

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

División de Ciencias Biológicas y de la Salud



POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA

“Pulpa de café y cáscara de cacao: ingredientes con propiedades funcionales empleados en el desarrollo de películas comestibles en productos cárnicos”

TESIS que para obtener el grado de
DOCTORA EN BIOTECNOLOGIA

Presenta

Maestra en Biotecnología. Claudia Karina Pacheco Martínez

Matricula: 2173801817

Orcid: 0000-0002-1017-2514

Correo electrónico: claudiamartinez2705@gmail.com

DIRECTORA DE TESIS
Dra. Ma. De Lourdes Pérez Chabela

JURADO
Presidente
Dr. Jesús Gerardo Saucedo Castañeda
Secretaria
Dra Edith Ponce Alquicira
Vocal
Dr. Luis Víctor Rodríguez Durán
Vocal
Dr. Alfonso Totosaús Sánchez

Iztapalapa Ciudad de México a 15 de diciembre 2025

“El Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Sistema Nacional de Posgrado (SNP) del SECIHTI, con la referencia 001465 en el nivel internacional.”

Claudia Karina Pacheco Martínez agradece el apoyo de CONACyT ahora SECIHTI por la beca recibida para obtener este grado de doctor en biotecnología (CVU 868662)

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y abuelita por su inmenso apoyo, su amor, sus consejos su guía, y comprensión, gracias por cuidar de mi hijo para que yo pudiera seguir, lo que me ayudo a llegar hasta este punto.

A mi abuelito que se que no pudo estar, pero siempre confió en mí, y sé que desde el cielo estará orgulloso.

A mi hijo por todo su amor, su comprensión, por todo el tiempo que no pude estar con él, este logro es de los dos, como dice, nos vamos a graduar los dos.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, gracias por su ayuda, sus consejos y su amistad.

A la Dra. Gloria Trejo, por su ayuda, sus consejos, y su amistad.

A la Dra. María de Lourdes Pérez Chabela, por la oportunidad que me brindo de trabajar con ella, a su guía, su atencion, su comprensión y cada una de las enseñanzas adquiridas a lo largo de estos 4 años, gracias por dirigir mi tesis y ayudarme a culminar este proyecto

Al Dr. Gerardo Saucedo por sus enseñanzas, sus recomendaciones, sus observaciones, su tiempo, su comprensión, que me ayudaron a culminar este proyecto.

Al Dr. Luis V. Rodríguez por sus recomendaciones, sus correcciones, por ayudarme a la culminación de este proyecto.

A los sinodales de tesis por tomarse el tiempo de revisar esta tesis, por las correcciones realizadas y el interés mostrado para mejorarla.

RESUMEN

El cultivo del café y cacao son de gran relevancia económica y social, durante 2025 se reportó una producción en México de 0.89 millones de sacos de 60 kg para café y de 39 mil toneladas para cacao, esta industria genera desechos que representan entre el 40 y el 70 % del peso del fruto por lo que puede causar graves problemas de contaminación. Por esta razón en esta tesis se plantea la utilización de la pulpa de café (PC) y cáscara de cacao (CC) como fuente de ingredientes con propiedades funcionales y sus posibles aplicaciones en el desarrollo de películas comestibles en productos cárnicos.

Durante la primera etapa experimental se realizó la caracterización bromatológica, y fisicoquímica de harina de PC y harina de CC, encontrando valores para fibra de 63.9 % y de 70.6 % respectivamente, en el caso de azúcares totales se determinaron valores de 47.5 % para PC y de 74.5 para CC, se determinó la carga microbiana autóctona, así como la actividad prebiótica encontrando que la mayor actividad es para *L. casei* Shirota, se cuantifico la cantidad de ácidos grasos de cadena corta teniendo que el mejor sustrato para producirlos es la CC, en el caso de polifenoles se determinó un valor de 3.8 mg Eq de ácido gálico / g MS para PC y de 4.1 mg Eq de ácido gálico / g MS para CC. Se determino una actividad antioxidante de 58 a 64 mg Eq de Trolox /g MS para PC y de 72 a 81 mg Eq de Trolox /g MS para CC, por último, se determinó la actividad antifúngica y antimicrobiana. En la segunda fase experimental se realizó el diseño de películas comestibles, de PC y CC, caseinato de sodio y glicerol, y se le realizaron pruebas fisicoquímicas, como elongación (%) y fuerza de extensión (N/cm²), se diseñó un jamón cocido y se cubrió con la película comestible, determinando parámetros como color, textura y rancidez oxidativa el cual demuestra que al día 30 se tiene un retraso en la oxidacion con valores de 63.2 mg de malonaldehido/ kg de jamón para el jamón cubierto con película comestible, contra 78.8 mg de malonaldehido/ kg de jamón para jamón testigo. Se realizo un análisis sensorial, en que se determinó que existe una diferencia en el sabor entre el jamón cubierto con película comestible y el jamón testigo, por último se determinó el posible efecto bacteriostático de la película analizado hasta el día 21, usando cepas patógenas de alimentos, determinando que se presenta una disminución en el crecimiento del 20 % para *S. aureus*, 25 % para *L. monocytogenes*, en un 55 % para *E. coli* y en un 56 % para *S. typhimurium*, por último se determinó la inhibición (%) a partir de la tasa específica de crecimiento microbiano , la cual oscila entre el 40 % y el 73 %, siendo notablemente mayor en el caso de *L. monocytogenes*.

ABSTRACT

Coffee and cacao cultivation are of great economic and social importance. In 2025, Mexico reported a production of 0.89 million 60 kg bags of coffee and 39,000 tons of cacao. This industry generates waste that represents between 40% and 70% of the fruit's weight, which can cause serious pollution problems. For this reason, this thesis proposes the use of coffee pulp (CP) and cacao husk (CH) as a source of ingredients with functional properties and their potential applications in the development of edible films for meat products.

During the first experimental stage, the bromatological and physicochemical characterization of PC flour and CC flour was carried out, finding fiber values of 63.9% and 70.6% respectively. In the case of total sugars, values of 47.5% were determined for PC and 74.5% for CC. The autochthonous microbial load was determined, as well as the prebiotic activity, finding that the highest activity was for *L. casei* Shirota. The amount of short-chain fatty acids was quantified, with CC being the best substrate for their production. In the case of polyphenols, a value of 3.8 mg Eq of gallic acid / g DM was determined for PC and 4.1 mg Eq of gallic acid / g DM for CC. Antioxidant activity was determined to be 58 to 64 mg Trolox Eq/g DM for PC and 72 to 81 mg Trolox Eq/g DM for CC. Finally, antifungal and antimicrobial activity were determined. In the second experimental phase, edible films of PC and CC, sodium caseinate, and glycerol were designed and subjected to physicochemical tests, such as elongation (%) and tensile strength (N/cm²). A cooked ham was designed and covered with the edible film, and parameters such as color, texture, and oxidative rancidity were determined. The results showed that by day 30, oxidation was delayed, with malondialdehyde values of 63.2 mg/kg of ham for the ham covered with the edible film, compared to 78.8 mg/kg of ham for the control ham. A sensory analysis was performed, which determined that there is a difference in taste between the ham covered with edible film and the control ham. Finally, the possible bacteriostatic effect of the film was determined, analyzed up to day 21, using pathogenic food strains, determining that there is a decrease in growth of 20% for *S. aureus*, 25% for *L. monocytogenes*, 55% for *E. coli* and 56% for *S. typhimurium*. Finally, the inhibition (%) was determined from the specific microbial growth rate, which ranges between 40% and 73%, being notably higher in the case of *L. monocytogenes*.

ÍNDICE

1.Introducción	1
2. Revisión bibliográfica.....	2
2.1 Pulpa de café (PC).....	2
2.2 Cáscara de cacao	2
2.3 Ingredientes y alimentos funcionales	3
2.3.1 Polifenoles.....	4
2.3.2 Fibra dietética	6
2.3.3 Prebióticos	8
2.3.4 Ácidos grasos de cadena corta.....	9
2.4 Estado del arte sobre el uso de pulpa de café y cáscara de cacao como ingredientes funcionales.....	10
2.4.1 Pulpa de café.....	10
2.4.2 Cáscara de cacao	13
2.5 Películas comestibles.....	15
2.5.1 Clasificación de películas comestibles	16
2.5.2 Aplicación de películas comestibles	17
2.5.3 Aplicación de películas comestibles en productos cárnicos	20
3.Justificación	23
4. Objetivos.....	23
4.1 Objetivo general	23
4.2 Objetivos particulares	23
5. Materiales y métodos.....	24
5.1 Material Biológico y tratamiento de las muestras.....	24
5.2 Estrategia experimental	24
Primera etapa	27
5.3 Análisis bromatológico	27
5.3.1 Humedad.....	27
5.3.2 Cenizas.....	27
5.3.3 Determinación de grasa.....	27
5.3.4 Determinación de fibra	28
5.3.5 Determinación de proteína	29
5.4 Técnicas analíticas: pH, cuantificación de glucosa y azúcares totales.....	30
5.4.1 pH.....	30
5.4.2 Cuantificación de glucosa.....	30
5.4.3 Contenido de azúcares totales	30

5.5 Análisis microbiológico, cinéticas de fermentación, parámetros cinéticos, actividad prebiótica y cuantificación de ácidos grasos de cadena corta.	31
5.5.1 Análisis microbiológico.....	31
5.5.2 Cinéticas de fermentación y parámetros cinéticos	31
5.5.3 Actividad prebiótica	31
5.5.4 Ácidos grasos de cadena corta.....	32
5.5.5 Ácido láctico.....	32
5.6 Polifenoles totales, actividad antioxidante, actividad antimicrobiana y actividad antifúngica.....	32
5.6.1 Preparación de extractos de pulpa de café y cáscara de cacao.....	32
5.6.2 Determinación de polifenoles totales	32
5.6.3 Flavonoides	33
5.6.4 Taninos condensados o proantocianidinas	33
5.6.5 Ácidos hidroxicinámicos.....	34
5.6.6 Actividad antioxidante por ABTS (2, 2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-acido sulfónico)	35
5.6.7 Actividad antioxidante por DPPH.....	35
5.6.8 Actividad antioxidante por oxidación de ácido linoleico.....	35
5.6.9 Actividad antimicrobiana.....	36
5.6.10 Actividad antifúngica	36
Segunda etapa	37
5.7 Películas comestibles de pulpa de café y cáscara de cacao	37
5.7.1 Formulación de películas	37
5.7.2 Extensión.....	37
5.7.3 Punción.....	37
5.7.4 Permeabilidad de vapor de agua.....	38
5.7.5 Opacidad.....	38
5.7.6 Solubilidad.....	38
5.7.7 Proteína soluble.....	39
5.7.8 Espesor.....	39
5.8 Recubrimiento de un jamón con la película comestible adicionada con cáscara de cacao	39
5.8.1 Formulación de jamón	39
5.8.2 Cobertura de jamón con películas	40
5.8.3 Análisis fisicoquímico	40
5.8.3.1 Determinación de rancidez oxidativa	40
5.8.3.2 Humedad en jamón	41
5.8.3.3 Determinación de pH.	41
5.8.3.4 Determinación de color	41
5.8.3.5 Perfil de textura	41
5.8.4 Análisis sensorial (prueba a no a con índice r).....	41
5.8.5 Jamón recubierto con películas comestibles e inoculadas con bacterias patógenas	41
6. Resultados y discusión.....	42
Primera parte.....	42

6.1 Análisis bromatológico	42
6.2 Análisis fisicoquímico	44
6.2.1 Determinación de pH, cuantificación de glucosa y contenido de azúcares totales.....	44
6.3 Análisis microbiológico, cinéticas de fermentación, parámetros cinéticos, actividad prebiótica y ácidos grasos de cadena corta	46
6.3.1 Análisis microbiológico.....	46
6.3.2 Cinéticas de fermentación con harinas de pulpa de café y cáscara de cacao	47
6.3.3 Parámetros cinéticos	49
6.3.4 Actividad prebiótica	52
6.3.5 Cuantificación de ácidos grasos de cadena corta.....	54
6.4 Polifenoles totales y actividad antioxidante.....	57
6.4.1 Polifenoles totales, flavonoides, taninos condensados y ácidos hidroxicinámicos.	57
6.4.2 Actividad antioxidante	58
6.5 Actividad antimicrobiana y actividad antifúngica	60
6.5.1 Actividad antimicrobiana.....	60
6.5.2 Actividad antimicótica	63
Segunda parte.....	67
6.6 Análisis fisicoquímicos de películas comestibles de cáscara de cacao y pulpa de café.	67
6.7 Análisis fisicoquímicos de jamón	70
6.7.1 Rancidez oxidativa	70
6.7.2 Humedad.....	72
6.7.3 Determinación de pH.....	73
6.7.4 Determinación de color	74
6.7.5 Perfil de textura.....	76
6.8 Análisis sensorial del jamón recubierto con película comestible de cáscara de cacao.....	78
6.9 Análisis de crecimiento bacteriano en películas comestibles con bacterias patógenas	79
6.9.1 Parámetros cinéticos y porcentaje de inhibición	84
7. Conclusiones	89
8. Referencias	92
9. Anexos	116
9.1 Artículos publicados.	116

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 2 1 Composición química de la pulpa de café</i>	<i>2</i>
<i>Tabla 2 2 Composición química de la cáscara de cacao</i>	<i>3</i>
<i>Tabla 5 1 Formulación de jamón</i>	<i>40</i>
<i>Tabla 6 1 Análisis bromatológico de harina de pulpa de café y cáscara de cacao...</i>	<i>43</i>
<i>Tabla 6 2 Contenido de fibra en harina de pulpa de café y cáscara de cacao</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 6 3 Análisis fisicoquímico de harina de pulpa de café y cáscara de cacao</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 6 4 Análisis microbiológico de la harina de pulpa de café y la cáscara de cacao</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 6 5 Comparación de la tasa específica de crecimiento y tiempo de duplicación con cepas probióticas en medio TPY y medio TPY sin glucosa y adicionado de harina de pulpa de café</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 6 6 Comparación de la tasa específica de crecimiento y tiempo de duplicación con cepas probióticas en medio TPY y medio TPY sin glucosa y adicionado de harina de cáscara de cacao</i>	<i>51</i>
<i>Tabla 6 7 Puntaje de actividad prebiótica empleando harinas de pulpa de café y cáscara de cacao</i>	<i>53</i>
<i>Tabla 6 8 Ácidos grasos de cadena corta (mg / g Ms) y ácido láctico producidos por diferentes cepas probióticas con harina de pulpa de café y cáscara de cacao usadas como fuente de carbono</i>	<i>55</i>
<i>Tabla 6 9 Contenido de polifenoles en harinas de pulpa de café y de cáscara de cacao</i>	<i>57</i>
<i>Tabla 6 10 Actividad antioxidante de los extractos etanólicos obtenidos de harinas de pulpa de café y cáscara de cacao</i>	<i>59</i>
<i>Tabla 6 11 Actividad antimicrobiana por método de difusión en disco del extracto etanólico de harina de pulpa de café y cáscara de cacao en comparación con antibióticos comerciales contra las diferentes cepas de patógenos.....</i>	<i>61</i>

Tabla 6 12 Actividad antifúngica por método de difusión en agar con extracto etanólico de harina de pulpa de café y cáscara de cacao en comparación con antifúngicos comerciales contra las diferentes cepas de hongos patógenos.....	63
Tabla 6 13 se muestran los resultados de los análisis fisicoquímicos para películas comestibles adicionadas con harina de pulpa de café y cáscara de cacao.....	67
Tabla 6 14 Análisis de rancidez oxidativa para jamón sin y con película comestible adicionada de cáscara de cacao.....	71
Tabla 6 15 Análisis de humedad de jamón sin y con película comestible adicionada de harina de cáscara de cacao.....	72
Tabla 6 16 Determinación de pH en un producto cárnico cocido (jamón), sin y con película comestible adicionada de harina de cáscara de cacao.....	74
Tabla 6 17 Análisis de color para jamón sin y con película comestible adicionada de harina de cáscara de cacao.....	74
Tabla 6 18 Análisis de perfil de textura para jamón sin y con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao.....	76
Tabla 6 19 Análisis sensorial de jamón con película comestible adicionada de harina de cáscara de cacao.....	78
Tabla 6 20 Parámetros cinéticos y de inhibición (%) para cada uno de los microorganismos utilizados.....	85

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 5.1. Caracterización de pulpa de café y cáscara de cacao.....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 5.2. Aplicación funcional de pulpa de café y cáscara de cacao en el diseño de unas películas comestibles para la conservación de un producto cárnico.....</i>	<i>26</i>
<i>Figura 6.1. Cinéticas de crecimiento para las cepas probióticas (L. rhamnosus GG, L. rhamnosus Rosell, L. casei Shirota y L. acidophilus) usando medio TPY con glucosa y harina de pulpa de café.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 6.2. Cinéticas de crecimiento para las cepas probióticas (L. rhamnosus GG, L. rhamnosus Rosell, L. casei Shirota y L. acidophilus) usando glucosa y harina de cáscara de cacao como sustrato.....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 6.3 Simulación del crecimiento microbiano empleando el modelo logístico (líneas continuas)) para bacterias Gram negativas E. coli y S. typhimurium en jamón cubierto con película comestible (Cuadrados rellenos) y un testigo (rombo lleno).....</i>	<i>81</i>
<i>Figura 6.4 Simulación del crecimiento microbiano empleando el modelo logístico (líneas continuas) para bacterias Gram positivas L. monocytogenes y S. aureus en jamón cubierto con película comestible (cuadrados rellenos) y un testigo (rombo lleno).....</i>	<i>82</i>

1.Introducción

El fruto de café y el de cacao son utilizados para la producción de café de grano, y en la producción de chocolate, respectivamente. El cultivo de café es una de las principales actividades económicas en distintas partes del mundo, en 2023 se reportó una producción total de 171.3 millones de quintales (sacos de 60 Kg). México ocupa el octavo lugar mundial con una producción de 1.06 millones de sacos de 60 Kg, siendo los estados de Chiapas, Veracruz y Puebla los principales productores. Por otro lado, el cacao es un fruto que se utiliza para la producción de chocolate en la industria chocolatera y tiene una producción mundial de 4.84 millones de toneladas, México ocupa el onceavo lugar mundial con una producción de 39 mil toneladas, para poder producir estos compuestos se utiliza solo una parte del fruto y el resto es desechado, para pulpa de café el 40 % es pulpa de café y en el caso del cacao el 52 % es cáscara, estos coproductos pueden causar graves problemas de contaminación desde malos olores hasta eutroficación de ríos y lagos si no son vertidos de manera correcta. Estudios han demostrado que tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao son ricos en compuestos funcionales como: polifenoles totales, flavonoides, taninos condensados y ácidos hidroxicinámicos a estos compuestos se les atribuyen muchas características benéficas dentro de las que destacan su actividad antimicrobiana al actuar directamente sobre la pared celular de las bacterias permeándola provocando así una apoptosis celular, actividad antifúngica en la cual inhiben la formación de conidios y la actividad enzimática y la actividad antioxidante en la cual los grupo hidroxilo presentes en estos compuestos tienen la capacidad de donar electrones del anillo benceno, inhibiendo así la formación de radicales libres.

El objetivo de esta tesis es la determinación del potencial biotecnológico de la pulpa de café y cáscara de cacao como fuente de compuestos con propiedades funcionales y sus posibles aplicaciones en el desarrollo de películas comestibles de productos cárnicos. Para este propósito se analizaron las características bromatológicas y fisicoquímicas de las harinas de pulpa de café y cáscara de cacao a través de la determinación de humedad, cenizas, grasas, proteínas, fibra, pH, glucosa, azúcares totales y polifenoles. También se determinaron las actividades prebiótica, antioxidante, antifúngica y antimicrobiana de los dos subproductos agrícolas. Posteriormente, se diseñó una película comestible de caseinato, glicerol y harina de pulpa de café y cáscara de cacao, seleccionando la película de cáscara de cacao por sus características antioxidantes y antimicrobianas utilizada en un jamón cocido inoculado con bacterias patógenas, se evaluó la vida de anaquel del jamón.

2. Revisión bibliográfica

2.1 Pulpa de café (PC)

La pulpa de café es el residuo que se obtiene en la producción de café de grano, es un residuo derivado del beneficio húmedo en la industria cafetalera la cual representa alrededor del 40% del peso total del fruto (Oliveira y col., 2021).

Estos residuos pueden ser utilizados para la producción de enzimas, coproducción de biogás, producción de composta y extracción de minerales, polifenoles y cafeína (Duangjai y col., 2016), y para la extracción de polisacáridos y compuestos fenólicos como el ácido clorogénico (Serrat-Díaz y col., 2018) por mencionar algunos.

La PC es rica en distintas sustancias como polisacáridos, compuestos fenólicos y azúcares. En la Tabla 2.1 se muestran los principales compuestos y su concentración.

Tabla 2-1 Composición química de la pulpa de café

Compuesto	Contenido (%)	Referencia
Fibra	49.34-55.19	Pérez-Calvo y col., 2023
Cafeína	2.26	Serna-Jiménez y col., 2023
Azúcares totales	45.7	Pérez-Calvo y col., 2023
Fructosa	10-15	Pérez-Calvo y col., 2023
Sacarosa	2.8-3.5	Pérez-Calvo y col., 2023
Pectinas	5.5-6.5	Serrat-Díaz y col., 2018
Lignina	8.75	Serrat-Díaz y col., 2018
Celulosa	58.3	Cruzalegui y col., 2021
Fenoles totales	30.8	Oliveira y col., 2021
Proteínas	9.4	Cruzalegui y col., 2021

2.2 Cáscara de cacao

Si la cáscara de cacao no es tratada de forma correcta puede convertirse en un problema para el medio ambiente por lo que se han planteado usos alternativos a estos residuos para aportarles valor agregado como alimento para distintos animales como porcino, vacas y pollos, como adsorbente natural en la remoción de cromo (Pérez y col., 2020), en infusiones (Teneda-Llenera y col., 2017), en extracción de polifenoles fitoesteroides y metilxantinas (Belwal y col., 2022), como energizante y ayuda en procesos antiinflamatorios (Teneda-Llenera y col., 2017).

La cáscara de cacao es rica en distintos compuestos como polifenoles, pectinas, fibra dietética total y azúcares totales por mencionar algunas (Villamizar-Jaimes & López-Giraldo, 2017). En la Tabla 2.2 se muestran los distintos compuestos y su concentración.

Tabla 2-2 Composición química de la cáscara de cacao.

Compuesto	Contenido (%)	Referencia
Fibra	60.5-49.21	Herrera-Rengifo y col., 2020
Azúcares totales	46.4 -79.93	Younes y col., 2023.
Fructosa	0.35-1.17	Younes y col., 2023
Glucosa	3.3	Soares y Oliveira, 2022
Celulosa	24-35	Martínez -Ángel y col., 2015
Lignina	45.23	Herrera-Rengifo y col., 2020
Polifenoles	2.13-7.78 mg Eq de ácido gálico	Teneda-Llenera y col., 2017
Proteína	6.3	Villamizar-Jaimes & López-Giraldo, 2017.

