

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

**Contenido de antocianinas, carotenoides y capacidad antioxidante
de la cáscara del fruto de cuatro variedades de *Theobroma cacao* L.
“cacao” - Ayacucho.**

**Para optar el título profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:
Bach. Levi SUMARI ASENCIOS**

**ASESOR:
Dr. Q.F. Enrique Javier AGUILAR FELICES**

AYACUCHO - PERÚ

2026

A Dios y a mis padres Ana María y Nolberto por ser mi mayor motivo e inspiración a seguir adelante, de igual manera, a mis hermanas Noemi y Brenda por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por ser mi *alma mater* casa de estudios y haberme acogido en sus aulas durante los cinco años de permanencia, llenos de aprendizaje.

A la Facultad de Ciencias de la Salud en específico a mi apreciadísima Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, y al conjunto de docentes que conforman, por brindarme sus conocimientos en mi formación profesional.

A mi asesor Dr. Q.F. Enrique Javier, AGUILAR FELICES, por su valioso tiempo, orientación, dedicación, paciencia y apoyo incondicional durante el desarrollo del trabajo de investigación.

A mis amigos (as), que me apoyaron con sus consejos, que de alguna manera me motivaron a seguir cumpliendo mis metas.

ÍNDICE GENERAL

	Página
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. DESARROLLO DE LA PERSPECTIVA TEÓRICA	3
2.1. Marco Referencial	3
2.1.1. Antecedentes internacionales	3
2.1.2. Antecedentes nacionales	4
2.1.3. Antecedentes locales	6
2.2. Marco Teórico	8
2.2.1. <i>Theobroma cacao</i> L “Cacao”	8
2.2.2. Compuestos fenólicos	14
2.2.3. Antocianinas	16
2.2.4. Carotenoides	17
2.2.5. Radicales libres	17
2.2.6. Antioxidantes	18
2.3. Marco Conceptual	19
2.4. Marco ético y legal	20
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Alcance de investigación	21
3.2. Diseño de investigación	21
3.3. Unidad de análisis	21
3.4. Población de estudio	21
3.5. Muestra y tamaño de Muestra	21
3.6. Criterios de Selección	22
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	22
3.7.1. Recolección de la muestra	22
3.7.2. Preparación de la muestra	22

3.7.3. Obtención del extracto metanólico	23
3.7.4. Determinación del contenido de fenoles totales	23
3.7.5. Determinación del contenido de antocianinas	23
3.7.6. Determinación del contenido de carotenoides	24
3.7.7. Determinación de la capacidad antioxidante	24
3.8. Análisis de Datos	25
3.9 Consideraciones éticas.	25
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	26
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	33
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	39
CAPITULO VII. RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	47

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Grupos de cacao y su distribución geográfica	9
Tabla 2 Metabolitos primarios de los subproductos del fruto de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L)	9
Tabla 3 Metabolitos secundarios de los subproductos del fruto de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L)	10
Tabla 4 Composición mineral de los subproductos del fruto de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L)	10
Tabla 5 Propiedades farmacológicas de la planta de <i>Theobroma cacao</i> L. “cacao”	10
Tabla 6 Usos medicinales de las semillas de <i>Theobroma cacao</i> L. “cacao”	11
Tabla 7 Características de las variedades del fruto de cacao del VRAEM	13
Tabla 8 Compuestos fenólicos en el fruto de cacao “ <i>Theobroma cacao</i> L”.	15
Tabla 9 Núcleo y derivados de las antocianinas	16
Tabla 10 Beneficios terapéuticos de los carotenos	18
Tabla 11 Porcentaje de actividad antioxidante para el radical DPPH y ABTS de la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L.	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1	Estructura química de la cianidina 3- O- glucósido 17
Figura 2	Estructura química del β – caroteno 17
Figura 3	Contenido de fenoles totales en la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. 26
Figura 4	Contenido de antocianinas en la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. 27
Figura 5	Contenido de carotenoides en la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. 28
Figura 6	Actividad secuestradora del radical libre DPPH en la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. 29
Figura 7	Actividad secuestradora del radical libre ABTS en la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. 30
Figura 8	Potencial reductor antioxidante del hierro FRAP en la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. 31

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1 Constancia de clasificación taxonómica.	48
Anexo 2 Constancia de las características agronómicas de variedades de cacao	49
Anexo 3 Preparación de las muestras de las variedades de las cáscaras del fruto de cacao.	51
Anexo 4 Obtención del extracto metanólico.	52
Anexo 5 Procedimiento para la determinación de fenoles totales	53
Anexo 6 Procedimiento para determinar el contenido de antocianinas.	54
Anexo 7 Procedimiento para determinar el contenido de carotenoides.	55
Anexo 8 Procedimiento para la determinación de la capacidad secuestradora del radical libre DPPH.	56
Anexo 9 Procedimiento para la determinación de la capacidad secuestradora del radical libre ABTS	57
Anexo 10 Procedimiento para la determinación del potencial reductor antioxidante del hierro FRAP	58
Anexo 11 Preparación de la solución madre y las diluciones de los extractos	59
Anexo 12 Prueba de fenoles totales por el método de Folin - Ciocalteu	60
Anexo 13 Curva de calibración del ácido gálico.	60
Anexo 14 Determinación del contenido de antocianinas para pH 1,0	61
Anexo 15 Determinación del contenido de antocianinas para pH 4,5	62
Anexo 16 Prueba de contenido de carotenoides	63
Anexo 17 Curva de calibración del β – caroteno.	63
Anexo 18 Prueba de determinación de la capacidad secuestradora de DPPH	64
Anexo 19 Curva de calibración del Trolox para determinar la actividad secuestradora del DPPH.	64
Anexo 20 Prueba de determinación de la actividad secuestradora del ABTS	65

Anexo 21	Curva de calibración del Trolox para la determinación de la actividad secuestradora del ABTS.	65
Anexo 22	Prueba de determinación del potencial reductor antioxidante del hierro FRAP.	66
Anexo 23	Curva de calibración del Trolox para la determinación del potencial reductor antioxidante del hierro FRAP.	66
Anexo 24	Análisis de varianza del contenido de fenoles totales	67
Anexo 25	Prueba de comparaciones múltiples de Scheffé del contenido de fenoles totales.	67
Anexo 26	Análisis de varianza para el contenido total de antocianinas.	67
Anexo 27	Prueba de comparaciones múltiples de Scheffé del contenido total de antocianinas.	68
Anexo 28	Análisis de varianza para el contenido total de carotenoides.	68
Anexo 29	Prueba de comparaciones múltiples de Scheffé del contenido total de carotenoides.	68
Anexo 30	Análisis de varianza de la actividad secuestradora de DPPH.	69
Anexo 31	Prueba complementaria de Scheffé de la actividad secuestradora de DPPH.	69
Anexo 32	Análisis de varianza de la actividad secuestradora de ABTS.	69
Anexo 33	Prueba complementaria de Scheffé de la actividad secuestradora de ABTS.	70
Anexo 34	Análisis de varianza del Poder Antioxidante Reductor del Hierro FRAP.	70
Anexo 35	Prueba complementaria de Scheffé del Poder Antioxidante Reductor del Hierro.	70
Anexo 36	Análisis de varianza del porcentaje de actividad secuestradora del radical DPPH (%).	71
Anexo 37	Prueba complementaria de Scheffé del porcentaje de actividad secuestradora del radical DPPH (%).	71
Anexo 38	Análisis de varianza del porcentaje de actividad secuestradora del radical ABTS (%).	71

Anexo 39	Prueba complementaria de Scheffé del porcentaje de actividad secuestradora del radical ABTS (%).	72
Anexo 40	Matriz de operacionalización de variables	73
Anexo 41	Matriz de consistencia	74

RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao* L.), viene a ser un producto básico en la elaboración del chocolate, en el cual, se desechan las cáscaras en gran cantidad, por tanto, es importante aprovechar estos subproductos y ayudar a reducir la producción de residuos sólidos, conllevando así, a su aprovechamiento sostenible mediante la obtención de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes. Esta investigación tuvo como objetivo determinar el contenido de fenoles totales por el método de Folin - Ciocalteu, antocianinas por el pH diferencial, carotenoides según Biswas y col.; y su capacidad antioxidante mediante los métodos de DPPH, ABTS y FRAP en la cáscara del fruto, respectivamente. Las variedades analizadas fueron: criollo (VRAE – 52), trinitario (VRAE – 15), forastero amazónico – chuncho (VRAE – 2) y trinitario (VRAE – 81) procedentes del VRAEM y se obtuvieron extractos metanólicos. La variedad trinitario (VRAE – 15) presentó mayor contenido de fenoles totales (825,22 mg GAE/g), antocianinas (2,52 mg de cianidina-3-glucosido/g), carotenoides (18,27 µg de β - caroteno/g de extracto), así mismo, para su capacidad antioxidante por los tres métodos: DPPH (802,13 µM ET/g), ABTS (651,31 µM ET/g) y FRAP (1956,40 µM ET/g). En conclusión, la variedad trinitario (VRAE – 15) presentó mayor contenido de fenoles totales, antocianinas, carotenoides y de capacidad antioxidante.

Palabras clave: *Theobroma cacao* L, antocianinas, carotenoides, fenoles totales, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Cacao (*Theobroma cacao* L.) is a key ingredient in chocolate production, a process in which large quantities of husks are discarded. Therefore, it is important to make use of these byproducts and help reduce the generation of solid waste, thereby promoting their sustainable utilization through the extraction of bioactive compounds with antioxidant properties. The objective of this study was to determine the content of total phenols using the Folin-Ciocalteu method, anthocyanins using the differential pH method, carotenoids according to Biswas et al., and their antioxidant capacity using the DPPH, ABTS, and FRAP methods in the fruit husks, respectively. The varieties analyzed were: Criollo (VRAE – 52), Trinitario (VRAE – 15), Amazonian Forastero – Chuncho (VRAE – 2), and Trinitario (VRAE – 81) from the VRAEM, and methanolic extracts were obtained. The Trinitario variety (VRAE–15) exhibited the highest content of total phenols (825.22 mg GAE/g), anthocyanins (2.52 mg cyanidin-3-glucoside/g), and carotenoids (18.27 µg of β-carotene /g of extract), as well as higher antioxidant capacity by all three methods: DPPH (802.13 µM ET/g), ABTS (651.31 µM ET/g), and FRAP (1956.40 µM ET/g). In conclusion, the Trinitario variety (VRAE – 15) exhibited higher levels of total phenols, anthocyanins, carotenoids, and antioxidant capacity.

Keywords: *Theobroma cacao* L, anthocyanins, carotenoids, total phenols, antioxidant capacity.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El “cacao” *Theobroma cacao* L, se establece en uno de los cultivos de mayor importancia económica y agroindustrial a nivel mundial debido a su utilización en la producción del chocolate, sin embargo, durante su procesamiento se producen grandes cantidades de subproductos que son desechados como residuos, entre ellos, los más significativos se encuentran la cáscara del fruto de cacao, que representa entre el 67 % - 76 %, el mucílago el 8,7 – 9,9 % y la cáscara de la semilla el 2,1 – 2,3 % , sin ningún aprovechamiento (Sotelo, 2025).

En los últimos años el interés por la valorización y aprovechamiento de estos residuos es mayor, debido a la necesidad de reutilizar la cáscara como fuente de antioxidantes, que contribuirían a la neutralización de los radicales libres y disminuir el estrés oxidativo, tan importante en la salud humana. Así mismo, favorecería la reducción de la contaminación ambiental, se promovería el uso responsable de los recursos, y por último contribuir a la sostenibilidad de la industria del cacao (Belwal *et al.*, 2022).

Por otro lado, distintos estudios demuestran que la cáscara posee compuestos fenólicos, entre los cuales, se destacan las proantocianidinas (58 %), flavonoles (37 %) y antocianinas (4 %), así como, también flavonoides, taninos, carotenoides, antocianinas y compuestos químicos con actividad antioxidante, además, por sus propiedades farmacológicas: antialérgicas, antiaterogénicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes, antitrombóticas, cardioprotectoras y vasodilatadoras, respectivamente; que pueden ser aprovechadas en diferentes industrias, entre ellos, la farmacéutica y la alimentaria (Cádiz *et al.*, 2020).

Por ello, el objetivo de este estudio tiene como finalidad evaluar los compuestos bioactivos de la cáscara del fruto de cacao cultivadas en el Valle del Río Apurímac, Ene

y Mantaro (VRAEM) de cuatro variedades que comúnmente se le conoce como residuo, mediante métodos estandarizados, además la investigación contribuirá al conocimiento de sus propiedades medicinales, farmacológicas y su capacidad antioxidante, con el fin de revalorizarlos como fuente potencial de compuestos bioactivos, dentro de un enfoque de la economía circular.

Para lo cual, se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

Determinar el contenido de antocianinas, carotenoides y la capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de *Theobroma cacao* L. “cacao”.

Objetivos Específicos

- Precisar el contenido de fenoles totales del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades.
- Cuantificar el contenido de antocianinas del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades.
- Determinar el contenido de carotenoides del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades por los métodos del DPPH, ABTS y FRAP.

CAPÍTULO II. DESARROLLO DE LA PERSPECTIVA TEÓRICA

2.1. Marco Referencial

2.1.1. Antecedentes internacionales

Aguirre (2022), determinó el contenido de antioxidantes (antocianinas, carotenoides, polifenoles y flavonoides) y la actividad antioxidante de la cáscara de fruto de cacao (*Theobroma cacao* L.) del clon CCN - 51 y Complejo Nacional x Trinitario, para la evaluación de la actividad antioxidante utilizó los métodos ácido 3 - etilbenzotiazolina – 6 - sulfónico (ABTS) y poder antioxidante reductor del hierro (FRAP), para la determinación de antocianinas utilizó el método de pH diferencial y de carotenoides por espectrofotometría UV – vis, respectivamente. La variedad complejo nacional x trinitario de obtuvo mayor contenido de carotenoides (8090, 25 µg/g), sin embargo, el clon CCN – 51 presentó mayor contenido para fenoles totales (38,13 mg AGE/g), y actividad antioxidante para ABTS (489,41 µM TE/g) y FRAP (169,67 µM TE/g), respectivamente. Concluyó que, la variedad complejo Nacional x Trinitario posee mayor contenido de carotenoides, mientras que, el Clon CCN – 51 tuvo mayor capacidad antioxidante.

Alemán (2019), determinó la concentración de carotenoides totales y β – caroteno de cuatro variedades: ECU 8768, ECU 1144, ECU 8552 y ECU 1107 de mashua (*Tropaeolum tuberosum* R) deshidratada por métodos de liofilizado y secado, para la determinación de carotenoides totales utilizó el método espectrofotométrico a 450 nm y para β – caroteno por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés). La variedad ECU 8768 obtuvo mayor contenido de carotenoides totales por ambos métodos: secado en bandeja con aire ($14,53 \pm 0,09$ mg/100 g de muestra seca) y liofilizado ($40,89 \pm 0,24$ mg/100 g de muestra seca) respectivamente, así también, demostró tener mayor contenido para la concentración de β – caroteno, ($19,067 \pm 0,13$ mg/100 g de muestra seca). Concluyó que, la liofilización es el mejor método de deshidratación para obtener mayor concentración de carotenoides.

Sotelo et al. (2015), evaluaron el contenido de epicatequina, teobromina y cafeína en las cáscaras del fruto de cacao del clon TSH 565, para lo cual, utilizaron el método Folin - Ciocalteu para determinar el contenido de polifenoles totales y para la evaluación de su capacidad antioxidante, mediante los métodos de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC por sus siglas en inglés), FRAP y ABTS; y para el contenido de epicatequina, teobromina y cafeína por HPLC. Obtuvieron un alto contenido de polifenoles (16,40 - 23,01 EAG/g) y por el método ORAC, mostró mayor capacidad antioxidante (25150,94 - 34292,71 $\mu\text{m TE}/100\text{ g}$), mientras que, los resultados obtenidos por HPLC fueron para epicatequina (0,2482 - 0,3505 mg/g^{-1}), cafeína (0,0209-0,0427 mg/g^{-1}) y la teobromina (0,0200-0,0375 mg/g^{-1}), respectivamente. Concluyeron que, las cáscaras del fruto de cacao poseen un alto contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

Ramírez et al. (2013), determinaron la capacidad antioxidante, el contenido de polifenoles totales y de lípidos en tres grupos de clones de cacao originario de Chiapas (México). Prepararon extractos con 34 semillas de cacao de cada clon y fueron diluidas al 95 % en metanol, para su clasificación de acuerdo al pH en tres categorías: I (5, 52 - 5, 90), II (5,91 - 6,28) y III (6,29 - 6,67), para ello, utilizaron el método de Folin-Ciocalteu para la determinación del contenido de polifenoles, el método DPPH para evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de lípidos totales por el método de AOAC (Association of Official Analytical Chemists, por sus siglas en inglés). El Grupo I demostró tener menor contenido calórico (26,3 $\pm$ 3,6 % de lípidos), mayor actividad antioxidante (52,5 $\pm$ 16,0 EC_{50}) y contenido de polifenoles (6,6 $\pm$ 0,32 EAG/100 g de muestra seca). Concluyeron que, el grupo I con menor pH de las semillas del fruto de cacao presentan mayor actividad antioxidante y fenoles totales.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Ordoñez et al. (2020), realizaron la cuantificación del contenido de fenoles totales, antocianinas y la caracterización sensorial del licor y de las semillas del fruto de cacao de cinco clones de cacao “chuncho” por dos sistemas de fermentación: tradicional y micro fermentación. Los clones fueron: “señorita”, “achoccha”, “pamuco”, “común” y “SHU-1”, para el cual, utilizaron el método Folin - Ciocalteu para determinar el contenido de fenoles totales y el método de pH diferencial para el contenido de antocianinas. El licor del clon “señorita” por fermentación tradicional,

obtuvo mayor contenido de fenoles totales ($18,614 \pm 0,105$ mg EAG/g) y del clon “achoccha” en semillas del fruto de cacao, mostró mayor contenido de antocianinas ($0,123 \pm 0,001$ mg cianidina – 3 – glucósido/g). Concluyeron que, el licor del clon “señorita”, presentó mayor contenido de fenoles totales, mientras que, el clon “achoccha”, mayor contenido de antocianinas, respectivamente.

Murillo (2018), determinó el efecto de reemplazar la harina de cáscara del fruto de cacao de la variedad criollo y el clon CCN - 51 en las características fisicoquímicas sensoriales y compuestos bioactivos en galletas dulces; para el contenido de polifenoles totales utilizó la técnica de Folin Ciocalteu, la actividad antioxidante por el método DPPH, el contenido de antocianinas por el método de pH diferencial y el contenido de carotenoides por espectrofotometría UV-vis, respectivamente. La harina de cáscara de cacao criollo, mostró mayor contenido de polifenoles totales (69,53 mg AGE/g de muestra), carotenoides ($7,90 \pm 0,09$ mg carotenos/100 g muestra), antocianinas ($1,43 \pm 0,14$ mg cianidina – 3 – glucósido/g) y actividad antioxidante ($IC_{50} = 60,30 \pm 2,09$ μ g/mL). Concluyó que, la harina de cáscara de cacao criollo presentó un alto contenido de polifenoles, carotenoides, antocianinas y mayor actividad antioxidante a diferencia del clon CCN – 51.

Burgos et al. (2016), evaluaron el contenido de antocianinas totales y la capacidad antioxidante *in vitro* de extractos a diferentes grados etanólicos (96, 70, 50 y 30 °) del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. “arándano”, para el cual, utilizaron el método de pH diferencial para determinar el contenido de antocianinas y para la evaluación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH a una solución etanólico a 0,1 mM. Los extractos etanólicos de 96° y 70° mostraron mayor contenido de antocianinas totales (0,0301 mg/mL y 0,0157 mg/mL cianidina – 3 – glucósido) y actividad antioxidante (47,12 % y 43,46 %), respectivamente. Concluyeron que, existe relación entre el contenido de antocianinas totales y la capacidad antioxidante *in vitro* en los extractos a diferentes grados alcohólicos del fruto de arándano.

Orfa et al. (2014), cuantificaron el contenido de polifenoles totales, antocianinas, determinaron la capacidad antioxidante en las semillas de cacao y realizaron el análisis sensorial del licor de la variedad criollo y siete clones de la variedad forastero (SCA - 6, IMC - 67, P – 12) y trinitario (CCN - 51, ICS - 1, ICS - 95 y TSH - 1188), para el cual, utilizaron el método de Folin Ciocalteu para determinar el

contenido de polifenoles totales, el contenido de antocianinas por método del pH diferencial y la capacidad antioxidante con los ensayos de DPPH y ABTS. El clon SCA – 6 obtuvo mayor contenido de polifenoles totales ($5,72 \pm 0,045$ g EAG/100 g de muestra seca), mientras que, el clon CCN – 51 y variedad criollo obtuvieron mayores contenidos de antocianinas ($0,425 \pm 0,003$ y $0,424 \pm 0,004$ mg cianidina – 3 – glucósido/g de muestra seca), respectivamente y el clon ICS – 95 mostró mayor capacidad antioxidante ($IC_{50} = 73,29 \pm 0,9$ μ g/mL) para DPPH y el clon SCA – 6 ($IC_{50} = 33,04 \pm 0,69$ μ g/mL) para ABTS, respectivamente. Concluyeron que, el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante estuvo influenciado por el grupo genético que pertenece el cacao.

