

EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE LA CÁSCARA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)



EVALUATION OF THE CONTENT OF TOTAL PHENOLS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF ETHANOLIC EXTRACTS OF COCOA SHELL (*Theobroma cacao* L.)

Murcia, Karen Sirley; Castañeda, Maria del Rosario

Karen Sirley Murcia

ksmurcia47@misena.edu.co

Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), Pitalito,
Huila, Colombia, Colombia

Maria del Rosario Castañeda

mdcastaneda@sena.edu.co

Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), Pitalito,
Huila, Colombia, Colombia

Revista de Investigación Agraria y Ambiental

Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia

ISSN: 2145-6097

ISSN-e: 2145-6453

Periodicidad: Semestral

vol. 13, núm. 2, 2022

riaa@unad.edu.co

Recepción: 10 Mayo 2021

Aprobación: 20 Septiembre 2021

Publicación: 17 Junio 2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/130/1303297002/>

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4717>

Financiamiento

Fuente: SENNOVA del Centro de Gestión y desarrollo sostenible
Surcolombiano

Nº de contrato: SIGP: 4007 – 2018

Beneficiario: EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE
FENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE
EXTRACTOS ETANÓLICOS DE LA CÁSCARA DE CACAO
(*Theobroma cacao* L.)

<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/about>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

CÓMO CITAR: Murcia, K. y Castañeda, M. (2022). Evaluación
del contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de

Resumen: Contextualización: El fruto de cacao (*Theobroma cacao* L.), se compone de semillas (objeto principal de interés por los productores), placenta y cáscara (residuos agroindustriales) con propiedades desconocidas o desaprovechadas por el agricultor, razón por la cual, son desechadas en los entornos productivos, causando diversos problemas.

Lo anterior, ha conllevado al desarrollo de investigaciones en torno al conocimiento de compuestos con características funcionales, principalmente de la cáscara del cacao por ser el mayor residuo de la postcosecha. La presente investigación evidencia el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante presente en estos residuos.

Vacío de investigación: El desconocimiento de las propiedades de la cáscara residual del cacao y con ello, las metodologías de extracción de estos compuestos, causa un inadecuado manejo de aproximadamente el 80% del fruto de cacao, convirtiéndose en el origen de problemas que afectan la producción, por su depositado en el suelo.

Propósito del estudio: Evaluar el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de extractos etanólicos de cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao* L.) procedentes del departamento del Huila.

Metodología: Se colectaron frutos de cacao de los municipios de Elías, Oporapa y Timana, ubicados en el sur del departamento del Huila, Colombia; Se llevaron al laboratorio de biotecnología de Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible Surcolombiano-sede Yamboró y se caracterizaron físicamente. Luego, se retiró la cáscara del fruto, se llevó a extracción a diferentes concentraciones de solventes y se procedió a cuantificar los fenoles totales por el método de Folín & Ciocalteu y antioxidantes por método DPPH para ser convertidos a coeficiente de inhibición (IC50).

Resultados y conclusiones: Las cáscaras de los frutos resultaron en promedio de 82,95 % del peso total del fruto de cacao tomados de los 3 municipios. El contenido de fenoles totales varió entre 129,91 y 42,62 mg EAG/ g. La capacidad antioxidante frente

extractos etanólicos de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.).
Revista de Investigación Agraria y Ambiental, 13(2), 53 – 65. DOI:
<https://doi.org/10.22490/21456453.4717>

al radical DPPH vario con respecto al IC50 de 4,92 a 12,32 mg/mL. Existió relación entre el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante dependientes del método de extracción, cuantificación y análisis de los mismos.

Palabras clave: Actividad Antioxidante, subproducto, extracción, compuestos fenólicos.

Abstract: Contextualization: The cocoa fruit (*Theobroma cacao* L), is composed of seeds (main object of interest for producers), placenta and shell (agro-industrial waste) with unknown or wasted properties by the farmer, which is why they are discarded in productive environments, causing various problems.

This has led to the development of research on the knowledge of compounds with functional characteristics, mainly the cocoa shell as it is the largest post-harvest residue. The present investigation is evidence of total phenol content and antioxidant capacity present in these residues.

Knowledge gap: Ignorance of the properties of the residual cocoa shell and with it, the extraction methodologies of these compounds, causes an inadequate handling of approximately 80% of the cocoa fruit, becoming the origin of problems that affect the production, by its deposited on the ground.