2.3 Ingredientes y alimentos funcionales

Los ingredientes funcionales se pueden definir como un componente activo que se encuentra presente en cualquier materia prima agrícola y que puede otorgar propiedades benéficas para la salud del consumidor (Rico & Martín, 2023). Ayuda a la prevención o reducción del riesgo de contraer enfermedades mentales, del sistema cardiovascular, desordenes metabólicos, del sistema óseo, del sistema digestivo y del sistema inmunológico por mencionar algunos (Etchegaray y col., 2017). Dentro de los principales ingredientes funcionales se encuentran los polifenoles, fibra, prebióticos, péptidos bioactivos, carotenoides, vitaminas, compuestos fenólicos, fitoestrógenos y ácidos grasos o lípidos.

Por otro lado el Consejo Internacional de Información Alimentaria (IFIC, Washington D.C), define como alimento funcional a todo aquel alimento consumido como parte de la dieta diaria, capaz de producir demostrados efectos metabólicos o fisiológicos útiles en el mantenimiento de una buena salud física y mental, confiriendo beneficio sobre una o varias funciones específicas del organismo y de este modo contribuyen a la prevención de

enfermedades y a la reducción de riesgos de enfermedades crónico-degenerativas (Rico & Martín, 2023). Los alimentos funcionales tienen influencia sobre el sistema cardiovascular, fortalecen el sistema inmune, previenen la osteoporosis y ayudan a mejorar el proceso de cognición (Granato, 2022).

2.3.1 Polifenoles

Los polifenoles forman parte de la estructura de distintas plantas, las cuales los sintetizan en grandes cantidades como parte de su metabolismo secundario, algunos son indispensables para el metabolismo y otros son sintetizados como protección ante situaciones de estrés (Bertelli y col., 2021), poseen en su estructura al menos un anillo aromático que está unido por uno o más grupos hidroxilo, y tienen funciones en procesos como fotosíntesis, asimilación de nutrientes, respiración, transporte de moléculas disueltas, influyen en el metabolismo de la glucosa y lípidos (Singla y col., 2019). Son sustancias biológicamente activas y existe evidencia *in vitro* e *in situ* de interacciones con humanos que indica que estos compuestos confieren beneficios para el comensal otorgándoles protección contra lesiones celulares y subcelulares, inhibición del crecimiento de tumores, activación de los sistemas de detoxificación hepáticos, presentan actividad antiinflamatoria, actividad antioxidante, tiene influencia en la neurogénesis, neuroplasticidad y la supervivencia celular evitando la apoptosis (Lacerda y col., 2022), así como influencia en el bloqueo de las vías metabólicas que pueden ocasionar carcinogénesis. Los polifenoles presentes en la dieta humana pueden modular la composición del microbiota intestinal y pueden servir como alimento para estos microorganismos los cuales catabolizan los polifenoles para liberar metabolitos bioactivos (Wang y col., 2022).

Los compuestos polifenólicos son nutraceuticos (productos derivados de fuentes alimenticias que ofrecen beneficios nutricionales o para la salud, además de los nutrientes básicos), vegetales que muestran una gran diversidad estructural, distintos estudios han determinado los beneficios que otorgan a los consumidores los polifenoles, esto se atribuye a sus propiedades antioxidantes que pueden usualmente justificar sus acciones vasodilatadoras y vasoprotectoras (Truzzi y col., 2021), así como sus acciones antitrombóticas, antilipémicas, antiateroscleróticas, antiinflamatorias y antiapoptóticas, cardioprotectoras tienen influencia en los sistemas de detoxificación célula, quelación de metales en el cuerpo, función de la mitocondria así como en el tratamiento de Alzheimer (Lakey-Beita y col., 2020).

Se sintetizan por medio de dos importantes rutas. La ruta de ácido shikímico la cual se encarga de la síntesis de los aminoácidos aromáticos como fenilalanina y tirosina, así como de síntesis de los ácidos cinámicos y de derivados como fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos, derivados del fenilpropano, y la segunda ruta es la de los poliacetatos que se encarga de la síntesis de quininas y xantonas (Bertelli y col., 2021). Se les atribuye un efecto antioxidante, el cual puede ejercerse ya sea directamente como captadores de radicales libres o indirectamente por medio de la modulación de la expresión de genes y la actividad enzimática que están involucrados en la homeostasis redox (Lacerda y col., 2022), por lo que puede ayudar en sistemas antioxidantes endógenos a controlar la homeostasis oxidativa al reducir el exceso de especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno. Estudios *in vivo* han demostrado que los polifenoles son capaces de donar un electrón o un átomo de hidrogeno neutralizando así los radicales libres (Quero y col., 2020).

Existen varias clases y subclases de polifenoles los cuales se clasifican por su peso molecular, estructura química, y complejidad, se dividen en flavonoides, dentro de los que se encuentran las flavonas, flavonoles, isoflavonoides, flavanonas flavanoles y antocianinas, y no flavonoides como los ácidos fenólicos, estilbencenos, curcuminoides, lignanos y taninos (Truzzi y col., 2021). Los polifenoles también se dividen en compuestos insolubles y compuestos solubles, en los insolubles se encuentran los taninos condensados y otros compuestos fenólicos unidos a polisacáridos o proteínas de la pared celular (Huerta-Madroñal y col., 2022) y en solubles o extraíbles los cuales son moléculas de bajo y medio peso molecular libres de pared celular.

Flavonoides. Compuestos fenólicos procedentes del metabolismo secundario de distintas plantas, ayudan a proteger el organismo del daño causado por agentes oxidantes, así como propiedades antiinflamatorias, antialérgicas, antisida y antitumoral (Wu y col., 2021). Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición (Panche y col., 2016), son compuestos de bajo peso molecular, sus propiedades antioxidantes dependen directamente de su capacidad redox de sus grupos hidroxilos, según el grado de hidroxilación se dividen en 13 clases siendo las flavonas, flavonoles, antocianinas e isoflavonas los grupos más abundantes.

Taninos. Son compuestos fenólicos de peso molecular intermedio (500-3000 Da), son empleados por las plantas como mecanismo de defensa contra patógenos (Combs, 2016) son capaces de formar complejos con las proteínas, se clasifican en taninos hidrolizables y

taninos no hidrolizables o condensados. Los taninos hidrolizables tienen un bajo peso molecular y un centro de glucosa o alcohol polihídrico parcial o completamente esterificado con ácido gálico, formando galotaninos y elagitaninos, son solubles en agua (Virtanen y col., 2022). Los taninos no hidrolizables o condensados son polímeros de catequinas o leucoantocianinas que son difícilmente hidrolizables y constituyen la principal fracción fenólica responsable de las características de astringencia de los vegetales (Singla y col., 2019).

Ácidos fenólicos. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son de los principales metabolitos secundarios y se producen por medio de síntesis de *novo* (síntesis de polifenoles complejos a partir de moléculas más pequeñas como el ácido shikímico), en las plantas (Taofiq y col., 2017), son sustancias químicas que poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres y glicósidos), su capacidad antioxidante depende del número de grupos carboxilos que posee, se dividen en ácidos hidroxibenzoicos dentro de los que se encuentra el ácido gálico, ácido vainillínico y ácido siríngico, distintos estudios han informado su actividad hepatoprotectora (Truzzi y col., 2021), el siguiente grupo es el de los ácidos hidroxicinámicos dentro de los que se encuentra el ácido cumárico, ácido clorogénico, ácido ferúlico y ácido cafeico y se les confiere una gran capacidad como antioxidante (Taofiq y col., 2017).

2.3.2 Fibra dietética

El término fibra dietética se remonta a 1953 cuando Hipsley lo definió como “un constituyente no digerible de las paredes celulares de los vegetales”. Sin embargo, a lo largo del tiempo ha sufrido distintas modificaciones (Han y col., 2023). Actualmente, se define como: material constituyente de la pared celular de distintas plantas con absorción en el intestino delgado humano y con fermentación parcial o completa en el intestino grueso, en cuya composición se incluyen a los polisacáridos, oligosacáridos, ligninas y almidones, se considera como polímero de carbohidratos comestibles con tres o más unidades monoméricas que son resistentes a las enzimas digestivas endógenas (Stephen y col., 2017). La fibra es fundamental para la salud gastrointestinal propiciando el adecuado funcionamiento del intestino ayudando a la excreción de grasas, producción de metabolitos, mantenimiento de la microbiota intestinal (Zhi-Wei y col., 2021) tienen influencia en la producción de energía y el mejoramiento del sistema inmune, así como también ha mostrado ser esencial en la prevención de enfermedades no transmisibles como la diabetes, la enfermedad cardíaca, y algunos tipos de cáncer como el de colon (Almeida-

Alvarado y col., 2014). Desde el punto de vista de la salud, la fibra debe promover efectos atenuantes a los niveles de colesterol y glucosa. Los principales componentes que constituyen a la fibra son:

1. Polisacáridos: Son los polímeros de carbohidratos que poseen al menos 20 residuos de monosacáridos y se clasifican en: α -celulosa, β -glucanos, hemicelulosas, pectinas y análogos, gomas y mucílagos (Pacheco-Gómez y col., 2021).
2. Lignina: Son polímeros que resultan de la unión de varios alcoholes fenilpropiónicos que contribuyen a dar rigidez a la pared celular de las plantas haciéndola resistente a impactos y flexiones (Maceda y col., 2021).
3. Oligosacáridos resistentes: Hidratos de carbono con un nivel de polimerización menor, tienen de tres a diez moléculas de monosacáridos. Se dividen en fructooligosacáridos (FOS) e inulina, galactooligosacáridos (GOS), xilooligosacáridos (XOS), isomaltoligosacáridos (IMOS).

La fibra se puede clasificar como fibra soluble y fibra insoluble, la cual está en función de su solubilidad en agua. Las fibras solubles se asocian generalmente con características potenciales prebióticas debido al proceso de fermentación que producen ácidos grasos de cadena corta, así como su capacidad de captar agua. Los efectos derivados de la viscosidad de la fibra son los responsables de sus acciones sobre el metabolismo lipídico, hidrocarbonado y en parte su potencial anticarcinogénico, la fibra soluble incluye pectinas, gomas, mucilago, algunas hemicelulosas y polisacáridos, efectos antiinflamatorios (Zhi-Wei y col., 2021). Las fibras insolubles o poco solubles no pueden ser degradadas por enzimas digestivas y son capaces de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad; esto produce un aumento de la masa fecal que acelera el tránsito intestinal (Gill y col., 2020). Es la base para utilizar la fibra insoluble en el tratamiento y prevención de la constipación crónica. Por otra parte, también contribuye a disminuir la concentración y el tiempo de contacto de potenciales carcinogénicos con la mucosa del colon. dentro de este grupo se encuentran la celulosa, algunas hemicelulosas, ligninas y otros polifenoles (Röhe & Zentek, 2021).

La fibra proporciona distintos beneficios a la salud del consumidor algunos ejemplos son: mejorar el aspecto y consistencia de las heces fecales ayudando en el tratamiento de hemorroides, en su proceso de fermentación en el colon por bacterias probióticas produce ácidos grasos que brindan protección contra el cáncer, ayuda a mantener un peso constante al disminuir la adsorción de carbohidratos, la fibra soluble puede disminuir las

concentraciones LDL (lipoproteína de baja densidad) (Almeida-Alvarado y col., 2014). Por otro lado, la fibra dietética también puede ser utilizada por su potencial como prebiótico, esto debido a su capacidad de fermentar polímeros de glucosa los cuales se hidrolizan a monómeros por acciones enzimáticas extracelulares producidas por bacterias en el colon (Santana y col., 2022). En el metabolismo hasta la obtención de piruvato, más del 50 % de la fibra es degradada en el colon y el 50 % restante es eliminado en las heces. La capacidad de acción del microbiota intestinal depende del género de fibra, la celulosa por ejemplo tiene una capacidad fermentable entre el 20 y 80% y la hemicelulosa del 60 al 90%.

2.3.3 Prebióticos

El término prebióticos fue definido en 1995, por Gibson y Roberfroid como: “Un ingrediente alimentario no digerible que afecta de manera benéfica al huésped por medio de la estimulación selectiva del crecimiento o actividad de una especie bacteriana o un número limitado de ellas que residen en el colon y por tanto intentan mejorar la salud del huésped”. La ingesta de estos prebióticos puede modular la microbiota colónica aumentando el número de bacterias específicas y controlando el crecimiento de bacterias patógenas y generando homeostasis intestinal.

Las características para la clasificación de un prebiótico son: (Gibson,1999).

1. No debe hidrolizarse ni absorberse en la parte superior del tracto gastrointestinal. Debe ser fermentado selectivamente por una o un número limitado de bacterias potencialmente beneficiosas en el colon.
2. Debe alterar la composición de la microbiota colónica hacia una composición más saludable.
3. Preferentemente debe inducir efectos beneficiosos para la salud del huésped.

Cualquier alimento que llegue al colon, como los carbohidratos no digeribles, algunos péptidos y proteínas, así como ciertos lípidos, son un candidato a prebiótico. El consumo de prebióticos puede influir de manera significativa sobre el microbiota intestinal aumentando el número de bacterias específicas y cambiando así la composición del microbiota intestinal (Castañeda-Guillot, 2017). Los ingredientes con propiedades prebióticas se encuentran en los polisacáridos y los oligosacáridos que normalmente forman parte de la dieta humana, se ha demostrado que estimulan el crecimiento de bifidobacterias endógenas que, después de un breve período de alimentación, se vuelven predominantes en las heces humanas. Además, estos prebióticos modulan el metabolismo

de los lípidos, probablemente a través de productos de fermentación (Castañeda & Del Monte, 2015).

Los prebióticos pueden clasificarse en distintos tipos de prebióticos los cuales difieren en estructura, así como en sus mecanismos de acción y la capacidad de modular el crecimiento de distintas bacterias benéficas en el colon al servirles como sustratos, algunos ejemplos de prebióticos son Inulina, fructanos, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, glucooligosacáridos, almidones resistentes, oligosacáridos pécticos (Swanson y col., 2020).

2.3.4 Ácidos grasos de cadena corta

Las fibras solubles prebióticas son fermentadas por bacterias probióticas para producir ácidos grasos de cadena corta (McLoughlin y col. 2017), por lo que cuantificarlos es una forma indirecta de saber si un coproducto es candidato o no a prebiótico.

Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) son ácidos monocarboxílicos con una cadena de unos 6 átomos de carbono que pueden estar ramificados o ser lineales, son producidos por el aparato gastrointestinal en particular el colon y su producción es de aproximadamente de 200 mmol por día, estos ácidos son producidos por la microbiota intestinal a través de la fermentación anaeróbica de polisacáridos no digeribles, la proporción, cantidad y producción de AGCC depende de la microbiota presente en el colon, así como de la naturaleza del sustrato y el tiempo que permanezcan en el intestino (Kotlyarov, 2022). Se pueden encontrar distintos AGCC en el colon, como pueden ser, ácido acético (C_2) ácido propiónico (C_3) y ácido butírico (C_4), teniendo proporciones de hasta 60, 25 y 15% respectivamente.

Ácido acético. Es un ácido producido por bacterias intestinales que se encuentran presentes en el colon, llega en cantidades importantes a la circulación sistémica y puede proporcionar energía a los músculos y tejidos (Abreu y col. 2021), autores como Edwards, 2003, aseguran que la pectina aumenta la proporción de acetato al ser fermentada por bacterias en el intestino.

Ácido butírico. El ácido butírico es un elemento clave para la nutrición del intestino, así como para el mantenimiento y restablecimiento de la integridad de la mucosa y el epitelio intestinal, se produce por la condensación de dos moléculas de acetil-CoA, se metaboliza por los colonocitos hasta CO_2 y cuerpos cetónicos (Manrique & Gonzales, 2017). Tiene influencia en el suministro de la energía de las células del colon. El ácido butírico restaura la barrera epitelial de las vías respiratorias al inhibir la producción de interleucina, tiene

influencia en la inhibición de células cancerosas en el colon, influye en el mantenimiento de la mucosa intestinal y suprime la respuesta inflamatoria (Borycka-Kiciak y col., 2017).

Ácido propiónico. La producción de propionato puede ocurrir a través de la ruta del succinato o la ruta del acrilato, en la que el lactato se reduce a propionato, se absorbe y es oxidado en el hígado hasta un 40% (Tomás-Pejó y col., 2023). El ácido propiónico participa en la gluconeogénesis hepática inhibiendo la síntesis de colesterol en el hígado, este compuesto se dirige al sistema nervioso entérico y ejerce efectos neuroprotectores (Huertas-Molina y col., 2020).

Una vez establecido el concepto de ingrediente funcional y su relevancia dentro del desarrollo de alimentos con valor agregado, es pertinente explorar cuáles son las fuentes emergentes de dichos ingredientes. En este sentido, los coproductos derivados del procesamiento del café y el cacao, como la pulpa de café y la cáscara de cacao, han despertado un creciente interés por su contenido de compuestos bioactivos, como fibra dietética, polifenoles, minerales y otros metabolitos secundarios con potencial funcional.

A partir de esta perspectiva, en la siguiente sección se revisan los antecedentes científicos y tecnológicos relacionados con el aprovechamiento de la pulpa de café y la cáscara de cacao como fuentes alternativas de ingredientes funcionales. Esta revisión permitirá contextualizar su uso en aplicaciones innovadoras, como el desarrollo de películas comestibles, dentro de un enfoque de economía circular y revalorización de residuos agroindustriales.

2.4 Estado del arte sobre el uso de pulpa de café y cáscara de cacao como ingredientes funcionales.

La cáscara de cacao y pulpa de café son una fuente de fitoquímicos, contienen altos niveles de compuestos fenólicos, taninos, ácido clorogénico, ácido quínico, ácido cafeico, ácido ferúlico, proantocianidinas, cafeína y teobromina, que exhiben actividad antioxidante *in vitro* y en células cultivadas (Rebollo-Hernanz y col., 2021).

2.4.1 Pulpa de café

Ameca y col. (2018), analizaron la actividad antioxidante de la pulpa de café, en donde encontraron valores de proteína de 10.85 %, ceniza de 7.40 %, compuestos fenólicos (mg /g Ms: cafeína 18.60, taninos 3.50, ácido p-hidroxibenzoicos 0.071, ácido clorogénico 2.59, ácido ferúlico 4.225, ácido siríngico 0.062, ácido gálico 0.058, ácido vainillínico 0.007, ácido p-cumárico 0.002, y una actividad antioxidante de 2769.9 (nmol Trolox/ml), al final

concluyeron que el proceso de ensilado y secado al sol afectó el valor nutricional de la pulpa de café pero no su capacidad antioxidante. Otros valores reportados en cáscara de café son teobromina de 32.7 mg/g, cafeína 1.76 ± 0.08 mg/g, fibra 29 %, cenizas 9%, actividad antioxidante de 76.9 ± 3.6 µg/ml, con una actividad eliminadora de radicales de 62.0 ± 3.1 µg/ml expresado como concentración media máxima efectiva (EC50).

Castaldo y col. (2018) evaluaron los componentes químicos, bioactivos y antifúngicos que se encuentran presentes en la pulpa de café, encontraron que la actividad antioxidante para la técnica de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), es de 26.61 mmol Trolox/ kg Ms (materia seca) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) es de 31.33 mmol Trolox/kg Ms, Los extractos presentaron actividad antimicrobiana y antifúngica para *Penicillium camemberti*, *Penicillium expansum* y *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*, algunos de estos hongos son productores de micotoxinas, los valores mínimos de concentración fungicida para las cepas de *Penicillium* oscilaron entre 6.3 y 50 g/L, mientras que en las cepas de *Aspergillus* oscilaron entre 25 y 50 g/L. Este estudio indica la posible explotación de este subproducto del café como potencial ingrediente natural promotor de la salud y conservador.

Moreno y col. (2019) cuantificaron el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de la pulpa de café adicionada en galletas saladas, encontrando un valor de polifenoles totales de 94.42 mg Eq de ácido gálico/30 g y una actividad antioxidante de 1168.58 µmol Eq Trolox/30 g, realizaron un análisis de aceptabilidad de las galletas concluyendo que la descripción del empaque tuvo influencia en la percepción del consumidor, teniendo un alto grado de aceptabilidad. Estas galletas son una fuente de antioxidantes, y su aplicación ayudaría a la reutilización de desechos y al desarrollo de un producto alimenticio con propiedades funcionales.

Rosales y col. (2019) evaluaron el contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de pulpa de café para el desarrollo de una infusión, determinando para actividad antioxidante valores de 24782.9 µm Eq Trolox /100 g PC para ABTS, de 57087.82 µm Eq Trolox / 100 g PC para la técnica de FRAP (Poder antioxidante reductor ferrico) y de 806.9 mg Eq de ácido ascórbico / 100 g PC para la técnica ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno), para polifenoles reportaron valores de 453 mg / 100 g de PC, para flavonoides valores de 784.8 mg / 100 g PC, para taninos condensados valores de 94.4 mg/100 g de PC y para antocianidinas valores de 4.1 mg / 100 g PC, finalmente concluyeron que la concentración de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante de

la pulpa de café sugieren que los residuos pueden ser utilizados como materia prima para la elaboración de alimentos funcionales.

Cañas y col. (2021) Determinaron la composición química y las propiedades funcionales de la pulpa de café, con la finalidad de evaluar la seguridad para el consumo humano, determinaron valores del 51.2% para fibra insoluble, 9.2 % para proteína, 2.6% para lípidos, 40.6 mg /g Ms para polifenoles totales y para actividad antioxidante valores de 102.3 mg Eq Trolox /g Ms utilizando técnica de ABTS, determinaron la reducción de la absorción de colesterol en un 84%, sales biliares 85%, inhibición de la lipasa pancreática 64% y disminución de la difusión de glucosa 34%. Concluyeron que la pulpa de café podría utilizarse como un ingrediente potencial con propiedades benéficas para la salud.

Manasa y col. (2021) realizaron un estudio sobre la extracción de pectina y polifenoles a partir de pulpa de café, para aprovechar estos residuos. Encontraron valores para pectina de 118.05 mg / g Ms, y para polifenoles determinaron valores de 7.66 mg /100 g Ms para ácido gálico, de 220.83 mg /100 g Ms para ácido vainillínico, de 4.52 mg /100 g Ms para ácido ferúlico, de 15.64 mg /100 g Ms para ácido cumárico, de 2443.21 mg /100 g Ms para catequina, de 11.78 mg /100 g Ms para ácido cafeico, finalmente determinaron la actividad antioxidante encontrando valores de 12.75 EC50 mg/ml por DPPH, valores de 30.76 EC50 mg/ml por ABTS, de 6.38 ± 0.20 mol Eq.Trolox/100 g Ms por FRAP y una actividad antioxidante total de 11.15 mol Eq Trolox /100 g Ms. Concluyeron que los compuestos presentes en la pulpa de café ayudarían a resolver los problemas ocasionados por la contaminación y convertirlo en una fuente de productos beneficios para la salud humana.