Rebatta (2013), evaluó la actividad antioxidante e identificó los compuestos fenólicos de las fracciones alcohólicas de la corteza de *Theobroma obovatum*. El fraccionamiento fue realizado mediante cromatografía de columna y de capa fina, para la evaluación de la actividad antioxidante utilizó el método DPPH y para la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC. Obtuvo 19 fracciones alcohólicas, de las cuales, la fracción 10 mostró mayor contenido de polifenoles totales ($30,88 \pm 0,0478$ EC g/100 g de muestra) y capacidad antioxidante (90 %), así mismo, en esta fracción se determinó el contenido de ($41,97$ g de ácido clorogénico/100 g de muestra). Concluyó que, la fracción 10 presentó mayor contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante respecto a las otras fracciones alcohólicas.

2.1.3. Antecedentes locales

Zamora (2024), determinó el contenido de fenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante en la cáscara del fruto *Theobroma cacao* L, de las variedades criollo y trinitario procedentes del Valle del Rio Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM), para ello, utilizó el método de Folin – Ciocalteu para determinar el contenido de fenoles totales, para flavonoides por el método de tricloruro de aluminio y la determinación de la capacidad antioxidante por los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP. La variedad criolla obtuvo mayor contenido de fenoles totales ($124,90 \pm 2,71$ mg GAE/g), flavonoides ($58,25 \pm 3,89$ mg QE/g) y actividad antioxidante para DPPH ($235,09 \pm 2,34$ μ mol ET/g), ABTS ($395,29 \pm 2,44$ μ mol ET/g) y FRAP ($564,37 \pm 3,64$ μ mol ET/g). Concluyó que, el extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de la variedad criolla

contiene mayor contenido de fenoles totales, flavonoides y alta capacidad antioxidante a diferencia de la variedad trinitaria.

Terraza, (2023), determinó el contenido de antocianinas y la actividad antioxidante de los frutos de *Sambucus nigra* L. de los distritos de: Pacaycasa, Tambillo, Jesús Nazareno y Carmen Alto, para el cual, utilizó el método Folin – Ciocalteu para la determinación de fenoles totales, para el contenido de antocianinas por el método de pH diferencial y la actividad antioxidante por el método de DPPH. Los frutos de *S. nigra* del distrito de Pacaycasa mostró mayor contenido de fenoles totales ($71,1 \pm 1,67$ mg GAE/g), antocianinas ($3679,9 \pm 12,39$ g de cianidina – 3 – glucósido/100 g) y actividad antioxidante ($EC_{50} = 20,80$ µg/mL). Concluyó que, existe variación en el contenido de antocianinas y la actividad antioxidante de los frutos de *S. nigra* según el lugar de procedencia.

Alfaro (2019), evaluó el contenido total de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de dos especies del género *Berberis*: *Berberis flexuosa* “ayrampu” y *Berberis lutea* “tankar”. Cuantificó el contenido de antocianinas por el método de pH diferencial y para la evaluación de la capacidad antioxidante, utilizó el método de DPPH. *Berberis flexuosa*, mostró mayor contenido de fenoles totales (34,1mg EAG/g), y antocianinas (13,25 mg/100 g cianidina – 3 – glucósido/g), mientras que, *Berberis lutea* obtuvo mayor capacidad antioxidante ($EC_{50} = 4,59 \pm 0,11$ µg/mL). Concluyó que, el extracto atomizado de *B. flexuosa* tiene mayor contenido de antocianinas y fenoles a diferencia de *B. lutea* que presenta alta capacidad antioxidante.

Palomino (2018), estudió el contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”, para lo cual, utilizó el método de Folin- Ciocalteu para la determinación del contenido de fenoles totales, el método de pH diferencial para el contenido antocianinas y para la evaluación de la capacidad antioxidante por los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP. Mostró alto contenido de fenoles totales (216,0 mg EAG/g de muestra), antocianinas (75,47 mg/100 g de cianidina – 3 – glucósido/g de muestra) y su capacidad antioxidante fue para DPPH ($EC_{50} = 80,6 \pm 0,85$ µg/mL), ABTS ($EC_{50} = 244,6 \pm 3,93$ µg/mL) y FRAP ($EC_{50} = 64,8 \pm 3,09$ µg/mL), respectivamente. Concluyó que, el extracto atomizado de *B. naudinii* tiene compuestos bioactivos con propiedad antioxidante.

2.2. Marco Teórico

2.2.1. *Theobroma cacao* L “Cacao”

2.2.1.1. Clasificación taxonómica

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE : DILLENIDAE

ORDEN : MALVALES

FAMILIA : STERCULIACEAE

GENERO : *Theobroma*

ESPECIE : *Theobroma cacao* L

N. V. : “cacao”

Fuente: Certificado emitido por la bióloga Laura Aucasime Medina (**Anexo 1**)

2.2.1.2. Sinonimia

- *Theobroma cacao*f. *Leiocarpum* (Bernoulli) Ducke.
- *Theobroma cacao*f. *Pentagono* (Bernoulli) Cuatrec.
- *Theobroma cacao subsp. leiocarpum* (Bernoulli) Cuatrec.
- *Theobroma cacao subsp. pentagonum* (Bernoulli) León.
- *Theobroma cacao subsp. sativa* (Aubl.) León.
- *Theobroma cacao subsp. sphaerocarpum* (A. Chev) Cuatrec (WFO, 2020).

2.2.1.3. Descripción botánica. El cacao es una especie diploide, de porte alto de ciclo vegetativo perenne, crece y se desarrolla bajo la sombra en bosques tropicales húmedos. Presenta una raíz principal pivotante. El tallo es ortotrópico. Las hojas son enteras con ápice acuminado o romo; simétricas en el brote ortotrópico y asimétricas en las ramas plagiotrópicas. Las flores son hermafroditas, pentámeras, completas y perfectas. El fruto es una baya de tamaño variable entre 10 – 42 cm, puede ser oblonga, elíptica, ovada, obovada, esférica y oblata, presenta superficie lisa o rugosa de color rojo o verde al estado inmaduro. Las semillas son ovalada y ligeramente aplanada de tamaño variable, entre 1,2 a 3 cm de longitud protegidas con un mucílago de diferentes sabores y aromas, grados de acidez, dulzura y astringencia (García , 2008).

2.2.1.4. Distribución geográfica. El cacao es originario de las selvas tropicales de América Central y México, situándose en la península de Yucatán, Guatemala, Belice, El Salvador y Honduras (Barbéran *et al.* , 2011). Se extiende desde la región amazónica incluyendo bosques tropicales de Perú, Ecuador, Colombia, Bolivia, Brasil, Venezuela y Guyana, se localizan especialmente en bosques inundados, suelos neutrales a aluviales, a temperatura media anual de 20 – 30 °C y precipitaciones de 2000 a 6000 mm/año, a una altitud inferior a los 1000 msnm. Además, estudios recientes en el sur del Perú señalaron que el cacao soporta estaciones secas y puede desarrollarse a altitudes superiores hasta 1400 msnm (Nieves *et al.* , 2023). (Tabla 1)

Tabla 1.

Grupos de cacao y su distribución geográfica

Variedad	Grupo de cacao	Distribución geográfica
Criollo	Criollo	América Central, Colombia y Venezuela.
Forastero	Amazonas o Forastero del Alto Amazonas	Perú, Ecuador, Colombia, Bolivia y Brasil.
	Guyanas o Forastero del Bajo Amazonas	Guyanas, Venezuela, Surinam, Guyana Francesa y Brasil.
Trinitario	Trinitario	Cruce de Forastero Bajo Amazonas y Criollo de Venezuela

Fuente: García , (2008)

2.2.1.5. Composición química. Se han identificado la composición química de los metabolitos primarios (Tabla 2), los metabolitos secundarios (Tabla 3), de los subproductos de cacao así también, la composición mineral (Tabla 4).

Tabla 2.

Metabolitos primarios de los subproductos del fruto de cacao (Theobroma cacao L.).

Compuestos	Cáscara del fruto	Pulpa del fruto	Cáscara de semilla
Carbohidratos	29,04 – 32,30	10,70 – 68,35	17,80 – 23,17
Celulosa	24,24 – 35,00	20,80 – 57,50	15,10
Hemicelulosa	8,72 – 11,00	7,00 – 17,00	-
Lignina	14,60 – 26,38	12,00 – 14,60	32,41
Pectina	6,10 – 9,20	0,57 – 1,50	0,57 – 1,50
Fibra dietética total	36,60 – 56,10	16,89	18,60 – 60,60
Proteínas totales	4,21 – 10,74	0,41 – 5,56	15,79 – 18,10
Lípidos	1,50 – 2,24	1,91 – 3,54	2,02 – 6,87
Minerales(mg/100g)	3230,85	1297, 07	56,75 – 312,57

Fuente: Soares & Oliveira, (2022)

Tabla 3.

Metabolitos secundarios de los subproductos del fruto de cacao (Theobroma cacao L).

Compuestos	Cáscara del fruto	Pulpa de fruto	Cáscara de semilla
Fenoles totales*	4,60 – 6,90	-	1,32 – 5,78
Antocianinas**	-	-	0,40
Teobromina	0,34	-	1,30
Cafeína	-	-	0,10
Taninos	5,20	-	3,30 – 4,46
Flavonoles**	-	-	1,50

Fuente: Soares & Oliveira, (2022)

Tabla 4.

Composición mineral de los subproductos del fruto de cacao (Theobroma cacao L).

Minerales (mg/100 g)	Cáscara del fruto	Pulpa del fruto	Cáscara de semilla
Ca	254,00	171,50	230,00 – 440,00
Cu	6,18	-	2,35 – 6,622
Fe	5,80	-	27,60 – 80,50
K	2768,00	950,00	1250,00 – 1820,00
Mg	100,90	82,50	480,00 – 1290,00
Mn	35,72	-	4,53
Na	10,60	30,50	16,00 – 192,20
P	-	62,47	580,00 – 1000,00
Se	0,01	-	0,21
Zn	39,74	-	2,75 – 19,00

Fuente: (Soares & Oliveira, 2022)

2.2.1.6. Estudios farmacológicos. Se reportan diversos estudios farmacológicos en la semilla, cáscara y hojas de *Theobroma cacao* L. “cacao”, tal como se muestra en la (Tabla 5).

Tabla 5.

Propiedades farmacológicas de la planta de Theobroma cacao L “cacao”.

Partes de la planta de cacao	Actividad Farmacológica	Referencias
Semilla	Antioxidante, antiinflamatoria	Edo <i>et al.</i> (2023)
Cáscara del fruto	Antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobianas.	Sotelo <i>et al.</i> (2015), Santos <i>et al.</i> (2014)

Partes de la planta de cacao	Actividad Farmacológica	Referencias
Hojas	Antidiabéticas, antimicrobiana y antiinflamatorias.	Edo <i>et al.</i> (2023)
Cáscara de la semilla.	Antimicrobiana	Fideles <i>et al.</i> (2023)

2.2.1.7. Usos medicinales. Se reportan diversos usos medicinales de las semillas del fruto de *Theobroma cacao* L “cacao”, así como se muestra en la (Tabla 6).

Tabla 6.

Usos medicinales de las semillas de Theobroma cacao L “cacao”.

Usos	Fundamento
Estimulante del sistema nervioso.	Debido a la presencia de feniletilamina, que actúa en el cerebro produciendo un estado de bienestar emocional y de euforia.
Mejora el estado de ánimo.	Incrementa la producción de endorfinas hormona encargado de mejorar el estado de ánimo.
Estimulante del sistema digestivo.	Actúa como un excelente estimulante en el sistema digestivo.
Contra el estreñimiento.	Por ser un alimento ideal para tonificar y estimular el sistema digestivo como un alivio natural.
Salud cardiovascular.	Es rico en antioxidantes, capaz de prevenir la acción negativa de los radicales libres y la degeneración de las células.
Piel y contra la celulitis.	Presenta una actividad anticelulítica, antioxidante e incluso suavizante.

Fuente: Riego, (2016)

2.2.1.8 Variedades del cacao.

a. Criollo. Tiene origen en América Central Precolombina siendo la primera variedad conocida en Europa, presenta lento crecimiento y de bajo rendimiento, susceptible a enfermedades y plagas, su fruto es dulce y produce chocolates menos amargos de mejor calidad, su sabor es delicado suave y complejo, es exclusivamente demandado en el mercado más exigente del mundo y solo representa el 5 % a 8 % de producción mundial debido a que el cultivo es difícil y por ser propenso a plagas (Riego, 2016). Las semillas tienden a poseer un contorno redondeado y presentan cotiledones blancos o de color púrpura. Las plantas jóvenes se logran identificar por la presencia de

cotiledones verdes y sus peciolo con una disposición opuesta horizontalmente. Los frutos suelen poseer una cáscara blanda y delgada con un nivel de pigmentación roja (Umaharan, 2018).

b. Forastero. Es de origen de Alta amazonia de mayor producción en los países de África y Asia. Es más resistente, poco aromático usualmente se usa para mezclar y dar cuerpo al chocolate, considerado como cacao ordinario nativo de Brasil, Perú, Bolivia y Colombia. Representa el 80 % y 85 % de producción mundial, es un cacao fuerte y amargo, ligeramente ácido, contiene mucho tanino y astringencia tiene excelente rendimiento resistente a enfermedades (Riego, 2016). Frecuentan producir semillas de color púrpura, cuando maduran, las cáscaras son duras y amarillas, asumen una forma redondeada, contienen 30 o más semillas (Umaharan, 2018).

c. Trinitario. Es un híbrido entre el criollo y el forastero originario de la isla de Trinidad, es más aromático que el forastero y más resistente que el criollo. Representa entre el 10 % y 15 % de la producción mundial, las variedades híbridas pueden clasificarse en un promedio de 50 tipos, dentro de ellos una variedad importante es el cacao CCN-51 por presentar alta productividad por hectárea, resistente a plagas y enfermedades y posee alto porcentaje de grasa muy cotizado por la industria (Riego, 2016). Presentan cáscaras duras y de color variable, algunas variedades de trinitario originan semillas de cacao con sabores específicos (Umaharan, 2018).

2.2.1.9 Variedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en el VRAEM. Cabe señalar que en el VRAEM se cultivan las variedades de: Forastero amazónico – chuncho (VRAE – 2), trinitario (VRAE – 15), criollo (VRAE – 52) y trinitario (VRAE – 81), las cuales, presentan diferentes características tanto de en su cáscara y semillas (**Anexo 2**), así como, se observa en la (Tabla 7).

Tabla 7.*Características de las variedades del fruto de cacao del VRAEM*

Variedades	
VRAE – 15	1. Cáscara Color fruto inmaduro: Violeta ligero Color fruto maduro: Amarillo naranja Forma del fruto: Oblongo Forma del ápice: Atenuado Constricción basal: Ligera Rugosidad: Ligero Profundidad de surco: Superficial 2. Semillas Color de semilla: Morado Tamaño Semilla: Intermedia Sección longitudinal: Irregular Sección transversal: Intermedia 
VRAE – 81	1. Cáscara Color fruto inmaduro: Violeta ligero Color fruto maduro: Amarillo naranja Forma del fruto: Oblongo Forma del ápice: Atenuado Constricción basal: Intermedia Rugosidad: Intermedia Profundidad de surco: Intermedio 2. Semillas Color de semilla: Morado Tamaño Semilla: Intermedia Sección longitudinal: Irregular Sección transversal: Aplanada 
VRAE – 52	1. Cáscara Color fruto inmaduro: Verde ligero Color fruto maduro: Amarillo ligero Forma del fruto: Oblongo Forma del ápice: Atenuado Constricción basal: Intermedia Rugosidad: Ligero Profundidad de surco: Superficial 2. Semillas Color de semilla: Morado oscuro Tamaño Semilla: Grande Sección longitudinal: Irregular Sección transversal: Aplanado 

VRAE - 2	1. Cáscara	
	Color fruto inmaduro: Verde ligero	
	Color fruto maduro: Amarillo intenso	
	Forma del fruto: Oblongo	
	Forma del ápice: Apezonado	
	Constricción basal: Ausente	
	Rugosidad: Intermedia	
	Profundidad de surco: Intermedio	
	2. Semillas	
	Color de semilla: Morado oscuro	
	Tamaño Semilla: Intermedia	
	Sección longitudinal: Irregular	
	Sección transversal: Aplanada	

Fuente: Thomas *et al.*, (2023)

2.2.1.10 Valorización de los subproductos del fruto de cacao (*Theobroma cacao* L.). El cacao es un fruto oriundo de las regiones subtropicales, entre los residuos más característicos se encuentra la cáscara de cacao, que representa entre el 67 % - 76 %, el mucilago el 8,7 – 9,9 % y la cáscara de la semilla el 2,1 – 2,3 %. Aunque la cáscara de cacao se considera un residuo agroindustrial, contiene compuestos bioactivos valiosos, entre sus diversos compuestos fenólicos, destacan la teobromina, la catequina y la epicatequina, así también por sus propiedades antioxidantes de gran relevancia farmacéutica, la convierte en un área muy importante de investigación. La cáscara es rica en materiales fibrosos contiene entre 19,7 % - 26,1 % de celulosa, 8,7 % - 12,8 % de hemicelulosa, 14 % - 28 % de lignina y 6,0 % - 12,6 % de pectina. La valorización de los subproductos ayuda a minimizar el impacto ambiental y fortaleciendo al desarrollo de productos de alto valor agregado para la industria alimentaria, farmacéutica y otros sectores (Sotelo *et al.* , 2025).

2.2.2. Compuestos fenólicos

Son metabolitos secundarios más ampliamente distribuido entre diferentes especies vegetales, provienen de las rutas de la pentosa fosfato, el shikimato y el fenilpropanoides. Son caracterizados por presentar en su estructura química un anillo aromático que posee uno o más grupos hidroxilos (Morandi *et al.* , 2019). Se clasifican en flavonoides, estilbenos, ligninas y ácidos fenólicos de acuerdo a sus diferentes estructuras, números de anillos fenólicos y tipo de enlace molecular, tienen capacidad antioxidante sobre la salud inhibiendo el proceso oxidativo al eliminar radicales libres

y ROS previniendo enfermedades por estrés oxidativo, cáncer y diabetes (Shi *et al.* , 2022).

2.2.2.1. Compuestos fenólicos en el fruto de cacao “*Theobroma cacao* L”.

Se evidencian la presencia de metabolitos secundarios tanto en las semillas y cáscara del cacao, tales como, flavan - 3 - oles, catequinas, flavonoles, ácidos fenólicos, antocianinas, alcaloides purinicos y estilbenos, tal como se muestra en la (Tabla 8).

Tabla 8.

Compuestos fenólicos en el fruto de cacao “Theobroma cacao L”

Nº	Clasificación	Compuesto	Partes del fruto	Ref.
1	Flavan – 3 – oles	Procianidina B1	Cáscara y	Rebollo <i>et al.</i> (2021) Barberán <i>et al.</i> (2011.)
		Procianidina B2	Semillas	
		Procianidina A2		
		Procianidina B4		
		Procianidina B5		
2	Catequinas	(-) – epicatequina	Cáscara de la semilla	Soares & Oliveira, (2022)
		(+) - catequina		
		Epicatequina - (4 β $\rightarrow$ 8) catequina		
		Epicatequina - (4 β $\rightarrow$ 8) epicatequina		
3	Flavonoles	Quercetina – 3 – O - galactósido	Cáscara y Semillas	Rebollo <i>et al.</i> (2021) Barberán <i>et al.</i> (2011)
		Quercetina – 3 – O - arabinósido		
		Quercetina – 3 – O - glucósido		
4	Ácidos fenólicos	N - cafeoil – 3 – O – hidroxitirosina	Semillas	Barberán <i>et al.</i> (2011)
		N – p – cumaroil – tirosina		
		Ácido cinamoil – L – aspártico		
		Ácido cafeoil – L – glutámico		

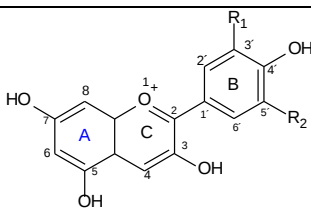
5	Antocianinas	Cianidina – 3 – O – glucósido Cianidina – 3 – O – galactósido Cianidina – 3 – O – arabinósido	Cáscara y semillas	Murillo, (2018) Barberán <i>et al.</i> (2011)
6	Alcaloides purinicos	Teobromina Cafeína	Semillas	Barberán <i>et al.</i> (2011)
7	Estilbenos	Trans – resveratrol Trans – resveratrol – 3 – O – glucósido	Semillas	Barberán <i>et al.</i> (2011)

2.2.3. Antocianinas

Son pigmentos solubles en agua perteneciente a la familia de los flavonoides que proporcionan colores rojo, azul y morado a las plantas, bajo diferentes condiciones de pH, temperatura, longitud de onda y oxígeno. En su estructura contienen al menos un anillo aromático al que se unen uno o más grupos hidroxilos o metoxilos, que proporcionan atributos de color tal como se muestra en la (Tabla 9) (Nassour *et al.* , 2020)

Tabla 9.