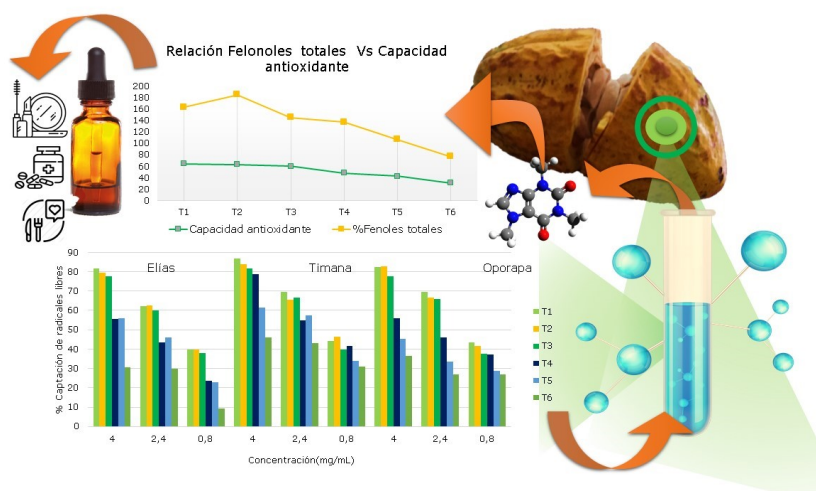
Purpose of the study: To evaluate the content of total phenols and antioxidant capacity of ethanolic extracts of cocoa fruit shells (*Theobroma cacao* L.) from the department of Huila.

Methodology: Cocoa fruits were collected from the municipalities of Elías, Oporapa and Timana, located in the south of the department of Huila, Colombia; They were taken to the biotechnology laboratory of the Centro de Gestion y Desarrollo Sustainable Surcolombiano- Yamboró headquarters and were physically characterized. Then, the fruit peel was removed, it was extracted at different concentrations of solvents and the total phenols were quantified by the Folín & Ciocalteu method and antioxidants by the DPPH method to be converted to the inhibition coefficient (IC50).

Results and conclusions: The fruit shells resulted in an average of 82.95% of the total weight of the cocoa fruit taken from the 3 municipalities. The content of total phenols varied between 129.91 and 42.62 mg EAG / g. The antioxidant capacity against the DPPH radical varied with respect to the IC50 from 4.92 to 12.32 mg/mL. There was a relationship between the content of total phenols and antioxidant capacity depending on the method of extraction, quantification and analysis thereof.

Keywords: Antioxidant Activity, by-product, extraction, phenolic compounds.

RESUMEN GRÁFICO



Autores

1. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) desde su origen Centroamericano, ha sido cultivado principalmente por la obtención del grano, que representa aproximadamente un 10% del peso del fruto fresco (Barazarte et al., 2008). Por ello, la industrialización del cultivo del cacao en su totalidad (incluyendo desechos agroindustriales de la cosecha como cáscaras, aguas mieles, grasas, entre otras), ha sido un camino hacia el desarrollo de productos innovadores, que presenten alta demanda en el mercado nacional e internacional y se han convertido en la materia prima ideal para las industrias que aportan valor a estos subproductos y además son una alternativa de solución a la problemática ambiental generada por este foco de contaminación (Vargas & Pérez, 2018).

Recientemente, el valor de los subproductos agrícolas de frutas como ingredientes alimenticios u otras aplicaciones, están recibiendo una gran atención. El conocimiento de las propiedades, da valor agregado a los mismos y son una puesta en marcha de actividades que ayudan a fortalecer los ingresos de las cadenas agroalimentarias. En la última década han incrementado los estudios sobre el aprovechamiento de compuestos del fruto de cacao diferentes a la semilla, de manera tal, que no se afecta la materia prima de los productos de alta demanda comercial en el mercado como el chocolate, la manteca y sus derivados (Quiñonez et al., 2016).

En la industria cacaotera, el subproducto de resaltar es la cáscara para la producción de nuevos materiales, ya que se generan diez toneladas húmedas de material vegetal por cada tonelada de cacao en grano seco, es decir en promedio entre 16 a 21 mazorcas, para obtener un solo kilogramo de granos de cacao seco, lo que representa un grave problema de disposición y un recurso subexplotado (Vriesmann et al., 2011; Quintana et al., 2015) reflejando la necesidad de transformación de subproductos del cacao.

Hacen más de 2500 años los mayas percibieron que la cáscara poseía propiedades medicinales y terapéuticas (Teneda et al., 2019). Investigaciones recientes han ratificado que ésta es una fuente de compuestos funcionales industriales, farmacéuticos, nutracéuticos y de energía renovable (Martínez et al., 2015; Hutomo et al., 2016; Peñaranda et al., 2017; Campos et al., 2018; Ordoñez et al., 2019); compuestos entre los que se destacan los fenoles como antioxidantes: moléculas que inhiben la formación descontrolada de radicales libres y sus reacciones con estructuras celulares (proteínas, carbohidratos, lípidos y ADN), fuente

de sustancias químicamente inestables que son parte del envejecimiento del organismo humano (Gutiérrez et al., 2007; Martínez et al., 2010).

Los fenoles considerados metabolitos vegetales secundarios, son de gran importancia en la interacción planta-medio; han sido clasificados en flavonoides, isoflavonas, flavonas, flavonoles, flavonoides, flavanonas, chalconas y antocianidinas (Del Rio, 2013; Quiñonez et al., 2016) con un sin número de metodologías para su aislamiento y purificación. Los extractos ricos en compuestos fenólicos, se utilizan en medicina popular como antiséptico, diurético, antiparasitario, antimutagénica, antitumoral, inhibidores de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, la inflamación y antienvjecimiento (Gutiérrez et al., 2007; Us-Medina, 2020; Cereceres et al., 2019; López et al., 2019, Vargas et al., 2020).