Henrique y col. (2022) analizaron 5 diferentes formulaciones de galletas, sustituyendo harina de trigo por harina de pulpa de café en 3 y 6 %, realizaron pruebas de dimensiones, relaciones de dispersión, densidad, actividad de agua, pureza y análisis sensorial, determinando que la sustitución parcial de la harina por ésta no provocó mayores cambios en las dimensiones y propiedades tecno-funcionales de las galletas, posiblemente por el bajo nivel de incorporación, el poder reductor fue positivo, para el análisis sensorial determinaron que la formulación con coproductos de café tiene una menor aceptabilidad en comparación con las galletas blanco, ellos lo asocian al grado de amargor que la pulpa de café le proporciona a la galleta así como a su color oscuro, ellos concluyen que la adición de subproductos de café a las galletas aporta una fracción de fibra por lo que la adición de estos coproductos tiene un gran potencial como fuente de ingredientes saludables y de "etiqueta limpia" en las formulaciones de galletas.

Machado y col. (2023) realizaron análisis sobre el potencial bioactivo y la composición química de la pulpa, cascarilla y pergamino de café, teniendo como resultado que el contenido de ceniza, proteína, grasa y fibra dietética total es mayor para la pulpa de café con valores de 10.72, 10.23, 1.7 y 46.12 %, respectivamente, para la actividad antioxidante reportaron el mayor valor para la pulpa de café con valores de FRAP 8.58 g/ 100 g Ms y DPPH 0.77 g / g Ms, para la cantidad de polifenoles determinaron que contenían cafeína, ácido 5-cafeoilquínico concluyendo que los residuos de la industria cafetalera pueden reciclarse como ingredientes funcionales para alimentos, industrias cosméticas y/o farmacéuticas, contribuyendo al bienestar social, económico y ambiental así como a la sostenibilidad de la industria del café.

Pérez-Calvo y col. (2023) desarrollaron un estudio sobre la pulpa de café como fuente sostenible y asequible para el desarrollo de alimentos funcionales, en que realizaron el diseño de una barra energética con una formulación de 50 % cereal, 30 % jarabe de piloncillo y 20 % de pulpa de café, determinaron que la pulpa de café contenía (g/100 g de muestra) 10.63 g de proteína, 5.78 g de grasa, 45.67 g de carbohidratos, 9.58 g de cenizas, 36.07 g de fibra, 2.26 % de cafeína y 12.05 % humedad, observaron que los factores con más impacto en las propiedades de la barra energética son la temperatura y tiempo de almacenamiento y el peso.

2.4.2 Cáscara de cacao

Putri-Agus y col. (2018) determinaron la composición bromatológica del grano y cáscara de cacao sin fermentar, encontrando valores (%) de grasa 10, humedad 15, cenizas 14, fibra 20, proteína 25, carbohidratos 60 y polifenoles totales 12 µg ácido gálico /ml y actividad antioxidante 60 %, concluyeron que se deben controlar todos los procesos involucrados en el procesamiento del cacao, como el período de fermentación y la temperatura de tostado, para que no se reduzca la calidad de los granos y la cáscara del cacao.

Gómez y col. (2020) evaluaron el uso de la cáscara de cacao para la preparación de nano fibras de celulosa y grasa, las nano fibras de celulosa fueron extraídas por medio de una hidrólisis alcalina, determinaron un rendimiento de 7.12 % en el aislamiento de nano fibras, en el índice de cristalinidad encontraron 65-70 %, diámetro nanométrico entre 30 y 80 nm. Obtuvieron una suspensión de nano fibras de holocelulosa y grasa, con lo que lograron estabilizar las moléculas de grasa, finalmente concluyeron que estas nano fibras pueden ser utilizadas como ingredientes para productos alimenticios enriquecidos con grasa, como aderezos para ensaladas, salsas, espumas, sopas, pudines y helados.

Öztürk y Ova (2020) analizaron la calidad nutricional, análisis de textura y propiedades sensoriales de la cáscara de cacao puesta en un bizcocho, determinaron que la cáscara de cacao influye en la textura teniendo mayor dureza, menor elasticidad y cohesividad, también aumentaron la cantidad de fibra, cenizas, actividad antioxidante total y compuestos fenólicos por lo que ellos concluyeron que adicionar cáscara de cacao a la formulación de bizcochos da un valor nutrimental agregado.

Tamrin y col. (2020) evaluaron la termoestabilidad y solubilidad de extractos de cáscara de cacao como ingredientes funcionales, antioxidantes y antibacterianos, realizaron una extracción con metanol, agua, etanol y acetona a distintos tiempos y diferentes temperaturas siendo el mejor a 60°C por 1 h, estas condiciones preservaron las propiedades antioxidantes y antibacterianas, los extractos de todos los solventes presentaron actividades antibacterianas similares contra *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*.

Delgado-Ospina y col. (2021) investigaron los componentes bioactivos y tecnofuncionales (son propiedades fisicoquímicas que proporcionan información sobre cómo un componente en particular podría comportarse en una matriz alimentaria), presentes en la harina de cáscara de cacao probando la inactividad enzimática que se presenta por efectos de calor, encontrando que la cáscara de cacao es rica en lípidos, proteína, fibra dietética (48.1 %), flavonoides (2.9 mg Eq. rutina/g Ms) y moléculas antioxidantes como epicatequinas, puede ser utilizado como potencial colorante natural en alimentos, concluyendo que debido a su capacidad de hidratación puede ser utilizada como reemplazo de emulsionantes o aditivos que brindan un valor agregado sus compuestos bioactivos.

Pagliari y col. (2022) estudiaron la extracción de metilxantinas mediante agua caliente presurizada (a una presión de 69 bar) a partir de cáscara de cacao como ingrediente funcional, cuantificaron la concentración de teobromina y cafeína, encontrando valores de 2.03 g/100g de Ms y 0.45 g/100g Ms respectivamente, además evaluaron la concentración de catequina, epicatequina y procianidina B₂ encontrando valores de 0.34 µg/mg extracto, 1.77 µg/mg extracto y 0.35 µg/mg extracto respectivamente, concluyeron que la aplicación de extracción con agua caliente a presión para extraer cafeína y teobromina es un método eficiente y amigable con el medio ambiente.

Soares y col. (2022) efectuaron una caracterización de compuestos bioactivos a partir de cáscara de cacao, y su beneficio para la salud, determinando valores en g /100 g Ms de:

carbohidratos de 29.04, fibra 56.10, grasas 2.24, cenizas 10.02, Antocianinas 0.34 y taninos 5.20, aminoácidos totales 10.74, epicatequina 34.97 mg/g, catequina 4.50 mg/g, compuestos fenólicos totales 94.95 mg Eq de ácido gálico/g Ms, flavonoides totales 40.72 mg Eq de ácido gálico/g Ms, y taninos condensados 25.30 mg Eq de ácido gálico/g Ms. Con estos resultados los autores concluyeron que la cáscara de cacao es una rica fuente de fibra dietética y proteínas, así como de valiosos compuestos bioactivos como teobromina, cafeína y flavonoides por mencionar algunos y por su composición, puede utilizarse como ingrediente en el procesamiento de alimentos, o en otras industrias como la farmacéutica, la cosmética y la agricultura, con un aumento constante de nuevas aplicaciones.

Widayat y col. (2022) desarrollaron formulaciones para una bebida con café y cacao con un bajo costo para la producción industrial, para lo que realizaron un diseño experimental para la mezcla, con proporciones de café: cacao de 20:80 (RK1), 40: 60 (RK2), 60:40 (RK3) y 80:20 (RK4), y realizaron análisis hedónico con los parámetros de aroma, color, sabor y textura, teniendo como resultados que la formulación que más agradó al panel fue la RK4 con un 80 % de café y un 20 % de cacao por su sabor amargo pero moderado, por último cabe mencionar que si se añadiera más cacao a la mezcla se obtendría un mejor sabor y se podría desarrollar tomando como principio la formulación aceptada.

En esta sección se evidencia que la pulpa de café y la cáscara de cacao poseen un alto potencial como ingredientes funcionales, debido a su contenido significativo de compuestos bioactivos como fibra dietética, polifenoles, ácidos orgánicos, actividad antioxidante, y actividad antimicrobiana por mencionar algunas. Estos componentes no solo pueden aportar beneficios a la salud humana, sino que también ofrecen propiedades útiles en diversas aplicaciones dentro de la industria alimentaria, en este contexto, una de las aplicaciones emergentes para estos coproductos es su utilización en el desarrollo de películas comestibles. Estas estructuras delgadas, biodegradables y aptas para el consumo humano, no solo funcionan como sistemas de recubrimiento o empaque, sino también como vehículos para la liberación controlada de compuestos funcionales. La siguiente sección profundiza en el concepto, características y aplicaciones de las películas comestibles, con especial énfasis en su formulación a partir de ingredientes de origen vegetal y sostenible, como la pulpa de café y la cáscara de cacao.

2.5 Películas comestibles

La película es una matriz preformada por moldeo, es comestible, delgada, inerte y biodegradable, debe tener un espesor ≥ 0.3 mm (Diaz-Montes y Castro-Muños, 2021), se

producen a partir de un biopolímero como proteínas, polisacáridos y lípidos. Las películas comestibles se utilizan como recubrimiento para alimentos mejorando la calidad de los productos y aumentando su vida de anaquel, ayudan a proteger a los alimentos del deterioro físico, químico y biológico, se les atribuye un efecto antimicrobiano y antifúngico (Salvia-Trujillo y col., 2017), así como de la pérdida de humedad y los cambios químicos inducidos por la luz, la oxidación de nutrientes y funcionan como una barrera contra daños mecánicos.

2.5.1 Clasificación de películas comestibles

Las películas comestibles pueden ser clasificadas por su composición en hechas a base de lípidos, proteínas o polisacáridos.

Películas a base de proteínas: Las proteínas se desnaturalizan desarrollando una red cohesiva estabilizada principalmente por enlaces de hidrogeno, así como por interacciones iónicas y covalentes, lo que les confiere alta integridad mecánica (Díaz-Montes y Castro-Muños, 2021). Dentro de los biopolímeros más empleados para este fin se encuentran las gelatinas, los alginatos, los caseinatos, la proteína de girasol y las proteínas de suero de leche por mencionar algunas, las cuales también se utilizan en recubrimientos y películas comestibles como fuente de prebióticos (Kumar y col., 2022).

Un ejemplo representativo de proteína empleada en la elaboración de películas comestibles es el caseinato de sodio, que es un polímero soluble en agua que se obtiene a partir de la precipitación ácida de la caseína, la principal proteína de la leche de vaca, gracias a la secuencia específica de aminoácidos presente en su estructura, es probable que la formación de películas sea causada por enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas y fuerzas hidrofóbicas. Las películas comestibles elaboradas con caseína resultan especialmente atractivas por su alto valor nutricional, buenas propiedades sensoriales y su capacidad para proteger eficazmente los alimentos recubiertos frente a factores ambientales adversos (Chen y col., 2019).

Películas comestibles hechas a base de lípidos: Los lípidos hidrofóbicos son pequeñas moléculas biológicamente activas que por sus características hidrofóbicas no se pueden diluir en agua (Oregel-Zamudio y col., 2017), lo que le da una barrera excepcional a la humedad, los principales compuestos utilizados en la creación de películas comestibles son ceras, parafinas y acetoglicéridos.

Películas comestibles hechas a base de polisacáridos: Los polisacáridos son altamente resistentes, solubles, incoloros, y flexibles, esto debido a su estructura lineal, los principales

polisacáridos que se utilizan en la formación de películas son el quitosano, el alginato y las gomas (Chen y col., 2019).

2.5.2 Aplicación de películas comestibles

Jaisan y Punbusayakul (2016), desarrollaron una película comestible a base de quitosano incorporando extracto liofilizado de pulpa de café, con el objetivo de evaluar su potencial antimicrobiano. Para la obtención del extracto, la pulpa de café fue sometida a una extracción acuosa en una proporción 1:2 (m/v), seguida de un proceso de liofilización. La actividad antimicrobiana de las películas formuladas fue evaluada frente a diferentes cepas bacterianas, incluyendo *Bacillus cereus* KCCM 40133 (*B. cereus*), *Bacillus subtilis* KCCM 11316 (*B. subtilis*), *Escherichia coli* KCCM 21052 (*E. coli*) y *Pseudomonas fluorescens* KCCM11362 (*P. fluorescens*). Los resultados mostraron que la incorporación de pulpa de café al 0.5 % inhibió el crecimiento de *B. cereus* KCCM 40133, con un halo de inhibición de 8 mm, al incrementar la concentración del extracto a 0.8 y 1 % de pulpa de café se inhibieron *B. cereus* KCCM 40133, *B. subtilis* KCCM 11316, *E. coli* KCCM 21052 y *P. fluorescens* KCCM 11362, con halos de inhibición de 10 a 13 mm, 9. a 12 mm, 8 a 10 mm y 1 a 11 mm, respectivamente evidenciando una actividad antimicrobiana dependiente de la concentración, reportaron que las películas con extracto de pulpa de café presentaron mayor permeabilidad al vapor de agua y solubilidad en comparación con las películas control sin extracto, lo que podría atribuirse a la naturaleza hidrofílica de los compuestos fenólicos presentes. Estos hallazgos sugieren que las películas comestibles formuladas con extracto de pulpa de café no solo poseen propiedades antimicrobianas, sino también actividad antioxidante, lo que las convierte en una alternativa viable como recubrimiento activo para la conservación de alimentos.

Sanyang y col. (2017) realizaron la formulación de películas de cáscara de cacao y ácido poliláctico y evaluaron el efecto que estas tienen en las propiedades de la película, determinaron que la formulación debe tener entre el 1 a 10 % de vaina de cacao, concluyeron que a medida que la concentración aumentó de 1 a 10 %, el módulo de tracción de las películas también aumentó de 1.5 MPa a 10.4 MPa, mientras que su alargamiento de rotura se redujo del 190 al 90 %. Estos hallazgos señalan que la formulación de películas con vaina de cacao y ácido poliláctico son una buena alternativa para reemplazar a compuestos de polímeros termoplásticos.

Collazo-Bigliardi y col. (2019) desarrollaron una película comestible con lignocelulosa de cáscara de café y estudiaron las propiedades de las películas mezcladas con almidón, las realizaron con 1 % de cascara de café, 5.8 % de extracto antioxidante, teniendo como resultados un módulo de elongación de 85 a 515 Mpa, tensión de 3.8 a 11 MPa, % de elongación de 13 a 64 %, espesor de 0.18 a 0.20 mm, permeabilidad al vapor de agua la cual puede describirse como la capacidad que la película tiene para permitir el paso de vapor de agua a través de ella y reportan valores de 7.3 a 14.9 g mm/kPa¹·h¹ m² concluyeron que, si bien el extracto no impartió un mejor rendimiento mecánico a la película en comparación con el blanco, si reducen su permeabilidad al oxígeno y les confieren capacidad antioxidante, promoviendo su utilidad para prevenir reacciones de oxidación de los alimentos.

Lessa y col. (2021) obtuvieron nanofibras celulósicas de la cáscara de cacao mediante la desfibrilación mecánica sin tratamiento enzimático, para la formulación de películas comestibles probando distintas concentraciones de glicerol (0, 1, 3, 5 y 7 % p/v), les realizaron pruebas de rotura, alargamiento, permeabilidad al vapor de agua, solubilidad, las mejores características de películas las determinaron a una concentración de 3 a 5 % de glicerol, encontrando valores para permeabilidad al vapor de agua de 2.13 a 2.83 g mm/kPa día m², espesores de 0.10 a 0.12 mm, % de elongación de 1.1 a 2.8 %, tracción a la rotura 2.36 a 7.22 Mpa, módulo de Young de 84.2 a 361.5 Mpa, concluyeron que las películas comestibles con 3% y 5% de glicerol como plastificante orgánico tuvieron las mejores características mecánicas del módulo de Young y reducción de la permeabilidad del vapor de agua.

Bernardi y Augustus de Oliveira (2023) formularon una película comestible hecha a base de 10% de mucílago de café el cual es rico en pectina, realizaron pruebas como microscopia electrónica de barrido, el espesor de la película presentó un valor de 0.022 mm a 0.029mm, contenido de humedad con un valor de 24.5 %, permeabilidad al vapor de agua con 0.397 g mm kPa⁻¹ h⁻¹ m⁻², tensión de 0.86 MPa y deformación con un valor de 24.07 %. Las películas producidas a partir del mucílago del café presentaron buena homogeneidad, continuidad, ausencia de rupturas o regiones frágiles, flexibilidad, facilidad de desprendimiento del soporte y manipulación, sin necesidad de agregar coadyuvante a su formación. Además, presentaron uniformidad en espesor y barrera al vapor de agua media, concluyendo que el mucílago es un producto potencialmente útil para ser utilizado en la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria.

Suriati y col. (2023) evaluaron el impacto que tenía la concentración de quitosano en la formulación de una película comestible hecha con pulpa de café, examinaron diferentes concentraciones de pulpa de café de 7, 14, 21 y 28%, y de 1 y 1.5 % de quitosano, les realizaron pruebas como sabor, color, transparencia, rendimiento, espesor y acidez, determinaron que las mejores concentraciones fueron de 1.5 % de quitosano y 21 % de pulpa de café, concluyendo que la concentración de pulpa de café y quitosano y sus interacciones estructurales afectan las características de la película, así como a su resistencia.

Batista y col. (2023) desarrollaron películas comestibles a partir de polisacáridos de borra de café (producto del desecho en la preparación de café), reticulados con iones de calcio y ácido 1-4, fenilendiborónico (PDBA), realizaron un análisis de las propiedades de la película y su biodegradabilidad, comparando dos formulaciones, la primera formando enlaces de coordinación de iones calcio con polisacáridos y el segundo mediante enlaces covalentes con ácido PDBA, el resultado fue que las películas con iones Ca^{2+} y pozos de café exhibieron una mayor barrera al vapor de agua con una reducción del 44% de la permeabilidad al vapor de agua y un 26% mayor de resistencia a la tracción que la película control esto en comparación con las películas reticuladas con PDBA las cuales presentaron contenidos de humedad entre un 55 y un 81% mayores, una permeabilidad al vapor de agua entre un 85 y un 125% mayor y alargamientos de rotura entre un 67 y un 150% mayores que las películas con iones Ca^{2+} . Se demostró que la biodegradabilidad de la película se ve afectada por la densidad de reticulación por lo que concluyen que aun que los resultados son prometedores se sugieren que las investigaciones futuras deberían centrarse en mejorar las propiedades de estas películas.

Rizal y col. (2023), evaluaron el uso de borra de café en materiales biopoliméricos destinados a envases comestibles usando algas rojas naturales (*Kappaphycus alvarezii*), para la formulación de películas, emplearon 10 g de alga roja, 5 g de glicerol como plastificante y concentraciones de borra de café de 0 a 5 %. Determinaron que la formulación óptima fue del 4 % de borra de café. En el análisis granulométrico mostraron que el tamaño promedio de las partículas de los residuos de café estaba entre 1.1 y 1.3 mm, mediante microscopía electrónica de barrido confirmaron la homogeneidad estructural de la película, observaron una mejora significativa en las propiedades hidrofóbicas de las películas con la incorporación de la borra de café, así como un aumento en la resistencia a la tracción, alcanzando un valor de 35.5 MPa. Los autores concluyen que la incorporación

de la borra de café con algas rojas mejora las propiedades mecánicas y funcionales de las películas biopoliméricas, además de ofrecer un enfoque sustentable para el desarrollo de envases comestible.

Las aplicaciones de películas comestibles en alimentos ha demostrado ser una estrategia para aumentar la vida de anaquel de ciertos productos, tal efecto se atribuye a la capacidad de las películas contra la humedad, la descomposición por exposición de la luz, la oxidación lipídica, efecto bactericida o bacteriostático de los coproductos de su formulación. Las películas comestibles no solo funcionan como recubrimientos protectores, sino también como vehículos de compuestos funcionales que contribuyen a mantener la calidad sensorial, microbiológica y nutricional de las carnes procesadas. La siguiente sección aborda en detalle los avances y resultados reportados en la aplicación de películas comestibles en productos cárnicos, con énfasis en su efecto sobre la estabilidad y seguridad del producto final.

2.5.3 Aplicación de películas comestibles en productos cárnicos

Shavisi y col. (2017), examinaron los efectos de una película comestible de ácido poliláctico (APL), enriquecida con un extracto etanólico de propóleo, nanopartículas de celulosa y aceite esencial de *Ziziphora clinopodioides*, en las propiedades químicas, microbianas y sensoriales de la carne molida de res durante 11 días de refrigeración, encontraron que las películas redujeron significativamente la formación de compuestos volátiles nitrogenados así como un efecto antimicrobiano al disminuir la carga microbiana de 7 log UCF/g para el blanco a 4.56 log UFC / g con película de APL, demostrando que a mayor concentración de nanopartículas de celulosa y *Z. clinopodioides*, mayor vida de anaquel, sin presentar cambios en el sabor de la carne.

Khezrian & Shahbazi, 2018, investigaron la aplicación de películas nanocompuestas de quitosano y carboximetilcelulosa para la conservación de carne de camello probando su efecto antimicrobiano contra *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 al tener una disminución en el crecimiento de 7 log UFC/ g sin película a 3.4 log UFC /g con película, además las películas logran retrasar el aumento de microorganismos, los autores concluyeron que estas películas comestibles representan materiales de envasado activos y prometedores para extender la vida útil de la carne de camello picada durante el almacenamiento refrigerado.

Ruan y col. (2019) evaluaron el efecto de una película comestible de alginato de sodio carboximetilcelulosa con galato de epigallocatequina sobre la calidad y vida útil de la carne de cerdo fresca, encontrando que el recubrimiento comestible tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos y reducir la oxidación lipídica, lo que se traduce en un aumento de la vida de anaquel de la carne de cerdo cruda, concluyendo que estos recubrimientos podrían ser de gran utilidad en la industria alimenticia para aumentar la vida de anaquel de productos.

Umaraw y col. (2020) investigaron sobre la influencia de las películas comestibles en las propiedades del envasado de carne, pescado y sus derivados, concluyendo que las películas comestibles han demostrado ser eficaces para controlar el deterioro de la calidad (principalmente en la inhibición del crecimiento microbiano, actividad antioxidante y preservación de propiedades sensoriales) en pescado, carne y productos derivados. El uso de coproductos derivados del procesamiento de alimentos son una alternativa prometedora para producir películas económicas que presenten buenas características sensoriales y fisicoquímicas.

Venkatachalam & Lekjing (2020) evaluaron películas comestibles hechas a base de quitosano adicionadas con aceite esencial de clavo y nisina para mejorar la calidad y la vida de anaquel de hamburguesas de cerdo, para lo cual probaron sus características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales durante 15 días, evaluaron la luminosidad, pH, metamioglobina, ácidos grasos libres, índice de peróxido, sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico, cuantificación de bacterias psicotróficas, enterobacterias y bacterias ácido lácticas, encontrando que la vida útil de la carne de hamburguesas es de 12 días comparado con el control el cual es de 6 días.

Song y col. (2021) realizaron una investigación sobre películas comestibles aplicadas en carne y productos cárnicos, en el que resalta la formulación de películas con productos naturales y como estos productos influyen en sus características antioxidantes y antibacterianas en las que resaltan compuestos como polisacáridos, celulosa, almidón, pectina, goma, alginato, carragenano y quitosano, proteínas, leche, colágeno y proteína aislada de soya y lípidos aceite esencial, ceras, emulsionantes, plastificantes y resinas.