Núcleo y derivados de las antocianinas

Núcleo	Antocianinas	R1	R2	Espectro visible λ máx. (nm)
	Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
	Cianidina	OH	H	506 (naranja - rojo)
	Delfinidina	OH	OH	508 (azul - rojo)
	Peonidina	OCH3	H	506 (naranja - rojo)
	Petunidina	OCH3	OH	508 (azul - rojo)
	Malvinidina	OCH3	OCH3	510 (azul - rojo)

Fuente: Nassour *et al.*, (2020)

2.2.3.1. Antocianinas en la cáscara del fruto de *Theobroma cacao* L.

Estudios demuestran que la cianidina 3 – O - glucósido es la antocianina presente en las cáscaras de cacao (**Figura 1**) (Olivas *et al.* , 2016), mientras que, cianidina 3 – O - galactósido y cianidina – 3 – O – arabinósido en semillas de cacao (Barberán *et al.* , 2011).

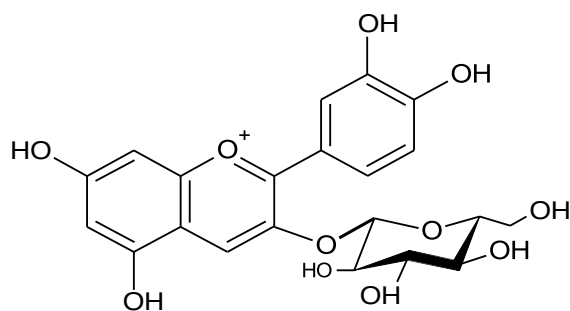


Figura 1. Estructura química de la cianidina 3 – O - glucósido.

2.2.4. Carotenoides

Son pigmentos liposolubles, pertenecientes a la familia de los tetraterpenos contienen carbono e hidrogeno en sus moléculas responsables de los colores amarillo, naranja o rojo. Se clasifican en dos grupos carotenos que poseen carbono e hidrogeno, y las xantofilas que contiene oxígeno (Ellison, 2016) . Estudios demuestran que en las cáscaras de cacao se encuentra el β – caroteno (**Figura 2**) (Aguirre, 2022). Algunos beneficios terapéuticos de los carotenos en la salud (Tabla 10).

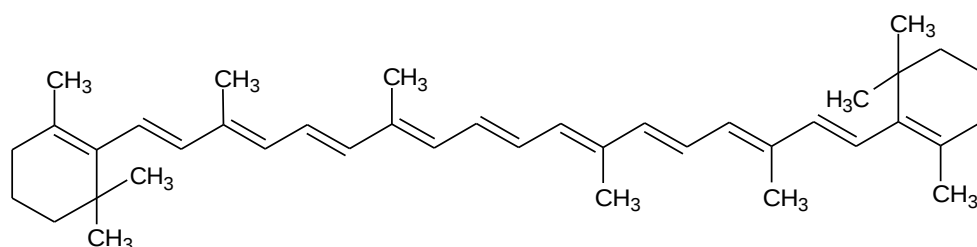


Figura 2. Estructura química del β – caroteno.

2.2.5. Radicales libres

Son átomos o moléculas que presentan uno o más electrones desapareados en su estructura, lo que los hace inestables y altamente reactivos. La existencia de estos electrones desapareados promueve a los radicales libres a buscar estabilidad mediante el emparejamiento de electrones, que pueden conducir a un daño celular. Los radicales se producen a partir de especies reactivas de oxígeno (ROS), y especies reactivas de nitrógeno (RNS), así mismo, se originan a nivel endógena como exógena. Los ROS contienen aniones tales como el radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogeno (H_2O_2), óxido nítrico (NO), radical hidroxilo (OH) y el radical peroxilo (RO_2), estos dos últimos son muy significativos en procesos biológicos y patológicos (Chandimali *et al.* , 2025).

Tabla 10.*Beneficios terapéuticos de los carotenos*

Carotenos	Fundamento	Referencia
β – caroteno	Efecto ECV: Previene accidente cerebrovascular, el estrés oxidativo y la neuro inflamación, por lo tanto, el nivel de LDL es reducido.	Wal <i>et al.</i> 2023)
Licopeno	Efecto protector de hueso: Reduce el osteoporosis y fractura ósea.	Wal <i>et al.</i> (2023)
β – caroteno	Efecto en la piel: Incrementa las células que combaten enfermedades del cuerpo, gracias a ello, inhibe el crecimiento tumoral y aumenta los niveles sanguíneos de NK, IL – 2 y TNF – α .	Wal <i>et al.</i> (2023)
Licopeno	Efecto en la piel: Peroxidación lipídica y daño al ADN.	
β – caroteno, licopeno	Efecto cáncer: Reduce el riesgo de cáncer por la ligera inducción de algunos genes que afectan la proliferación y la apoptosis.	Wal <i>et al.</i> (2023)
β – caroteno, licopeno	Diabetes tipo 2: Reduce la glucosa de la sangre en ayunas.	Crupi <i>et al.</i> (2023)
β – caroteno, licopeno	Efecto hepatoprotector: Aumenta los niveles de vitamina C, glutatión, actuando como eliminadores de radicales libres y, en consecuencia, reduciendo la toxicidad de la aflatoxina -B1.	Elvira <i>et al.</i> (2019)

Mientras que, las RNS poseen el óxido de nitrógeno (NO), el dióxido de nitrógeno (NO₂) y peroxinitrito (NO₃), son importantes en la regulación de funciones corporales y respuestas inmunitarias, pero una producción excesiva de óxido nítrico puede formar peroxinitrito, compuesto que daña proteínas a través de nitración y oxidación alterando la función y señalización celular (Chandimali *et al.* , 2025).

2.2.6. Antioxidantes

Son compuestos que actúan retrasando o previniendo la oxidación de otras sustancias químicas, se clasifican en enzimáticos y no enzimáticos. Además, las enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), glutatión reductasa (GR) y glutatión peroxidasa (GPx) son muy efectivas en la defensa antioxidante (Flieger *et al.* , 2021).

Así también, son importantes para proteger las células del daño causado por los radicales libres, debido a que, las células poseen un sistema que incluye enzimas y otras moléculas que ayudan a reducir el daño siendo útil en el tratamiento de patologías crónicas al bloquear o ralentizar las reacciones con radicales libres, transfiriendo electrones y deteniendo la oxidación (Losada *et al.* , 2022).

2.2.6.1. Método de DPPH. Es un método muy común para medir la actividad antioxidante total, se fundamenta en la donación de electrones de los antioxidantes para neutralizar el radical DPPH que es un radical estable de color púrpura. La reacción muestra un cambio de color amarillo a 517 nm, donde la decoloración indica la eficacia del antioxidante (Ovando *et al.* , 2022).

2.2.6.2. Método de ABTS. Es un método que evalúa la capacidad antioxidante para eliminar el radical catión ABTS⁺, un cromóforo azul-verde a una absorbancia máxima de 734 nm que reduce su coloración en presencia de antioxidantes. Este radical, se forma a partir de agentes oxidantes fuertes y puede ser neutralizado por los antioxidantes mediante la transferencia de electrones o la donación de átomos de hidrogeno (Ovando *et al.* ,2022).

2.2.6.3. Método FRAP. Es un método caracterizado en la transferencia de electrones, sencillo, rápido y rentable, mide la reducción del complejo del ligando de iones férricos (Fe⁺³) al complejo ferroso (Fe⁺²) de color intenso, por medio de antioxidantes en medios ácidos a una absorbancia de 593 nm produciendo una coloración azul intensa, su uso ha aumentado para la evaluación de la actividad antioxidante en alimentos y extracto en las plantas (Ovando *et al.* , 2022).

2.3. Marco Conceptual

Cacao. Es una planta de los bosques tropicales de América del Sur, su centro de origen se localiza en la región que abarca entre las cuencas de los ríos Caquetá, Putumayo y Napo correspondientes del rio Amazonas (Riego, 2016).

Capacidad antioxidante. Se basa en la capacidad de una sustancia para eliminar radicales libres e inhibir el daño oxidativo mediante diversos ensayos que evalúan la capacidad antioxidante total en muestras biológicas (Silvestrini *et al.* , 2023).

Compuestos bioactivos. Son compuestos naturales que presentan beneficios terapéuticos, así también, propiedades farmacológicas como, antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas, anticancerígenas y antimicrobianas. por su composición química perciben diferentes clases como flavonoides, antocianinas, taninos, betalainas, carotenoides, fitoesteroles y glucosinolatos (Gupta *et al.* , 2025).

2.4. Marco ético y legal

No aplica, la presente investigación se desarrolló bajo principios éticos orientados al aprovechamiento responsable y sostenible de los residuos agroindustriales derivados del cacao, así también se sustenta en la normativa peruana relacionada con la protección ambiental y el aprovechamiento sostenible de residuos agroindustriales mediante la Ley General del Ambiente Ley N° 28611, que a la vez promueve el uso sostenible de los recursos naturales y la prevención de la contaminación ambiental.

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Alcance de investigación

Descriptivo, porque no se realizó la manipulación de la variable independiente Sampieri, (2018), solamente se describió el contenido de fenoles totales, antocianinas, carotenoides y su relación con su capacidad antioxidante.

3.2. Diseño de investigación

Básico – comparativo - transversal.

3.3. Unidad de análisis

Extracto metanólico desecado de las cáscaras del fruto de cacao.

3.4. Población de estudio

La cáscara del fruto de cuatro variedades de *Theobroma cacao* L “Cacao” recolectadas en las regiones de Ayacucho y Cuzco.

3.5. Muestra y tamaño de Muestra

3.5.1. Muestras

- Forastero amazónico – chuncho: VRAE - 2, de la región Cusco.
- Trinitario: VRAE - 15, de la región Ayacucho.
- Trinitario: VRAE - 81, de la región Ayacucho.
- Criollo: VRAE - 52 de la región Cusco.

3.5.2. Tamaño de Muestra

Un kilogramo de cáscara del fruto de cada variedad. El tipo de muestreo fue no probabilístico, por conveniencia (Sampieri, 2018).

3.6. Criterios de Selección

3.6.1. Criterios de inclusión

Las cáscaras del fruto que se encuentren en buen estado.

3.6.2. Criterios de exclusión

Las cáscaras del fruto que se encuentren dañados en mal estado.

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

3.7.1. Recolección de la muestra

Con el apoyo del Ing. Fredy Prado Maciso de la Escuela Profesional de Agroforestal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSCH, se procedió a recolectar la muestra de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades en buen estado garantizando la calidad de las cáscaras y fueron conservadas en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

- Variedad forastero amazónico – chuncho (VRAE - 2) del sector Villa Virgen, distrito de Villa Virgen (13°00'11.36"S 73°30'46.40"W) a una altitud de 650 m.s.n.m de la provincia de La Convención del departamento de Cusco.
- Variedad trinitario (VRAE - 15), del sector Comupiari, distrito de Santa Rosa (12°41'18.36"S 73°44'08.27"W) a una altitud de 730 m.s.n.m de la provincia La Mar de la región Ayacucho.
- Variedad trinitario (VRAE - 81), del sector Kimpitiriqui Alta, distrito Sivia (12°30'41.57"S 73°51'31.48"W) a una altitud de 551 m.s.n.m de la provincia de Huanta de la región Ayacucho.
- Variedad criollo (VRAE - 52), del sector Esperanza, distrito de Pichari (12°24'50.74"S 73°46'57.93"W) a una altitud de 614 m.s.n.m de la provincia La Convención de la región Cusco.

3.7.2. Preparación de la muestra

- **Selección:** Según las cuatro variedades, eliminando frutos deteriorados, libres de objetos extraños.

- **Lavado:** Se lavo con mucha agua, usando una franela para mejorar con la limpieza del fruto del cacao.
- **Despulpado:** Se extrajeron sus semillas y la placenta, obteniendo limpio las cáscaras.
- **Picado:** Se cortaron horizontalmente con un cuchillo para obtener las cáscaras del fruto de cacao (**Anexo 3**).
- **Secado:** Las cáscaras de las cuatro variedades de cacao fueron secados en una bandeja de aluminio dentro de la estufa a una temperatura de 40°C por una semana (**Anexo 3**).

3.7.3. Obtención del extracto metanólico

Se pesó 5 g de la muestra pulverizada, se colocó en un matraz con 50 mL de metanol para la extracción utilizando un agitador magnético durante cuatro horas, se repitió el proceso con otro 50 mL de metanol, luego se filtró los extractos para llevar al rotavapor para ser concentrados, los extractos obtenidos se conservaron en un frasco color ámbar en refrigeración hasta su uso (**Anexo 4**).

3.7.4. Determinación del contenido de fenoles totales

Se realizó por el método de Folin – Ciocalteu adaptado por (Thaipong *et al.*, 2006), (**Anexo 5**). El extracto metanólico se preparó a una concentración de 1mg/mL (**Anexo 11**). Los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg GAE/g de extracto) (**Anexo 12 y 13**).

3.7.5. Determinación del contenido de antocianinas

Se realizó siguiendo el método descrito por (Hamilton-Amachree & Etasi, 2019), por el método de pH diferencial (**Anexo 6**). El extracto metanólico se preparó a una concentración de 1 mg/mL. El contenido total de antocianinas (TAC) se calculó mediante la relación matemática indicada en las ecuaciones 1 y 2, basada en el método del pH diferencial (**Anexo 14 y 15**).

$$TAC = \frac{(A_{\lambda_{vis-m\acute{a}x.} - A_{700}})_{pH1} - (A_{\lambda_{vis-m\acute{a}x.} - A_{700}})_{pH4.5} * F}{F} = \frac{MW * DF * 1000}{s * l}$$

3.7.6. Determinación del contenido de carotenoides

Se realizó por el método de (Biswas *et al.*, 2011). Para la preparación de la curva de calibración se utilizó una solución patrón de β - caroteno (1 mg/mL) (**Anexo 7**). Los resultados fueron expresados como μg de β - caroteno/g de muestra (**Anexo 16 y 17**).

3.7.7. Determinación de la capacidad antioxidante

3.7.7.1. Actividad secuestradora del radical libre DPPH

Se realizó por el método de Brand-Wiliams *et al* (1995) con algunas modificaciones por (Thaipong *et al.*, 2006) (**Anexo 8**). El extracto metanólico se preparó a una concentración de 1 mg/mL. El porcentaje de actividad secuestradora del radical libre se calculó con la siguiente ecuación.

$$\% \text{ de actividad secuestradora del DPPH} = \left[\frac{A_{DPPH} - A_{ME}}{A_{DPPH}} \right] \times 100$$

Los resultados serán expresados en $\mu\text{moles ET/g}$ Extracto. (**Anexo 18 y 19**)

3.7.7.2. Actividad secuestradora del radical libre ABTS

Se realizó por el método de Amao *et al* (2001) con algunas modificaciones por (Thaipong *et al.*, 2006) (**Anexo 9**). El extracto metanólico se preparó a una concentración de 1 mg/mL. El porcentaje de actividad secuestradora de ABTS se calculó por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de actividad secuestradora del ABTS} = \left[\frac{A_{ABTS} - A_{ME}}{A_{ABTS}} \right] \times 100$$

Los resultados serán expresados en $\mu\text{moles ET/g}$ Extracto (**Anexo 20 y 21**).

3.7.7.3. Poder antioxidante reductor del hierro FRAP

Se realizó por el método de Benzie y Strain (1996) con algunas modificaciones por (Thaipong *et al.*, 2006) (**Anexo 10**). El extracto metanólico se preparó a una concentración de 1 mg/mL. Los resultados fueron expresados en $\mu\text{moles ET/g}$ Extracto (**Anexo 22 y 23**).

3.8. Análisis de Datos

Con los datos obtenidos de los ensayos de la determinación del contenido de fenoles totales, antocianinas y carotenos, se halló la media y se presentó en forma de figuras y tablas. Para establecer las diferencias entre las medias de los ensayos mencionados, se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) con una significancia estadística de $p < 0,05$; y la prueba complementaria de Scheffé para comparar las medias entre ellas, para ello se utilizó el software SPSS.

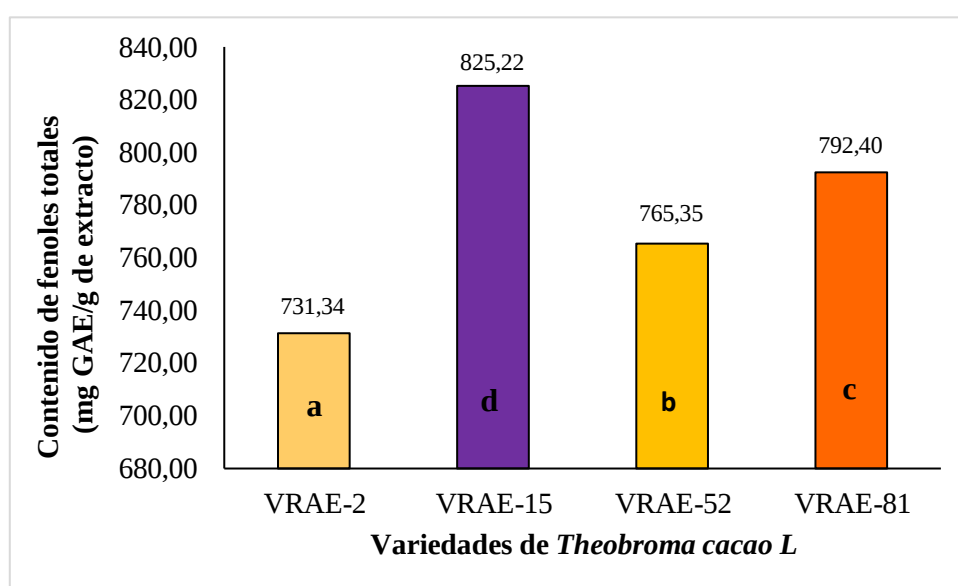
3.9 Consideraciones éticas.

No aplica, las variedades de *Theobroma cacao* L en estudio son comerciales, no implica derechos del autor ni afectación del conocimiento tradicional.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

Figura 3

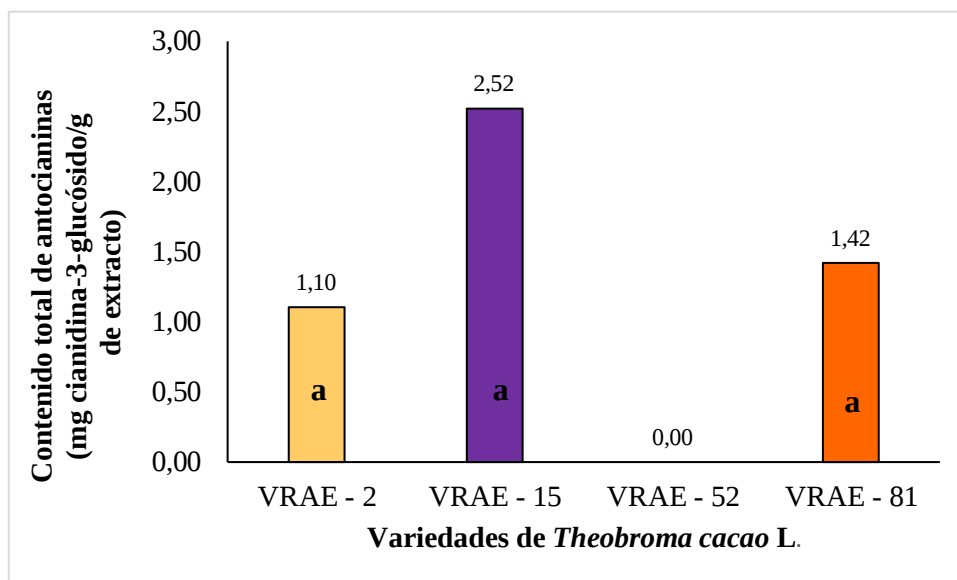
Contenido de fenoles totales en la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L.



Nota. Análisis de varianza ($p < 0,05$) (**Anexo 24**). La prueba complementaria de Scheffé ($p < 0,05$) (**Anexo 25**) y las letras a, b, c y d representan los subconjuntos homogéneos.

Figura 4

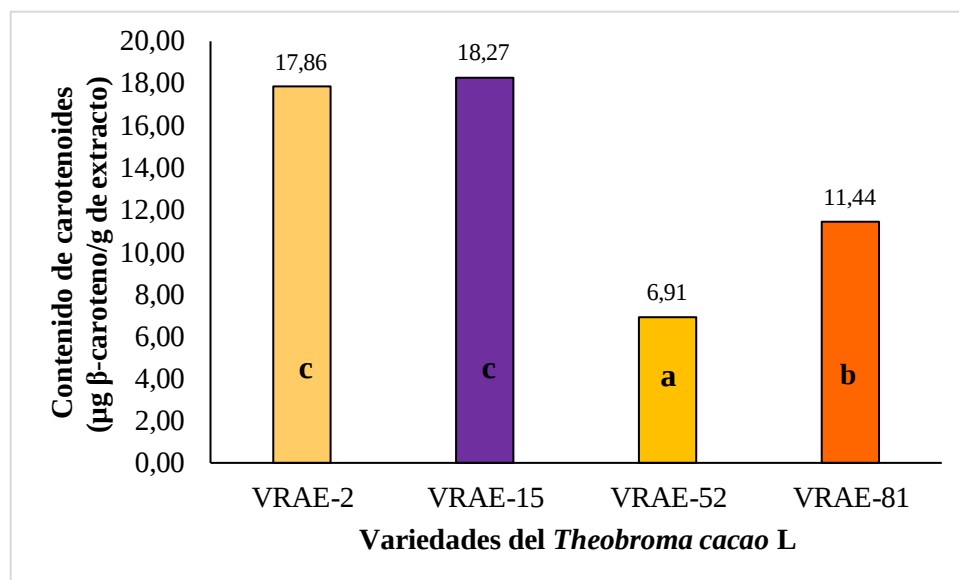
Contenido de antocianinas en la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L.