Estudios cualitativos y cuantitativos enfocados al aprovechamiento de los subproductos que contengan estos metabolitos, dan fe de la viabilidad de su transformación. De esta manera, la finalidad de la presente investigación es la evaluación del contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de extractos etanólicos de cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao* L.).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Origen geográfico. Se analizaron los frutos maduros procedentes de los municipios Elías, Oporapa y Timana de la región sur del Departamento del Huila, Colombia, ubicados en tres franjas altitudinales diferentes para evaluar el comportamiento del material recolectado (Tabla 1). Se realizó la selección de las fincas cuya tendencia fuera la disponibilidad de genotipos clonales de cacao en los cuales el tipo trinitario TSH-565, fue el único material común identificado en un sondeo a 6 municipios y disponible en los 3 municipios seleccionados, que además contaran con plantaciones en periodo de cosecha entre julio y septiembre.

TABLA 1
Características generales de lugares de muestreo.

Ubicación geográfica	Elías	Oporapa	Timana
Coordenadas	2°00'49"N 75°56'23"O	2°01'23"N 75°59'43"O	1°57'00"N 75°54'50"O
Altitud	1350-1450 msnm	1250-1351 msnm	1100-1251 msnm
Temperatura media	20 °C	17.2 °C	19.7 °C
Precipitación promedio anual	1100 mm	1588 mm	1500 mm

Gobernación del Huila, 2019

Características físicas de fruto. Los frutos de cacao se llevaron al laboratorio de Biotecnología del CGDSS del Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible Surcolombiano Sede Yamboró; se desinfectaron y desgranaron manualmente, luego se determinó la masa total del fruto, se extrajo y peso la pulpa, con placenta y semillas y se tomaron datos del tamaño y diámetro del fruto.

Preparación de extractos: se procedió a hacer la extracción basado en lo propuesto por Jurado et al., (2016), con algunas modificaciones: se lavaron y cortaron las cáscaras y se maceraron durante 5 min. Se tomo como factor diferencial la relación v/v de concentración de etanol al 96% y agua destilada: T1(100:0), T2(80:20), T3 (60:40), T4(40:60), T5(20:80) y T6 (0:100), en un frasco de vidrio ámbar y se agitaron de forma intermitente con ayuda de un vortex durante 15 min, para ser almacenadas a temperatura ambiente en oscuridad durante siete días. Luego, se filtraron y se concentraron en una estufa a 40°C por tres días.

Caracterización de fenoles totales y capacidad antioxidante

Ensayo de Folín-Ciocalteu: La determinación de fenoles totales se realizó siguiendo el método de Folín-Ciocalteu (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999) por espectrofotometría UV, usando ácido gálico (C₇H₆O₅) como estándar, mezclando 450 µL del reactivo de Folín diluido al 10 % v/v y 90 µL de la

solución de las muestras o patrón de la curva de calibración de ácido gálico en un rango de concentración final de 1 a 7,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La mezcla resultante se agitó en vórtex durante 30 segundos y se dejó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Luego se adicionaron 450 μL de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%, se agitó en vórtex durante 30 segundos y se incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 90 minutos. Finalmente se midió la absorbancia a 765 nm. La concentración de fenoles se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por gramos de cáscara de cacao seca (mg EGA/g).

Ensayo de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo): Usado para determinar la actividad antioxidante, se preparó de acuerdo con lo estipulado por Brand Williams, Cuvelier y Berset (1995), una solución de 20 mg/mL de DPPH en metanol y luego se realizaron diluciones en agua destilada de los extractos etanólicos hasta obtener concentraciones de 0,8 a 4 mg/mL. Se mezcló 0,8 mL de cada una de las diluciones con 1,6 mL de la solución de DPPH y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos. Se tomó la absorbancia de la mezcla a 517 nm. Los resultados analizados por triplicado se expresaron como valores de porcentaje de capacidad antioxidante y mg /mL de concentración media inhibitoria (IC_{50}), es decir concentración necesaria de la muestra problema para inhibir el 50% del radical de DPPH (Chaouche et al., 2013).

Análisis estadístico

Se realizó con el software InfoStat versión 2017 y las gráficas se obtuvieron con software Microsoft Excel 2010, los datos obtenidos se sometieron a una prueba de normalidad de Shapiro Wilk, corroborando la distribución normal de los valores. Luego, se efectuó un análisis de varianza (Anova), usando la prueba de comparación múltiple de Tukey ($P \leq 0,05$), previo a ello, se estimó la igualdad de varianzas mediante el ensayo de Levene.

Se evaluaron cinco muestras por tratamiento y cada uno fue realizado por triplicado. Los datos corresponden al promedio de las mediciones. Finalmente, para medir la asociación entre el contenido de polifenoles totales y la concentración media inhibitoria (IC_{50}) por el método DPPH, se aplicó el coeficiente de correlación de Pearson por ser medidas simétricas que no implica causalidad.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características físicas del fruto.

