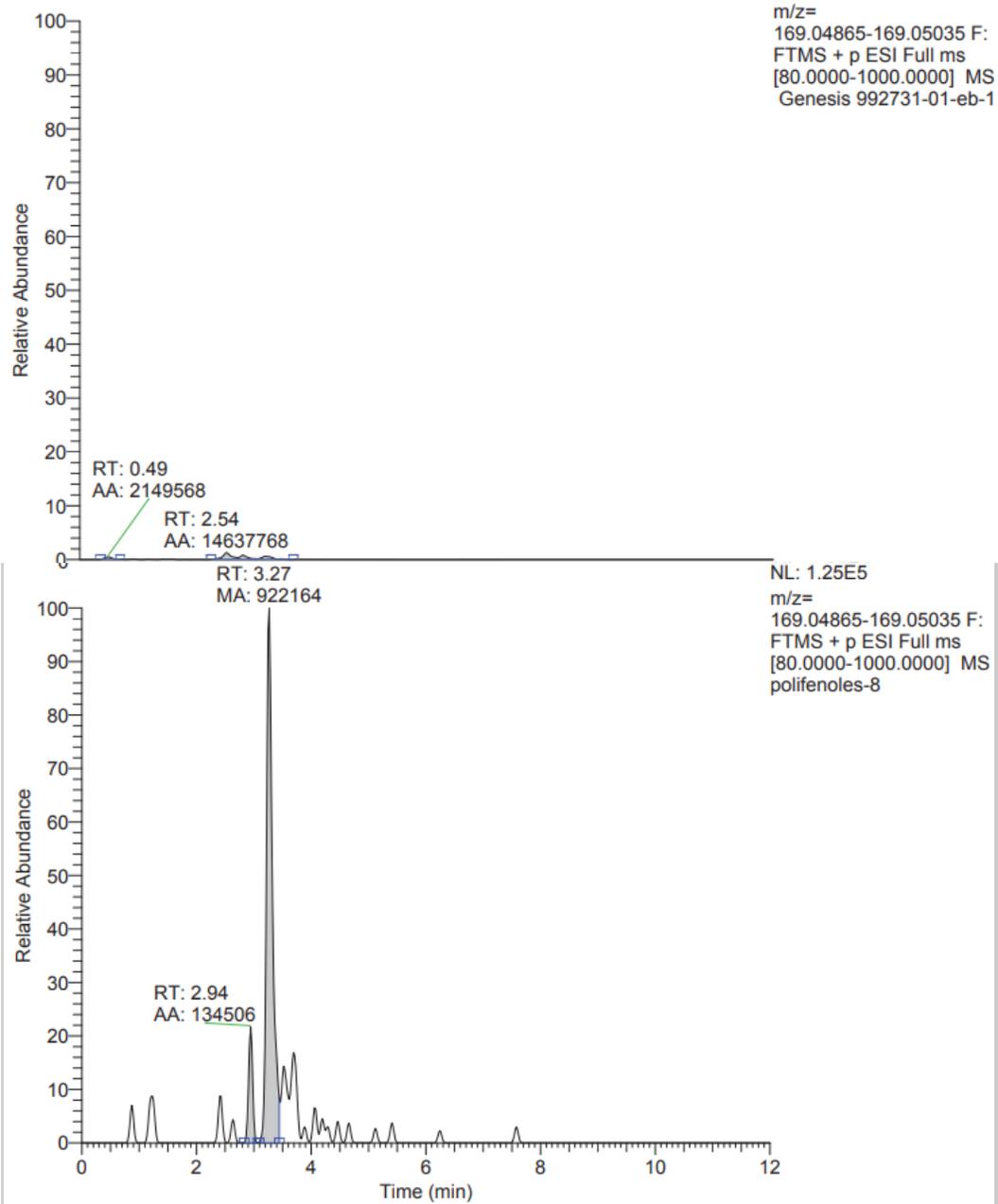
NL: 1.05E7
m/z=
181.04859-181.05041 F:
FTMS + p ESI Full ms
[80.0000-1000.0000] MS
Genesis 992731-01-eb-1



NL: 1.05E7
m/z=
181.04859-181.05041 F:
FTMS + p ESI Full ms
[80.0000-1000.0000] MS
Genesis polifenoles-8

RT: 0.00 - 12.01 SM: 9G

NL: 5.11E7
m/z=
169.04865-169.05035 F:
FTMS + p ESI Full ms
[80.0000-1000.0000] MS
Genesis 992731-01-eb-1



RT: 0.00 - 12.01 SM: 9G

Relative Abundance

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0RT: 3.11
AA: 106656RT: 3.29
AA: 12176912

NL: 2.12E6

m/z=
459.08990-459.09450 F:
FTMS + p ESI Full ms
[80.0000-1000.0000] MS
Genesis 992731-01-eb-1

Relative Abundance

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0

Time (min)

0 2 4 6 8 10 12

NL: 2.12E6

m/z=
459.08990-459.09450 F:
FTMS + p ESI Full ms
[80.0000-1000.0000] MS
Genesis polifenoles-8