Esfahani y col. (2022) realizaron películas comestibles hechas de almidón, yuca y cáscara de granada con la finalidad de evaluar la frescura de la carne de cerdo, determinaron que el aumento de la cáscara de granada tiene influencia en las propiedades fisicoquímicas y

mecánicas de la película, entre mayor es la concentración de cáscara de granada el color se vuelve más fuerte, la cantidad de polifenoles presentes en la película también se ven aumentados, finalmente concluyeron que esta película inteligente puede ser utilizada para preservar la frescura de la carne.

Li-Jiaxu y col. (2024) realizaron y caracterizaron películas nanocompuestas y adicionadas con antocianidinas extraídas de madre selva, evaluaron su aplicación en la conservación de carne de cerdo, encontrando que la película adicionada con antocianidinas fue adecuada para el envasado de alimentos por sus características fisicoquímicas, así como mejores características antimicrobianas y antioxidantes.

Li-Min y col. (2024) realizaron películas de gelatina con microgel de taninos y nanocelulosa, como un envase de alimentos, encontraron que la película poseía propiedades antioxidantes, así como evitaba el paso de la luz UV eliminando el 79 % de los radicales libres, así como excelentes propiedades mecánicas, concluyendo que la adición de taninos en películas comestibles puede hacer que sean utilizadas para cubrir alimentos.

La literatura revisada confirma que la pulpa de café y la cáscara de cacao son coproductos agroindustriales con un alto potencial como ingredientes funcionales, debido a su riqueza en compuestos polifenólicos, fibra dietética que puede ser utilizada como prebiótico y ácidos grasos de cadena corta. Estos componentes pueden ejercer efectos beneficiosos en la salud, además de mejorar la calidad tecnofuncional de los alimentos. Como se muestra en esta sección diversos estudios han demostrado la viabilidad de incorporar estos coproductos en matrices alimentarias, tanto como mejoradores nutricionales como por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. La incorporación de estos ingredientes en el desarrollo de películas comestibles se ha estudiado como una estrategia efectiva para alargar la vida útil de productos alimenticios, especialmente productos cárnicos, reduciendo el deterioro microbiano y oxidativo, y manteniendo sus atributos sensoriales.

De este modo, la revisión bibliográfica nos permite establecer una base científica sólida que justifica la necesidad de evaluar el uso de películas comestibles elaboradas con harina de cáscara de cacao y pulpa de café como alternativa sostenible y funcional para la conservación de productos cárnicos, específicamente jamón cocido.

3. Justificación

La pulpa de café y la cáscara de cacao son generados durante el procesamiento industrial de café y cacao, respectivamente, estos coproductos causan graves problemas de contaminación, sino son tratados adecuadamente, desde la contaminación de suelos, eutroficación de ríos, contaminación de mantos acuíferos y proliferación de fauna indeseada por mencionar algunos, por lo cual se ha convertido en un problema no solo ambiental, también económico e incluso social, estos residuos ya son utilizados para la producción de enzimas, para producción de composta y producción de gas por mencionar algunos, sin embargo y debido al notable crecimiento en la producción de desechos se han buscado alternativas de reutilización por lo que en este trabajo se plantea la reutilización de estos coproductos por su potencial biotecnológico, buscando posibles aplicaciones como fuente de ingredientes funcionales y aplicándolos en la formación de una película comestible la cual no solo contribuiría a ayudar a la reutilización de estos desechos también beneficiaría al sector alimenticio aumentando la vida de anaquel de un producto cárnico.

A partir de este análisis, se plantean los siguientes objetivos que guiarán el desarrollo experimental de esta investigación.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Determinar el potencial biotecnológico de la pulpa de café y cáscara de cacao como fuente de ingredientes con propiedades funcionales y sus posibles aplicaciones en el desarrollo de películas comestibles en productos cárnicos.

4.2 Objetivos particulares

- I. Analizar las características bromatológicas y microbiológicas de las harinas de pulpa de café y de cáscara de cacao.
- II. Cuantificar el contenido de polifenoles y determinar la actividad antioxidante de ambos coproductos.
- III. Evaluar la actividad prebiótica, antimicrobiana y antifúngica de las harinas de pulpa de café y la cáscara de cacao.
- IV. Formular y caracterizar películas comestibles a base de caseinato adicionadas con harinas de pulpa de café y cáscara de cacao.
- V. Evaluar el efecto de las películas comestibles adicionadas con cáscara de cacao sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de un jamón curado-cocido.

- VI. Evaluar el efecto antimicrobiano de las películas comestibles sobre el desarrollo de microorganismos patógenos Gram positivos (*Listeria monocytogenes* y *Staphylocococcus aureus*) y Gram negativos (*Escherichia coli* y *Salmonella sp.*).

5. Materiales y métodos

5.1 Material Biológico y tratamiento de las muestras

La pulpa de café y cáscara de cacao fueron adquiridas en el municipio Ángel Albino Corzo, Chiapas, el cual se encuentra a una altitud de 640 m con coordenadas 15°46'00"N 92°41'00"O, entre los meses de noviembre y marzo de 2021, ambos residuos fueron secados, molidos y tamizados con malla del número 100 con una apertura de 0.149 mm a esto le llamaremos harina de cada coproducto. Las harinas fueron almacenadas a temperatura ambiente y en recipientes herméticos.

5.2 Estrategia experimental

Este trabajo se desarrolló en 2 etapas: En la primera etapa se realizó la caracterización de las harinas de pulpa de café y cáscara de cacao mediante el análisis bromatológico, contenido de fibra, polifenoles, actividad antioxidante, actividad prebiótica, antimicrobiana y antimicótica (Figura 5.1.) En la segunda etapa se elaboraron películas comestibles adicionadas con las harinas de pulpa de café y cáscara de cacao, con éstas se recubrió un jamón, y se determinaron sus características fisicoquímicas y sensoriales. En un momento avanzado de esta etapa de esta tesis, se inoculó el jamón con bacterias patógenas (Gram positivas y Gram negativas) y se recubrió el producto con una película elaborada a base de cáscara de cacao y se evaluó el desarrollo de las bacterias patógenas y la calidad del producto en ausencia de bacterias patógenas. (Figura 5.2).

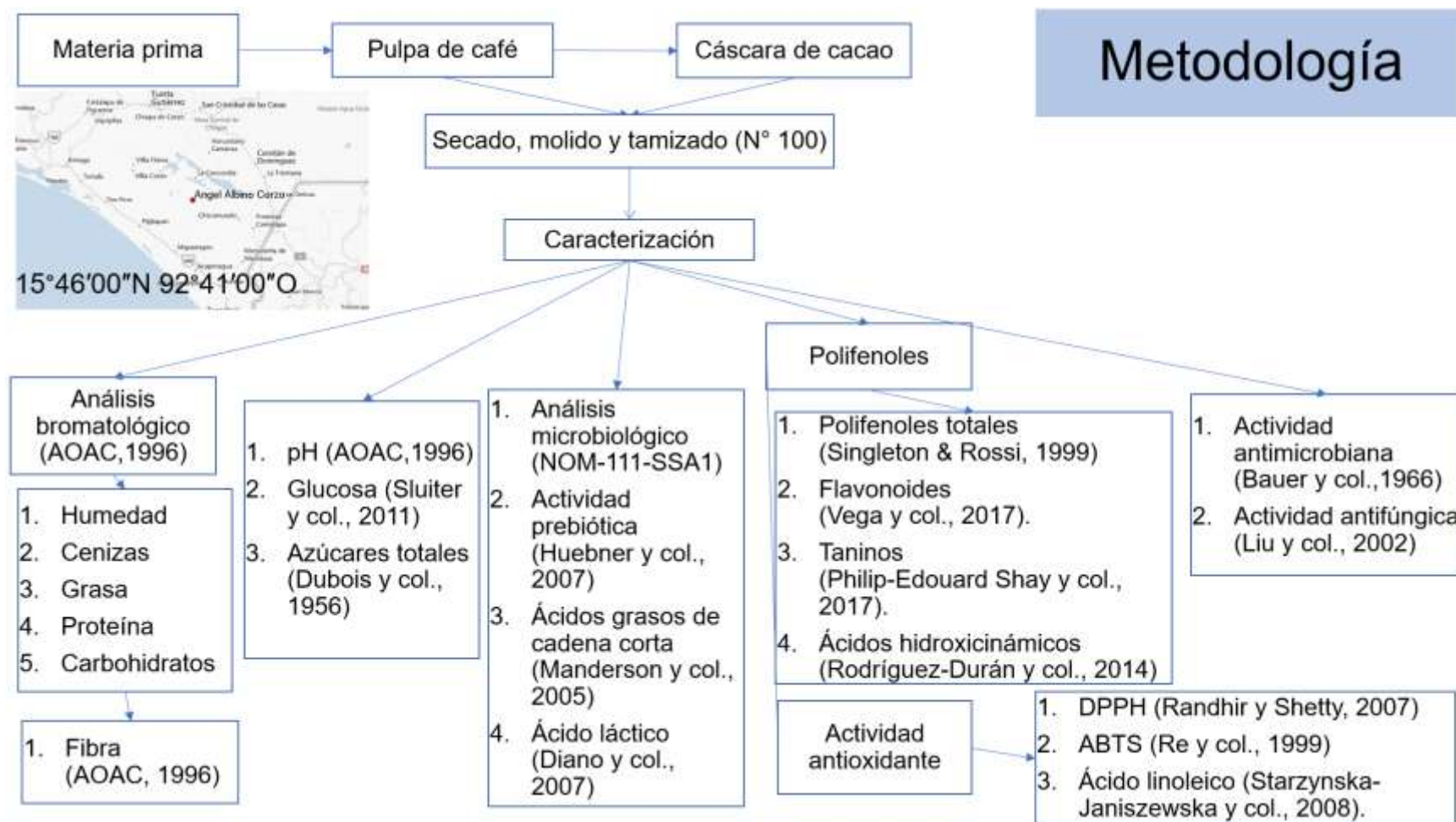


Figura 5.1. Caracterización de pulpa de café y cáscara de cacao

Metodología

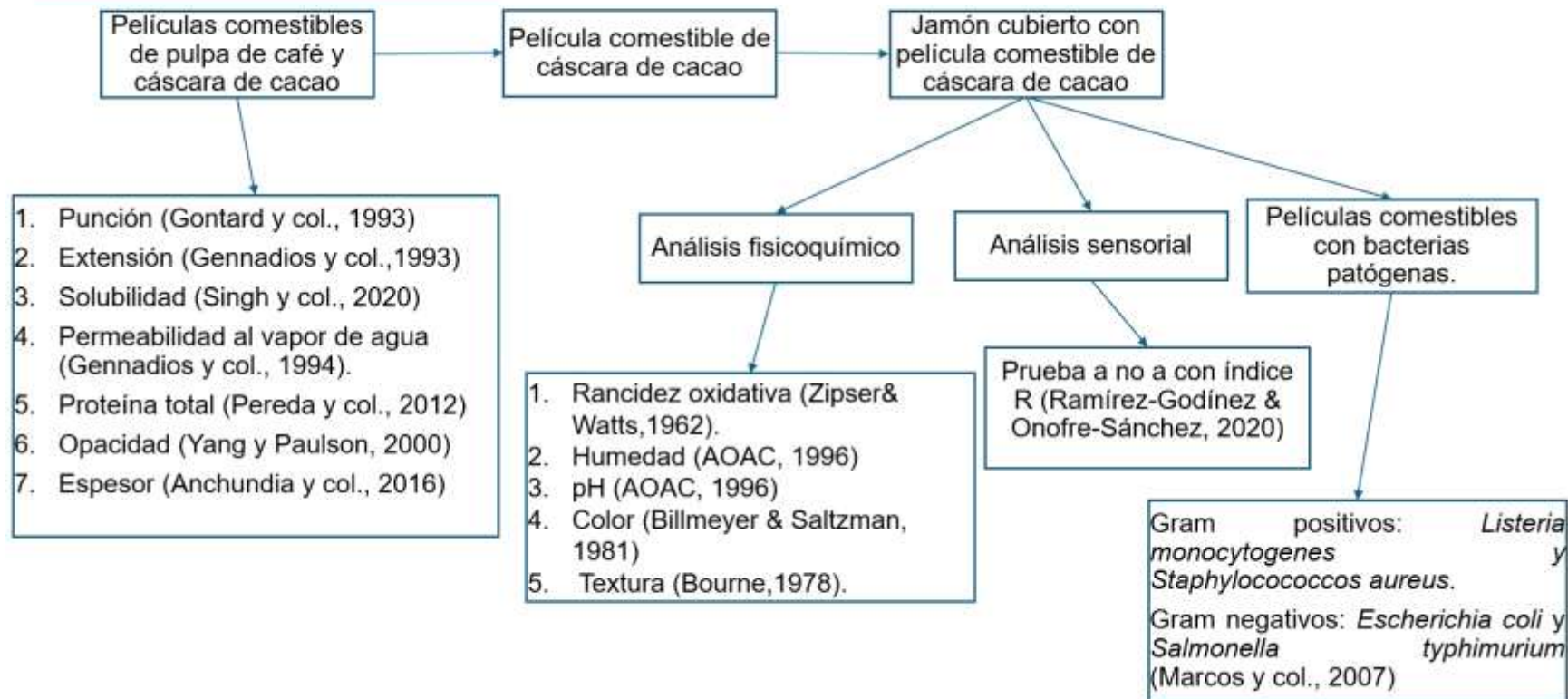


Figura 5.2. Aplicación funcional de pulpa de café y cáscara de cacao en el diseño de unas películas comestibles para la conservación de un producto cárnico.

Primera etapa

5.3 Análisis bromatológico

5.3.1 Humedad

Se determinó siguiendo el método oficial 950.46 AOAC (1996), la determinación se realizó por triplicado para lo cual se colocaron los crisoles a peso constante, posteriormente se pesaron 2 g de muestras en cada crisol y se colocaron a la estufa (MAPSA ® modelo HDP-334, Navarra, España) por 12 h a 110°C, transcurrido este tiempo se dejaron enfriar las muestras en desecador a temperatura ambiente y se calculó el porcentaje de humedad por diferencia de peso.

$$\text{Humedad (\%)} = (M1 - M2) \left(\frac{100}{M1 - M0} \right) \quad \text{Ecuación 5.1}$$

M0 = Peso en gramos de crisol

M1 = Peso en gramos de crisol con muestra antes del secado

M2 = Peso en gramos de crisol con muestra después del secado.

5.3.2 Cenizas

Los crisoles se llevaron a peso constante, cada determinación se realizó por triplicado, posteriormente se agregaron 2 g de muestra en cada uno de los crisoles y se preincineraron a la flama, se colocó cada muestra en una mufla a 550 °C hasta obtener cenizas blancas, por último, las muestras se sacaron de la mufla (THERMOLYNE® Thermoscientific, EUA) y se dejaron enfriar en desecador a temperatura ambiente, se registró el peso final y determinó el porcentaje de cenizas por diferencia de peso (AOAC, 1996).

$$\text{Cenizas (\%)} = \left(\frac{P_i - P_f}{P_i} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 5.2}$$

P_i = peso inicial de crisol más muestra antes de incinerar

P_f = peso final de crisol más muestra después de incinerar

5.3.3 Determinación de grasa

El contenido de grasa se determinó por el método AOAC (1996) cada determinación se realizó por triplicado. Se pesaron 2 g de muestra seca en un papel filtro y se colocaron en un cartucho de celulosa con algodón para tapar el cartucho, todo se llevó a peso constante,

posteriormente se determinó el porcentaje de grasa por un equipo Soxhlet, empleando éter de petróleo como solvente para extraer el contenido de grasa de las muestras, para corroborar que no quede ningún residuo de grasa en las muestras se colocó una gota de solvente sifonado en un papel filtro, se colocaron los cartuchos en una estufa a 60 °C para secarlas, posteriormente se enfriaron en un desecador y se determinó el contenido de grasa por diferencia de peso.

$$\text{Grasa (\%)} = \left(\frac{P_1 - P_2}{P} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 5.3.}$$

P = peso de muestra

P₁ = peso algodón+ muestra + cartucho antes de la extracción

P₂ = peso de algodón + muestra + cartucho después de la extracción y después del secado

5.3.4 Determinación de fibra

Se determinó por medio del proceso enzimático-gravimétrico oficial de la AOAC 991.43 (1996), y el kit de ensayo de fibra dietética de Sigma Aldrich USA DF-100A, para lo cual se pesó 1 g de muestra y se agregaron 50 ml de buffer de fosfatos más 0.1 ml de α-amilasa (37 mg proteína /ml) se tapó el matraz con papel aluminio y se colocó a baño de agua hirviendo por 15 min hasta que la temperatura interna del matraz alcanzo los 92 °C, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 7.5 con 10 ml de NaOH al 0.275 N, posteriormente se agregaron 0.1 ml de solución de proteasas se tapó e incubo a baño maría a 60 °C por 30 min y se dejó enfriar a temperatura ambiente, se agregaron 10 ml de HCL al 0.325 N para ajustar el pH a 4.6. Enseguida se agregaron 0.1 ml de aminoglucosidasa se tapó e incubó a 60 °C por 30 min se dejó enfriar y se añadieron 4 volúmenes de etanol al 95 % y se pasó por un papel filtro. Por último, se dejó reposar toda la noche y pasado este tiempo se secó en la estufa hasta obtener un peso constante y se procedió a calcular el contenido total de fibra por medio de una ecuación.

$$\text{Fibra (\%)} = \left(\frac{\text{Peso final de la muestra}}{\text{Peso inicial de la muestra}} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 5.4}$$

5.3.5 Determinación de proteína

Para el análisis de proteína se colocó 1 g de muestra en un matraz bola con 15 ml de H_2SO_4 concentrado, perlas de ebullición y 5 g de solución catalizadora (400 g de sulfato sódico, 16 g de sulfato de cobre hidratado y 3 g de dióxido de selenio) se colocaron en el digestor a una temperatura de 160 °C por 10 minutos, pasado este tiempo se elevó la temperatura a 250 °C por 10 minutos, posteriormente se aumentó la temperatura a 340 °C y se dejó la digestión hasta que se obtuvo un color verde turquesa, y se dejó enfriar por 24 h, transcurrido este tiempo se pasó a un microdestilador por arrastre de vapor sistema Kjeldahl por 5 minutos, y se tituló con una solución valorada de H_2SO_4 al 0.002 N, se usó como indicador una solución mixta de azul de metileno y rojo de metilo, se registró el volumen gastado, y se determinó el contenido de nitrógeno ($\frac{mg\ NK}{g\ Ms}$) de acuerdo la siguiente ecuación 5.5 y con este resultado posteriormente se determinó el porcentaje de proteína como se describe en la ecuación 5.6 (AOAC, 1996).

$$Nitrogeno (\%) = \frac{(ml\ H_2SO_4) * (N\ H_2SO_4) * (14)}{g\ Ms} * 100 \quad Ecuación\ 5.5$$

$mg\ NK = mg\ de\ nitrógeno\ Kjeldahl$

$g\ Ms = Kg\ de\ muestra\ seca$

$ml\ H_2SO_4 = Volumen\ gastado\ de\ H_2SO_4.$

$N\ H_2SO_4 = normalidad\ de\ H_2SO_4.$

$$Proteína (\%) = Nitrogeno (\%) * 6.25 \quad Ecuación\ 5.6$$

$Factor\ de\ conversión = 6.25\ (16\ \% \ de\ proteína\ equivale\ a\ 6.25).$

5.3.6 Determinación de Carbohidratos por diferencia

Este resultado se obtuvo a partir del porcentaje remanente de la cuantificación de los componentes de la muestra cómo se indica en la ecuación 5.7 (Nielsen, 1998):

$$Carbohidratos (\%) = 100 - Humedad (\%) - Proteína (\%) - Grasa (\%) - Cenizas (\%) \quad Ecuación\ 5.7$$

5.4 Técnicas analíticas: pH, cuantificación de glucosa y azúcares totales.

5.4.1 pH

El pH se determinó en un potenciómetro marca MED PE3090 (AOAC, 1996), previamente calibrado utilizando soluciones de pH 4 y 7, para lo cual se tomó una muestra de 1 g de cada harina se suspendió en 100 ml de agua se mezcló y la muestra se analizó por triplicado.

5.4.2 Cuantificación de glucosa

La glucosa se determinó colocando 2 g de muestra seca en tubos de vidrio y posteriormente se agregaron 2 ml de una solución de H_2SO_4 al 72 % y se agitó por 60 min a 30 °C, pasado este tiempo se le agregaron 56 ml de agua destilada y se colocaron en autoclave por 60 min a 120 °C transcurrido este tiempo se dejaron enfriar las muestras a temperatura ambiente, se filtraron con papel filtro y se neutralizaron con CaCO_3 hasta tener un pH entre 5-6, las muestras se dejaron sedimentar y el sobrenadante se pasó por filtros de nylon de 0.22 μm y se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se utilizó un método isocrático con una fase móvil de una solución acuosa al 5 mM de ácido sulfúrico; a un flujo de 0.6 ml/min a 60 °C y un tiempo de análisis de 15 minutos. Se empleó un equipo Shimadzu Prominence (Shimadzu Corp. Kyoto, Japón) equipado con una bomba LC-20AT, una unidad desgasificadora DGU-20AS, un automuestreador SIL-20A HT, un detector Shimadzu RID-20^a, un horno CTO-20^a, se utilizó una columna de hidrógeno Aminex HPX-87H (300 x 7.8 mm). Se preparó una curva de calibración con glucosa al 95 % de pureza, a una concentración de 0 a 5 g/L (Sluiter y col., 2011).

5.4.3 Contenido de azúcares totales

Los azúcares totales se determinaron empleando la técnica descrita por Dubois y col. (1956). Se tomó una muestra de 2.5 g de cada harina y se mezclaron con 50 ml de agua destilada, se tomó 1 ml de cada solución y se colocaron en un tubo de vidrio posteriormente se les adicionó 1 ml de fenol al 5% y 5 ml de H_2SO_4 concentrado se dejaron reaccionar las muestras por 30 min, se agitaron y se leyeron en un espectrofotómetro a 490 nm. Se preparó una curva patrón de glucosa a una concentración de 0.1 a 4 g /L.

5.5 Análisis microbiológico, cinéticas de fermentación, parámetros cinéticos, actividad prebiótica y cuantificación de ácidos grasos de cadena corta.

5.5.1 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó siguiendo la metodología de las Normas Oficiales Mexicanas (NOM), para lo cual se tomaron 10 g de cada muestra y se diluyeron en 90 ml de agua destilada estéril, se realizaron diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , posteriormente fueron inoculadas en cajas de Petri con agar papa dextrosa, para hongos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994), en agar cuenta estándar para mesófilos aerobios (NOM-092-SSA1-1999) y agar rojo violeta bilis para coliformes totales (NOM-113-SSA1-1994), se inocularon por el método de siembra con perlas y se incubaron a 35 °C por 24 - 48 h transcurrido este tiempo se contaron las colonias presentes en cada caja.

5.5.2 Cinéticas de fermentación y parámetros cinéticos

Para la cinética de fermentación se realizaron cultivos en matraces con 100 ml de caldo TPY (triptona, peptona y extracto de levadura) a 35 °C por 12 h, se tomaron muestras cada 2 h hasta 12 h cada muestra se inoculó en cajas de Petri con agar TPY y se incubaron a 35 °C por 24 h, transcurrido este tiempo se realizó conteo en placa, posteriormente con los resultados obtenidos se construyeron gráficas de crecimiento y se determinaron los parámetros cinéticos.