Los frutos de cacao presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$). Aquellos frutos, procedentes del municipio de Timana mostraron los pesos más bajos del peso total, cáscara, granos y placenta, y lo más altos se encontraron en las muestras tomadas del municipio de Elías (Tabla 2). Estas diferencias pueden deberse, a las distintas prácticas agrícolas establecidas en cada sitio de muestreo. Las visitas de observación y recolección de información, evidenciaron diferencias en el manejo de malezas, plagas y enfermedades, podas, fertilizaciones y mantenimiento del cultivo, entre otros factores, apreciándose mayor aplicación de estas prácticas en los sitios de muestreo del municipio de Elías y Oporapa que en el municipio de Timana.

Los resultados evidenciaron que el peso en porcentaje de las cáscaras corresponde a 85.2%, 74.7% y 72.3% del peso total de los frutos procedentes de Elías, Timana y Oporapa respectivamente, los cuales no presentaron diferencias significativas y tratándose del mismo clon evaluado en los municipios, el resultado puede estar relacionadas con las condiciones de climáticas similares (Tabla 1) y edáficas de la zona. No existe relaciones solo entre las características de fruto y las franjas altitudinales de las fincas evaluadas y a pesar de que altura pueda determinar los rangos de temperatura, este es solo un factor secundario del cultivo, pues factores edáficos, agrícolas y climáticos son más determinantes en las plantaciones para desarrollo del cultivo de cacao (Quintana et al., 2015; Velásquez, 2019). Lo anterior, se complementa con los resultados de Martínez (2016), quien encontró diferencias significativas en las características del fruto, resultado de la influencia ejercida por factores climáticos como precipitación y temperatura, variables del suelo y operaciones de manejo del cultivo en el llenado del grano y el tiempo de maduración de los frutos.

Si bien el porcentaje promedio de cáscara hallado en la presente investigación corresponden al 82,9% del total del fruto, se debe tener en cuenta que en el proceso de transformación del grano se generan muchos más residuos del fruto (mucilago, placenta, cascarilla, aguas miles, entre otros); Tan solo del 6% al 10% correspondan al grano (Tabla 2) aprovechado de forma directa; Resultados de Castillo et al. (2018), aproximan este valor con un 8% correspondiente a grano y la cáscara representó el 72,4% de la masa del fruto entero, evidentemente subutilizado, lo que indicó una proporción alta de desechos, residuos voluminosos y de gran masa al que hasta ese momento no se le ha dado la importancia que tiene hoy, por el conocimiento de sus propiedades y características.

TABLA 2
Composición de frutos de cacao evaluados en cada municipio

Municipio	Peso			
	Total de fruto (g)	Cáscara (g)	Granos (g)	Placenta (g)
Elías	812,01 a	692,25 a	79,52 a	40,23 a
Timana	602,93 b	498,8 a	79,67 a	46,46 a
Oporapa	739,12 ab	595,25 a	54,12 b	54,75 a
M	718,02	595,43	71,10	47,15
SD	106,1	96,7	12,01	7,3
Porcentaje total del fruto (%)	100,0	82,9	9,9	6,6

Autores

Promedios con letras distintas, en la misma variable, indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Determinación de Contenido fenólico total

En la Tabla 3, se muestran los resultados de la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, cuyos resultados se expresan en mg EAG/g de muestra. El análisis indica variaciones significativas ($P < 0,05$) entre los extractos etanólicos T1, T2, T3, T4 y T5, T6 de las muestras tomadas en cada municipio (Tabla 3). El mayor contenido de fenoles totales se encontró en el extracto T2: 80/20 del material procedente de municipio de Elías con 129,91 mg EAG/g, mientras que en orden de importancia le siguió el extracto procedente de Oporapa con 121,53 mg EAG/g y el menor contenido fue el extracto de Timana 102,45 mg EAG/g (Tabla 3), es decir, para esta investigación la manera más eficiente de evaluar el contenido de fenoles totales, es con extractos de relación de solventes v/v de 80 % de etanol al 96% y 20% de agua destilada. Valores similares en cuanto fenoles totales, encontró Cuellar (2010), con extractos de cáscara de cacao en acetato de etilo expresados en mg de fenoles totales sobre g de muestra (mg f. totales/g) que resultaron entre 111.38 y 91.64 mg f. totales/g. Valores menores hallados por Villamizar y López (2017), en la evaluación de polifenoles de extractos etanol: agua 50:50 v/v de la cáscara de cacao del clon CCN-51 con 61 mgEAG/g, para simular una planta piloto y sin embargo valores superiores entre $6,3 \pm 0,2$ y $6,6 \pm 0,3$ EAG g/100g encontrados por Ramírez et al. (2013), de los extractos de granos (no de cáscara), de clones de cacao provenientes de México. Teniendo en cuenta las variaciones de unidades de expresión y que se trata de muestras obtenidas de granos procesados y son en base seca, explicarían la variación de datos obtenidos, clave para seleccionar la forma (sólidas, líquidas, viscosas, entre otras) en que se obtendrán los compuestos y el subproducto a tomar del fruto según la finalidad. Hernández y colaboradores, (2018), afirman para el caso de la obtención de polifenoles, existen métodos oscilantes respecto a la eficiencia de captura de estos compuestos, por lo cual en su estudio evalúan diferentes métodos de extracción arrojando resultados similares a este ensayo, los extractos etanólicos con concentraciones de 70/30 etanol y agua destilada dieron valores de 49.46 ± 2.50 mg/gr de muestra seca frente a los 9.40 ± 0.25 mg/g muestra seca de otros métodos en los cuales la regulación de pH con ácidos, fue eficiente a la hora de obtener extractos con alto contenido de polifenoles. Así mismo, Cadena