Nota. Análisis de varianza ($p < 0,05$) (**Anexo 26**). La prueba complementaria de Scheffé ($p < 0,05$) (**Anexo 27**) y la letra a representa los subconjuntos homogéneos.

Figura 5

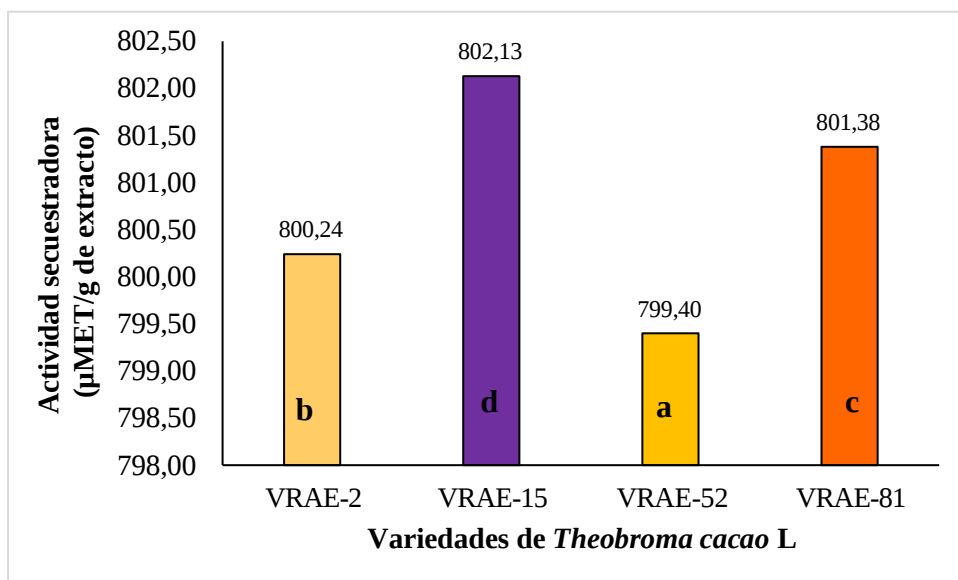
Contenido de carotenoides en la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L.



Nota. Análisis de varianza ($p < 0,05$) (**Anexo 28**). La prueba complementaria de Scheffé ($p < 0,05$) (**Anexo 29**) y las letras a, b y c representan los subconjuntos homogéneos.

Figura 6

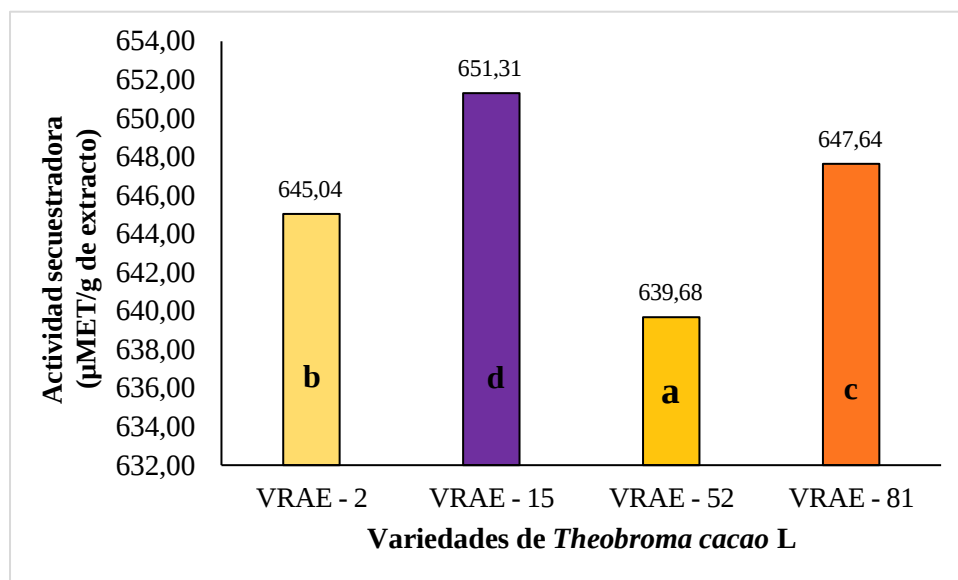
Actividad secuestradora del radical libre DPPH en la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L.



Nota. Análisis de varianza ($p < 0,05$) (**Anexo 30**). La prueba complementaria de Scheffé ($p < 0,05$) (**Anexo 31**) y las letras a, b, c y d representan los subconjuntos homogéneos.

Figura 7

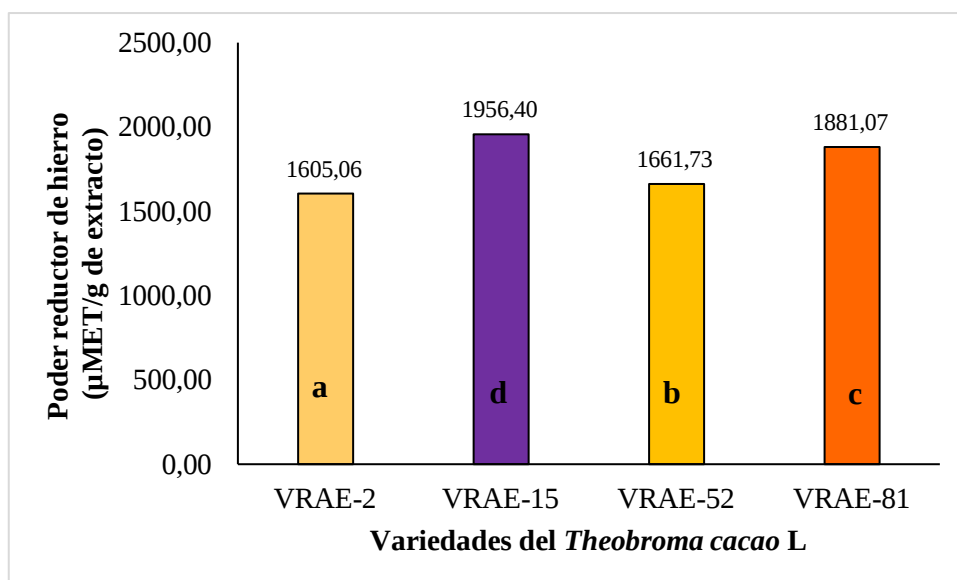
Actividad secuestradora del radical libre ABTS en la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L.



Nota. Análisis de varianza ($p < 0,05$) (**Anexo 32**). La prueba complementaria de Scheffé ($p < 0,05$) (**Anexo 33**) y las letras a, b, c y d representan los subconjuntos homogéneos.

Figura 8

Potencial reductor antioxidante del hierro FRAP en la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L.



Nota. Análisis de varianza ($p < 0,05$) (**Anexo 34**). La prueba complementaria de Scheffé ($p < 0,05$) (**Anexo 35**) y las letras a, b, c y d representan los subconjuntos homogéneos.

Tabla 11

Porcentaje de actividad secuestradora para el radical libre de DPPH y ABTS de las cáscaras del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L.

Variedades de <i>Theobroma cacao</i> L	% de actividad secuestradora	
	DPPH	ABTS
VRAE – 2	90,87 ± 0,016	91,91 ± 0,019
VRAE – 15	91,08 ± 0,018	92,78 ± 0,030
VRAE – 52	90,78 ± 0,014	91,16 ± 0,019
VRAE – 81	91,00 ± 0,010	92,27 ± 0,024

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

El *Theobroma cacao* L “cacao”, es una especie originaria de México, América Central y de los bosques tropicales de Perú, Ecuador, Colombia, Bolivia, Brasil, Venezuela y Guyana Francesa, de gran importancia por poseer propiedades antioxidantes y compuestos bioactivos en las cáscaras del fruto de cacao, siendo un subproducto de mayor cantidad desechadas en la industria industrial y alimentaria. Por ello la presente investigación tuvo como objetivo determinar el contenido de antocianinas, carotenoides y la capacidad antioxidante de cuatro variedades procedentes del VRAEM, con el fin de revalorizar este subproducto.

En la **figura 3**, se aprecia el contenido de fenoles totales presentes en la cáscara del fruto de cuatro variedades donde el VRAE – 15 (trinitario) posee mayor contenido (825,22 mg GAE/g de extracto) y de menor contenido VRAE – 2 (forastero amazónico -chuncho) (740,41 mg GAE/g de extracto), así también se observa que existe diferencias significativas entre las variedades. Aguirre reportó para las variedades trinitario: clon CCN - 51 y Complejo Nacional x Trinitario (38,13 - 35,58 mg GAE/g respectivamente). Sotelo demostró para la variedad clon TSH 565 (16,40 - 23,01 mg GAE/g muestra). De igual manera Murillo para las variedades criollo y trinitario (clon CCN – 51) (69,53 - 57,64 mg AGE /g muestra respectivamente) y por último Zamora para las variedades criollo y trinitario procedentes del VRAEM (124,90 - 104,80 mg GAE/g de muestra respectivamente). Se observa que, las variedades en estudio resultaron con valores muy altos esto podría deberse por la zona geográfica, condiciones climáticas, procedencia, variedades con características diferentes, el método de extracción, y el cultivo que influye en la síntesis de los compuestos fenólicos. Mauricio & Enrique (2025), en su estudio comparativo de influencias de compuestos fenólicos del clon CCN - 51 de la variedad trinitaria por zonas geográficas, observaron que en las zonas de mayor altitud tuvieron concentraciones superiores de compuestos fenólicos, es así que, vemos que la variedad trinitaria VRAE – 15, procede

del distrito de Santa Rosa (La Mar, Ayacucho), localidad con una mayor altitud respecto a la procedencia de las otras variedades, mostró mayor contenido de fenoles totales, sin embargo, la variedad trinitaria VRAE – 81 también presentó un alto contenido de fenoles totales a pesar de proceder de una altitud menor (Distrito de Sivia, Huanta). En consecuencia, la procedencia de las variedades y clones, influyen en el contenido de fenoles totales, tal como está corroborado por las variedades trinitario: clones CCN - 51 y Complejo Nacional x Trinitario, procedentes de la provincia de Los Ríos (Ecuador) (Aguirre, 2022), clon TSH 565 (Córdova, Colombia) (Sotelo, 2015), las variedades criollo y trinitario (clon CCN - 51) descritas por Murillo (2018) con muestras procedentes de Pichanaki y Satipo; y por Zamora (2024) con muestras procedentes del anexo de Mozobamba Alta (Santa Rosa, La Mar). Solamente, los resultados descritos por Zamora (2024), se aproximaron a los valores reportados en esta investigación.

De la misma forma, en otros estudios realizados en semillas de cinco clones del fruto de cacao de la variedad criollo llamada “chuncho”, procedentes del distrito de Qellouno (La Convención, Cuzco) ubicado en la margen derecha del VRAEM, en la cual, el clon “Señorita” tuvo mayor contenido de fenoles totales (18,614 mg EAG/g muestra) (Ordoñez, 2020). Estos resultados, también nos permite corroborar que la procedencia influye en el contenido de fenoles totales en diferentes partes del fruto del cacao, en este caso, de la semilla.

En la **figura 4**, se observa el contenido total de antocianinas existentes en la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades, en donde la variedad trinitario (VRAE – 15), presentó mayor contenido (2,52 mg de cianidina-3-glucósido/g), mientras que, VRAE – 52 (criollo), no presentó antocianinas, sin embargo, se aprecia que no existen diferencias significativas entre las variedades que evidenciaron presencia de antocianinas. Aguirre (2022), para las variedades trinitario: Complejo Nacional x Trinitario y clon CCN - 51, reportó un resultado muy bajo para antocianinas en ambas variedades y no precisó su valor experimental, por tanto, refiere que en las cáscaras del fruto de cacao carecen de antocianinas. Sin embargo, Murillo (2018), reportó que las variedades criollo y trinitario: clon CCN - 51; si tuvieron contenido de antocianinas (1,43 y 1,25 mg de cianidina-3-glucosídico/g, respectivamente), estos son consistentes con los resultados reportados en la presente investigación. Las diferencias de los hallazgos de la presente investigación y las reportadas por Aguirre (2022) y Murillo

(2018), podrían deberse a razones metodológicas en la determinación del contenido de antocianinas, en el cual, dichos autores reportan utilizar para la formulación del buffer HCl 0,2 M para pH = 1; y HCl 0,1 M para pH = 4,5; mientras que, en esta investigación se utilizó los buffers reportados en la parte metodológica (**Anexo 6**). Asimismo, esto puede deberse a que las antocianinas son muy inestables a pH, temperatura, longitud de onda, tipo de variedad, pigmentación de las cáscaras, procedencia quienes influyeron en el contenido total de antocianinas, las mismas que se evidenciaron en la presente investigación, en el cual, los extractos obtenidos de la cáscara del fruto de cacao resultaron incoloras tanto a pH 1,0 y 4,5 (**Anexo 14 y 15**).

Por otro lado, Orfa (2014), en su estudio del contenido de antocianinas totales en semillas del fruto de cacao de la variedad criollo y siete clones de la variedad forastero y trinitario, el clon CCN - 51 (variedad trinitario) presentó mayor contenido de antocianinas (0,425 mg cianidina-3-glucosido/g), respecto a la variedad criollo o los otros seis clones de la variedad forastero, asimismo, Ordoñez (2020), en semillas de cinco clones de cacao de la variedad criollo llamado “chuncho”, el clon “achoccha” mostró mayor contenido de antocianinas (0,123 mg cianidina-3-glucosido/g), respecto a los clones. En síntesis, en las semillas de las variedades criollo y trinitario también se evidencia contenido diferencial de antocianinas, el cual, guardan relación con la cáscara del fruto.

En la **figura 5**, se aprecia el contenido total de carotenoides en las cáscaras del fruto de cacao, en el que, la variedad trinitario (VRAE – 15), presento mayor contenido (18,27 µg de β - caroteno/g de extracto), y de menor cantidad la variedad criollo (VRAE – 52) (6,91 µg de β - caroteno/g de extracto), también se observa que existen diferencias significativas entre las variedades. Aguirre (2022), para las variedades Complejo Nacional x Trinitario y el clon CCN - 51 presentaron (8090, 25 y 4155,31 µg/g) respectivamente, sin embargo, dicho autor no precisa el estándar utilizado, ni la utilización de una curva de calibración. Murillo (2018), para las variedades criollo y el clon CCN - 51 obtuvieron (7,90 y 6,05 mg/100g muestra respectivamente) (79,5 µg/g – 60,5 µg/g), de la misma forma que Aguirre (2022), no menciona el estándar utilizado ni la curva de calibración. Comparando los resultados se observa que las variedades en estudio, aparentemente presentaron valores inferiores al reportado por estos dos autores, esto podría ser, por ser variedades únicas, métodos y solventes de extracción,

procedencia, condiciones ambientales, cultivo, exposición a la luz y pigmentación de las cáscaras. Asimismo, ambos autores realizaron la extracción de las muestras previamente liofilizadas, las cuales, permitieron conservar mejor a los carotenoides que son moléculas muy sensibles a la luz y a la temperatura (Alibas, 2026), mientras que, las cuatro variedades de estudio fueron realizadas por extracción metanólica convencional con muestras desecadas al medio ambiente, ello podría reflejar el contenido mayor total de carotenoides según Aguirre (2022), quién se basó en el método descrito por Llerena y Samaniego (2019), en cambio Murillo (2018), realizó por un método de lixiviación con éter de petróleo. Rodríguez (2004), menciona que los solventes orgánicos como son: hexano, acetona, metanol, etanol, éter de petróleo y mezclas de solventes (hexano, acetona, etanol) incrementan la eficiencia de extracción debido a la polaridad de los carotenoides. En cuanto a la pigmentación las variedades Complejo Nacional x Trinitario y el clon CCN- 51 fueron : amarillo verdoso y rojo respectivamente (Aguirre, 2022), en cambio las variedades criollo y CCN - 51: amarillo y rojo respectivamente (Murillo,2018), mientras que, la variedad VRAE - 15 presento una pigmentación amarillo naranja y la variedad VRAE - 2 amarillo intenso, quienes evidenciaron mayor contenido total de carotenoides a diferencia de las demás variedades, que son VRAE - 81 color amarillo naranja y del VRAE - 52 color amarillo ligero o pálido, entonces se ve que la coloración de las cáscaras del fruto de cacao de las variedades en estudio tienen relación con los resultados de los autores mencionados.

En la **figura 6**, se observa la actividad secuestradora del radical libre DPPH en las cáscaras del fruto de cacao, en el cual, la variedad trinitario (VRAE – 15), obtuvo mayor contenido (802,13 $\mu\text{M ET/g}$ de extracto), y de menor cantidad la variedad criollo (VRAE – 52) (799,40 $\mu\text{M ET/g}$ de extracto), existiendo diferencias significativas entre las variedades evaluadas. Murillo (2018), en su estudio la variedad criollo y trinitario (clon CCN – 51) obtuvieron $\text{IC}_{50} = 60,30$ y $48,90 \mu\text{g/mL}$ respectivamente, en el cual, no son comparables a los resultados de esta investigación. Zamora (2024), reportó para las variedades criollo y trinitario (235,09 y 212,15 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra respectivamente). Se aprecia que los valores de cuatro variedades, son superiores a los estudios, esto puede ser, por el lugar de procedencia, método de extracción, cultivo, por las características que presentan cada variedad y zona geográfica. Los resultados presentados por Murillo (2018), pueden estar influenciado por utilizar una extracción

de muestras liofilizadas, mientras que, Zamora (2024), al igual que esta investigación, utilizó una extracción metanólica. Orfa (2014), con respecto a las semillas del fruto de cacao de la variedad criollo y siete clones, el clon ICS – 95 presentó mayor actividad secuestradora del radical DPPH ($IC_{50} = 73,293 \mu g/mL$), y este clon pertenece a un híbrido de la variedad trinitario. Finalmente, las variedades VRAE – 15 y VRAE – 81, ambas de variedad trinitario, pero de diferente procedencia geográfica mostraron mayor actividad secuestradora del radical libre DPPH.

En la **figura 7**, se aprecia la actividad secuestradora del radical ABTS en las cáscaras del fruto de cacao, donde la variedad VRAE - 15 tuvo mayor contenido ($651,31 \mu M$ ET/g de extracto), y menor contenido VRAE – 52 ($639,68 \mu M$ ET/g de extracto), además existieron diferencias significativas entre variedades. Aguirre (2022), reporta la actividad secuestradora del radical libre DPPH para los clones CCN – 51 y complejo nacional x trinitario ($489,4$ y $485,75 \mu M$ TE/g respectivamente) de la variedad trinitario, asimismo, Sotelo (2015), para el clon TSH 565 de la variedad trinitario ($229,62 \mu M$ TE/g muestra) y Zamora (2024), para la variedad criollo y trinitario ($395,29$ y $345,58 \mu mol$ ET/g de muestra respectivamente). De acuerdo a estos reportes se evidencia que, las cuatro variedades en estudio presentaron mayor actividad secuestradora para el radical ABTS, la razón podría ser por el método de extracción utilizado, Aguirre (2022) y Sotelo (2015) utilizaron metanol y etanol acidificado con ácido fórmico y ácido clorhídrico, respectivamente, mientras que, Zamora (2024) utilizó sólo metanol. Por tanto, las diferencias con Zamora (2024), se deberían a la procedencia geográfica. Con respecto a las semillas del fruto de cacao Orfa (2014), en su estudio con la variedad criollo y siete clones de la variedad forastero, el clon SCA - 6 de la variedad forastero, mostró mayor capacidad secuestradora ($CI_{50} = 33,04 \mu g/mL$). Por consiguiente, se puede inferir que las cáscaras del fruto cacao poseen mayor capacidad secuestradora con respecto a las semillas del fruto de cacao, puesto que las semillas pasan por un proceso de fermentación y secado haciendo que disminuya su capacidad antioxidante (Chávez-Salazar *et al.*, 2023).

En la **figura 8**, en referencia del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) en las cáscaras del fruto de cacao, la variedad VRAE – 15 obtuvo mayor capacidad antioxidante ($1956,40 \mu MET/g$ de extracto) y VRAE – 2 de menor capacidad ($1605,07 \mu MET/g$ de extracto), existiendo diferencias significativas entre las variedades de

estudio. Aguirre (2022), reporta el poder antioxidante reductor del hierro para los clones CCN – 51 y complejo nacional x trinitario (154,81 - 169 ,67 $\mu\text{M TE/g}$ respectivamente), de la variedad trinitario, Sotelo (2015) para el clon TSH - 565 (169,04 $\mu\text{M TE/g}$ muestra) de la variedad trinitario y Zamora (2024), para la variedad criollo y trinitario (564,37- 437,86 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra respectivamente). Al comparar estos valores con los resultados de la presente investigación, se aprecia que las cuatro variedades presentaron mayor poder reductora en comparación a los autores mencionados. De la misma forma, que para los casos del DPPH y ABTS, las razones podrían ser por el método de extracción, características de las variedades y su procedencia geográfica.