5.5.3 Actividad prebiótica

La actividad prebiótica se midió realizando fermentaciones con bacteria lácticas probióticas utilizando la técnica descrita por Huebner y col. (2007). Las cepas probióticas empleadas fueron: *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus rhamnosus* Rosell, *Lactobacillus casei* Shirota y *Lactobacillus acidophilus*. El crecimiento bacteriano se determinó usando caldo TPY en cultivos de 12 h de duración. Se tomaron alícuotas cada 2 h, se inocularon en placas de agar TPY y se incubaron a 37 °C por 24 h. Las fermentaciones se realizaron con las cepas probióticas y con 2 cepas entéricas o patógenas, para obtener la actividad prebiótica; como bacterias entéricas se emplearon *Salmonella sp* y *Escherichia coli* la actividad se determinó con la siguiente Ecuación 5.8.

$$\text{Actividad prebiótica} = \left(\left(\frac{\Delta N_{BAL \text{ Probiotico}}}{\Delta N_{Glucosa}} \right) - \left(\frac{\Delta N_{enterica}}{\Delta N_{Glucosa}} \right) \right) \quad \text{Ecuación 5.8}$$

$\Delta N = N_t - N_0$ (log de cfu/mL al tiempo final “menos” el log de UFC/mL al tiempo inicial) para cada una de las cepas a evaluar” y como bacteria entérica *Salmonella sp*).

5.5.4 Ácidos grasos de cadena corta

Se tomaron alícuotas al inicio y al final de los cultivos a 0 y 12 h. Estas muestras se utilizaron para determinar y cuantificar ácidos grasos de cadena corta, como son ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico. Los ácidos grasos de cadena corta fueron analizados en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7820a GC Sistema, con una columna AT- m 1000 y un detector de ionización de flama usando nitrógeno como gas acarreador a un flujo de 1 ml/min con una rampa de temperatura de 90 a 220 °C en 5 minutos (Manderson y col., 2005) con una curva de calibración con una concentración de 0 a 1000 ppm.

5.5.5 Ácido láctico

Se tomaron alícuotas al inicio y al final de los cultivos a 0 y 12 h. Estas muestras se utilizaron para cuantificar el ácido láctico, el cual fue analizado por cromatografía líquida de alto rendimiento con un equipo Shimadzu Prominence (Shimadzu Corp. Kyoto, Japón) equipado con una bomba LC-20AT, una unidad desgasificadora DGU-20AS, un auto muestreador SIL-20A HT, un detector Shimadzu RID-20^a, un horno CTO-20^a, utilizando una columna de hidrógeno Aminex HPX-87H (300 x 7.8 mm) con una fase móvil de H₂SO₄ 5 mmol a un flujo de 0.6 ml/min, temperatura 60 °C con un tiempo de corrida de 20 min y una curva de calibración de 0 a 5 g/L (Manderson y col., 2005.).

5.6 Polifenoles totales, actividad antioxidante, actividad antimicrobiana y actividad antifúngica

5.6.1 Preparación de extractos de pulpa de café y cáscara de cacao

Se pesaron 2.5 g de harina de cacao y pulpa de café y se colocaron en un vaso de precipitado, posteriormente se añadieron 50 ml de solución al 90:10 de etanol absoluto: agua, y se colocó en agitación a 60 °C por 30 min, pasado este tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró con ayuda de un embudo y gasa para eliminar los sólidos y utilizar el líquido sobrenadante, el cual fue almacenado en refrigeración a 4 °C hasta su utilización.

5.6.2 Determinación de polifenoles totales

La determinación de polifenoles totales se llevó a cabo por la técnica de Singleton y col, (1999). Se usaron los extractos etanólicos de las dos harinas, se les adicionó 1 ml de

reactivo de Folin-Ciocalteu con 8 ml de solución Na_2CO_3 al 0.7 M se dejó reposar por 2 h en oscuridad. Al sobrenadante se le midió la absorbancia a una longitud de onda de 765 nm, usando una curva de calibración de catecol a una concentración de 0 a 0.5 g/L.

5.6.3 Flavonoides

En la cuantificación de flavonoides totales se usó la técnica descrita por Vega y col. (2017) usando NaNO_3 al 5 %, AlCl_3 al 10 % y NaOH 1 M y 600 μl del extracto etanólico de las harinas de pulpa de café y cáscara de cacao. Se leyó la absorbancia a 415 nm, usando una curva de calibración de catequina a una concentración de 50, 100, 300, 500, 700 y 1000 ppm.

5.6.4 Taninos condensados o proantocianidinas

Se cuantificaron los taninos condensados solubles en solventes orgánicos, insolubles y solubles en agua. A continuación, se describe el procedimiento para la extracción y cuantificación de los taninos solubles en solventes orgánicos: Se pesaron 100 mg de muestra y se agregaron 300 μl de metanol acidificado con 0.05 % de ácido trifluoroacético (ATF), la mezcla se agitó manualmente, y posteriormente se adicionaron 1.7 ml de una solución acuosa de acetona acidificada (compuesta por 60 % acetona, 39.95 % agua y 0.05 % ATF), la mezcla se homogeneizó en un Vortex y se sometió a sonicación durante 10 minutos, seguida de una extracción a temperatura ambiente por 57 minutos. Posteriormente, se centrifugó la mezcla a 4000 rpm durante 5 minutos, se separó el sobrenadante, que fue utilizado para la cuantificación de taninos solubles, y el precipitado fue reservado para la extracción de taninos insolubles. Del sobrenadante, se tomó una alícuota de 0.5 ml, a la cual se adicionaron 2 ml de una mezcla de reactivos compuesta por 51.5 % acetona, 43 % butanol, 5 % HCl y 0.5 % agua, la mezcla se agitó por 5 segundos en vortex y, enseguida, se añadieron 67 μl de una solución férrica (2 % p/v de $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ en 2 N HCl), inmediatamente, se separó una parte de esta mezcla como alícuota no calentada, y el resto se incubó a 70 °C durante 2.5 horas. Tras su enfriamiento a temperatura ambiente, ambas fracciones (calentada y no calentada) se analizaron mediante espectrofotometría a 550 nm, y la cuantificación de taninos se realizó a partir de la diferencia entre las absorbancias de las muestras calentadas y no calentadas.

Para la cuantificación de taninos condensados insolubles: se tomó el precipitado de la extracción anterior y se le agregó 75 μl metanol acidificado 0.05% ATF, se agitó y añadió 425 μl de solución de acetona acuosa acidificada (60 % acetona: 39.95 % agua: 0.05% ATF) se mezcló y se adicionaron 2 ml de mezcla de reactivos (51.5 % acetona: 43 %

butanol: 5 % HCL: 0.5 % agua) y 67 µl de mezcla de Fe (2% p/v $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ en 2N de ACL), posteriormente se sonicó por 10 min, posteriormente se tomó una alícuota de la muestra y el resto fue calentado a 70 °C por 2.5 h, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se analizó en espectrofotómetro a 550 nm, la cuantificación de taninos condensados se realizó a partir de la diferencia entre las absorbancias de las muestras calentadas y no calentadas.

Para cuantificación de taninos condensados solubles en agua: Se pesaron 50 mg de la muestra y se le adicionó 2 ml de agua, se mezcló y sónico por 10 min, se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 57 min pasado este tiempo se centrifugó a 4000 rpm por 5 min se tomó una alícuota de 155 µl y se le adicionaron 2 ml de mezcla de reactivos (55.4 % acetona: 37 % butanol: 4.3% HCL: 3.2 metanol) y 58 µl de mezcla de Fe (2% p/v $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ en 2N de ACL) posteriormente se mezcló y se tomó una alícuota de la muestra y el resto se calentó a 70 °C por 2.5 h y se analizó en espectrofotómetro a 550 nm usando la alícuota sin calentar y la calentada para restar los valores y obtener el resultado (Philip y col., 2017).

5.6.5 Ácidos hidroxicinámicos

Se pesaron 2 g de cada muestra y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 ml se extrajo con 20 ml de hexano y se agitó a 30°C por 30 min y 150 rpm, la fase orgánica fue desechada y el procedimiento se realizó tres veces, posteriormente se extrajo con 20 mL de metanol acuoso (80% v/v + 1% de ácido acético+ 19 ml H_2O) se agitó a 55°C por 35 min y 150 rpm y se centrifugó a 3000 rpm por 30 min. El sobrenadante se filtró a través de membranas de celulosa regenerada con un tamaño de poro de 0.22 µm, y se almacenó a 4 °C para su posterior análisis. Los sólidos fueron utilizados para la hidrólisis alcalina con una solución de NaOH 2M se agitó a 150 rpm por 4 h a una temperatura de 40 °C, al finalizar se neutralizó con HCL 6M. Los extractos metanólicos y los extractos hidrolizados y se filtraron por membranas de nylon de 0.22 µm. Para su cuantificación se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Waters Alliance, con un detector de arreglo de diodos, empleando una columna C-18. El tiempo de análisis fue de 35 min y el flujo de la fase móvil fue de 0.5 ml /min. Se analizó a una longitud de onda de 320 nm. Para la fase móvil se empleó un gradiente de concentración de 10 % metanol y 90% (agua 63.75 %: ácido acético 1.25 %) la cual aumenta de manera gradual con el tiempo de 0 a 20 min hasta 55 % metanol puro y 45 % solución agua: ácido acético; se regresa de manera gradual a la

concentración inicial al minuto 35: Las curvas de calibración se prepararon con los estándares de ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido p-cumàrico, ácido vainillínico y ácido ferúlico, todos con un grado de pureza de 95-99%, con una concentración de 1 a 50 ppm (Rodríguez-Durán y col., 2014).

5.6.6 Actividad antioxidante por ABTS (2, 2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-acido sulfónico)

Para determinar la actividad antioxidante se utilizó el método descrito por Re y col. (1999) usando el reactivo ABTS a una concentración 7mM con una solución stock de persulfato de potasio a 2.54 mM y se diluyó en etanol hasta una absorbancia de 0. Se preparó una solución de Trolox para determinar el porcentaje de inhibición del radical ABTS (1 ml de ABTS + 10 ml de solución de Trolox 15 µM), en función del tiempo. Se tomaron lecturas a los 0, 1, 4 y 6 min, y se calculó la inhibición (%) del Trolox con la absorbancia del minuto 1 entre la absorbancia del minuto 0 por 100. Se realiza el mismo procedimiento para las muestras de pulpa de café y cáscara de cacao la capacidad antioxidante equivalente a Trolox de cada extracto se calcula como la relación de la pendiente del porcentaje de inhibición de cada extracto entre la pendiente del porcentaje de inhibición del Trolox.

5.6.7 Actividad antioxidante por DPPH

Para determinar la actividad antioxidante por el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) se usó la metodología descrita por Randhir y Shetty, (2007). Usando el radical DPPH a una concentración de 60 µM y los extractos etanólicos dejando reposar por 30 min hasta el cambio de color de morado a amarillo debido a la capacidad de eliminación de radicales de los extractos. Se determinó absorbancia a 517 nm, la inhibición (%) se calculó con la siguiente ecuación 5.9.

$$Inhibición (\%) = \left(\frac{Absorbancia\ control - Absorbancia\ muestra}{Absorbancia\ control} \right) * 100 \quad Ecuación\ 5.9$$

5.6.8 Actividad antioxidante por oxidación de ácido linoleico

Para esta técnica se usó la metodología descrita por Starzynska-Janiszewska y col. (2008), usando ácido linoleico para lo cual se agregaron 50 µl de extracto etanólico de cada muestra y se adicionó 100 µl de solución de ácido linoleico (0.56 g de ácido linoleico y 1.5 g de Tween 20 en 8 ml de etanol al 96 %) y 1.5 ml de una solución de buffer de acetatos 0.02 M a pH 4. La mezcla se mezcló con vortex y se sonicó (Branson 5800) por 3 min; se agregaron 750 µl de FeCl₂ 50 M y se incubó a 37 ° C; por 1 h; posteriormente se y agregó 1 ml de NaOH 0.1 M y 2.5 ml de etanol al 10 % (v/v) por último se determinó absorbancia a 232 nm.

Esta técnica mide la capacidad que tienen los extractos de harinas de pulpa de café y cáscara de cacao para evitar la peroxidación del ácido linoleico.

5.6.9 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana se basa en la medición de halos de inhibición, inoculando las cepas patógenas: *E. coli*, *Salmonella sp.* *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas fragilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, en agar Muller-Hilton BD Bioxon. Se colocan discos de papel filtro de 1 cm de diámetro y se impregnaron con 500 µL de extractos etanólicos de harinas de pulpa de café y cáscara de cacao, así como de los antibióticos comerciales cloranfenicol oftálmico (OPKO, Reg: No. 87541 SSAIV), tetraciclina comprimidos 250 mg (biotricina) y eritromicina suspensión 250 mg/5ml (Bioerter) de los cuales se adicionaron a una concentración de 5 mg /ml. Estos antibióticos fueron utilizados como controles positivos y, por último, como control negativo se utilizó agua, la caja se divide en tres secciones y se colocaron la muestra problema, el control positivo y el control negativo, se incubó por 24 h a 37 °C, transcurrido este tiempo se midieron los halos de inhibición (Bauer y col., 1966).

5.6.10 Actividad antifúngica

Para determinar la actividad antifúngica se utilizó la técnica de difusión en agar propuesta por Liu y col. (2002), para lo cual se utilizaron extractos etanólicos de pulpa de café y cáscara de cacao a una concentración de 5 mg en 50 ml de solución de etanol: agua (90:10), los extractos se mezclaron directamente en la formulación del agar papa dextrosa (PDA) la cual se ajustó a una concentración de 30 g/l, de este modo al diluir con los extractos de harinas y los antimicóticos se ajusta a la concentración recomendada por el fabricante la cual es de 15 g/l, como controles positivos. Los antimicóticos empleados Ketoconazol tabletas 200 mg (Izovag), Fluconazol tabletas de 100 mg (Terplex) , y Metronidazol tabletas 500 mg (Messeldazol) todas las presentaciones se ajustaron a una concentración de 5 mg/ml de agua, como control negativo se utilizó agar con etanol sin extracto de los compuestos, se utilizaron 4 cepas de hongos, *Penicillium commune*, *Aspergillus niger* ANH15, *Aspergillus versicolor* y *Aspergillus tamarii* V12367, se inocularon con 50 µl de solución de conidios a una concentración de 1×10^6 conidios /ml y se incubaron por 72 h, pasado este tiempo se midieron los halos de inhibición de crecimiento.

Segunda etapa

5.7 Películas comestibles de pulpa de café y cáscara de cacao

5.7.1 Formulación de películas

Las películas se elaboraron de la siguiente forma, en un matraz Erlenmeyer con 100 ml de agua destilada, se colocó caseinato de sodio (6%), glicerol (2%) y harinas de pulpa de café y cáscara de cacao (0.5%), los ingredientes se agitaron hasta suspender todos los componentes, y se calentó a 80°C, una vez alcanzada esta temperatura, se deja enfriar y se deposita sobre un vidrio de 20 cm de lado, se deja secar por 24 h a temperatura ambiente y una humedad relativa de 25-30 % (Totosa y col., 2016). A estas películas se les realizaron pruebas de extensión, punción, permeabilidad de vapor de agua, opacidad, solubilidad, proteína total y espesor.

5.7.2 Extensión

Las propiedades de tensión se determinaron de acuerdo con lo reportado por Gennadios y col. (1993). Las películas fueron cortadas en muestras de 1 cm de ancho por 8 cm de largo, y extendidas hasta su rompimiento a una velocidad de 1 mm/seg, siguiendo las recomendaciones de la ASTM D882, utilizando un texturómetro Brookfield CT-3 (Brookfield Engineering, Middleboro). La separación inicial fue de 69 mm. De las curvas carga-extensión se calcularon la fuerza a la tensión (carga máxima detectada entre el área de la sección transversal de la película, esto es, espesor de la película por el ancho en mm²) como se muestra a continuación y el porcentaje de alargamiento (distancia hasta la ruptura entre la distancia inicial, que fueron 69 mm) como descrito en las ecuaciones 5.10 y 5.11. También se calculó el módulo de Young como la pendiente de región lineal de la curva (Newton/s).

$$\text{Fuerza de extensión} = \left(\frac{\text{Carga máxima detectada (N)}}{\text{área (mm}^2\text{)}} \right) \quad \text{Ecuación 5.10}$$

$$\text{Elongación (\%)} = \left(\frac{\text{Distancia hasta la ruptura}}{\text{Distancia inicial (69mm)}} \right) \quad \text{Ecuación 5.11}$$

5.7.3 Punción

La fuerza y la deformación en el punto de ruptura se pueden determinar con pruebas de punción (Gontard y col., 1993). Para lo cual se tomaron las películas y se fijaron en una

celda de 63 mm de diámetro y se perforaron con una sonda de 3 mm de diámetro, a una velocidad de 1 mm /s, utilizando un texturómetro Brookfield CT-3 (Brookfield Engineering Middleboro). La elongación de la película se calculó de acuerdo con la ecuación 5.12.

$$c = \sqrt{a^2 + b^2} \quad \text{Ecuación 5.12}$$

a = Distancia inicial

b = Desplazamiento de sonda

c = Elongación de la película (%).

5.7.4 Permeabilidad de vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua se determinó gravimétricamente por el método estándar ASTM (1995), para lo cual se selló la película por encima del frasco de vidrio que contenía gel de sílice y se colocaron en un desecador que contenía agua destilada (100 % HR) a 25 °C, y se pesaron cada 24 h hasta alcanzar un peso constante, y la permeabilidad al vapor de agua ($\text{g} \cdot \text{mm} / \text{h} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kPa}$) se calculó con la ecuación 5.13.

$$\text{Permeabilidad al vapor de agua} = \frac{Ma}{t \cdot a} \quad \text{Ecuación 5.13}$$

Ma = masa de agua ganada

t = tiempo

a = Área de la película expuesta ($A = \pi \times r^2$)

5.7.5 Opacidad

La opacidad se determinó usando un espectrofotómetro Varían Cary 50 bio, (Oklahoma, EUA), a una longitud de onda de 600 nm. por la metodología descrita por Yang & Paulson, (2000). La muestra se cortó en un rectángulo y se colocó en el lado interno de una celda de espectrofotómetro y se realizó la lectura, la opacidad se calculó con la ecuación 5.14.

$$\text{Opacidad} = \left(\frac{\text{Absorbancia}}{\text{Espesor de la película (mm)}} \right) \quad \text{Ecuación 5.14}$$

5.7.6 Solubilidad

Las películas se cortaron en piezas de 2 x 2 cm² y se secaron a 105°C por 24 h, posteriormente se colocaron en un vaso de precipitado que contenía 20 ml de agua

destilada y se almacenó por 24 h a 25°C. Enseguida, las muestras de las películas se secaron a 150°C por 24 h. Posteriormente, se pesaron para determinar la materia seca final. Se calculó la solubilidad (%) con la ecuación 5.15 de acuerdo con Singh y col., 2020:

$$\text{Solubilidad (\%)} = \left(\frac{(\text{Ms antes de la prueba}) - (\text{MS despues de la prueba})}{(\text{Ms antes de la prueba})} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 5.15}$$

Ms antes de la prueba = Masa seca de la película antes de la prueba

Ms después de la prueba = Masa seca de la película después de la prueba

5.7.7 Proteína soluble

Para la cuantificación de proteína total se utilizó el líquido sobrante de la prueba de solubilidad, se colocaron 100 µl de la muestra problema en un tubo Falcón de 15 ml y se le añadió 1 ml del reactivo de biuret, se mezcló por unos segundos y se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm, se realizó una curva de calibración de caseína a una concentración de 0-40 mg/ml. Se calcula la proteína soluble con la ecuación 5.16 (Téllez-Rangel y col., 2017).

$$\text{Proteína soluble} = \left(\frac{\text{Concentracion de proteina en 30 ml}}{(\text{Peso inicial} * \text{proteina inicial (\%)} * \text{Materia seca (\%)})} \right) \quad \text{Ecuación 5.16}$$

Reactivo de biuret: para el reactivo de biuret se agregaron 1.9 g de CuSO₄ * 5 H₂O y 3.35 g de tartrato de sodio y potasio, se diluyen en 350 ml de agua y se agregó 100 ml de una solución de NaOH a 5 M (Gornall y col., 1949).

5.7.8 Espesor

Se utilizó el micrómetro digital thickness para medir el espesor de películas (Anchundia y col., 2016).

5.8 Recubrimiento de un jamón con la película comestible adicionada con cáscara de cacao

5.8.1 Formulación de jamón

Para la elaboración del jamón se utilizó la formulación que se describe en la Tabla 5.8., los ingredientes se cortan y se colocaron en la picadora para crear una emulsión y se dejó cocer por 1 h, pasado el tiempo se tomó la temperatura interna la cual debe estar en mínimo 75 °C, posteriormente realizar choque térmico con hielo y almacenar a 4 °C por 24 h, transcurrido ese tiempo se cortó el jamón en piezas de 1 cm de espesor se colocó en bolsas selladas al vacío y se almacenó a 4 °C hasta su utilización.

Tabla 5-1 Formulación de jamón

Ingredientes	%
Carne	50
Lardo	20
Sal	2
Fosfatos	0.5
Sal cura	0.3
Fécula de papa	8
Hielo	19.2

5.8.2 Cobertura de jamón con películas

La película comestible se desarrolló como se describe en el apartado anterior, fueron utilizadas para recibir el jamón ya rebanado en piezas de 1 cm de grosor, asegurando que cada parte tenga película, se empaquetó en bolsas selladas al vacío y se almacenó en refrigeración a 4 °C, se tomaron muestras los días 1, 8, 15, 22 y 30 de almacenamiento y se realizaron análisis de rancidez oxidativa, humedad, pH, color y textura.

5.8.3 Análisis fisicoquímico

5.8.3.1 Determinación de rancidez oxidativa

Se determinó la rancidez oxidativa utilizando ácido tiobarbitúrico según la metodología reportada por Zipser y Watts (1962). De cada muestreo de los diferentes tratamientos a los 1, 8, 15, 22 y 30 días, las rebanadas de jamón se picaron y molieron en un mortero para homogenizar. Se tomaron 10 gramos de muestra y se adicionaron 49 mL de agua destilada a 50 °C más un mL de una solución de sulfonamida (0.5% diluida en HCL al 20%). La mezcla se colocó en un matraz de 500 mL donde se le adicionaron 2 mL de una solución HCL 1:2, 48 mL de agua destilada a 50 °C y 2 gotas de antiespumante de silicón. La muestra se destiló hasta obtener 50 mL, se tomaron 5 mL y se colocaron en tubos de ensaye agregando 5 mL de solución de ácido tiobarbitúrico (0.02 M en ácido acético glacial al 90%), y se llevaron a baño maría durante 35 min. Se enfriaron y se tomó lectura en el espectrofotómetro a 538 nm. La rancidez se expresó como mg de malonaldehído y se determinó elaborando una curva estándar de 1,1,3,3-tetraepoxipropano a 3×10^{-5} M (Lawlord y col., 2000), llevado a cabo las diluciones pertinentes, los resultados se reportaron como mg de malonaldehído por kg de muestra.