y Herrera (2008), afirman que los métodos de extracción y procesamiento de los frutos de cacao influyen significativamente en el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de los productos obtenidos, por el sometimiento a diferentes compuestos químicos, altas temperaturas y demás, que dan cabida a la disminución de estos compuestos, factores que deben procurar conservarse de la mayor medida posible.

TABLA 3
Contenido de fenoles totales en extractos de cáscara de cacao

Municipio	T1	T2	T3	T4	T5	T6
	(Mg EAG* / gr de muestra)					
Elías	101,2b	129,91b	103,54b	94,32b	42,62a	49,45a
Timana	82,4b	102,45ab	102,4b	88,32b	59,76a	43,2a
Oporapa	99,34b	121,53b	85,23b	89,19b	63,56a	45,62a
M	94,31	117,96	97,06	90,61	55,31	46,09
SD	10,36	14,07	10,26	3,24	11,16	3,15
%CV	10,43	11,58	12,04	3,64	17,55	6,91

Autores

* EAG: equivalente de ácido gálico

Promedios con letras distintas en los tratamientos de cada municipio, indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Se observa que el extracto etanólicos T2 del fruto proveniente de Elías presentó mayor cantidad de fenoles totales con 129,91 mg EAG/ g y aunque el menor valor obtenido con el extracto T5 es de 42,62 mg EAG /g, sigue siendo un valor muy superior al reportado por Cadena y Herrera (2008), quienes obtuvieron entre 15 mg AG/g y 45 mg AG/g de polifenoles totales en granos de cacao, indicando un porcentaje muy superior del contenido de fenoles de la cáscara frente a los granos aun considerados como fuente rica en antioxidantes (Cadena y Herrera, 2008; Quintana et al., 2015; Fowler y Coutel, 2017), revelando un importante nicho de explotación agroindustrial y fuente de futuras investigaciones enfocadas a la oferta de productos innovadores en la medicina, en la industria manufacturera y alimentaria a base de cáscara de cacao, dado que los compuestos fenólicos, se consideran importantes antioxidantes en la dieta y han sido asociados con efectos en la salud, para la protección de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, y lucha contra el cáncer, enfermedades cardiovasculares y los síntomas de la menopausia, así como, efectos antiinflamatorios y vasodilatadores (Ramírez et al. 2013; Peñarrieta et al. 2014; Sotelo et al., 2015; Teneda et al. 2019). Además, 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, la radiación UV y los depredadores (Peñarrieta et al., 2014), jugando un papel muy importante en la industria agrícola, si se aplicaran metodologías de rigor científico para evaluar el efecto de los extractos fenólicos obtenidos, en el tratamiento fitosanitario o fertilización de diversos cultivos.

Determinación de Capacidad antioxidante

En la tabla 4 se presenta los resultados de la capacidad antioxidante requerido para inhibir el radical DPPH. No se encontró diferencia estadística significativa ($\geq 0,05$) entre los porcentajes de captación de radicales libres de muestras de los municipios, posiblemente debido a las condiciones agroclimáticas son muy similares, afirmación que puede soportarse con la relación del contenido de metabolitos secundarios y la interacción con el medio ambiente que rodea las plantas (Ávalos y Pérez, 2011), reflejo de factores como manejo de podas, riegos, fertilización, suelos entre otros.

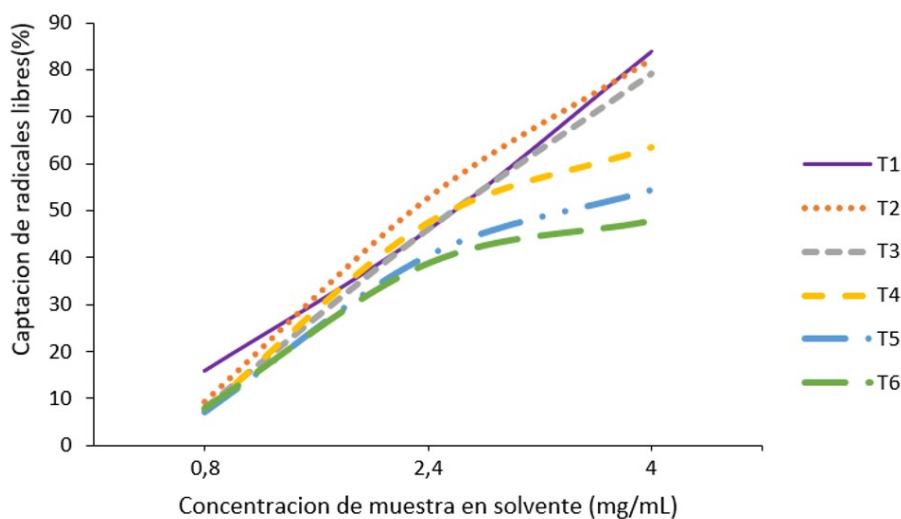


FIGURA 1
 Porcentaje promedio de captación de radicales libres de extractos etanólicos en diluciones con agua destilada