En la **tabla 11**, se aprecia los porcentajes de actividad secuestradora para los radicales libres DPPH y ABTS, en el cual, se evidencian que la variedad VRAE – 15 tiene una alta capacidad secuestradora (91,08 % y 92,78 % respectivamente), esto nos indica que en la cáscara de esta variedad están presentes compuestos bioactivos con gran capacidad de neutralizar los radicales libres, actividad que se manifiesta en medio acuoso y no acuoso.

Finalmente, de los resultados hallados en la investigación se puede afirmar que en la cáscara del fruto de *Theobroma cacao* L. “cacao” de las cuatro variedades procedentes del VRAEM están presentes fenoles totales, antocianinas y carotenoides; a los cuales, se atribuyen su capacidad antioxidante y las diferencias entre ellas, se deben a la variedad (Forastero Amazónico, Trinitario y Criollo) y a su procedencia geográfica. Asimismo, se debe resaltar que esta investigación reporta por primera vez este tipo de estudio en cáscara de la variedad Forastero Amazónico (VRAE – 2).

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

1. Las cáscaras de las cuatro variedades de estudio, constituyó una fuente de compuestos bioactivos y de capacidad antioxidante, evidenciándose que la variedad trinitario (VRAE – 15) tuvo el contenido más elevado de antocianinas carotenoides, fenoles y capacidad antioxidante con respecto a las demás variedades.
2. La variedad trinitario (VRAE – 15), presentó mayor contenido de fenoles totales (825,22 mg GAE/g de extracto), sin embargo, la variedad forastero amazónico (VRAE – 2) evidenció menor contenido (740,41 mg GAE/g de extracto), respectivamente.
3. La variedad trinitario (VRAE – 15), mostró mayor contenido de antocianinas (2,52 mg de cianidina-3-glucósido/g), en contraste, la variedad criollo (VRAE – 52) no presentó contenido para antocianinas.
4. La variedad trinitario (VRAE – 15), evidenció mayor contenido de carotenoides (18,27 µg/g de extracto) mientras que, la variedad criollo (VRAE – 52), obtuvo menor contenido (6,91 µg/g de extracto), respectivamente.
5. La variedad trinitario (VRAE – 15), presentó mayor capacidad antioxidante para los ensayos de DPPH (802,13 µM ET/g de extracto), ABTS (651,31 µM ET/g de extracto) y FRAP (1956,40 µM ET/g de extracto), y alto porcentaje de capacidad secuestradora de los radicales libres DPPH y ABTS (91,08 % y 92,78 %) respectivamente.

CAPITULO VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de otras variedades con respecto a la cáscara y cáscara de la semilla del fruto de cacao en muestras liofilizadas.
2. Desarrollar estudios sobre el contenido de carotenoides y antocianinas de la cáscara de cacao por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), ya que permitirá identificar y cuantificar compuestos bioactivos.
3. Realizar estudios, con la finalidad de aprovechar las cáscaras del fruto de cacao como fuente de compuestos bioactivos, para la elaboración de productos alimenticios, cosméticos y farmacéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre Coque, J. M. (2022). “Determinación del contenido de antioxidantes y actividad antioxidante de mazorca de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedades clones CCN - 51 y complejo nacional x trinitario.” <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6866>
- Alemán Reyes, J. C. (2019). Determinación de carotenoides totales en cuatro variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum*), deshidratada. <https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/www.dspace.uce.edu.ec>
- Alfaro Ayvar, K. M. (2019). Cuantificación del contenido total de antocianinas y capacidad antioxidante en dos especies del género *Berberis*, del distrito de Vinchos — Ayacucho 2018. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNSJ_84325ad46d4dae5cd6f1dae711c46297
- Alibas, I., & Ipek, S. S. (2026). Effects of major drying methods on the stability and retention of vitamin C, B group vitamins, fat-soluble vitamins, and carotenoids in kiwifruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 150, 108880. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2026.108880>
- Barberan, T., Ashihara, H., & Crozier, A (2011). (s. f.). Teas, Cocoa and Coffee.
- Belwal, T., Cravotto, C., Ramola, S., Thakur, M., Chemat, F., & Cravotto, G. (2022). Bioactive Compounds from Cocoa Husk: Extraction, Analysis and Applications in Food Production Chain. *Foods*, 11(6), 798. <https://doi.org/10.3390/foods11060798>
- Biswas, A. K., Sahoo, J., & Chatli, M. K. (2011). A simple UV-Vis spectrophotometric method for determination of β - carotene content in raw carrot, sweet potato and supplemented chicken meat nuggets. *LWT - Food Science and Technology*, 44(8), 1809-1813. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.017>
- Burgos, Kevin S. C., Yupanqui, S. G. G., & Ganoza, M. L. (2016). Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* “Arándano”. *UCV-Scientia*, 8(1), Article 1. <https://doi.org/10.18050/RevUcv-Scientia.v8n1a5>
- Chandimali, N., Bak, S. G., Park, E. H., Lim, H.-J., Won, Y.-S., Kim, E.-K., Park, S.-I., & Lee, S. J. (2025). Free radicals and their impact on health and antioxidant

- defenses: A review. *Cell Death Discovery*, 11(1), 19.
<https://doi.org/10.1038/s41420-024-02278-8>
- Chávez-Salazar, A., Guevara-Pérez, A., Encina-Zelada, C., Vidaurre-Rojas, P., & Muñoz-Delgado, V. (2023). Condiciones de fermentación y secado en las características físico químicas del cacao (*Theobroma cacao* L.) Cultivar CCN 51. *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 3(2), e555-e555.
<https://doi.org/10.51252/raa.v3i2.555>
- Crupi, P., Faienza, M. F., Naeem, M. Y., Corbo, F., Clodoveo, M. L., & Muraglia, M. (2023). Overview of the Potential Beneficial Effects of Carotenoids on Consumer Health and Well-Being. *Antioxidants*, 12(5), 1069.
<https://doi.org/10.3390/antiox12051069>
- De La Luz Cádiz-Gurrea, M., Fernández-Ochoa, Á., Leyva-Jiménez, F. J., Guerrero-Muñoz, N., Del Carmen Villegas-Aguilar, M., Pimentel - Moral, S., Ramos-Escudero, F., & Segura-Carretero, A. (2020). LC - MS and spectrophotometric approaches for evaluation of bioactive compounds from Peru cocoa by-products for commercial applications. *Molecules*, 25 (14).
<https://doi.org/10.3390/molecules25143177>
- Ellison (2016). Carotenoids: Physiology. (2016). 670-675.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00120-3>
- Edo, G. I., Samuel, P. O., Oloni, G. O., Ezekiel, G. O., Onoharigho, F. O., Oghenegueke, O., Nwachukwu, S. C., Rapheal, O. A., Ajokpaoghene, M. O., Okolie, M. C., Ajakaye, R. S., Ndudi, W., & Igbodo, P. chukwuemezieozor. (2023). Review on the Biological and Bioactive components of Cocoa (*Theobroma Cacao*). *Insight on Food, Health and Nutrition*. 3.
<https://doi.org/10.53365/nrfhh/174302>
- Elvira, L. I., García, J., & Periago-Castón, M. J. (2019). Nutritional Importance of Carotenoids and Their Effect on Liver Health: A Review. *Antioxidants*, 8 (7), 229. <https://doi.org/10.3390/antiox8070229>
- Fideles, S. O. M., Ortiz, A. de C., Reis, C. H. B., Buchaim, D. V., & Buchaim, R. L. (2023). Biological Properties and Antimicrobial Potential of Cocoa and Its Effects on Systemic and Oral Health. *Nutrients*, 15 (18), 3927.
<https://doi.org/10.3390/nu15183927>

- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 14 (15), 4135. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- García Carrión, L. (2008). Estudio de caracterización del potencial genético del cacao en el peru. En estudio de caracterización del potencial genético del cacao en el peru (empresa consultora). M & O Consultores.
- Gupta, S., Pandey, A. K., & Rathore, S. (2025). Fundamentals of Bioactive Compounds. En S. A. Wani & H. R. Naik (Eds.), *Harnessing Nanoencapsulation: Valorization of Bioactive Compounds for Health and Beyond* (pp. 31-51). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-032-03329-1_2
- Hamilton-Amachree, A., & Etasi, N. J. (2019). Spectrophotometric Determination of Total Anthocyanin Content (TAC) in Costus afer Flower Extract and its Application as pH Indicator in Acid/Base Titrations. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 44(2), Article 2. <https://journals.chemsociety.org.ng/index.php/jcsn/article/view/286>
- Losada, S., Sezgin, Z., Paiva, F., & Bravo, C. (2022). Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines*, 10 (12), 3051. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123051>
- Mauricio, A. V. J., & Enrique, C. G. H. (2025). Facultad de ciencias químicas y de la salud carrera de ingeniería química.
- Morandi, M., Silva, V., & Marostica, M. (2019). Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power — Science Direct. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128147740000025?via%3Dihub>
- Murillo Baca, S. M. (2018). Características fisicoquímicas, sensoriales y compuestos bioactivos de galletas dulces elaboradas con harina de cáscara del fruto de cacao (*Theobroma cacao* L.). Universidad Nacional Federico Villarreal. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/2345>
- Nassour, R., Ayash, A., & Al- tameemi, K. (2020). (PDF) Anthocyanin pigments: Structure and biological importance. ResearchGate, 13.

https://www.researchgate.net/publication/344495298_Anthocyanin_pigments_Structure_and_biological_importance

- Nazario Inocente, O. M. (2014). Polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante granos secos y análisis sensorial del licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) criollo y siete clones.
- Nieves-Orduña, H. E., Krutovsky, K. V., & Gailing, O. (2023). Geographic distribution, conservation, and genomic resources of cacao *Theobroma cacao* L. <https://doi.org/10.1002/csc2.20959>
- Olivas, F., Rodrigo, J., & Martinez, N. (2016). Cianidina - 3 - O - glucósido: Físicoquímica, Foodómica y Efectos en la Salud — PMC. Recuperado 29 de octubre de 2025, de <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6273591/#sec5-molecules-21-01264>
- Ordoñez, E. S., Quispe C, Y., García C, L. F., Ordoñez, E. S., Quispe C, Y., & García C, L. F. (2020). Cuantificación de fenoles, antocianinas y caracterización sensorial de nibs y licor de cinco variedades de cacao, en dos sistemas de fermentación. *Scientia Agropecuaria*, 11(4), 473-481. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.04.02>
- Ovando, A. V., Reyes, J. D. M., Cabrera, K. E. G., & Ovalle, G. V. (2022). Capacidad antioxidante: Conceptos, métodos de cuantificación y su aplicación en la caracterización de frutos tropicales y productos derivados. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 9(1), 9-33.
- Palomino Vergara, R. (2018). Contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”, Ayacucho — 2018. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNSJ_e61d46d58c45f57bd4d287e8b91ea788/Details
- Ramírez González, M. B., Cely Niño, V. H., & 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.
- Rebatta Ríos, H. C. (2013). Actividad antioxidante e identificación de compuestos fenólicos de las fracciones alcohólicas de la corteza de *Theobroma obovatum*,

- IIAP - 2012. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.
<https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/2521>
- Rebollo, M., Cañas, S., Taladrid, D., Segovia, Á., Bartolomé, B., Aguilera, Y., & Martín-Cabrejas, M. A. (2021). Extraction of phenolic compounds from cocoa shell: Modeling using response surface methodology and artificial neural networks. *Separation and Purification Technology*, 270, 118779. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118779>
- Riego, M. de A. y. (2016). Estudio del Cacao en el Perú y en el Mundo, Un Análisis de la Producción y el Comercio. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/MNIG_e6b4755deb7004efe763fb4987b81b8a
- Sampieri, R. H. (2018). Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. McGraw-Hill Education.
- Santos, R. X., Oliveira, D. A., Sodré, G. A., Gosmann, G., Brendel, M., & Pungartnik, C. (2014). Antimicrobial activity of fermented *Theobroma cacao* pod husk extract. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 13 (3), 7725-7735. <https://doi.org/10.4238/2014.September.26.10>
- Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., & Suleria, H. A. R. (2022). Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 29 (54), 81112-81129. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6>
- Silvestrini, A., Meucci, E., Ricerca, B. M., & Mancini, A. (2023). Total, Antioxidant Capacity: Biochemical Aspects and Clinical Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10978. <https://doi.org/10.3390/ijms241310978>
- Soares, T. F., & Oliveira, M. B. P. P. (2022). Cocoa By - Products: Characterization of Bioactive Compounds and Beneficial Health Effects. *Molecules*, 27(5), 1625. <https://doi.org/10.3390/molecules27051625>
- 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>

- Sotelo, L. E., Oviedo - Argumedo, W., & Alvis-Bermúdez, A. (2025). Cacao in the Circular Economy: A Review on Innovations from Its By-Products. *Processes*, 13(7), 2098. <https://doi.org/10.3390/pr13072098>
- Terraza Ñaupari, R. (2023). Contenido de antocianinas y actividad antioxidante de los frutos de *Sambucus nigra* que crecen en la provincia de Huamanga. Ayacucho 2021. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/5162>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Zevallos, C., & Byrne, H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Thomas, E., Lastra, S. R. L., & zavaleta, D. P. (2023). Catálogo de cacaos de Perú | Alliance Bioversity International — CIAT. <https://alliancebioversityciat.org/publications-data/catalogo-de-cacaos-de-peru>
- Umaharan, P. (Ed.). (2018). Achieving sustainable cultivation of cocoa. Burleigh Dodds Science Publishing. <https://doi.org/10.1201/9781351114547>
- Wal, P., Vig, H., Khare, R., Wal, A., Tondon, G., Kishore, A., & Kumar, S. (2023). A Detailed Analysis of the Carotenoids and their Derivatives, including their Multiple Health Advantages. *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 17 (1), e187410452309140. <https://doi.org/10.2174/18741045-v17-e230916-2023-8>
- WFO. (2020). Arbol del cacao de *Theobroma cacao* L. the world flora online.
- Zamora Condori, F. M. (2024). Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de extracto metanólico de la cáscara del fruto de dos variedades de *Theobroma cacao* L. “cacao” del VRAEM. Ayacucho, 2023. <https://repositorio.unsch.edu.pe/handle/20.500.14612/6859>

ANEXOS

Anexo 1.

Constancia de la clasificación taxonómica.

CONSTANCIA

LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

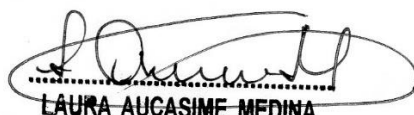
Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Srta. Levi, SUMARI ASENCIOS**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	DILLENIIDAE
ORDEN	:	MALVALES
FAMILIA	:	STERCULIACEAE
GENERO	:	Theobroma
ESPECIE	:	<i>Theobroma cacao L..</i>
N. V..	:	"cacao"

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho ,27 de febrero del 2025


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2.

Constancia de las características agronómicas de variedades de cacao.



UNIVERSIDAD
NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

Real, Pontificia y Nacional
1677

EL QUIEN SUSCRIBE, INGENIERO DE PRODUCCION DE CULTIVOS TROPICALES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE AGROFORESTAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA.

CERTIFICA

Que la señorita Bach. Levi SUMARI ASENCIOS, estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, ha solicitado la identificación de caracterización agronómica (fruto de cacao) de *Theobroma cacao* L. "cacao" de las variedades forastero amazónico, criollo y trinitario, la misma que han sido identificadas como sigue.

Muestra 1: VRAE-2 (forastero amazónico-chuncho).

Origen del clon Región: Cusco, Provincia La Convención, Distrito Villa Virgen, Sector: Villa Virgen, Localización agricultor: Walter Nuflo Peña, ¿Cómo lo identificamos?, Color fruto inmaduro: Verde ligero, color fruto maduro: Amarillo intenso, forma del fruto: Oblongo, forma del ápice: Apezonado, constricción basal: Ausente, rugosidad: Intermedia, profundidad de surco: Intermedio, Color de semilla: Morado oscuro, tamaño Semilla: Intermedia, sección longitudinal: Irregular, sección transversal: Aplanada, color de pedicelo: Rojo.


Mag. Ing. Fredy Paredo Macedo
INGENIERO AGROFORESTAL
CIP 246196

Muestra 2: VRAE-15 (trinitario).

Origen del clon: Región Ayacucho, Provincia La Mar, Distrito Santa Rosa, Sector: Comupari, Localización agricultor: Epifanio Eulogio Soto Prado, ¿Cómo lo identificamos?, color fruto inmaduro: Violeta ligero, color fruto maduro: Amarillo - naranja, forma del fruto: Oblongo, forma del ápice: Atenuado, constricción basal: Ligera, rugosidad: Ligero, profundidad de surco: Superficial, color de semilla: Morado, tamaño semilla: Intermedia, sección longitudinal: Irregular, sección transversal: Intermedia, color de pedicelo: Rojo.

Muestra 3: VRAE - 52 (criollo).

Origen del clon: Región Cusco, Provincia, La Convención, Distrito Pichari Sector: Esperanza, localización Agricultor: Santos Jauregui LI. ¿Cómo lo identificamos?, color fruto inmaduro: Verde ligero, color fruto maduro: Amarillo ligero, forma del fruto: Oblongo, forma del ápice: Atenuado, constricción basal: Intermedia, rugosidad: Ligero, profundidad de surco: Superficial, color de semilla: morado oscuro, tamaño Semilla: Pequeña, sección longitudinal: Irregular, sección transversal: Aplanado, color de pedicelo: Verde pigmentado.

Muestra 4: VRAE - 81(trinitario).

Origen del clon Región: Ayacucho Provincia Huanta, Distrito Sivia, Sector: Kimpitiriqui Alta, Localización: Agricultor: Saturnino Mansilla Morales, ¿Cómo lo

identificamos?, Color fruto inmaduro: Violeta ligero, color fruto maduro: Amarillo naranja, forma del fruto: Oblongo, forma del ápice: Atenuado, constricción basal: Intermedia, rugosidad: Intermedia, profundidad de surco: Intermedio, color de semilla: Morado, tamaño Semilla: Intermedia, sección longitudinal: Irregular, sección transversal: Aplanada, color de pedicelo: Rojo.

Se expide el presente certificado a solicitud de la interesada, para los fines que lo estime conveniente.

Ayacucho, 08 de Marzo del 2025



Mag. Ing. Fredy Prado Maciso
INGENIERO AGROFORESTAL
R.D. 246196

Anexo 3.

Preparación de las muestras de las variedades de las cáscaras del fruto de cacao.



Cortado de las cáscaras

VRAE - 81



VRAE - 2



VRAE - 52

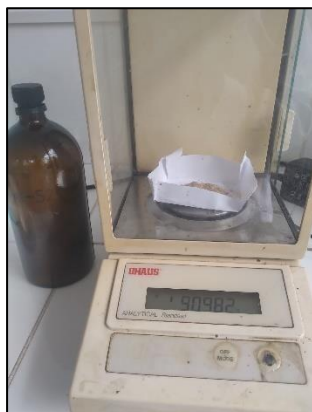


VRAE - 15



Anexo 4.

Obtención del extracto metanólico.