5.8.3.2 Humedad en jamón

Se determinó siguiendo el método oficial 950.46 AOAC, (1996), siguiendo la metodología descrita en la sección 5.3.1, se tomaron 2 g de jamón y se colocaron en cada crisol, se colocaron a la estufa por 12 h a 110°C, transcurrido este tiempo se dejaron enfriar las muestras en desecador a temperatura ambiente y se calculó el porcentaje de humedad por diferencia de peso utilizando la ecuación 5.17.

$$\text{Humedad (\%)} = (M1 - M2) \left(\frac{100}{M1 - M0} \right) \quad \text{Ecuación 5.17}$$

M0 = Peso en gramos de crisol

M1 = Peso en gramos de crisol con muestra antes del secado

M2 = Peso en gramos de crisol con muestra después del secado.

5.8.3.3 Determinación de pH.

El pH se determinó en un potenciómetro marca MED PE3090 (AOAC 920.43). Una muestra de 10 g de jamón cortado en trozos pequeños se suspendió en 90 ml de agua se mezcló, los análisis se realizaron por triplicado.

5.8.3.4 Determinación de color

Se pesaron 10 g de cada muestreo de los diferentes tratamientos a los 1, 8, 15, 22 y 30 días, el jamón se partió en trozos pequeños y se colocó en un vaso de precipitado de 50 ml posteriormente se determinó el color en coordenadas CIE-Lab (Little, 1975).

5.8.3.5 Perfil de textura

Para el análisis de textura se utilizó un texturómetro Brookfield CT-3 (Brookfield Engineering Middleboro), usando muestras de jamón de 2x2x1 cm determinando parámetros como dureza, firmeza, masticabilidad, elasticidad y adhesividad (Bourne, 1978).

5.8.4 Análisis sensorial (prueba a no a con índice r)

Para el análisis sensorial se utilizó la prueba de a no a con índice r, para lo cual se realizaron encuestas usando un jamón de referencia y la muestra con película comestible, con la finalidad de probar si la película tiene influencia en las características organolépticas y físicas del jamón (Lee y Van-Hout, 2009).

5.8.5 Jamón recubierto con películas comestibles e inoculadas con bacterias patógenas

Para el análisis los productos cárnicos recubiertos de películas comestibles e inoculados con bacterias patógenas se utilizaron cuatro cepas dos gram positivas: *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* y dos gram negativas: *Salmonella typhimurium*, y *Escherichia coli*, se realizaron inóculos en 100 ml de caldo nutritivo para *E. coli* y *S. typhimurium* y de caldo soya-triptona-caseína para *S. aureus* y *L. monocytogenes*, y se

dejaron crecer por 3 h a 30 °C, hasta obtener valores de densidad óptica de 0.76 y 0.8 a 585 nm y un crecimiento de 5.2 log UFC/ ml y 5.8 log UFC / ml para *E. coli* y *S. typhimurium* respectivamente y una densidad óptica de 1.23 y 1.76 y valores de UFC de 6.1 log /ml y 5.5 log /ml para *S. aureus* y *L. monocytogenes*, respectivamente.

Se utilizaron cortes de jamón de 10 g, se dejaron reposar con los cultivos de bacterias patógenas por 30 minutos, pasado este tiempo se cubrieron con películas comestibles de cáscara de cacao, se empaquetaron al vacío y se almacenaron en refrigeración a 4 °C, se realizaron muestreo los días 1, 7, 14 y 21.

El análisis de resultados se llevó a cabo mediante análisis de varianza, análisis (ANOVA), se utilizó el programa estadístico Number Cruncher Statistical Systems NCSS y Excel para graficar los datos y obtener los parámetros estadísticos descriptivos de los indicadores principales.

6. Resultados y discusión

Primera parte

6.1 Análisis bromatológico

En la Tabla 6.1 se muestran los resultados del análisis bromatológico para harina de pulpa de café y cáscara de cacao.

Tabla 6-1 Análisis bromatológico de harina de pulpa de café y cáscara de cacao

Compuesto (%)	Pulpa café	Cáscara de cacao
Cenizas	8.4 ± 0.06	8.6 ± 0.36
Humedad	11.5 ± 0.4	14.2 ± 0.13
Grasa	10.2 ± 0.29	11.5 ± 0.2
Proteína	1.3 ± 0.5	1.9 ± 0.5
Carbohidratos	68.7 ± 0.29	63.7 ± 0.3

Los resultados del análisis bromatológico (cenizas, humedad, grasa, proteína y carbohidratos) estos valores son muy similares a los reportados por Aguirre y col. (2018); Ameca y col. (2018), quienes también utilizaron la variedad arábica. Los valores varían

dependiendo la variedad y el método de secado (Serrat-Díaz y col., 2018), las condiciones edafoclimáticas de los sistemas de siembra de cafetales (Pinto-Ruiz y col., 2017), se ha reportado que la variabilidad en la cantidad de proteína podría ser debido a la cantidad de nitrógeno presente en el suelo donde el fruto de café se desarrolló (Aguirre y col., 2018).

La pulpa de café es una fuente potencial de nutrientes y compuestos bioactivos que puede contribuir a la economía circular (Hassou y col., 2022), al tener un alto potencial para el desarrollo de alimentos funcionales ricos en fibra y actividad antioxidante que ayuden a controlar los niveles de azúcar en sangre y reducir los niveles de colesterol (Machado y col., 2023).

Para el caso de cáscara de cacao los resultados del análisis los valores se encuentran dentro de lo reportado por autores como Rojo-Poveda y col. (2020); Burgos y col. (2020).

La diferencia en los resultados puede depender de la variedad de cacao y de la tecnología utilizada para separar la cáscara del grano, así como a las condiciones climáticas de las zonas en estudio (Delgado-Ospina y col., 2021), también afectan otros factores. como la radiación solar, la temperatura y la humedad relativa también desempeña una función muy importante en la asimilación de carbono (Chafla y col., 2016).

La Tabla 6.2 muestra los resultados del análisis de fibra para harina de pulpa de café y cáscara de cacao.

Tabla 6-2 Contenido de fibra en harina de pulpa de café y cáscara de cacao.

	Pulpa de café	Cáscara de cacao
Fibra (%)	63.9 ± 0.7	70.6 ± 0.3

En el caso de harina de pulpa de café los valores para fibra (%) son ligeramente mayores a lo reportado por autores como Amecca y col. (2018) quienes reportan valores de 49.34 a 55.2 %, esta diferencia puede ser atribuida a la variedad de café, al proceso de secado, así como a las condiciones climatológicas que tienen influencia en el metabolismo energético del fruto (Serrat-Díaz y col., 2018), la fibra en la pulpa de café está compuesta por 20 % de fibra soluble y 80 % de fibra insoluble dentro de las que destacan celulosa, lignina y pectina (Cruzalegui y col. 2021).

En el caso de la cáscara de cacao el valor de fibra determinado es mayor a lo reportado por autores como Delgado-Ospina y col. (2021) y Rahmat y Syarifuddin, (2024), los cuales reportan un rango de valores de 48.1 a 60.6 %, la diferencia de los valores de fibra cruda después del secado ocurre debido a la pérdida de agua, lo que resulta en un contenido relativamente mayor. El contenido de fibra cuantificado para nuestro coproducto es mayor al salvado de trigo (40%), el salvado de arroz (26%) y el salvado de avena (17%) (Handojo y col., 2019), la cáscara de cacao está compuesta por 17.9 % de fibra soluble y 82.1 % de fibra insoluble dentro de las que destacan lignina y celulosa (Sánchez y col., 2023).

Tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao tienen valores de fibra de 63 a 71 %, Wuisbech y col. (2023) afirman que los coproductos altos en contenido de fibra podrían ser utilizados en dietas e incluso reemplazar a los cereales, esto por su influencia en la regulación del metabolismo. Es importante conocer la cantidad de fibra presente en la muestra ya que a ella se le atribuyen muchas cualidades nutrimentales, así como su contribución al desarrollo de bacterias probióticas ayudando así a mantener la salud intestinal (Machado y col., 2023).

6.2 Análisis fisicoquímico

6.2.1 Determinación de pH, cuantificación de glucosa y contenido de azúcares totales.

La Tabla 6.3 muestra los resultados de pH, glucosa y azúcares totales para pulpa de café y cáscara de cacao.

Tabla 6-3 Análisis fisicoquímico de harina de pulpa de café y cáscara de cacao

Compuesto	Pulpa de café	Cáscara de cacao
pH	6.04 ± 0.03	6.25 ± 0.02
Glucosa (%)	26 ± 7	58 ± 6
Azúcares totales (%)	47.5 ± 1	74.5 ± 1.82

Marcia-Fuentes y col. (2020) reportaron valores de pH de 5.75 para pulpa de café, sin embargo, ellos evaluaron tres variedades distintas de café, que fueron cultivados a tres diferentes altitudes lo cual puede hacer variar el pH. Para cáscara de cacao han sido reportados valores de pH entre 6.5-7.28 (Teneda-Llerena y col., 2017) y en cacao variedad criolla de 5.34-5.56 (Delgado-Ospina y col., 2021).

La variación en el pH puede ser explicado por la cantidad de ácidos orgánicos contenidos (Botella-Martínez y col., 2021), así como en el proceso previo y al tiempo de exposición al sol (Marcia-Fuentes y col., 2020). Se ha reportado que el pH es un factor importante en la extracción de los compuestos fenólicos y en la actividad antioxidante (Ruenroengklin y col., 2008).

La concentración de glucosa en la pulpa de café fue de 269.5 mg /g Ms lo que corresponde al 26.9 %, este valor se puede comparar con lo reportado por Mawaddah y col. (2022) con un valor de 17 % y Frometa y col. (2020) reportaron un valor de 33 %. Portillo y Arévalo (2022) reportaron en la pulpa de café la presencia de monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Algunos oligosacáridos pueden aumentar el microbiota intestinal debido a sus características prebióticas (Rohaya y col., 2023).

Para la cáscara de cacao la concentración de glucosa fue de 576.2 mg/ g Ms lo que corresponde al 57.6 %, autores como Villamizar-Jaimes y López-Giraldo, (2017b) reportan valores de 46.4 - 74.9 %. La cáscara de cacao contiene una gran cantidad de carbohidratos, éstos son muy importante durante el proceso de fermentación y son los que le confieren el sabor y aroma del chocolate obtenido del procesamiento del cacao (Putri-Agus y col., 2018).

El contenido de azúcares totales es de $47.5 \pm 1.12\%$ y de $74.5 \pm 1.82\%$ para la pulpa de café y en cáscara de cacao respectivamente. Mindarti y col. (2020) reportaron valores similares de azúcares totales de 60 - 70 % en cáscara de cacao, y Fierro-Cabrales y col. (2018) reportaron valores de 45.67 % en pulpa de café.

Las principales diferencias entre los valores obtenidos y los reportados podrían ser explicadas por el grado de madurez del fruto, así como la altitud del cultivo (Marcia-Fuentes y col., 2020). Con los resultaos obtenidos podemos decir que tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao podrían ser utilizadas como fuente de ingredientes funcionales aumentando la calidad nutricional de los alimentos, del mismo modo podrían ser utilizadas como sustrato en el desarrollo de microorganismos benéficos los cuales lo utilizarían como fuente de carbono para su crecimiento y metabolismo, por otro lado podrían ser una alternativa en la realización de diversas propuestas de bioprospección agroindustrial, generación de biomateriales y otros productos a partir de materia prima de bajo costo (Sánchez y col., 2023).

6.3 Análisis microbiológico, cinéticas de fermentación, parámetros cinéticos, actividad prebiótica y ácidos grasos de cadena corta

6.3.1 Análisis microbiológico

La Tabla 6.4 se muestra el análisis microbiológico para la pulpa de café y la cáscara de cacao, en las muestras se cuantificaron mohos y levaduras, mesófilos aerobios y coliformes totales, esto con la finalidad de conocer la carga microbiana presente en nuestros coproductos.

Tabla 6-4 Análisis microbiológico de la harina de pulpa de café y la cáscara de cacao.

Muestra	Mohos y levaduras (log UFC/mL)	Mesófilos aerobios (log UFC/mL)	Coliformes totales (log UFC/mL)
Pulpa de café	4.5	5.1	5.2
Cáscara de cacao	4.1	5.9	4.1

Resultados similares fueron obtenidos por García, (2011); Evangelista y col. (2015) quienes reportaron valores de 4 a 6 log UFC/mL para hongos y levaduras y de 3.83 - 8.47 log UFC/mL para mesófilos. Villamizar-Jaimes y col. (2016) reportaron valores de 4 log UFC/mL para mesófilos y para hongos y levaduras en cáscara de cacao de Colombia, ellos compararon sus resultados con la Norma Colombiana para harina de trigo y los resultados se encontraron dentro de la Norma. México no cuenta con Normas para harinas de coproductos agroindustriales.

Los resultados microbiológicos pueden variar dependiendo de las diferentes variedades de café, diferentes suelos y clima, pues se sabe que la carga microbiana está asociada al cafeto (García, 2011; Duong y col., 2020); condiciones del medio ambiente, el método de procesado (Gaime-Perraud y col., 1993); al tipo de recolección y limpieza (Villamizar-Jaimes y col., 2016) así como al procesamiento al que las muestras fueron sometidas, temperatura, tiempo y forma de secado.

Los tratamientos a los que son sometidos la pulpa de café y la cáscara de cacao influyen de manera directa en la carga microbiana de estos coproductos, sin embargo, es imperativo aclarar que nuestros coproductos son considerados desechos para sus respectivas industrias por lo que son vertidas sin ningún cuidado. Estos resultados son de gran relevancia para el estudio ya que si se conoce la carga microbiana que nuestros

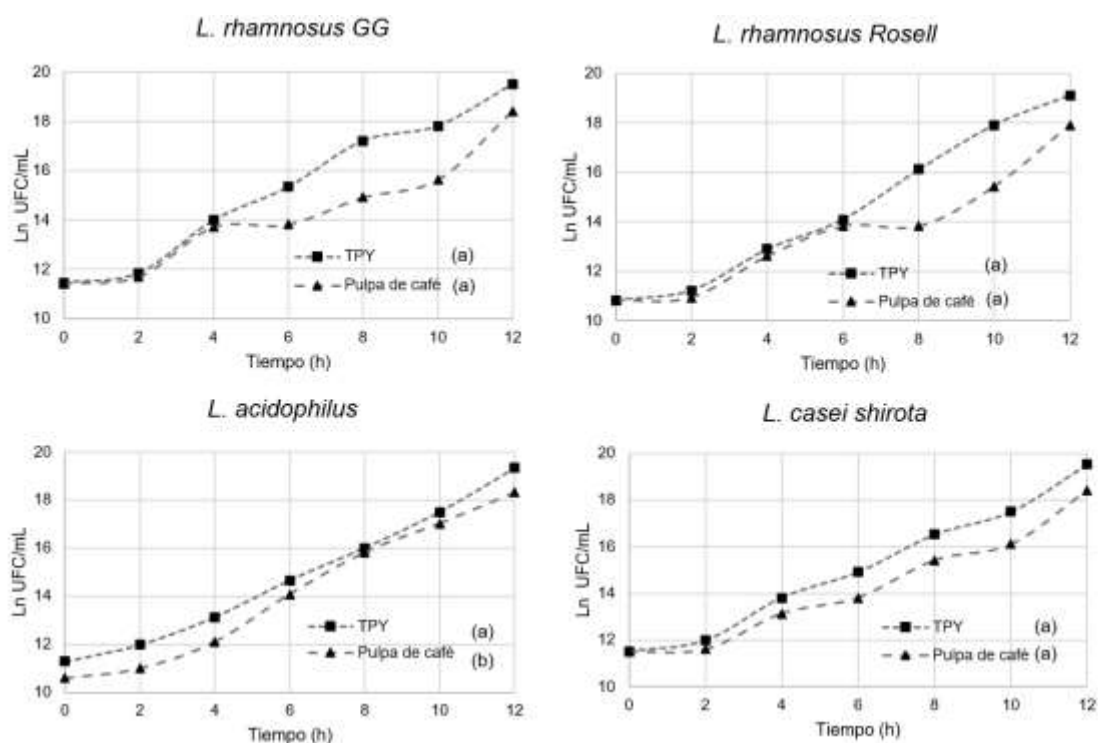
coproductos se pueden tomar las medidas necesarias para asegurar la inocuidad de nuestros productos a desarrollar.

Actualmente en la industria alimentaria para harinas comerciales aplican tratamiento térmico con la finalidad de disminuir la carga microbiana, en el caso de nuestros coproductos el tratamiento aplicable sería irradiar con luz UV, autores como Heeger y col. (2017), aseguran que la aplicación de temperatura puede desnaturalizar los compuestos fenólicos.

6.3.2 Cinéticas de fermentación con harinas de pulpa de café y cáscara de cacao

La Figura 6.1 muestra las cinéticas de crecimiento (UFC/ml) para las cepas probióticas *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell, *L. casei* Shirota y *L. acidophilus* cultivadas en medio TPY y el medio TPY sustituyendo la glucosa del medio (10 g/L) por harina de pulpa de café (38.46 g/L). Esta formulación de los medios de cultivo considera la misma concentración de glucosa de acuerdo con los resultados mostrados en la Tabla 6.3.

En los resultados de la figura 6.1 se puede observar que no existen diferencias significativas al comparar los resultados de Ln UFC/mL de *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell y *L. acidophilus*, entre el crecimiento usando pulpa de café y medio TPY con glucosa. Por otro lado, la cepa *L. acidophilus* presenta una diferencia significativa presentado el mayor crecimiento al utilizar glucosa. Myo y col. (2021) reportaron valores de 8 Ln UFC/ mL a 72 h de crecimiento para *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 usando PC como sustrato. Las cepas estudiadas en este trabajo además de metabolizar glucósidos tienen la capacidad de metabolizar citrato presente en alta concentración en la pulpa de café. Las principales discrepancias en los resultados pueden atribuirse a la diferencia de afinidad por el sustrato utilizado glucosa o harina de pulpa de café.



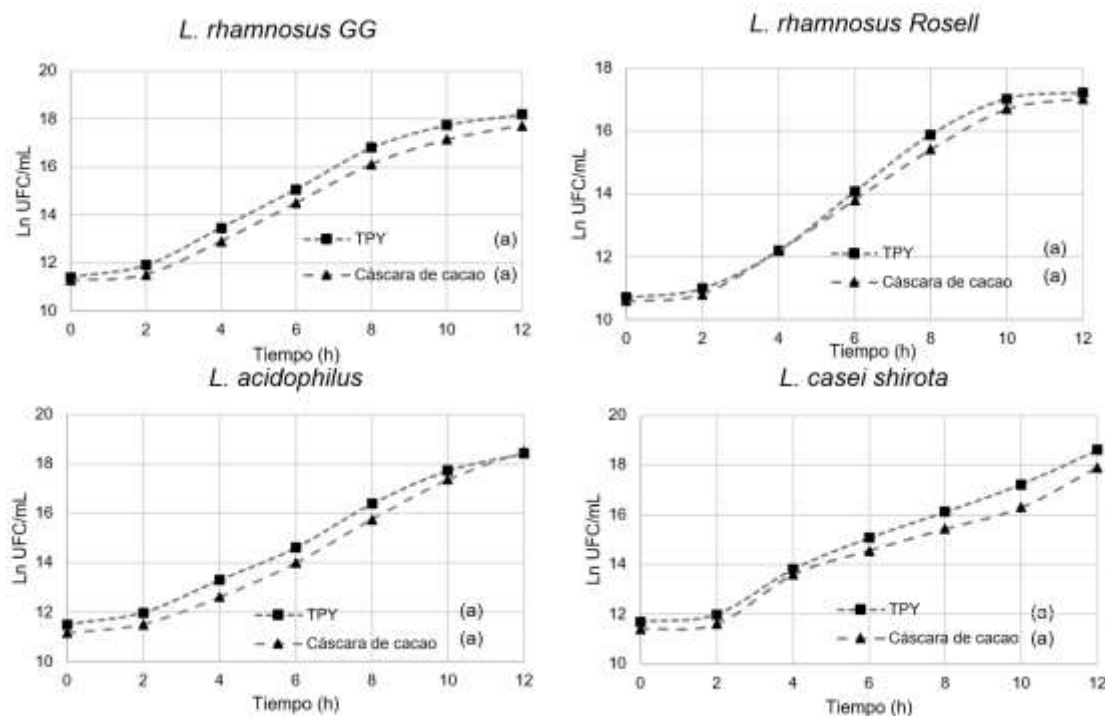
Las letras a y b se describe si existe diferencia estadística entre sustratos, cuando se someten a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Figura 6.1. Cinéticas de crecimiento para las cepas probióticas (*L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell, *L. casei* Shirota y *L. acidophilus*) usando medio TPY con glucosa y harina de pulpa de café.

En la Figura 6.2 se observan las cinéticas de crecimiento (UFC/mL) para las cepas prebióticas *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell, *L. casei* Shirota y *L. acidophilus* en medio TPY sustituyendo la glucosa del medio (10 g/L) por harina de cáscara de cacao (17.24 g/L). Esta formulación de los medios de cultivo equivale a considerar la misma concentración de glucosa de acuerdo con los resultados de la Tabla 6.3.

En la Figura 6.2 se muestra que no existen diferencias significativas para cada una de las 4 cepas estudiadas. El máximo crecimiento se determinó para la cepa *L. casei* Shirota con un valor de 18.6 Ln UFC /mL con glucosa como fuente de carbono y de 17 Ln UFC/mL para cáscara de cacao estos valores son similares a lo reportado por autores como Peng y col. (2015), que reportan valores de 10.5 Ln UFC/ mL usando medio MRS y cáscara de cacao como sustrato usando la misma cepa probiótica. El hecho que no existan diferencias significativas en el crecimiento con glucosa y con cáscara de cacao, es indicador de que las bacterias lácticas probióticas tienen la capacidad de metabolizar las harinas de los dos coproductos.

Conocer las cinéticas de crecimiento es un indicativo de la capacidad que tienen las cepas probióticas para utilizar el sustrato y de este modo evaluar la capacidad prebiótica de la harina de pulpa de café y cáscara de cacao.



Las letras a y b se describe si existe diferencia estadística entre sustratos, cuando se someten a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Figura 6.2. Cinéticas de crecimiento para las cepas probióticas (*L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell, *L. casei* Shirota y *L. acidophilus*) usando glucosa y harina de cáscara de cacao como sustrato.

6.3.3 Parámetros cinéticos

La fermentación es el proceso mediante el cual un sustrato sólido o líquido es transformado por medio de microorganismos, conocer los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano nos ayuda a predecir el desarrollo del proceso de fermentación y evaluar los rendimientos y la productividad del proceso (Sri-Rachmania y col., 2017).

La Tabla 6.5 muestra la tasa específica de crecimiento y el tiempo de duplicación usando TPY con glucosa y TPY reemplazando la glucosa por harina de pulpa de café para las cepas probióticas (*L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell, *L. casei* Shirota y *L. acidophilus*), en este estudio se busca el menor tiempo de duplicación y la mayor tasa de crecimiento, cabe recalcar que los datos cinéticos se realizaron sin tomar en cuenta el tipo inicial de cultivo.