*Las líneas de cada uno de los tratamientos representan el valor promedio de inhibición de DPPH los 3 municipios
 Autores

El porcentaje de captación de radicales libres entre los tratamientos y las concentraciones de extractos en disoluciones con agua destilada, presentaron diferencias significativas con un comportamiento directamente proporcional (figura 1); A medida que aumenta el contenido de extracto etanólico en la discusión con agua destilada, aumenta el porcentaje de capacidad antioxidante de diluciones; resultados similares encontrados por Álvarez et al. (2016), quienes evidenciaron diferencias significas en la evaluación de extractos y su capacidad antioxidante por DPPH, con valores expresados como porcentaje de rendimiento de extracción, con un 20% mejor con solventes etanólicos respecto a los solventes acuosos. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Kang et al. (2003), y López et al. (2010), quienes relacionan la actividad antioxidante, la polaridad de los extractos, las técnicas y metodológicas, como elementos con efecto crítico sobre el rendimiento de extracción, en los cuales, extractos con solventes de mayor polaridad fueron los que presentaron la mayor actividad antioxidante (Kang et al., 2003; López et al., 2010).

TABLA 4
 Porcentajes de captación de radicales y valores de IC50 (mg/mL) en extractos de cáscara de cacao

Extractos (4,0 mg/mL)	Porcentaje de captación de radicales (%)			\bar{X}	IC50(mg/mL)
	Elías	Timana	Oporapa		
T1	81,77	86,99	82,54	83,76	4,92
T2	79,64	83,99	82,87	82,17	4,87
T3	77,77	81,64	77,65	79,02	6,34
T4	55,75	78,77	55,99	63,50	10,54
T5	56,09	61,52	45,43	54,35	12,32
T6	30,56	46,09	36,54	37,73	12,54

Autores

Para obtener los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante y determinación del IC50 (Tabla 4), se tomó la dilución de 4 mg/mL de extracto etanólico en agua destilada por presentar mejor

comportamiento en la expresión de la capacidad antioxidante (Figura 1), entendiendo que los valores en mg/mL de IC50, son la concentración necesaria de la muestra para disminuir en un 50% la concentración inicial de los radicales libres DPPH+ (Jurado et al., 2016), es decir a menor valor de IC50, mayor es la capacidad antioxidante. Se puede observar en la tabla 4 que el mejor valor IC50(4,92 mg/mL) corresponde al extracto obtenido con 100% etanol y valor inferior IC50(12,54 mg/mL) con el extracto de agua destilada; A mayor concentración de etanol, mayor porcentaje de captación de radicales libres.

Por otro lado, los porcentajes de captación de radicales libres oscilaron entre 30,56 % a 86,99 %, son superiores a los datos de Ramírez, et al. (2013), de 34 extractos de semilla de cacao, donde la más alta fue de 52,5 %. Los métodos de procesamiento de las semillas como sometimiento a productos químicos, altas temperaturas y reducción del contenido de humedad, disminuyen la capacidad antioxidante de la semilla (Ramírez, et al., 2013)

Finalmente, se evalúa la relación de fenoles totales con la actividad antioxidante; La figura 2 evidencia como los compuestos fenólicos presentaron un comportamiento similar a la actividad antioxidante frente a los extractos evaluados. En el análisis conjunto del total de muestras de la relación v/v de los extractos, se encontró una correlación inversa entre el contenido de polifenoles totales (mg EAG/g) y la actividad antioxidante IC50. El coeficiente de determinación R2 fue 72,5%, indicando alto grado de asociación entre los dos ensayos; por tanto, existe mayor presencia de polifenoles totales en las muestras a mayor actividad antioxidante o menor IC50; Los fenoles se destacan por poseer actividad antioxidante reafirmando lo descrito por Bowler et al. (1994), quien encontró que se trata de compuestos capaces de oxidarse a sí mismos para retardar, inhibir y prevenir las reacciones de oxidación de las moléculas (Bowler et al., 1994).