Pesado



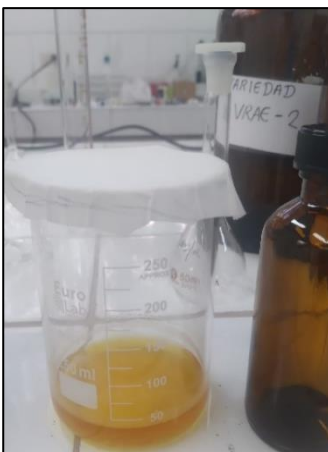
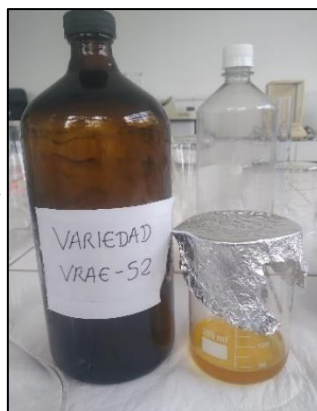
Se añadió 50 mL de metanol



Agitador magnético por 4 horas



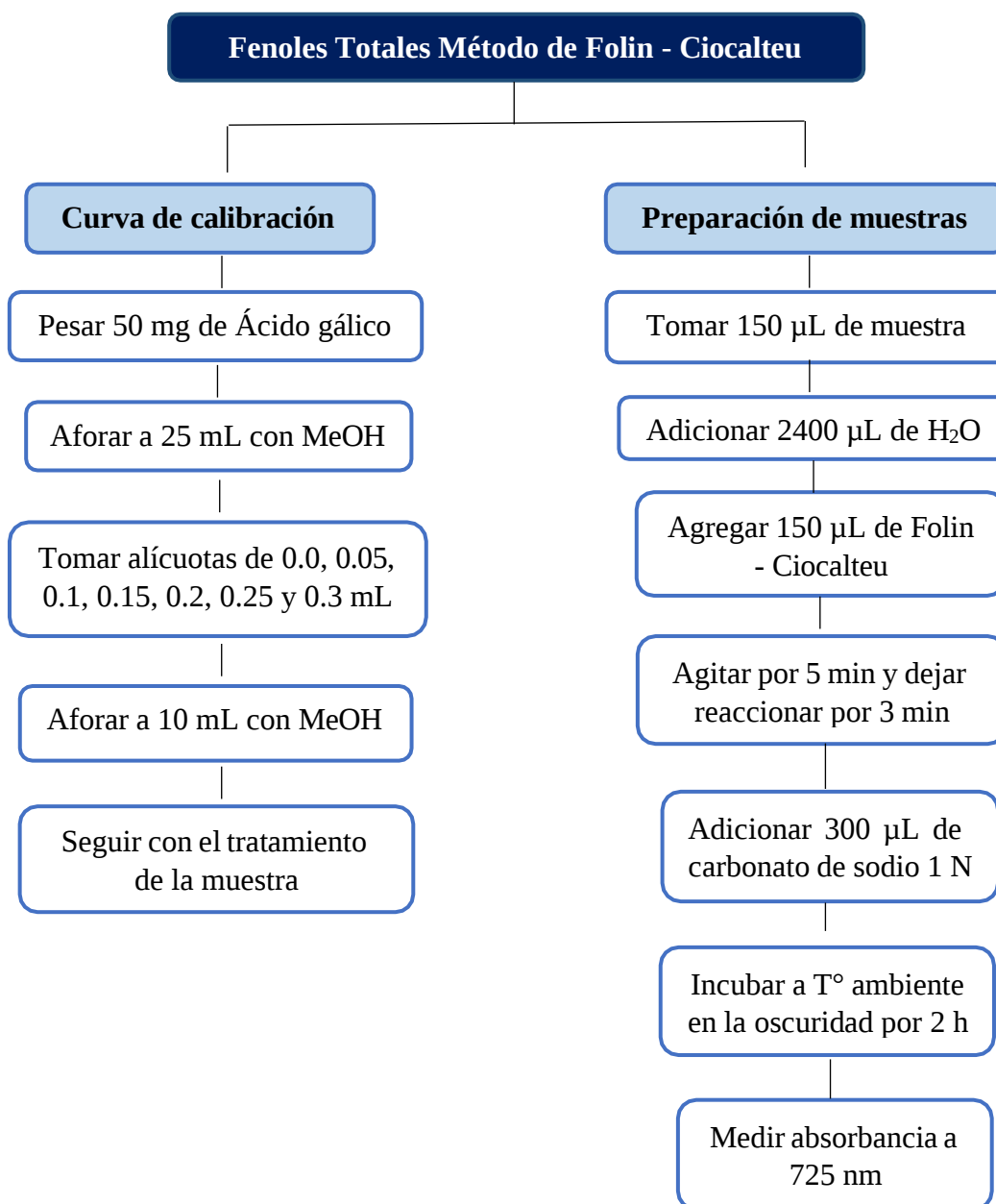
Filtrado



Rotavapor para ser concentrados

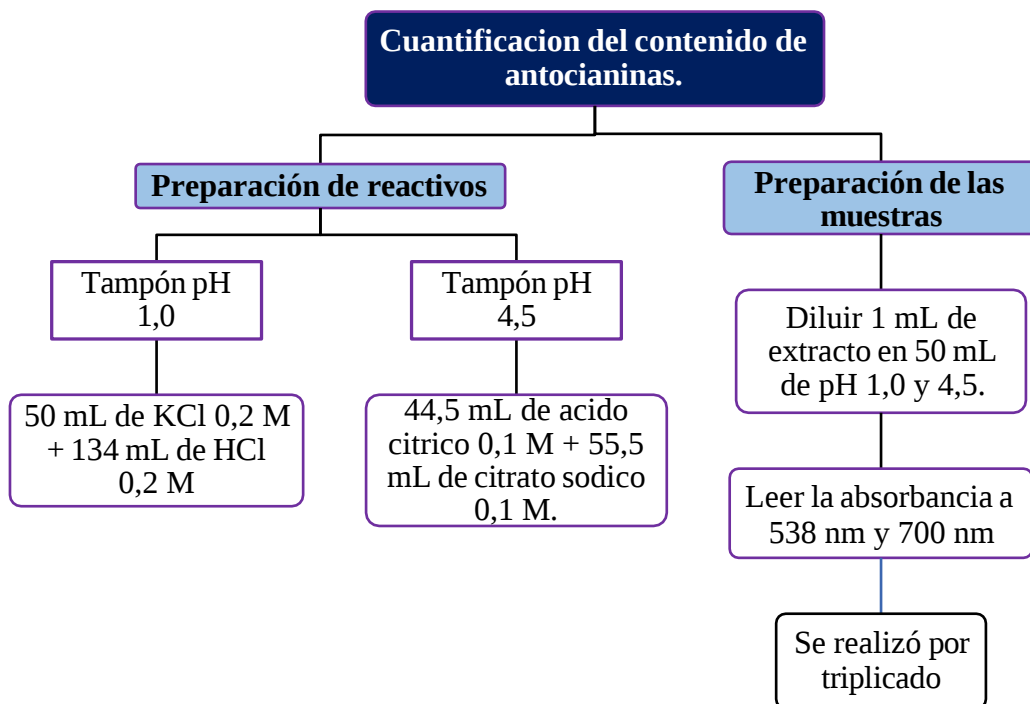
Anexo 5.

Procedimiento para la determinación de fenoles totales.



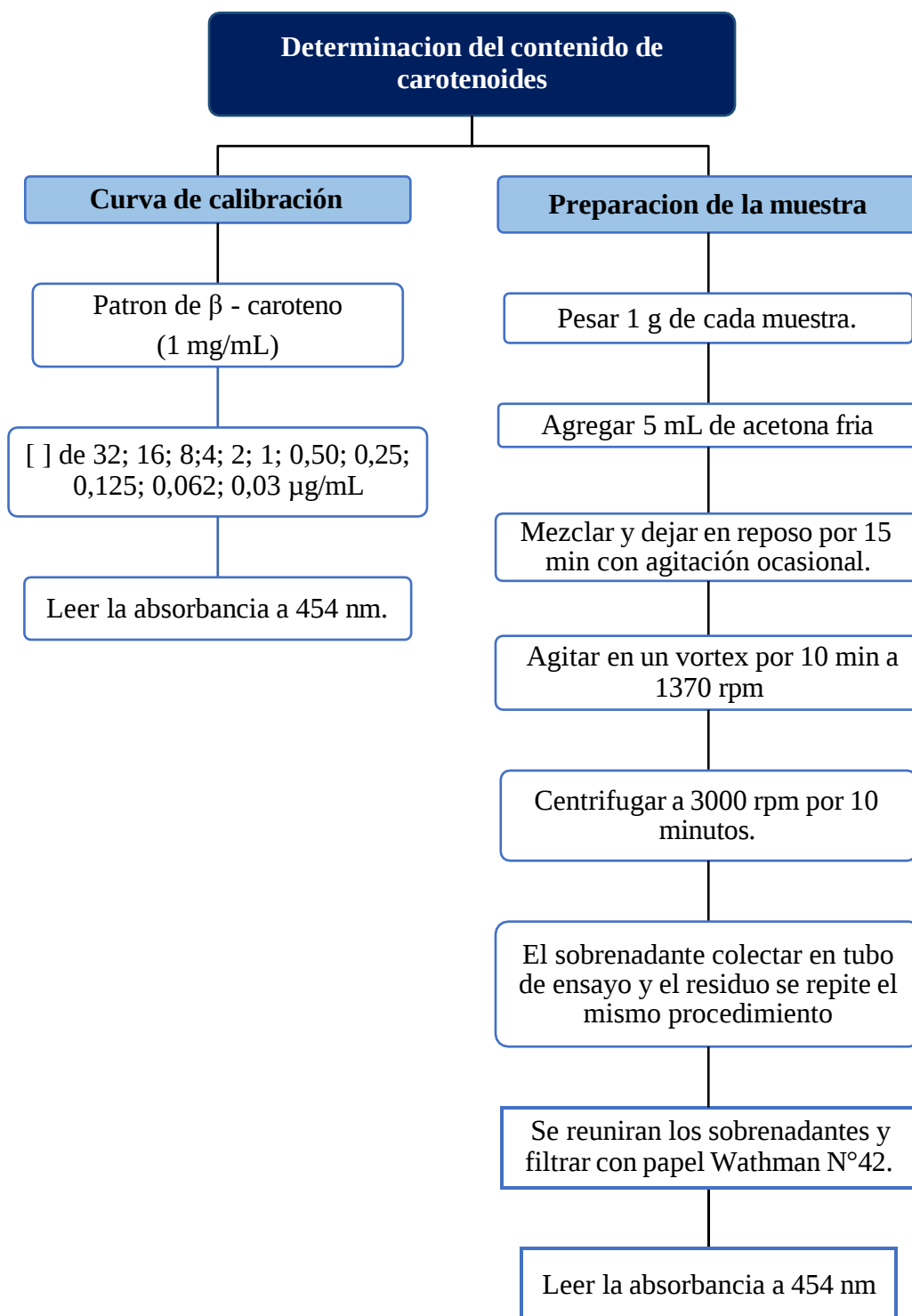
Anexo 6.

Procedimiento para determinar el contenido total de antocianinas.



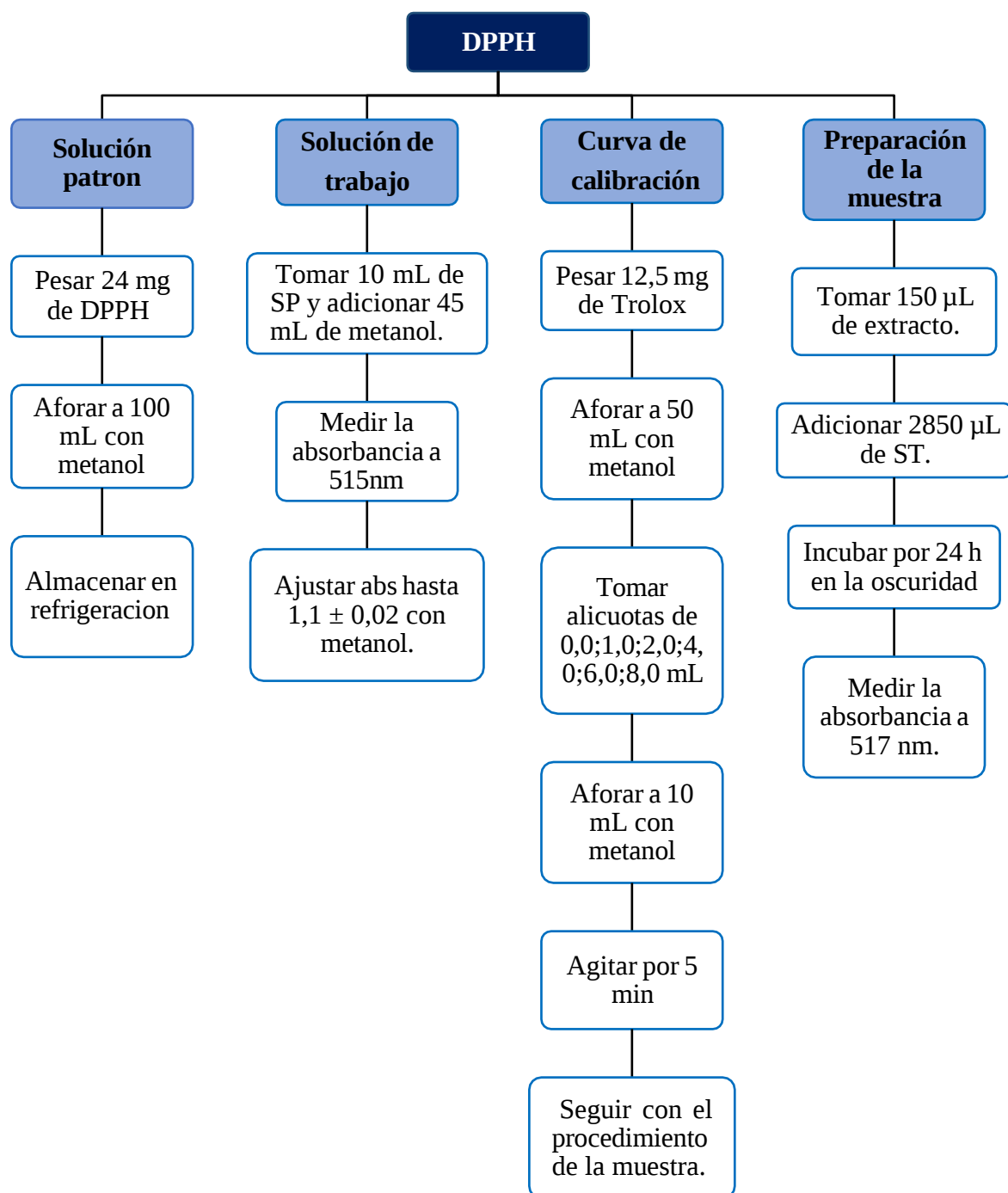
Anexo 7

Procedimiento para determinar el contenido de carotenoides.



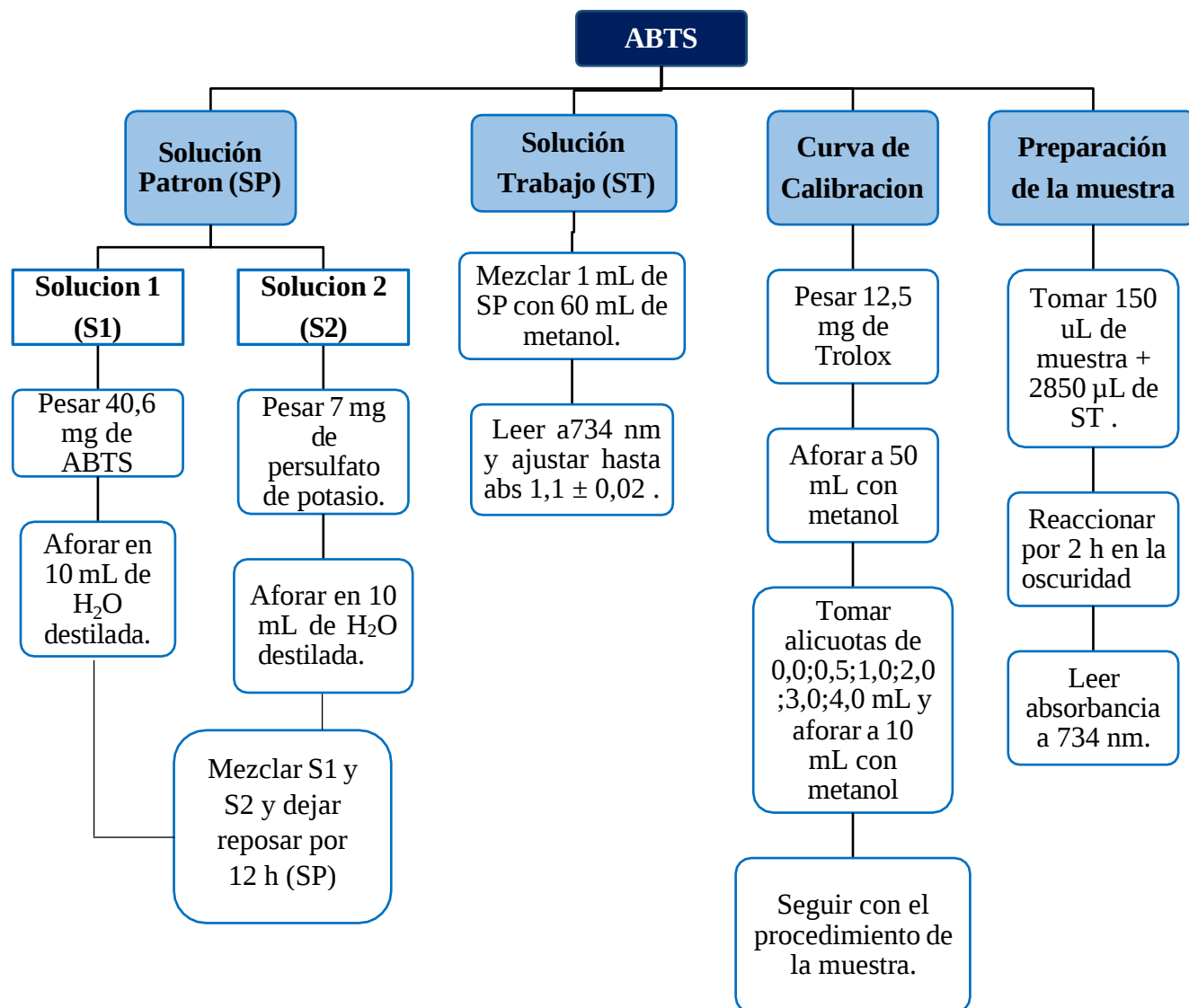
Anexo 8

Procedimiento para la determinación de la capacidad secuestradora del radical libre DPPH.



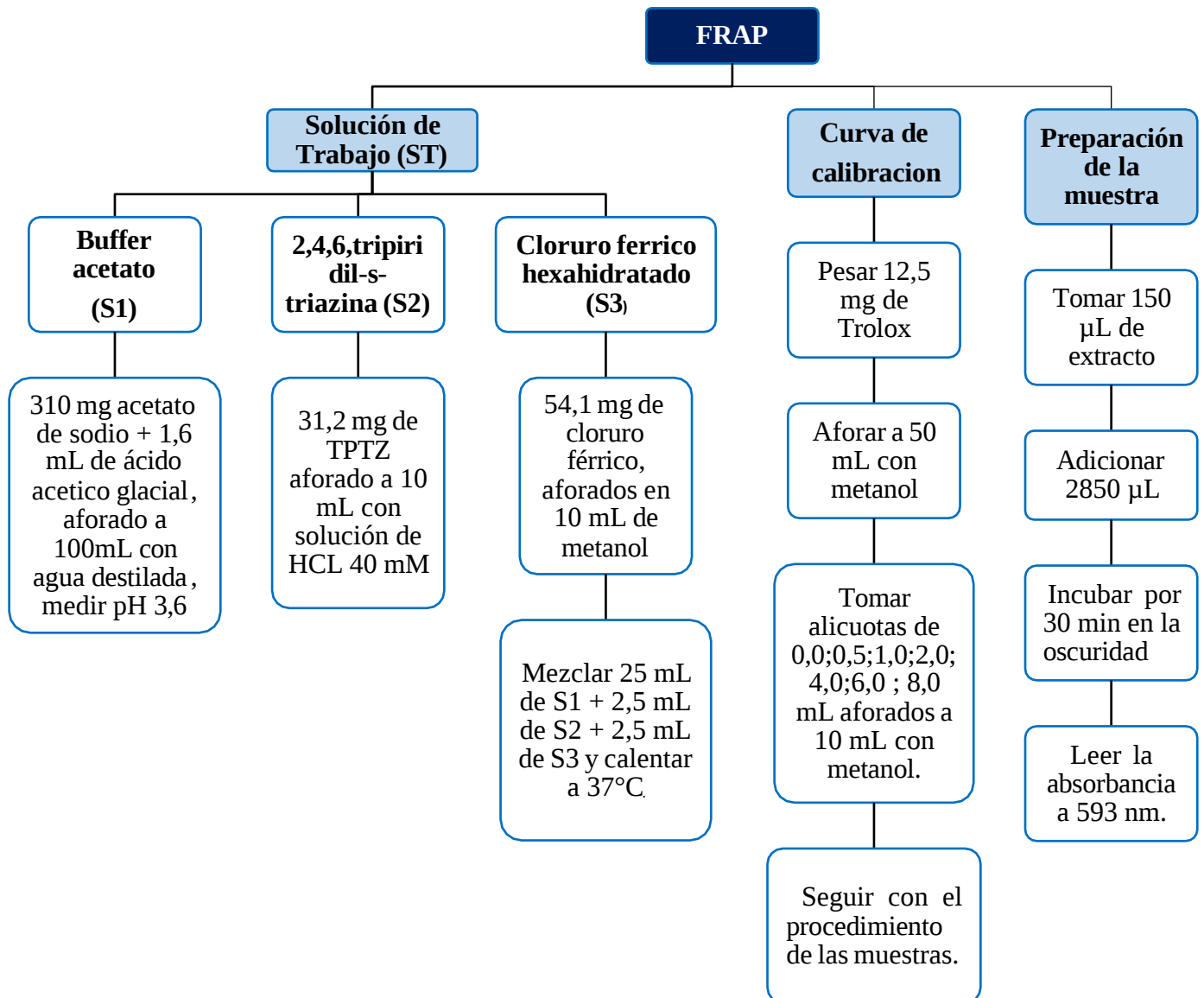
Anexo 9.

Procedimiento para la determinación de la capacidad secuestradora del radical libre ABTS.



Anexo 10.