Tabla 6-5 Comparación de la tasa específica de crecimiento y tiempo de duplicación con cepas probióticas en medio TPY y medio TPY sin glucosa y adicionado de harina de pulpa de café.

Cepa	TPY con glucosa			Pulpa de café		
	μ (h ⁻¹)	R ²	t _d (h)	μ (h ⁻¹)	R ²	t _d (h)
<i>L. rhamnosus</i> GG	0.74 ± 0.05 ^{bA}	0.95	0.93 ^b	0.62 ± 0.06 ^{bB}	0.91	1.1 ^a
<i>L. rhamnosus</i> Rosell	0.76 ± 0.05 ^{aA}	0.95	0.91 ^b	0.67 ± 0.04 ^{bB}	0.96	1.02 ^a
<i>L. casei</i> Shirota	0.72 ± 0.05 ^{bA}	0.95	0.96 ^a	0.70 ± 0.05 ^{abA}	0.95	0.98 ^b
<i>L. acidophilus</i>	0.80 ± 0.04 ^{aA}	0.97	0.86 ^c	0.73 ± 0.05 ^{aB}	0.96	0.94 ^b

μ = tasa específica de crecimiento (h⁻¹): R² = coeficiente de determinación: t_d= tiempo de duplicación. Las letras minúsculas nos indican si existe diferencias significativas entre cada microorganismo y las letras mayúsculas nos indican si existen diferencia entre cada medio de cultivo, con una prueba Tukey y una significancia de (p< 0.05).

Los resultados muestran que las cepas evaluadas presentan un crecimiento adecuado tanto en el medio control (TPY con glucosa) como en el medio alternativo formulado con pulpa de café, aunque con diferencias significativas. Para el medio control los valores de la tasa específica de crecimiento (μ) variaron entre 0.72 y 0.80 h⁻¹, siendo *L. acidophilus* la cepa con mayor velocidad de crecimiento con un valor de 0.8 ± 0.04 h⁻¹ y el menor tiempo de duplicación con un valor de 0.86 h.

Al utilizar pulpa de café como sustrato, todas las cepas mostraron una ligera disminución en la tasa específica de crecimiento y aumento en el tiempo de duplicación, esto debido a la complejidad de la composición de pulpa de café que tiene azúcares estructurales y una gran cantidad de fibra por lo que requiere de otras rutas metabólicas más complejas y a la producción de enzimas para ser asimilados (Esquivel y Jiménez, 2011).

Estos hallazgos sugieren que la pulpa de café, considerada un coproducto agroindustrial, aporta carbohidratos fermentables y compuestos bioactivos que podrían actuar como prebióticos selectivos y modular el crecimiento diferencial entre cepas (Mussatto y col., 2011). Además, el elevado ajuste de los modelos de crecimiento (R² ≥ 0.91 en todos los casos) respalda la confiabilidad de los parámetros estimados.

La Tabla 6.6 muestra la tasa específica de crecimiento y el tiempo de duplicación usando TPY con glucosa y TPY reemplazando la glucosa por cáscara de cacao para las cepas probióticas (*L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell, *L. casei* Shirota y *L. acidophilus*), en este estudio se busca el menor tiempo de duplicación y la mayor tasa de crecimiento, cabe recalcar que los datos cinéticos se realizaron sin tomar en cuenta el punto cero.

Tabla 6-6 Comparación de la tasa específica de crecimiento y tiempo de duplicación con cepas probióticas en medio TPY y medio TPY sin glucosa y adicionado de harina de cáscara de cacao.

Cepa	TPY con glucosa			Cáscara de cacao		
	μ (h ⁻¹)	R ²	t _d (h)	μ (h ⁻¹)	R ²	t _d (h)
<i>L. rhamnosus</i> GG	0.74 ± 0.05 ^{aA}	0.95	0.94 ^a	0.72 ± 0.06 ^{aA}	0.95	0.96 ^a
<i>L. rhamnosus</i> Rosell	0.76 ± 0.05 ^{aA}	0.95	0.91 ^b	0.73 ± 0.05 ^{aA}	0.95	0.95 ^a
<i>L. casei</i> Shirota	0.71 ± 0.05 ^{aA}	0.95	0.96 ^a	0.72 ± 0.05 ^{aA}	0.95	0.96 ^a
<i>L. acidophilus</i>	0.76 ± 0.04 ^{aA}	0.97	0.91 ^b	0.72 ± 0.05 ^{aA}	0.96	0.96 ^a

μ = tasa específica de crecimiento: r²= coeficiente de determinación: Td= tiempo de duplicación. Las letras minúsculas nos indican si existe diferencias significativas entre cada microorganismo y las letras mayúsculas nos indican si existen diferencia entre cada medio de cultivo, con una prueba Tukey y una significancia de (p< 0.05).

Los resultados muestran que no existen diferencias significativas para la tasa específica de crecimiento (μ) para cada uno de los sustratos, en el caso del control (TPY con glucosa) se determinaron valores de 0.71 a 0.76 h⁻¹ y para el medio con cáscara de cacao se determinaron valores de 0.72 a 0.73 h⁻¹, lo que indica que las bacterias lácticas metabolizan los componentes disponibles en la cáscara de cacao con una eficiencia comparable al de la glucosa. Esto puede ser explicado por la alta cantidad de azúcares contenidos en la cáscara de cacao, así como por su alto nivel de fibras soluble (Okiyama y col., 2018).

No se encontraron diferencias significativas en los valores de tiempo de duplicación para ambos medios analizados manteniéndose en un rango de 0.91 a 0.96 h. Destaca que en cáscara de cacao los microorganismos probióticos presentan valores homogéneos que van de 0.95 a 0.96 h. Por otro lado, los coeficientes de determinación (R²) presentan valores mayores a 0.95 lo cual indica que el modelo usado (modelo de crecimiento exponencial) representa adecuadamente los datos experimentales, lo que respalda la confiabilidad de los parámetros estimados. Es importante señalar que en todos los casos estudiados el tiempo de duplicación es cercano a 1 hora lo cual indica que ambos sustratos estudiados son asimilables por los microorganismos empleados. Cabe señalar que los resultados de crecimientos de *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell mostrados en la Figura 6.2, presentan una clara descripción de las diferentes etapas de crecimiento, indicando que estos casos las cepas se adaptaron muy bien a la composición del medio de cultivo.

La cáscara de cacao demostró ser un sustrato alternativo altamente eficiente para el crecimiento de bacterias probióticas, ya que las tasas de crecimiento y los tiempos de duplicación fueron prácticamente equivalentes a los observados en el medio TPY con glucosa, esto resalta su potencial de aprovechamiento en la producción de probióticos, fermentación de alimentos y desarrollo de matrices funcionales (Younes y col.,2023).

6.3.4 Actividad prebiótica

Los ácidos grasos de cadena corta se definen por presentar menos de 6 átomos de carbono en su estructura. Se forman mediante la fermentación de bacterias de la fibra alimentaria y los carbohidratos no digeribles y son una forma indirecta de medir la actividad prebiótica de las harinas utilizadas (Markowiak-Kopeć, y Śliżewska, 2020). Son de suma importancia ya que tienden a disminuir el pH del medio de crecimiento, inhibiendo así la proliferación de bacterias patógenas y contribuyendo al crecimiento de bacterias benéficas.

Debido a sus funciones, el ácido butírico es el más estudiado de todos los ácidos grasos de cadena corta, se produce por la fermentación de bacterias anaeróbicas en el colon de mamíferos y se le atribuyen efectos antiinflamatorios y anticancerígenos (Aiello y col., 2023).

La Tabla 6.7 muestra el puntaje de actividad prebiótica, de acuerdo con lo indicado en la sección 5.5.5, el crecimiento bacteriano se determinó usando caldo TPY en cultivos de 12 h de duración, tomando alícuotas cada 2 h, e inoculándolas en placas de agar TPY, incubadas a 37 °C por 24 h, utilizando harinas de pulpa de café y de cáscara de cacao como sustratos, empleando organismos patógenos *Escherichia coli* y *Salmonella sp*, y las cepas probióticas *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell, *L. casei* Shirota y *L. acidophilus*. (Huebner y col., 2007).

Generalmente, los efectos prebióticos descritos en la literatura no han recibido un valor cuantitativo, y los diferentes prebióticos candidatos se comparan principalmente de forma cualitativa, comparando sus efectos sobre las poblaciones de grupos bacterianos (Palframan y col., 2003b).

Tabla 6-7 Puntaje de actividad prebiótica empleando harinas de pulpa de café y cáscara de cacao.

Cepa	Actividad prebiótica <i>Salmonella sp</i>		Actividad prebiótica <i>Escherichia coli</i>	
	Cáscara cacao	Pulpa café	Cáscara cacao	Pulpa café
<i>L. rhamnosus</i> GG	0.09	0.07	0.25	0.12
<i>L. rhamnosus</i> Rosell	0.10	0.02	0.25	0.08
<i>L. casei</i> Shirota	0.15	0.08	0.29	0.14
<i>L. acidophilus</i>	0.11	0.07	0.26	0.13

Para pulpa de café los valores son mayores usando *E. coli*, siendo mayor para la cepa de *L. casei* Shirota, con un valor de 0.14, seguido de *L. acidophilus* con un valor de 0.13, *L. rhamnosus* GG con 0.12 y *L. rhamnosus* Rosell con 0.08.

Para la cáscara de cacao los valores más altos se determinaron para *L. casei* Shirota con la cepa patógena *E. coli*, con un valor de 0.29, seguido de *L. acidophilus* con un valor de 0.26, *L. rhamnosus* GG y *L. rhamnosus* Rosell con 0.25. La cáscara de cacao contiene una gran cantidad de azúcares fermentables (74.5%) y un alto contenido de fibra (70.6 %) lo cual la hace viable para ser utilizada como un prebiótico.

Autores como Diaz-Vela y col. (2013) reportaron valores de actividad prebiótica de 0.33 utilizando cáscara de tuna; Hernández Alcántara y col. (2016) encontraron valores de 0.45, 0.40 y 0.38 para cáscara de plátano, bagazo de zanahoria y cáscara de manzana respectivamente. Zakaria y col. (2018) obtuvieron valores de 0.45 utilizando *L. plantarum* y árbol del pan como fuente de carbono. Cuando son utilizadas fuentes prebióticas como inulina los valores de índice prebiótico son más altos, como los obtenidos por Huebner y col. (2007) con *Lactobacillus paracasei* obteniendo valores de 1.17.

Los valores bajos de la actividad prebiótica se deben a que las harinas de coproductos agroindustriales contienen un alto porcentaje de fibra insoluble y los microorganismos procesan más rápido la fibra soluble, un ejemplo de ellos es la inulina que contiene 98% de fibra soluble por esta razón es asimilada de manera más rápida (Kolida y Gibson 2007).

Sin embargo, no significa que los microorganismos no puedan crecer, solo que necesitan sintetizar nuevas enzimas para poder digerir estos coproductos a lo que se le conoce como crecimiento díaúxico (Monod, 1949), cabe mencionar que esto no se observó en el presente

trabajo. La determinación del puntaje de actividad prebiótica es importante en este tipo de recursos fibrosos, como son la pulpa de café y la cáscara de cacao las cuales son susceptibles a ser hidrolizadas y aprovechadas, dependiendo de si estas fibras son solubles e insolubles, así como de la cantidad de carbohidratos libres presentes en la muestra (Rezende y col., 2021).

6.3.5 Cuantificación de ácidos grasos de cadena corta

La Tabla 6.8 muestra los resultados para la determinación de ácidos grasos de cadena corta, utilizando pulpa de café y cáscara de cacao como sustratos y las cepas probióticas *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Rosell, *L. casei* Shirota y *L. acidophilus*.

Tabla 6-8 Ácidos grasos de cadena corta (mg / g Ms) y ácido láctico producidos por diferentes cepas probióticas con harina de pulpa de café y cáscara de cacao usadas como fuente de carbono.

Compuesto (mg/g Ms)	Cepa probiótica			
	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i> Shirota	<i>L. rhamnosus</i> Rosell	<i>L. rhamnosus</i> GG
Pulpa de café				
Ácido láctico	121.5 ± 0.04 ^a	84.3 ± 0.04 ^b	69.4 ± 0.07 ^c	68.6 ± 0.05 ^c
Ácido acético	25.7 ± 0.006 ^a	18.8 ± 0.01 ^c	12.7 ± 0.02 ^d	21.0 ± 0.06 ^b
Ácido propiónico	ND	ND	2.0 ± 0.01 ^a	ND
Ácido butírico	2.0 ± 0.04 ^a	2.1 ± 0.01 ^a	2.1 ± 0.01 ^a	2.0 ± 0.02 ^a
Cáscara de cacao				
Ácido láctico	129.7 ± 0.05 ^a	61.8 ± 0.04 ^c	60.7 ± 0.02 ^c	70.1 ± 0.06 ^b
Ácido acético	41.4 ± 0.03 ^a	10.6 ± 0.02 ^c	11.9 ± 0.03 ^c	17.2 ± 0.02 ^b
Ácido propiónico	1.6 ± 0.01 ^b	1.7 ± 0.01 ^b	2.5 ± 0.01 ^a	1.8 ± 0.01 ^b
Ácido butírico	2.1 ± 0.01 ^b	2.1 ± 0.01 ^b	3.2 ± 0.02 ^a	2.0 ± 0.01 ^b

Nd= no detectado; Los resultados se informan como media ± desviación estándar. Valores medios dentro de filas seguidos de diferentes letras en superíndice (a, b, c, d) muestran diferencias significativas entre microorganismos cuando se someten a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Para la producción de ácido láctico los resultados mostraron diferencias significativas de acuerdo con el tipo de cepa, siendo mayor para *L. acidophilus*, tanto para la pulpa de café como para la cáscara de cacao con valores de 121.5 ± 0.04 y 129.7 ± 0.05 , respectivamente.

Para pulpa de café el ácido propiónico solo fue detectado en *L. rhamnosus* Rosell, mientras que para la cáscara de cacao el ácido propiónico se detectó con los 4 microorganismos siendo mayor para *L. rhamnosus* Rosell.

Para el ácido butírico producido a partir de harina de pulpa de café no se muestran diferencias significativas en su producción, sin embargo, para el caso de cáscara de cacao fue mayor significativamente para la cepa *L. rhamnosus* Rosell.

Aiello y col. (2023) reportaron que la producción de ácido butírico aumenta un 10% en yogures suplementados con probióticos y hasta 30% cuando se encuentra el probiótico y el

prebiótico. Kareena y col. (2021) reportaron una mayor producción de ácido acético cuando crecen en presencia de fructooligosacáridos (FOS), esto debido a que estos estimulan la producción de ácido acético.

La cantidad de ácidos grasos de cadena corta está ligada directamente con la cantidad de fibra presente en la pulpa de café y en la cáscara de cacao. La alta cantidad de fibra o de hidratos de carbono se traduce en una alta concentración de microorganismo benéficos como *Lactobacillus* y *bifidobacterias*, que a su vez contribuyen con la producción de ácido butírico el cual ayuda a mantener la mucosa intestinal, disminuye la permeabilidad en el colon y el pH luminal y ayuda a mantener la homeostasis intestinal Ashaolu y col., (2021). La diferencia en los resultados radica en el tipo de cepa y sustratos utilizados, así como en la biodisponibilidad de los compuestos presentes en el mismo.

Conclusión parcial

El presente estudio demuestra que tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao representan coproductos agroindustriales con un elevado potencial de aprovechamiento como fuentes alternativas de compuestos funcionales y sustratos fermentables. Las cinéticas de fermentación mostraron que las cepas probióticas evaluadas son capaces de crecer tanto en medios convencionales con glucosa como en medios formulados con harinas de pulpa de café o cáscara de cacao, este último exhibió un comportamiento comparable al de la glucosa, lo que resalta su eficiencia como sustrato alternativo, en cuanto a la actividad prebiótica, ambas harinas promovieron el crecimiento de bacterias benéficas frente a patógenos como *E. coli* y *Salmonella sp.*, destacando nuevamente la cáscara de cacao, la cual presentó valores superiores debido a su mayor proporción de azúcares fermentables y fibras solubles. Finalmente, la cuantificación de ácidos grasos de cadena corta y ácido láctico confirmó la capacidad de ambos coproductos para inducir metabolitos de interés funcional metabolitos, asociados a la salud intestinal y efectos antiinflamatorios, refuerzan la importancia de la fibra y carbohidratos presentes en los coproductos como moduladores de la microbiota.

En conjunto, los resultados resaltan que la pulpa de café y la cáscara de cacao son sustratos viables para la fermentación probiótica, capaces de aportar beneficios prebióticos y funcionales. La cáscara de cacao destacó por su mayor eficiencia fermentativa y actividad prebiótica. Estos hallazgos abren la posibilidad de revalorizar dichos coproductos en el

desarrollo de ingredientes funcionales, favoreciendo tanto la sustentabilidad agroindustrial como la innovación en alimentos saludables

6.4 Polifenoles totales y actividad antioxidante

6.4.1 Polifenoles totales, flavonoides, taninos condensados y ácidos hidroxicinámicos.

La Tabla 6.9 muestra el contenido de polifenoles en extractos etanólicos de pulpa de café y cáscara de cacao, analizando parámetros como polifenoles totales, flavonoides, taninos condensados y ácidos hidroxicinámicos. Los compuestos fenólicos son un grupo muy extenso de compuestos con actividad biológica que pueden ser encontrados en diferentes alimentos.

Tabla 6-9 Contenido de polifenoles en harinas de pulpa de café y de cáscara de cacao

Parámetro	Harina de pulpa de café	Harina de cáscara de cacao
Contenido total de polifenoles (Eq. ácido gálico mg/g)	3.8 ± 0.21	4.1 ± 0.2
Flavonoides (Eq. catequina mg/g)	1.2 ± 0.05	1.3 ± 0.3
Taninos condensados (mg/g)		
Solubles en solventes orgánicos	0.8 ± 0.09	1.2 ± 0.1
Solubles en agua	1 ± 0.01	0.85 ± 0.01
Insolubles	0.2 ± 0.01	0.6 ± 0.02
Ácidos hidroxicinámicos (mg/g)		
Ácido clorogénico	0.4 ± 0.04	ND
Ácido cafeico	0.03 ± 0.003	ND
Ácido ferúlico	0.03 ± 0.003	0.03 ± 0.001
Ácido vainillínico	ND	0.07 ± 0.01

Para la pulpa de café los valores obtenidos pueden ser comparados con lo que reportan autores como Cruzalegui y col. (2021) que para polifenoles documentaron valores de 1 a 3 mg Eq de ácido gálico / g Ms, para flavonoides autores como Sangta y col. (2021) reportan 1.03 mg /g Ms, para ácido clorogénico Cañas y col. (2022) determinaron valores de 0.12 a 1.45 mg ACL/g Ms. Palmeri y col (2018) concluyeron que a los polifenoles en especial a los

ácidos hidroxycinámicos como el ácido clorogénico se les atribuyen propiedades antimicrobianas antioxidante, antibacterial y antiviral, además de tener influencia en el metabolismo de glucosa y lípidos Yu y col. (2022). La diferencia en los resultados puede ser atribuido al clima y altitud del cultivo, al grado de madurez, Rodríguez-Duran y col. (2014) determinaron que el grado de madurez tiene influencia en la cantidad de ácidos hidroxycinámicos presentes en la pulpa de café, al tratamiento de la muestra, así como a las técnicas de extracción y a los solventes utilizados (Torres-Mancera y col., 2021).

Para la cáscara de cacao los valores en general fueron más altos en comparación con pulpa de café, autores como Papillo y col. (2019) que para polifenoles reportan valores de 3.4 a 8.02 mg /g Ms, para flavonoides autores como Okiyama y col. (2018) reportan valores de 0.18 a 3.5 mg/g Ms y para ácidos hidroxycinámicos Rebollo-Hernanz y col. (2021) reportan valores de 0.0146 mg /g para ácido vainillínico y de 0.0152 mg /g Ms para ácido ferúlico. Los valores reportados son similares a lo documentado por los autores antes mencionados. La bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los polifenoles es importante, ya que, aunque los compuestos fenólicos disminuyen durante la digestión, los ácidos hidroxycinámicos pueden llegar al colon y ser metabolizados por bacterias lácticas y bifidobacterias (Cañas y col., 2022). Algunos polifenoles, como los taninos condensados altamente polimerizados y los fenoles asociados con proteínas y polisacáridos de las paredes celulares, están asociados con la fibra dietética y pueden resistir la hidrólisis de las enzimas digestivas.

Los resultados obtenidos nos indican que tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao son fuente de polifenoles por lo que podrían ser utilizadas como fuente de ingredientes funcionales, se sabe que la cantidad de polifenoles presentes tiene influencia directa en la actividad antioxidante, también se le atribuyen capacidad antimicrobiana y antifúngicas. Diaz-Hernández y col. (2022).

6.4.2 Actividad antioxidante

En la Tabla 6.10 se muestran los resultados de actividad antioxidante de los extractos etanólicos obtenidos a partir de las harinas de pulpa de café y cáscara de cacao, usando distintos radicales como DPPH, ABTS e inhibición de la oxidación de ácido linoleico. Un antioxidante “es una sustancia que al estar presente en menor concentración respecto a la de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de este sustrato” (Zamora-Guevara y col., 2022).

Tabla 6 10 Actividad antioxidante de los extractos etanólicos obtenidos de harinas de pulpa de café y cáscara de cacao

Parámetro (mg E Trolox /g MS)	Harina de pulpa de café	Harina de cáscara de cacao
ABTS	58.42 ±0.05	72.68 ±0.2
Poder antirradical por DPPH	66.73 ±0.09	72.06 ±0.02
Inhibición de oxidación de Ácido linoleico	58.38 ±0.6	80.38 ± 0.2

Tanto para pulpa de café como para cáscara de cacao se observan diferencias en la actividad dependiendo del método utilizado, de manera particular se observó que la harina de cáscara de cacao muestra en los tres análisis una mayor capacidad antioxidante esto puede ser atribuido a que la cáscara de cacao posee una matriz lignificada y rica en compuestos fenólicos. La diferencia en los resultados puede ser explicada por la especificidad y los mecanismos de reacción que cada radical tenga con los compuestos antioxidantes presentes en la muestra, así como al manejo agronómico, el tipo de suelo, el clima, la altitud y el tiempo de maduración del fruto Serna-Jiménez y col. (2023); Ramón-Gonçalves y col. (2019). Las condiciones de tratamiento de la muestra para el despulpado, el calor aplicado, o incluso el tiempo que pasa en el sol puede tener influencia directa en la actividad antioxidante (Heeger y col., 2017).

Es importante señalar que los polifenoles presentes en ambos coproductos mostraron capacidad antioxidante y capacidad de eliminación de radicales libres, superiores a las reportadas en otras fuentes de fibra dietética, como el salvado de trigo (Lecumberri y col., 2007).

Los métodos ABTS y DPPH se basan en la capacidad de eliminación de radicales libres por medio de la neutralización de catión radical, a diferencia del análisis de inhibición de oxidación de ácido linoleico el cual se basa en impedir que el compuesto se oxide, Oktaviani y col. (2020). La actividad antioxidante depende de la concentración y el tipo de polifenoles presentes, aunque la relación entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante

no está directamente relacionada ya que existen varias moléculas reactivas con diferentes respuestas como antioxidantes (Alcalde y col., 2019).