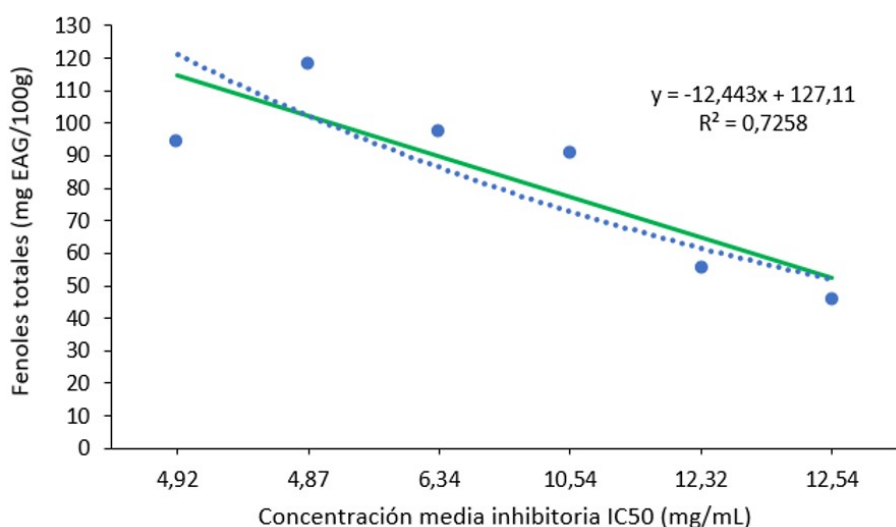


FIGURA 2

Correlación de fenoles totales (mg EAG/100g) vs capacidad antioxidante expresada IC50 (mg/mL)

*Cada punto representa los extractos tomados como tratamientos por la concentración v/v etanol/agua

Autores

4. CONCLUSIONES

Las cáscaras de los frutos resultaron en promedio de 82,95 % del peso total del fruto de cacao tomados de los 3 municipios. El extracto 80:20 v/v etanol al 96% y agua destilada, presenta el mejor comportamiento del compuesto fenólico total y la dilución 4 mg/ml presenta los mayores valores con 81,77 % de captación de radicales, reflejo de la actividad antioxidante determinada por el método DPPH. El contenido de fenoles totales varió entre 129,91 y 42,62 mg EAG/100 g. La capacidad antioxidante frente al radical DPPH vario

con respecto al IC50 de 4,92 a 12,32 mg/m. Existió correlación inversa entre el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante con coeficiente de determinación R² 72,5%, los cuales son dependientes del método de extracción, cuantificación y análisis de los mismos.

AGRADECIMIENTOS

A SENNOVA del Centro de Gestión y desarrollo sostenible Surcolombiano, por la financiación del proyecto bajo el radicado SIGP: 4007 – 2018. A Liliana Marcela Moreno, por su dedicación y tiempo utilizado para el planteamiento del proyecto. A Camilo Villegas Yepes, por su apoyo y dedicación en la lectura y aplicación de protocolos de análisis de polifenoles y capacidad antioxidante. A Ligia Gasca Torres, por su apoyo en la gestión de aprendices del semillero de investigación, que participaron de la ejecución del proyecto. A los aprendices de contrato, del semillero de investigación de sistemas sostenibles agropecuario por su apoyo en el procesamiento de las muestras. Al Centro de gestión y desarrollo sostenible Surcolombiano sede Yamboró por la confianza y credibilidad para permitir el acceso a los laboratorios y equipos que dieron lugar a la ejecución de este proceso de investigación. A los agricultores de cacao de los municipios de Elías, Timana y Oporapa por su disposición y proporción de las muestras de cacao utilizadas para el presente proyecto.

LITERATURA CITADA

- Álvarez-Gómez, F., Korbee, N. & Figueroa, F.L. (2016). Análisis de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en extractos macroalgales y liquénicos mediante la aplicación de diferentes solventes y métodos de evaluación. *Ciencias marinas*, 42(4), 271-288. <https://doi.org/10.7773/cm.v42i4.2677>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 20, 25-30
- Barazarte, H., Sangronis, E. y Unai, E. (2008). Cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.): una posible fuente comercial de pectinas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58 (1), 64-70. Recuperado en 11 de octubre de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222008000100009&lng=es&tlng=en
- Bowler, C., Van Camp, W., Van Montagu, M. & Inzé, D. (1994). Superoxide dismutase in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13(3), 199-218.
- Cadena, T. & Herrera, Y. M. (2008). Evaluación del efecto de procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante (Tesis pregrado). Universidad industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Castillo, Eury., Alvarez, C. y Contreras, Y (2018). Caracterización fisicoquímica de la cáscara del fruto de un clon de cacao (*theobroma cacao* l.) Cosechados en Caucagua estado Miranda. Venezuela. *Revista de Investigación*, 42 (95), 154-175. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=3761/376160247008>
- Campos-Vega, R., Nieto-Figueroa, K. & Oomah, D. (2018). Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 172-184, ISSN 0924-2244. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.022>
- Cuellar, O.A. (2010). Obtención del extracto polar etanol: agua (1:1) de la cáscara de cacao y evaluación de su actividad antibacteriana. (Tesis tecnólogo). Universidad tecnológica de Pereira. Colombia.
- Cereceres-Aragón, A., Rodrigo-García, J., Álvarez-Parrilla, E. & Rodríguez-Tadeo, A. (2019). Ingestión de compuestos fenólicos en población adulta mayor. *Nutrición Hospitalaria*, 36(2), 470-478. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.2171>
- Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Ksouri, R., Medini, F., El-Haci, I.A., Boucherit, Z., Sekkal, F. & Arik-Bekara, F. (2013). Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of phenolic extract of *Prasiummajus* L.. *Free Radicals and Antioxidants*, 3, 43-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fra.2013.03.004>