Procedimiento para la determinación de la capacidad reductora por el método de FRAP



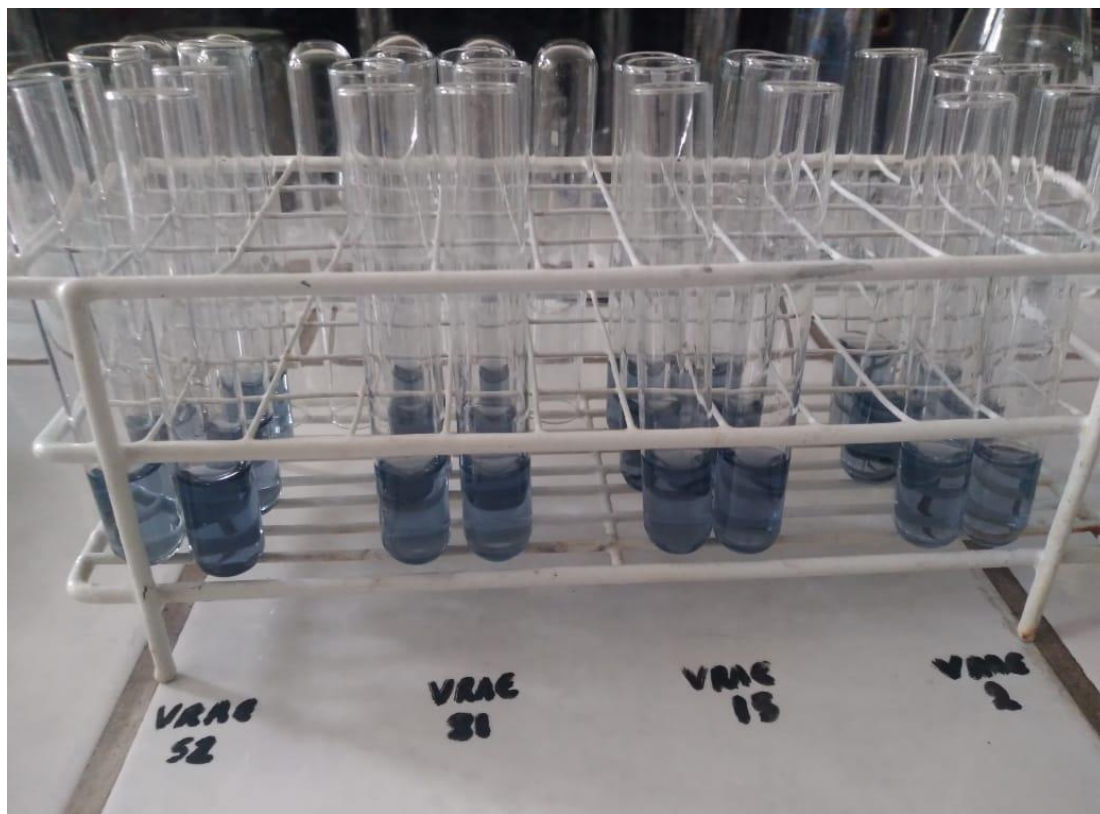
Anexo 11.

Preparación de la solución madre y las diluciones de los extractos



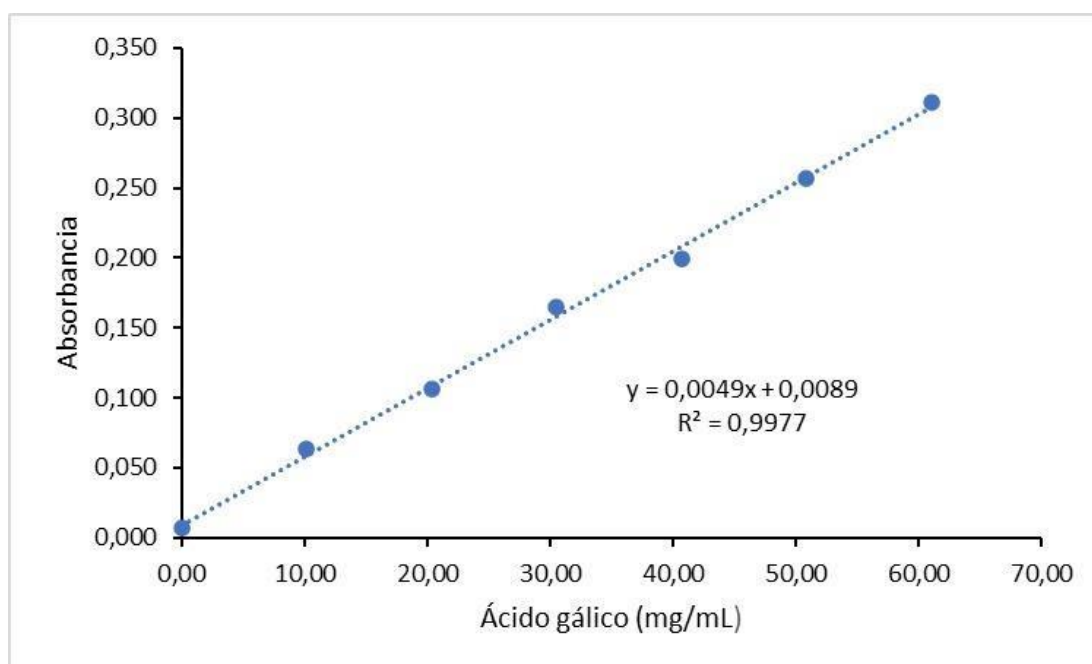
Anexo 12.

Prueba de fenoles totales por el método de Folin - Ciocalteu



Anexo 13.

Curva de calibración del ácido gálico.



Anexo 14.

Determinación del contenido de antocianinas para pH: 1.0



VRAE - 2



VRAE - 15



VRAE - 52



VRAE - 81

Anexo 15

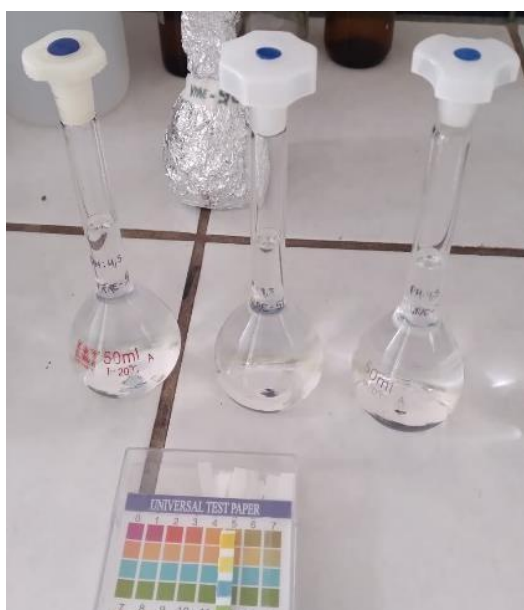
Determinación de contenido de antocianinas para pH:4,5



VRAE - 2



VRAE - 15



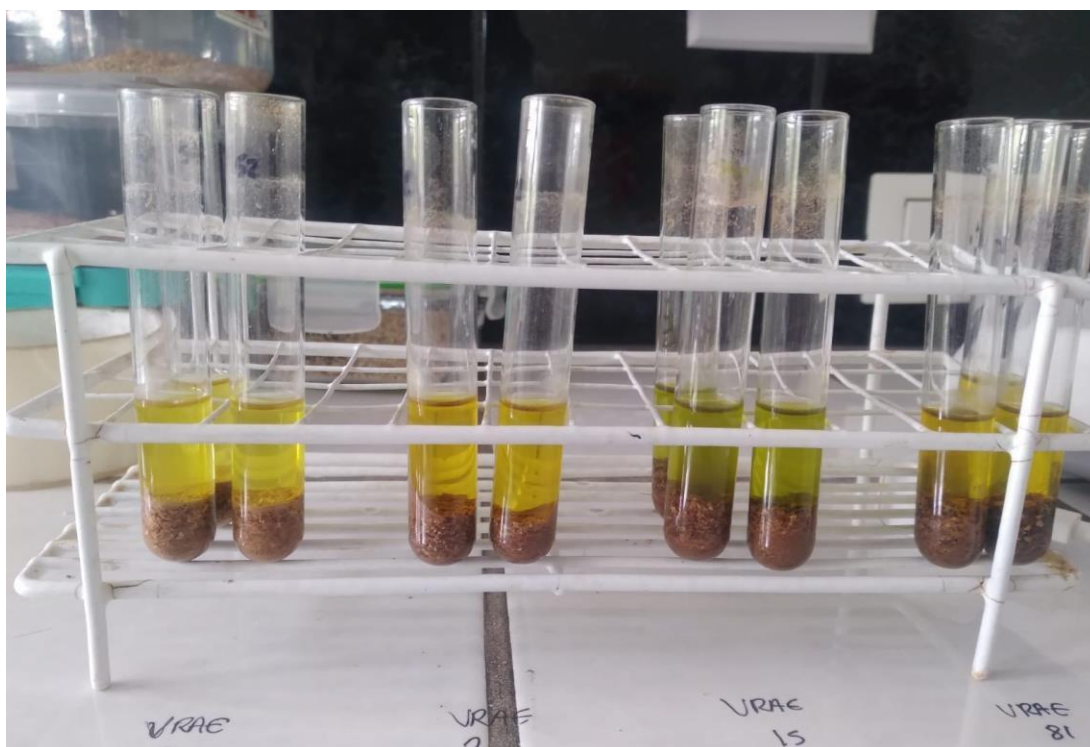
VRAE - 52



VRAE - 81

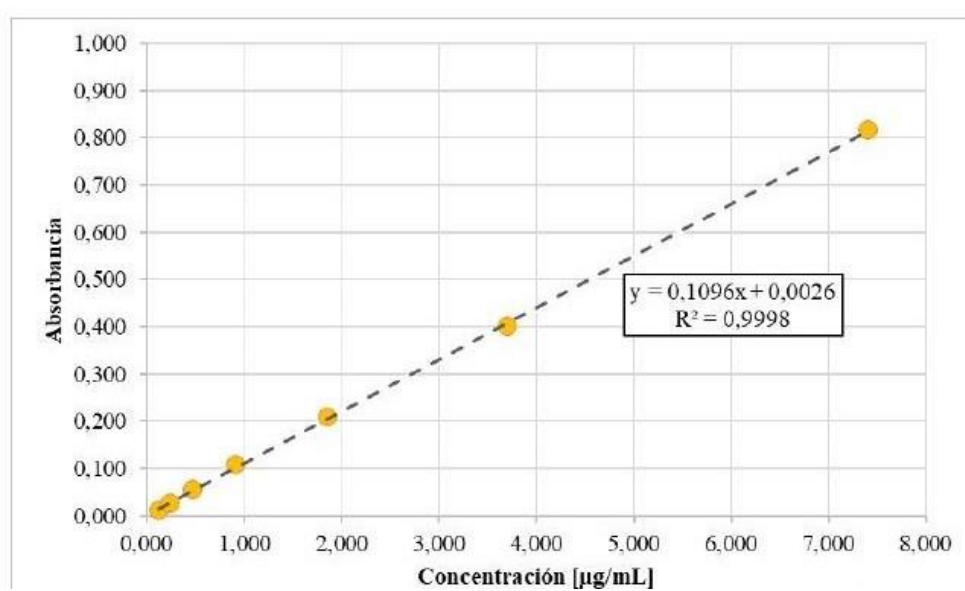
Anexo 16

Prueba de contenido de carotenoides



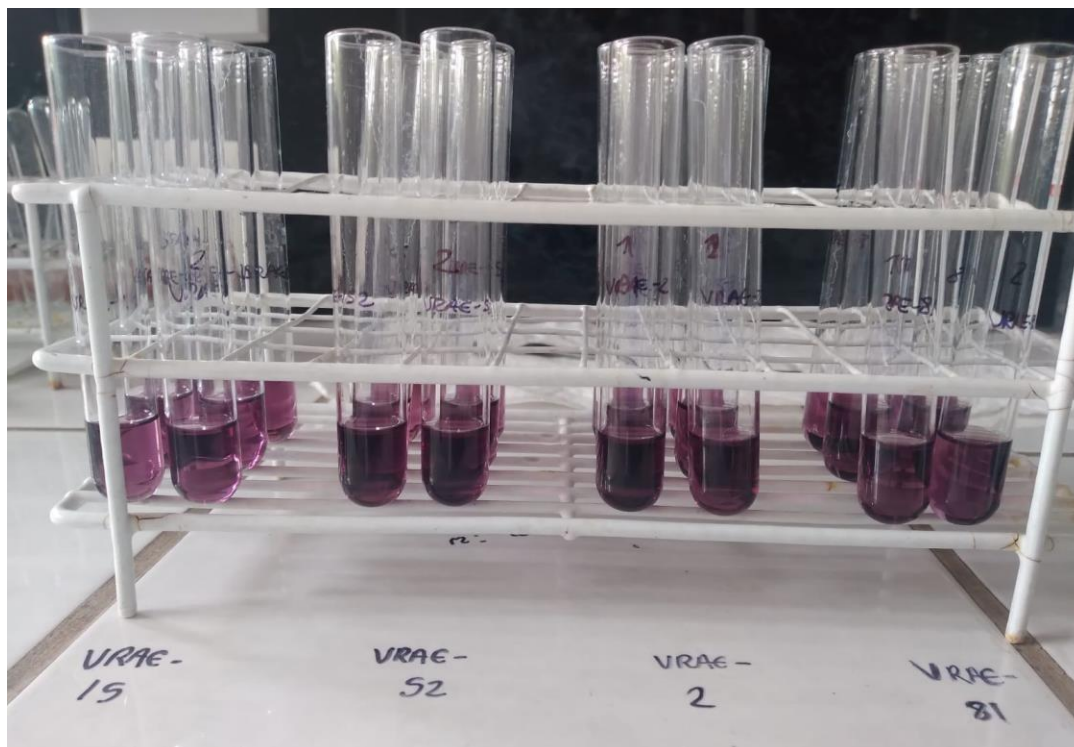
Anexo 17

Curva de calibración del β – caroteno.



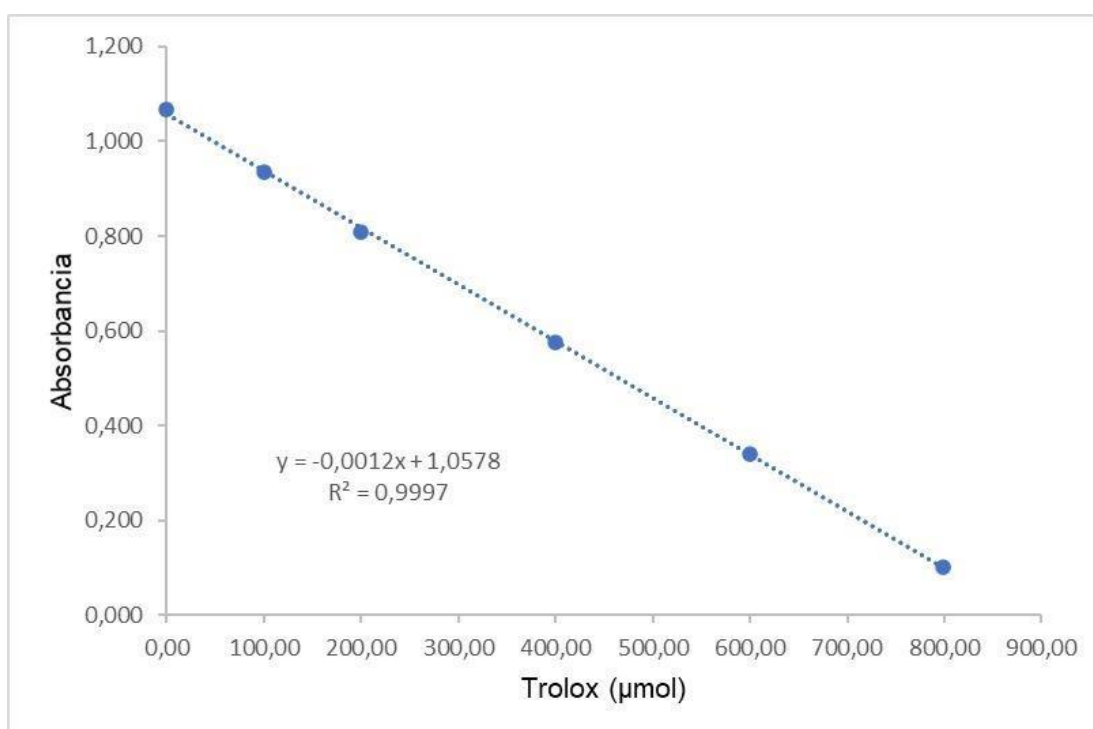
Anexo 18

Prueba de determinación de la capacidad secuestradora de DPPH



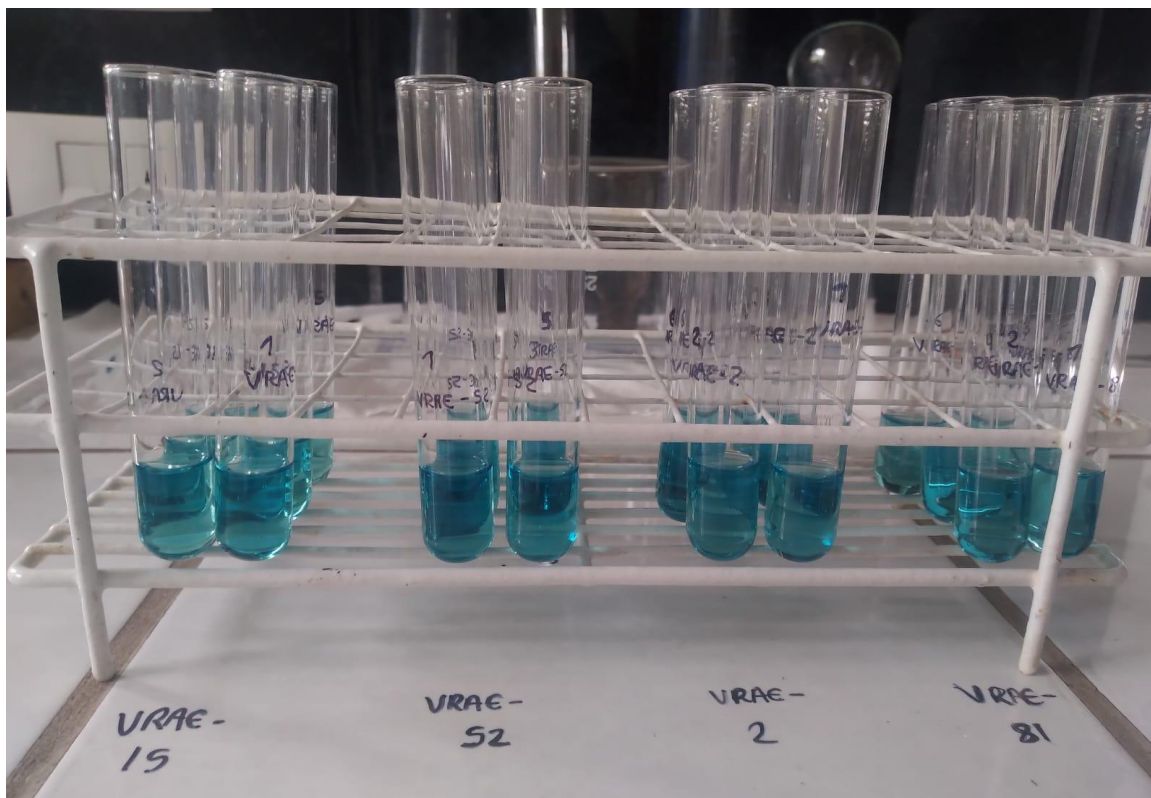
Anexo 19

Curva de calibración del Trolox para determinar la capacidad secuestradora por el método DPPH.



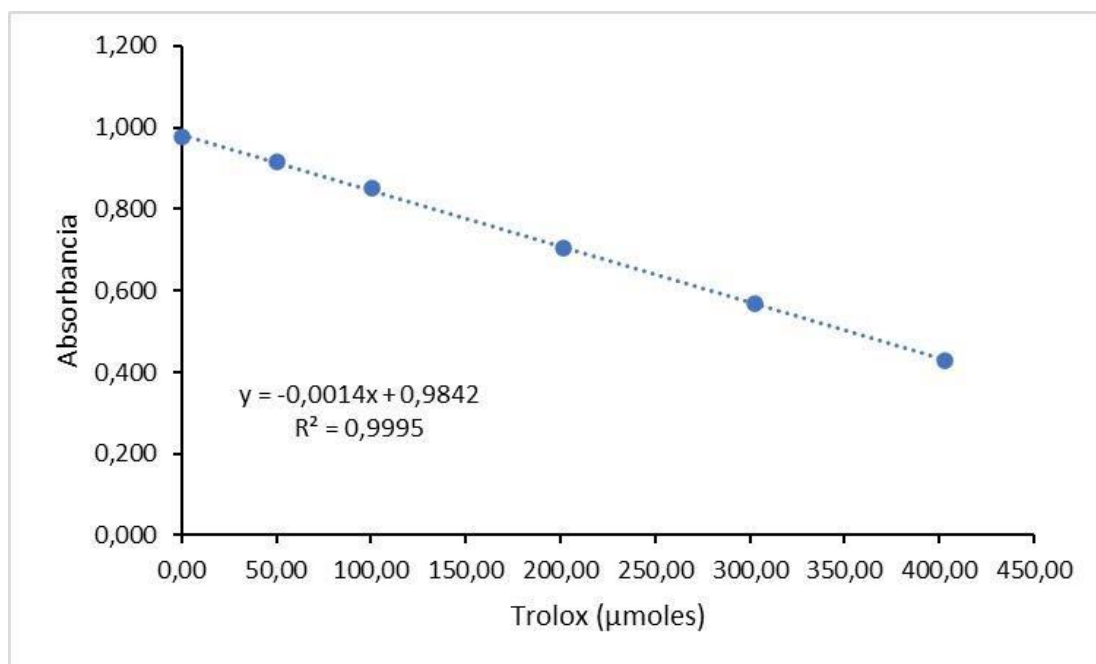
Anexo 20

Prueba de determinación de la capacidad secuestradora de ABTS



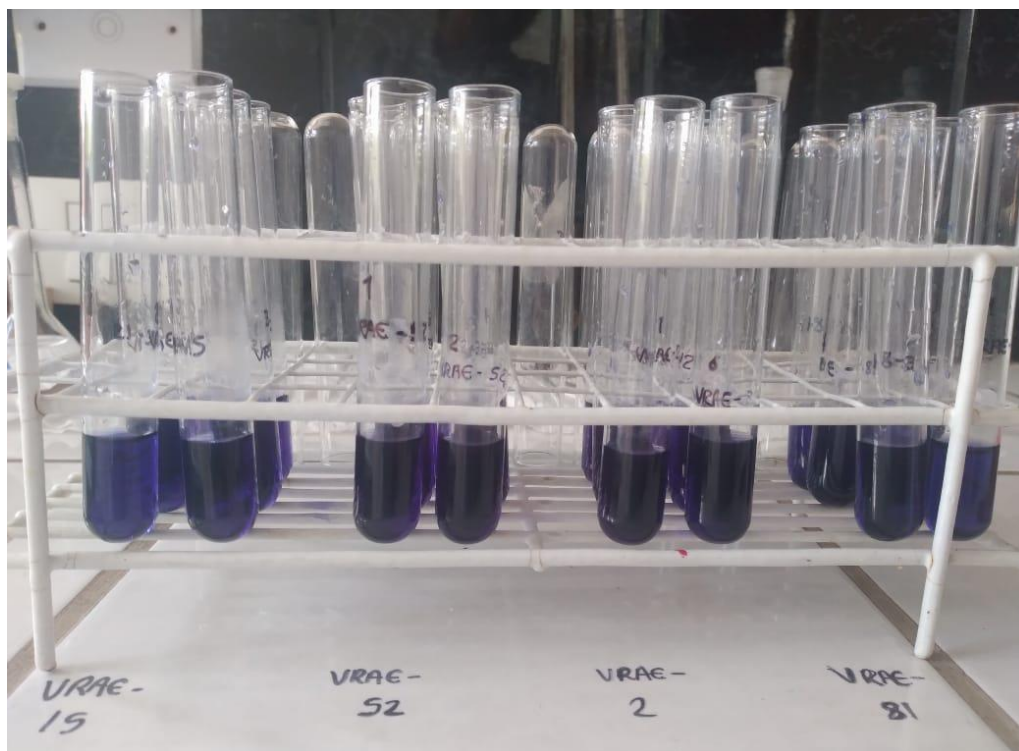
Anexo 21

Curva de calibración del Trolox para la determinación de la capacidad secuestradora por el método ABTS.



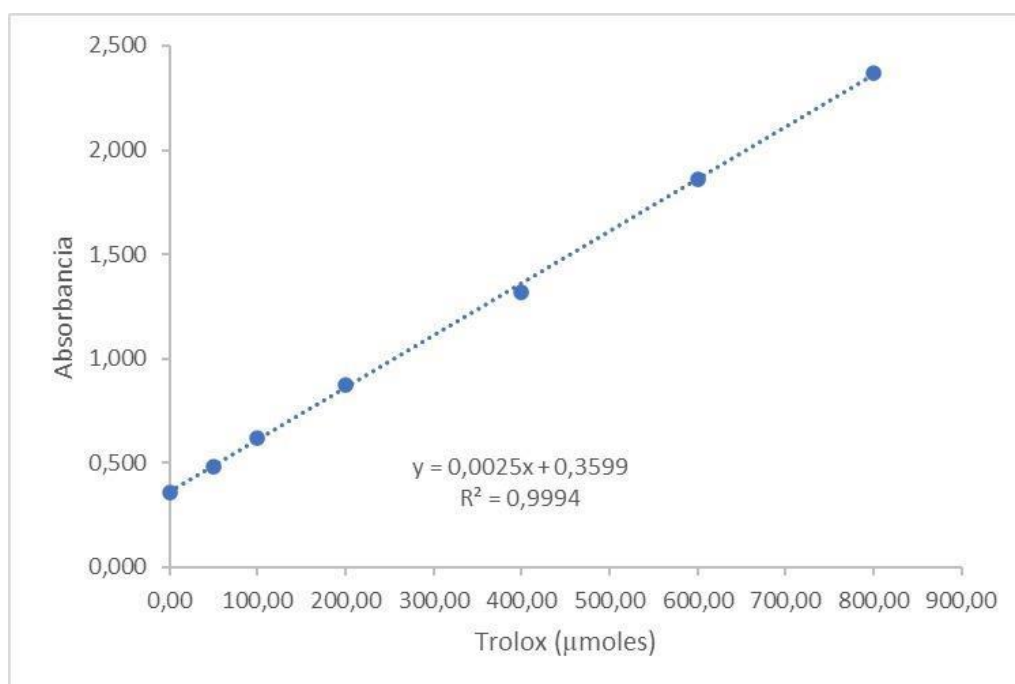
Anexo 22

Prueba de determinación del potencial reductor antioxidante de Hierro FRAP.



Anexo 23

Curva de calibración del Trolox para el potencial reductor antioxidante de hierro FRAP.



Anexo 24

Análisis de varianza del contenido de fenoles totales

ANOVA					
Fenoles totales (mg GAE/g de extracto)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	28635,20	3,00	9545,07	69,91	0,00
Dentro de grupos	2730,69	20,00	136,53		
Total	31365,89	23,00			

Anexo 25

Prueba de comparaciones múltiples de Scheffé del contenido de fenoles totales

Fenoles totales (mg GAE/g de extracto)					
Scheffe ^a					
Variedades	N	Subconjunto para $\alpha = 0,05$			
		a	b	c	D
VRAE - 2	6	731,34			
VRAE - 52	6		765,35		
VRAE - 81	6			792,40	
VRAE - 15	6				825,22
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Anexo 26

Análisis de varianza para el contenido total de antocianinas

ANOVA					
Contenido total de antocianinas (mg/g de extracto)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3,33	2	1,67	1,26	0,35
Dentro de grupos	7,91	6	1,32		
Total	11,25	8			

Anexo 27

Prueba de comparaciones múltiples de Scheffé del contenido total de antocianinas.

Contenido total de antocianinas (mg/g de extracto)		
Scheffe ^a		
Variedades	N	Subconjunto para $\alpha = 0,05$
		a
VRAE - 2	3	1,10
VRAE - 81	3	1,42
VRAE - 15	3	2,52
Sig.		0,38

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 28

Análisis de varianza para el contenido total de carotenoides

ANOVA					
Carotenoides ($\mu\text{g/g}$ de extracto)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	536,48	3,00	178,83	3200,39	0,00
Dentro de grupos	1,12	20,00	0,06		
Total	537,59	23,00			

Anexo 29

Prueba de comparaciones múltiples de Scheffé del contenido total de carotenoides

Carotenoides ($\mu\text{g/g}$ de extracto)				
Scheffe ^a				
Variedades	N	Subconjunto para $\alpha = 0,05$		
		a	b	c
VRAE - 52	6	6,91		
VRAE - 81	6		11,44	
VRAE - 2	6			17,86
VRAE - 15	6			18,27
Sig.		1,00	1,00	0,05

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Anexo 30

Análisis de varianza de la actividad secuestradora de DPPH.

ANOVA					
Actividad secuestradora del radical DPPH ($\mu\text{M ET/g}$ de extracto)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	26,13	3	8,71	515,71	0,00
Dentro de grupos	0,34	20	0,02		
Total	26,47	23			

Anexo 31

Prueba complementaria de Scheffe de la actividad secuestradora de DPPH

Actividad secuestradora del radical DPPH ($\mu\text{M ET/g}$ de extracto)					
Scheffe ^a					
Variedades	N	Subconjunto para $\alpha = 0,05$			
		a	b	c	d
VRAE-52	6	799,40			
VRAE-2	6		800,24		
VRAE-81	6			801,38	
VRAE-15	6				802,13
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Anexo 32

Análisis de varianza de la actividad secuestradora de ABTS

ANOVA					
Actividad secuestradora del radical ABTS ($\mu\text{M ET/g}$ de extracto)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	430,58	3	143,53	5098,96	0,00
Dentro de grupos	0,56	20	0,03		
Total	431,14	23			

Anexo 33

Prueba complementaria de Scheffe de la actividad secuestradora de ABTS

Actividad secuestradora del radical ABTS ($\mu\text{M ET/g de extracto}$)					
Scheffe ^a					
Variedades	N	Subconjunto para $\alpha = 0.05$			
		a	b	c	d
VRAE-52	6	639,68			
VRAE-2	6		645,04		
VRAE-81	6			647,64	
VRAE-15	6				651,31
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Anexo 34

Análisis de varianza del Poder Antioxidante Reductor del Hierro.

ANOVA					
Poder Antioxidante Reductor del Hierro ($\mu\text{M ET/g de extracto}$)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	515149,33	3	171716,44	197,10	0,00
Dentro de grupos	17424,00	20	871,20		
Total	532573,33	23			

Anexo 35

Prueba complementaria de Scheffe del Poder Antioxidante Reductor del Hierro

Poder Antioxidante Reductor del Hierro ($\mu\text{M ET/g de extracto}$)					
Scheffe ^a					
Variedades	N	Subconjunto para $\alpha = 0,05$			
		a	b	c	d
VRAE-2	6	1605,07			
VRAE-52	6		1661,73		
VRAE-81	6			1881,07	
VRAE-15	6				1956,40
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Anexo 36

Análisis de varianza del porcentaje de actividad secuestradora del radical DPPH

ANOVA					
Porcentaje de actividad secuestradora del radical DPPH (%)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,33	3	0,11	550,25	0,00
Dentro de grupos	0,00	20	0,00		
Total	0,34	23			

Anexo 37

Prueba complementaria de Scheffe del porcentaje de actividad secuestradora del radical DPPH

Porcentaje de actividad secuestradora del radical DPPH (%) Scheffe ^a					
Variedades	N	Subconjunto para $\alpha = 0.05$			
		a	b	c	d
VRAE-52	6	90,78			
VRAE-2	6		90,87		
VRAE-81	6			91,00	
VRAE-15	6				91,09
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Anexo 38

Análisis de varianza del porcentaje de actividad secuestradora del radical ABTS

ANOVA					
Porcentaje de actividad secuestradora del radical ABTS (%)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8,44	3	2,81	5098,55	0,00
Dentro de grupos	0,01	20	0,00		
Total	8,45	23			

Anexo 39

Prueba complementaria de Scheffe del porcentaje de actividad secuestradora del radical ABTS

Porcentaje de actividad secuestradora del radical ABTS (%) Scheffe ^a					
Variedades	N	Subconjunto para $\alpha = 0.05$			
		a	b	c	d
VRAE-52	6	91,16			
VRAE-2	6		91,91		
VRAE-81	6			92,27	
VRAE-15	6				92,78
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.					
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.					

Anexo 40

Matriz de definición y operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Valoración	Escala de medición
V1: Extracto metanólico de las cáscaras de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L “cacao”	El metanol es un solvente que extrae compuestos químicos, entre los cuales, se encuentran los fenoles totales, antocianinas y carotenos.	El extracto metanólico desecado de las cáscaras del fruto de cacao obtenido mediante procedimientos estandarizados, servirán para realizar los ensayos químicos.	Contenido de fenoles totales	mg de GAE/g de extracto	Espectrofotométrico	De intervalo
			Contenido de antocianinas.	de mg cianidina – 3 - glucósido/g de extracto	Espectrofotométrico	De intervalo
			Contenido de carotenoides.	de µg de β – caroteno/g de extracto	Espectrofotométrico	De intervalo
V2: Capacidad antioxidante de cuatro variedades de la cáscara de fruto de <i>Theobroma cacao</i> L “cacao”	Capacidad de los extractos de neutralizar los radicales libres.	Se realizará mediante los métodos de DPPH, ABTS y FRAP.	Captación del radical libre DPPH.	µMET/g de extracto	Espectrofotométrico	De intervalo
			Captación de radical ABTS.	µMET/g de extracto	Espectrofotométrico	De intervalo
			Capacidad reductora de hierro (FRAP).	µMET/g de extracto	Espectrofotométrico	De intervalo

Fuente: Elaboración propia

Anexo 41

Matriz de consistencia

Título: Contenido de antocianinas, carotenoides y capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de *Theobroma cacao*

L “cacao” – Ayacucho.

Autor: Levi, SUMARI ASENCIOS

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
Problema general ¿Cuál es el contenido de antocianinas, carotenoides y la capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. “cacao”?	Objetivo principal Determinar el contenido de antocianinas, carotenoides y la capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. “cacao”.	Hipótesis general Hi: Existen una diferencia significativa en el contenido de antocianinas, carotenoides y de su capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L. “cacao”.	Variable 1 Extracto metanólico de las cáscaras de las cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L “cacao” Indicadores: Contenido de fenoles en mg GAE/ g de extracto. Contenido de antocianinas en mg cianidina-3-glucósido/g de extracto. Contenido de carotenoides en µg de β - caroteno /g de extracto.	Tipo de investigación Descriptivo. Diseño de investigación Básico - Comparativo - transversal Población La cáscara de cuatro variedades de <i>Theobroma cacao</i> L “cacao” recolectadas en las regiones de Ayacucho y Cuzco. Muestra - Forastero: VRAE-2 (forastero amazónico-chuncho) - Trinitario: VRAE-15 (trinitario) y VRAE-81 (trinitario) - Criollo: VRAE-52 (criollo)
Problemas específicos ¿Cuánto será el contenido de fenoles totales del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades? ¿Cuánto será el contenido de antocianinas del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades? ¿Cuánto será el contenido de carotenoides del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades? ¿Cuánto será la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cuatro variedades?	Objetivos específicos Precisar el contenido de fenoles totales del extracto metanólico de la cáscara de cacao de cuatro variedades. Cuantificar el contenido de antocianinas del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades. Determinar el contenido de carotenoides del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cacao de cuatro variedades. Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la cáscara del fruto de cuatro variedades por el método de DPPH, ABTS y FRAP.	Hipótesis específicas H1.1: El contenido de fenoles totales en el extracto metanólico de la cáscara de cacao varía significativamente entre las tres variedades, siendo el VRAE – 52 presenta mayor contenido. H1.2: El contenido de antocianinas en el extracto metanólico de la cáscara de cacao es mayor en la variedad VRAE – 15 en comparación con las variedades VRAE -2, VRAE- 52 y VRAE – 81. H1.3: El contenido de carotenoides en el extracto metanólico de la cáscara de cacao es mayor en la variedad VRAE- 2 en comparación con las variedades VRAE-15, VRAE-52 y VRAE-81. H1.4: La capacidad antioxidante del extracto metanólico de la cáscara de cacao es mayor en la variedad VRAE- 52 en comparación con las variedades VRAE-15, VRAE-2 y VRAE-81.	Variable 2 Capacidad antioxidante de las cinco variedades del fruto de <i>Theobroma cacao</i> L “cacao”. Indicadores Captación del radical libre DPPH expresado en µMET/g de extracto. Captación del radical libre ABTS expresado en µMET/g de extracto. Capacidad reductora del Hierro FRAP expresado en µMET/g de extracto.	Diseño metodológico Recolección de la muestra Obtención del extracto metanólico Determinación del contenido de fenoles totales Determinación del contenido de antocianinas Determinación del contenido de carotenoides Determinación de la capacidad antioxidante. Análisis de datos Con los datos obtenidos de los ensayos, se hallará la media y se presentarán en forma de figuras y tablas. Para establecer las diferencias entre las medias de los ensayos, se utilizará el análisis de varianza (ANOVA) con una significancia estadística de $p < 0,05$; y la prueba complementaria de Scheffé y se utilizará el software SPSS

Fuente: Elaboración propia

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N° 464-2026-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER:

LEVI SUMARI ASENCIOS

En la ciudad de Ayacucho, siendo las once de la mañana del día diez del mes de julio del año dos mil veintiséis, se reunieron en el aula J-201 los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **Contenido de antocianinas, carotenoides y capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L. "cacao" – Ayacucho.** presentando por la bachiller **LEVI SUMARI ASENCIOS** para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

Los miembros del jurado de sustentación conformado por:

Presidente : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo (Delegado por el Decano)
Miembros : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
 : Prof. Edwin Carlos Enciso Roca
4to jurado : Prof. Roxana León Arones
Asesor : Prof. Enrique Javier Aguilar Felices
Secretario Docente : Prof. Mónica Gómez Quispe

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, el presidente de la comisión pide al secretario docente dar lectura a los documentos presentados por el recurrente, resolución decanal y algunas indicaciones a la sustentante.

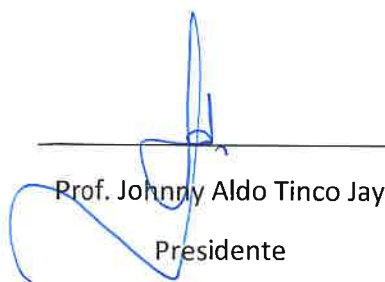
Acto seguido inicia la exposición de la Bachiller: LEVI SUMARI ASENCIOS, una vez finalizado, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes.

El presidente invita al sustentante abandonar el auditorium para que pueda proceder con la calificación.

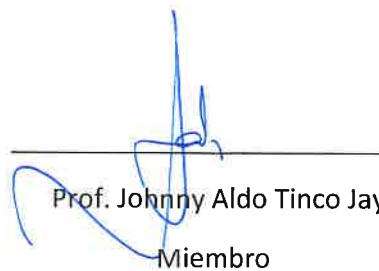
RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

JURADOS	TEXTO	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	P. FINAL
Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo	18	18	18	18
Prof. Edwin Carlos Enciso Roca	17	17	17	17
Prof. Roxana León Arones	18	18	18	18
PROMEDIO FINAL				18

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller LEVI SUMARI ASENCIOS; quien obtuvo la nota final de dieciocho (18) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo la 1:00 horas de la tarde, se da por concluido el presente acto académico.



Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
Presidente



Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
Miembro



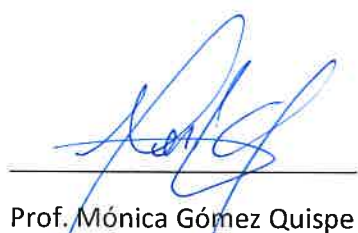
Prof. Edwin Carlos Enciso Roca
Miembro



Prof. Roxana León Arones
Miembro



Prof. Enrique Javier Aguilar Felices
Asesor



Prof. Mónica Gómez Quispe
Secretaria Docente

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUDESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA

El Instructor en Segunda Instancia, en virtud de la RCU N° 039 – 2021 – UNCH – CU, y en calidad de Director de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, emite la presente

CONSTANCIA

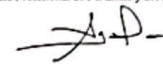
DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

A Levi SUMARI ASENCIOS, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en mérito a que la tesis titulada: Contenido de antocianinas, carotenoides y capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de *Theobroma cacao* L. “cacao” – Ayacucho.; ha alcanzado un índice de similitud de 21 % (veintiuno por ciento); cumpliendo satisfactoriamente lo establecido en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante el uso del SOFTWARE TURNITIN.

En tal sentido, se emite la presente constancia en señal de conformidad.

Ayacucho, 19 de junio de 2026.

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica


Dr. Enrique Javier Aguilar Felices
Director

Firmado
digitalmente por
Enrique Javier
Aguilar Felices
Fecha:
2026.06.19
13:08:01 -05'00'

CONTANCIA N° 010 - 2026

Contenido de antocianinas, carotenoides y capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L. "cacao" – Ayacucho.

por Levi Sumari Asencios

Fecha de entrega: 19-jun-2026 12:53p. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2986169187

Nombre del archivo: BORRADOR_DE_TESIS.pdf (2.88M)

Total de palabras: 16504

Total de caracteres: 86179

Contenido de antocianinas, carotenoides y capacidad antioxidante de la cáscara del fruto de cuatro variedades de Theobroma cacao L. "cacao" – Ayacucho.

INFORME DE ORIGINALIDAD

21 %

INDICE DE SIMILITUD

24 %

FUENTES DE INTERNET

12 %

PUBLICACIONES

15 %

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	8 %
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	4 %
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2 %
4	repositorio.unas.edu.pe Fuente de Internet	1 %
5	cgspace.cgiar.org Fuente de Internet	1 %
6	repositorio.uncp.edu.pe Fuente de Internet	1 %
7	minagri.gob.pe Fuente de Internet	1 %
8	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	<1 %

9	Submitted to Pontificia Universidad Catolica del Peru	<1 %
	Trabajo del estudiante	
10	repositorio.uteq.edu.ec	<1 %
	Fuente de Internet	
11	repositorio.unal.edu.co	<1 %
	Fuente de Internet	
12	www.repositorio.upla.edu.pe	<1 %
	Fuente de Internet	
13	1library.co	<1 %
	Fuente de Internet	
14	roboalbanconuevomundo.com	<1 %
	Fuente de Internet	
15	repositorio.unapiquitos.edu.pe	<1 %
	Fuente de Internet	
16	purl.org	<1 %
	Fuente de Internet	
17	repositorio.chapingo.edu.mx	<1 %
	Fuente de Internet	
18	www.coursehero.com	<1 %
	Fuente de Internet	

Exclur citas

Activo

Exclur coincidencias < 30 words

Exclur bibliografia

Activo