- Fowler, M.S. y Coutel, F. (2017). Granos de cacao: del árbol a la fábrica. En Fabricación y uso de chocolate industrial de Beckett (eds ST Beckett, MS Fowler y GR Ziegler). pp. 9-49. <https://doi.org/10.1002/9781118923597.ch2>
- Gutiérrez Zavala, Á., Ledesma Rivero, L., García, I. & Grajales Castillejos, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública*, 33(1) http://sciel.o.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662007000100008
- Gobernación del Huila, (2019). Contexto de los componentes Físico, Socio-ecosistémico y Socioeconómico Anexo 1 de la memoria técnica de Evaluación de Tierras. Pap 78
- Hernández-Hernández, C., Viera-Alcaide, I., Morales-Sillero, A., Fernández-Bolaños, J. & Rodríguez-Gutiérrez, G. (2018). Bioactive compounds in Mexican genotypes of cocoa cotyledon and husk. *Food Chemistry*, 240, 831-839. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.018>
- Hutomo, GS, A. Rahim y S. Kadir (2016). Pectin Isolation from Dry Pod Husk Cocoa with Hydrochloride Acid. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5 (11), 751 – 756. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.511.086>
- Jurado T. B., Aparcana A., I., Villarreal I. L., Ramos L. E., Calixto C. m., Hurtado M. P. & Acosta A. K. (2016). Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82(3), 272-279. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X201600030003&lng=es&tlng=es
- Kang G.D., Yunk C.K. & Lee H.S. (2003). Screening and comparison of antioxidant activity of solvents extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology*; 87: 231-236. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00142-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00142-9)
- López, A., Rico, M., Rivero A. & Suárez de Tangil, M. (2010). The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, 125(3), 1104-1109. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.101>
- López-Muñoz, N., Romero-Bastidas, M., Arce-Amézquita, P.M. & Hernández-Rubio, J. (2019). Actividad antifúngica de antioxidantes derivados de cuatro cultivares de *Capsicum* spp. contra hongos fitopatógenos. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(18), 487-498. <https://doi.org/10.19136/era.a6n18.2174>
- Martínez, N. (2016). Evaluación de componentes físicos, químicos, organolépticos y del rendimiento de clones universales y regionales de cacao (*Theobromacacao* L.) en las zonas productoras de Santander, Arauca y Huila. Universidad Nacional de Colombia (Tesis de Maestría). <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/56670>
- Ordoñez, E., Leon-Arevalo, A., Rivera-Rojas, H., & Vargas, E. (2019). Cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y semilla de cacao (*Theobroma cacao* L.), tuna (*Opuntia ficus indica* Mill), uva (*Vitis Vinífera*) y uvilla (*Pourouma cecropiifolia*). *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 175-183. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.02>
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J.L., Bravo, J. A. (2014) Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31, (2), 68-81.
- Quintana Fuentes, L. F., Gómez Castelblanco, S., García Jerez, A., & Martínez Guerrero, N. (2015). Caracterización de tres índices de cosecha de cacao de los clones CCN51, ICS60 e ICS 95, en la montaña santandereana, Colombia. *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, 6(1), 252 - 265. <https://doi.org/10.22490/21456453.1284>
- Ramírez González, M. B., Cely Niño, V. H. y Ramírez, S. I. (2013). Actividad antioxidante de clones de cacao (*Theobroma cacao* l.) Finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas México. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 15(1), 27-40. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-41082013000100002&lng=en&tlng=es
- Singleton, V., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-179.
- Sotelo C., L., Alvis B., A. & Arrázola P., G. (2015). Evaluación de epicatequina, teobromina y cafeína en cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.), determinación de su capacidad antioxidante. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 9(1), 124-134. <https://doi.org/10.17584/rcch.2015v9i1.3751>

- Peñaranda-Gonzalez, L. V., Montenegro-Gómez, S. P. & Giraldo-Abad, P. A. (2017). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(2), 141–150. <https://doi.org/10.22490/21456453.2040>
- Us-Medina, U., Millán-Linares, M. C., Arana-Argaes, V. E., & Segura-Campos, M.R. (2020). Actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de extractos de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst). *Nutrición Hospitalaria*, 37(1), 46-55. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.02752>
- Vargas-Corredor, Y. & Perez-Perez, L. (2018). Aprovechamiento De Residuos Agroindustriales En El Mejoramiento De La Calidad Del Ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 14(1), 59–72. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3108>
- Vargas, R., Martínez, E., Hernández, J., Torrescano, G. & Sánchez, A. (2020). Effect of physicochemical properties and phenolic compounds of bifloral propolis on antioxidant and antimicrobial capacity. *Nova scientia*, 12(24). <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2134>
- Villamizar-Jaimes A.R. y López-Giraldo, L.J. (2017). Cáscara de cacao fuente de polifenoles y fibra: simulación de una planta piloto para su extracción. *Respuestas*, 22(1), 75-83.
- Velásquez, A. (2019). Análisis de la cadena de cacao en la provincia de los ríos, Ecuador, *Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana*, 1-17. <https://www.eumed.net/rev/oel/2019/11/cadena-cacao-ecuador.html>

ENLACE ALTERNATIVO

<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/4717> (html)

<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/4717/5603> (pdf)