Conclusión parcial.

El análisis de polifenoles totales y de la actividad antioxidante permite destacar que tanto la harina de pulpa de café como la harina de cáscara de cacao son matrices con un potencial bioactivo relevante, aunque con perfiles diferenciados.

La pulpa de café destacó por su contenido de ácidos hidroxicinámicos, en particular ácido clorogénico y ácido cafeico, compuestos a los que se atribuyen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y reguladoras del metabolismo de lípidos y carbohidratos. Estos metabolitos secundarios hacen de la pulpa de café una materia prima prometedora para aplicaciones funcionales específicas relacionadas con la salud metabólica. Por otro lado, la cáscara de cacao presentó en general mayores niveles de polifenoles totales, flavonoides y taninos condensados, lo que se reflejó directamente en una mayor capacidad antioxidante medida mediante los métodos ABTS, DPPH e inhibición de la oxidación del ácido linoleico. Este perfil la posiciona como un ingrediente con un marcado potencial para la formulación de alimentos con propiedades protectoras frente al daño oxidativo.

En conjunto, ambos coproductos se consolidan como matrices ricas en antioxidantes naturales, con particularidades que pueden ser aprovechadas de manera diferenciada: la pulpa de café como fuente de ácidos hidroxicinámicos bioactivos, y la cáscara de cacao como una fuente más concentrada de compuestos fenólicos con fuerte capacidad de eliminación de radicales libres. Esta dualidad les confiere un valor agregado como ingredientes funcionales y nutraceuticos, además de contribuir a la valorización sostenible de subproductos agroindustriales.

6.5 Actividad antimicrobiana y actividad antifúngica

6.5.1 Actividad antimicrobiana

La Tabla 6.11 se muestra los diámetros de inhibición por el método de difusión de disco del extracto etanólicos para harina de pulpa de café y cáscara de cacao, los antibióticos utilizados fueron: cloranfenicol, tetraciclina y eritromicina utilizando las cepas microbianas: *E. coli*, *Salmonella* sp, *P. fragilis*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *S. typhimurium*.

En este método se busca obtener el mayor halo de inhibición, lo que es indicativo de la efectividad antifúngica de las harinas de pulpa de café y cáscara de cacao, y compararlas con antifúngicos comerciales.

Tabla 6-11 Actividad antimicrobiana por método de difusión en disco del extracto etanólico de harina de pulpa de café y cáscara de cacao en comparación con antibióticos comerciales contra las diferentes cepas de patógenos.

Cepa	Diámetro de halos de inhibición (cm)				
	Cloranfenicol	Tetraciclina	Eritromicina	Pulpa de café	Cáscara de cacao
<i>E. coli</i>	0.5 ± 0.07 ^{C, d}	0.6 ± 0.14 ^{B, d}	1 ± 0.07 ^{A, d}	0.7 ± 0.05 ^{B, d}	0.5 ± 0.04 ^{C, d}
<i>Salmonella</i> sp	0.5 ± 0.07 ^{C, c}	1.4 ± 0.07 ^{B, c}	0.7 ± 0.06 ^{A, c}	0.4 ± 0.07 ^{B, c}	0.4 ± 0.05 ^{C, c}
<i>P. fragilis</i>	1.4 ± 0.06 ^{C, a}	0.5 ± 0.15 ^{B, a}	0.6 ± 0.04 ^{A, a}	0.3 ± 0.05 ^{B, a}	0.3 ± 0.03 ^{C, a}
<i>P. fluorescens</i>	0.5 ± 0.07 ^{C, d}	0.5 ± 0.14 ^{B, d}	0.9 ± 0.07 ^{A, d}	0.3 ± 0.02 ^{B, d}	0.4 ± 0.02 ^{C, d}
<i>P. putida</i>	0.4 ± 0.07 ^{C, d}	0.4 ± 0.07 ^{B, d}	0.7 ± 0.02 ^{A, d}	0.3 ± 0.07 ^{B, a}	0.5 ± 0.04 ^{C, d}
<i>L. monocytogenes</i>	0.6 ± 0.06 ^{C, b}	0.5 ± 0.06 ^{B, d}	1 ± 0.14 ^{A, b}	0.4 ± 0.05 ^{B, b}	0.4 ± 0.05 ^{C, b}
<i>S. aureus</i>	0.5 ± 0.05 ^{C, d}	0.9 ± 0.14 ^{B, d}	0.8 ± 0.07 ^{A, d}	0.3 ± 0.03 ^{B, d}	0.5 ± 0.06 ^{C, d}
<i>B. subtilis</i>	0.6 ± 0.05 ^{C, b}	1.6 ± 0.07 ^{B, d}	0.6 ± 0.3 ^{A, b}	0.3 ± 0.08 ^{B, b}	0.4 ± 0.02 ^{C, b}
<i>S. typhimurium</i>	0.4 ± 0.07 ^{C, d}	0.4 ± 0.07 ^{B, d}	0.9 ± 0.14 ^{A, d}	0.3 ± 0.05 ^{B, d}	0.4 ± 0.07 ^{C, d}

Los resultados se informan como media ± desviación estándar. Valores dentro de filas con superíndice (a, b y c) muestran diferencias significativas para cada microorganismo con cada tratamiento, y los super índices (A, B y C) muestran diferencias significativas para cada tratamiento, en una prueba Tukey (p < 0.05).

Se observa que la mayor actividad antimicrobiana con un nivel de significancia (P>0.05) se presenta con los antibióticos comerciales eritromicina y tetraciclina y el extracto de pulpa de café, los resultados indicaron que el extracto etanólico de harina de pulpa de café presentó una actividad antimicrobiana parecida a la tetraciclina cabe resaltar que no se conoce el mecanismo de acción de inhibición por lo que no se puede concluir que son iguales. La menor actividad antimicrobiana se presentó para cloranfenicol y extracto de harina de cáscara de cacao, los resultados indican que el extracto etanólico de harina de cáscara de cacao tiene una capacidad inhibidora parecida al cloranfenicol de igual forma no se conoce específicamente su mecanismo de acción por lo que no se puede concluir que son iguales. Podemos observar que la cepa significativamente más sensible a los antimicrobianos comerciales fue *P. fragilis*, seguida de *L. monocytogenes*, *B. subtilis* y

Salmonella sp, con un nivel de significancia de ($P>0.05$). El resto de las cepas fueron menos sensibles a estos antimicrobianos (*E. coli*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *S. aureus* y *S. typhimurium*). Los resultados obtenidos pueden ser comparados con lo que reportan autores como Jaisan y Punbusayakul (2016), que para extractos etanólicos de pulpa de café reportaron halos de inhibición de 0.67 cm para *S. aureus*, de 0.7 cm para *B. subtilis* y *S. Typhimurium*, de 0.66 cm para *L. monocytogenes*.

Para extractos etanólicos de cáscara de cacao autores como Kayaputri y col. (2020) y Desvita y col. (2021) reportan valores de 0.43 a 0.6 cm para *E. coli* y valores de 0.42 a 0.74 cm para *S. aureus*. Las diferencias en los resultados se atribuyen al tipo de compuestos fenólicos, a la técnica, disolventes empleados y el tipo de extracción utilizada, así como condiciones edafoclimáticas que influyen en la cantidad de compuesto polifenólicos libres en la muestra (Jaisan y Punbusayakul (2016).

Las bacterias grampositivas poseen una pared celular gruesa de peptidoglicano la cual es porosa lo que permite el paso de sustancias como polifenoles y taninos, los cuales interaccionan con proteínas y lípidos de membrana lo que causa permeabilidad, pérdida de integridad y desnaturalización de enzimas. En el caso de bacterias gram negativas su pared celular es más compleja con doble membrana que actúa como una barrera frente a compuestos hidrofóbicos lo que le confiere mayor protección (Duangjai y col., 2016).

Los mecanismos de acción antimicrobiano dependen del tipo de compuesto fenólico por ejemplo los ácidos fenólicos son parcialmente lipofílicos por lo que atraviesan la membrana celular por difusión pasiva causando daño al aumentar la permeabilidad (Lobiuc y col., 2023). Los flavonoides hidrofóbicos pueden penetrar el núcleo no polar de la membrana celular de las bacterias, así como penetrar la bicapa lipídica alterando la función de barrera de la membrana celular o pueden causar la fusión de la membrana, un proceso que resulta en fuga de materiales internos de membrana (Mandić y col., 2019). En el caso de taninos condensados la quelación del hierro es uno de los modos de acción contra las bacterias, ya que el hierro es esencial para el crecimiento bacteriano, otro mecanismo de acción es inactivar las enzimas involucradas en la síntesis de la pared celular o se unen directamente a la capa de peptidoglucano de la pared celular (Engels y col., 2009).

Tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao poseen diversos compuestos los cuales afectan la actividad antimicrobiana. Los antibióticos utilizados en estos estudios fueron el cloranfenicol, la tetraciclina y la eritromicina que son antibióticos de amplio espectro,

bacteriostáticos que inhiben la síntesis de proteínas, es por esto, que siempre los antibióticos comerciales van a presentar una mayor actividad antibacteriana que los coproductos agroindustriales. También la actividad antibacteriana depende del tipo de microorganismo, Gram positivo o Gram negativo ya que son diferentes en su pared celular.

6.5.2 Actividad antimicótica

En la Tabla 6.12 se muestra la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de pulpa de café y cáscara de cacao en comparación con antifúngicos comerciales los cuales fueron: ketoconazol, fluconazol y metronidazol, usando las cepas *Penicilium commune*, *Aspergillus niger* ANH15, *Aspergillus versicolor* y *Aspergillus tamarii* V12367, y como control negativo se utilizó el medio de cultivo PDA, los valores de crecimiento en PDA se utilizaron para obtener el porcentaje de inhibición.

Tabla 6-12 Actividad antifúngica por método de difusión en agar con extracto etanólico de harina de pulpa de café y cáscara de cacao en comparación con antifúngicos comerciales contra las diferentes cepas de hongos patógenos.

Cepa	Ketoconazol (%)	Fluconazol (%)	Metronidazol (%)	Pulpa de Café (%)	Cáscara de Cacao (%)
<i>Penicilium commune</i>	81.0±0.4 ^b	64.3±0.4 ^b	22.6±0.9 ^c	100 ^a	96.9±0.2 ^b
<i>Aspergillus niger</i> ANH15	81.9±0.4 ^a	70.2±0.2 ^a	2.1±0.8 ^b	77.2±0.3 ^a	74.5±0.2 ^a
<i>Aspergillus versicolor</i>	57.4±0.5 ^b	57.4±0.2 ^b	24.6±0.6 ^b	75.4±0.4 ^a	63.9±0.3 ^b
<i>Aspergillus tamarii</i> V12367	65.5±0.6 ^b	48.3±0.4 ^b	20.7±0.5 ^b	84.5±0.3 ^a	74.1±0.2 ^a

Los resultados se informan como media ± desviación estándar. Valores medios dentro de filas seguidos de diferentes letras en superíndice (a, b y c) muestran las diferencias entre cada microorganismo con cada antimicótico, pulpa de café y cáscara de cacao utilizada esto cuando se someten a la prueba de como Tukey (p < 0.05).

Podemos observar que la mayor actividad antifúngica para los antimicóticos utilizados con un nivel de significancia (P>0.05) se presenta en el extracto etanólico de pulpa de café y en el antimicótico comercial ketoconazol. El extracto etanólico de pulpa de café presentó una actividad antifúngica parecida al ketoconazol y que el extracto etanólico de cáscara de cacao presentó una actividad antifúngica parecida al fluconazol. La menor actividad se

presentó para el antifúngico comercial metronidazol. Podemos observar que la cepa significativamente más sensible a los antimicóticos comerciales, así como a los extractos etanólicos de pulpa de café y cáscara de cacao con un nivel de significancia de ($P > 0.05$) es *P. commune*, seguida de *A. tamarii* y *A. versicolor*, la cepa de *A. niger* ANH15 resultó ser menos sensible a todos los tratamientos.

Rachmawaty y col. (2018), reportaron que la cáscara de cacao puede ser utilizada como fungicida natural, encontrando valores de halos de inhibición de 0.3 a 1.1 cm para *Fusarium oxysporum* hongo patógeno en tomates. Hutasoit y col. (2020) reportaron actividad antimicótica de la cáscara de cacao contra *Trychophyton rubrum* hongo que causa serios problemas de dermatomicosis en humanos, cuando se aumenta la concentración de la cáscara de cacao, aumenta la inhibición. Sangta y col. (2021) analizaron la actividad antifúngica de extractos de pulpa de café para cepas como *Alternaria brassicicola* 1.2 cm, *Pestalotiopsis* sp. no presentó crecimiento y *Paramyrothecium breviseta* 0.63 cm. Alvarado-Ambríz y col (2020), reportan valores de 3.1 a 5 cm de halos de inhibición para *Aspergillus niger*.

Sung & Lee (2010) estudiaron el modo de acción de los polifenoles como antimicóticos, específicamente el ácido clorogénico. Ellos concluyeron que el ácido clorogénico rompe la membrana lipídica provocando la salida de iones y otros materiales, con esto se disipa el potencial membrana, lo cual hace que se rompa la estructura de la membrana celular. El ácido gálico también ha sido estudiado como antimicótico contra *Fusarium solani* hongo patógeno de plantas de pepino, reportaron que a una concentración de 500 ppm las hifas se rompen a las 24 horas de incubación, esto debido a que aumentan las actividades de las enzimas quitinasas y peroxidasas (Nguyen y col., 2013). Sangta y col. (2021) le atribuyen al ácido cafeico y al galato de epigallocatequina ser responsables de las propiedades antifúngicas, el ácido cafeico induce las enzimas lipolíticas patógenas que desintegran las membranas celulares del hongo, provocando así una fuga celular, además, puede inhibir directamente la síntesis de proteínas en las células patógenas en cepas de hongos como *Aspergillus niger*, *Fusarium graminearum* y *A. alternata* que causan deterioro de los alimentos. Con estos estudios, se puede ver que la acción de los polifenoles es fungicida por lo que se podrían ocupar como biofungicidas naturales.

Conclusión parcial

Los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antimicrobiana y antimicótica de los extractos etanólicos de harina de pulpa de café y cáscara de cacao evidencian que ambos coproductos agroindustriales poseen compuestos bioactivos capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos.

En la actividad antibacteriana, el extracto de pulpa de café mostró una capacidad inhibidora significativamente mayor que la cáscara de cacao, alcanzando niveles comparables a los antibióticos comerciales de amplio espectro, particularmente a la tetraciclina.

En cuanto a la actividad antimicótica, el extracto etanólico de pulpa de café destacó con la mayor inhibición, alcanzando valores equivalentes a los obtenidos con ketoconazol, el antimicótico comercial más eficaz del estudio. La cáscara de cacao mostró una inhibición moderada, comparable al fluconazol, mientras que el metronidazol presentó el menor efecto antifúngico.

Estas diferencias en la actividad antimicrobiana y antifúngica pueden atribuirse a la diversidad y concentración de compuestos fenólicos presentes en ambos materiales, así como a su interacción con la estructura celular de bacterias y hongos. En conjunto, los resultados confirman el potencial de la pulpa de café y la cáscara de cacao como fuentes de compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana y antimicótica, lo que respalda su uso potencial como alternativas naturales.

Conclusión parcial de la primera parte

Los resultados obtenidos demuestran que tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao poseen un notable potencial como coproductos agroindustriales valorizables, debido a su composición bromatológica, fisicoquímica y funcional. En términos nutricionales, ambos materiales presentan altos contenidos de carbohidratos y fibra dietética superiores al 60 %, así como cantidades apreciables de compuestos bioactivos, lo que los posiciona como ingredientes alternativos para el desarrollo de alimentos funcionales.

Los análisis fisicoquímicos evidenciaron diferencias en el contenido de azúcares, destacando el elevado nivel de glucosa y azúcares totales de la cáscara de cacao, lo cual facilita su aprovechamiento como fuente de carbono fermentable.

Las cinéticas de fermentación y los parámetros cinéticos revelaron que ambos coproductos permiten un crecimiento adecuado de las bacterias probióticas evaluadas, mostrando tasas

específicas de crecimiento y tiempos de duplicación comparables a los obtenidos con glucosa estándar. Esto confirma su asimilación eficiente como sustratos alternativos. La cáscara de cacao destacó particularmente por su estabilidad en los parámetros cinéticos, mientras que la pulpa de café, debido a su mayor complejidad estructural, generó tasas ligeramente menores, pero igualmente satisfactorias.

La actividad prebiótica obtenida, expresada mediante el puntaje de inhibición diferencial entre microorganismos benéficos y patógenos, confirma que ambos sustratos favorecen el crecimiento de cepas probióticas sobre bacterias indeseables, lo que evidencia su capacidad para modular positivamente la microbiota. Para polifenoles la pulpa de café destacó por su contenido de ácidos hidroxycinámicos, en particular ácido clorogénico y ácido cafeico, compuestos a los que se atribuyen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y reguladoras del metabolismo de lípidos y carbohidratos en tanto que para la cáscara de cacao presentó en general mayores niveles de polifenoles totales, flavonoides y taninos condensados, lo que se reflejó directamente en una mayor capacidad antioxidante. Este perfil la posiciona como un ingrediente con un marcado potencial para la formulación de alimentos con propiedades protectoras frente al daño oxidativo.

En cuanto a la actividad antimicótica, el extracto etanólico de pulpa de café destacó con la mayor inhibición, alcanzando valores equivalentes a los obtenidos con ketoconazol, el antimicótico comercial más eficaz del estudio. La cáscara de cacao mostró una inhibición moderada, comparable al fluconazol, mientras que el metronidazol presentó el menor efecto antifúngico. Se identificó que *Penicillium commune* fue la cepa más sensible a todos los tratamientos, mientras que *Aspergillus niger* ANH15 resultó ser la menos susceptible.

En conjunto, estos hallazgos demuestran que tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao no solo representan una alternativa sostenible para la economía circular y la reducción de residuos agroindustriales, sino que también son candidatos prometedores como fuentes de ingredientes funcionales.

Segunda parte

6.6 Análisis fisicoquímicos de películas comestibles de cáscara de cacao y pulpa de café.

Tabla 6-13 se muestran los resultados de los análisis fisicoquímicos para películas comestibles adicionadas con harina de pulpa de café y cáscara de cacao.

Película	Elongación (%)	Fuerza extensión (N/cm ²)	Módulo de Young (N/m ²)	Punción (%)	Permeabilidad al vapor de agua (g*mm/h *m ² *kPa)	Solubilidad (%)	Proteína soluble (%)	Espesor (mm)	Opacidad (mm ⁻¹)
Pulpa de café	10.9 ^c ±0.01	525.0 ^b ±53	3.6 ^a ±0.4	2.4 ^b ±0.4	1.1 ^c ±0.05	46.2 ^a ±2.8	4.7 ^a ± 0.3	0.21 ^a ±0.09	7.6 ^b ± 0.3
Cáscara de cacao	20.2 ^b ±1.50	878.6 ^a ±45	3.6 ^a ±0.4	1.5 ^c ±0.3	1.8 ^b ±0.01	37.0 ^b ±2.1	3.7 ^b ±0.05	0.20 ^a ±0.03	9.1 ^a ± 0.4
Testigo	49.5 ^a ±0.05	266.2 ^c ±19	2.6 ^b ±0.3	4.9 ^a ±0.4	2.1 ^a ±0.02	34.1 ^b ±2.5	3.9 ^b ±0.52	0.23 ^a ±0.01	6 ^c ± 0.3

Para la película comestible adicionada con harina de pulpa de café se determinó un porcentaje de elongación de 10.92 %, el cual es bajo en comparación con la película testigo (49.53%). Esta característica la hace menos flexible y poco maleable, para fuerza de extensión se obtuvo un valor de 525 N/ cm² (5.2 MPa) es cual es mayor que la película testigo y es un indicativo de la resistencia de la película a la rotura, para módulo de Young se determinó un valor de 3.57 N/ cm² lo cual es un indicativo de una alta rigidez a la deformación (Sucheta y col., 2019), estos tres parámetros antes mencionados están relacionados y nos indican que la película de harina de pulpa de café, es rígida, poco flexible y muy resistente, lo que para términos de este estudio nos limita ya que sería complicado que se adapte al alimento a recubrir, por otra parte para el porcentaje de punción se reportó un valor de 2.41 % este parámetro nos indica la resistencia al desgarrar o la flexibilidad localizada en un punto (Yuan y col., 2021), para permeabilidad al vapor de agua se determinó un valor de 1.09 g*mm/h *m²*kPa el cual es bajo en comparación con el testigo y representa una buena barrera contra el paso del vapor de agua, para la solubilidad se reportó un valor de 46.2 %, en comparación con las otras películas estudiadas esta es la más soluble, lo que favorece la biodegradabilidad, se determinó un porcentaje de proteína soluble de 4.67% representa el mayor valor en comparación con la película testigo y la película de cáscara de cacao lo que representa menor estabilidad en los enlaces proteicos los cuales pueden romperse con facilidad lo que le resta firmeza estructural a la película (Bonilla y col., 2013). El espesor de la película a adicionada de harina de pulpa de café fue de 0.21 mm, esto es importante ya que tiene repercusiones en otros parámetros como la

elasticidad, la resistencia y la permeabilidad al vapor de agua, este valor está dentro de lo establecido por autores como (Shanbhag y col., 2023). Para la opacidad se determinó un valor de 7.6 mm^{-1} , la luz puede provocar modificaciones o descomponer ciertos compuestos en productos alimenticios, por tanto, se busca que la película comestible represente una barrera contra el paso de la luz, nuestros resultados son mayores a la película testigo pero menores a la película de cáscara de cacao por lo que se puede decir que la película comestible de harina de pulpa de café confiere una protección moderada al paso de luz (Suriati y col., 2023). Los resultados de este trabajo pueden ser comparados con los reportados por autores como Vallejos-Jiménez y col. (2025) quienes desarrollaron películas basadas en pectina de residuos de mucilago y pulpa de café, que determinaron valores para fuerza de extensión de 1.6 a 3.4 MPa, para porcentaje de elongación valores de 6.5 a 24.5 % y solubilidad de 40.4 a 91.7 %, las principales diferencias en los resultados puede ser explicadas por la formulación de la película, así como a la cantidad de fibra presente, la pulpa de café aporta una cantidad significativa de fibra dietética, predominantemente de naturaleza insoluble, lo que afecta notablemente la microestructura y funcionalidad de las películas (Valdespino-León y col., 2020).

El desarrollo de películas comestibles biodegradables a partir de residuos agroalimentarios como la pulpa de café es una alternativa adecuada para reducir la producción de materiales de embalaje sintéticos convencionales derivados de recursos fósiles como el petróleo, que causan graves problemas de contaminación, contribuyendo así a la economía circular, (Batista y col., 2023; Vallejos-Jiménez y col., 2025).

Para películas comestibles adicionadas con harina de cáscara de cacao se determinaron valores de elongación del 20.2 %, para fuerza de extensión valores de 879 N/cm^2 (8.8 MPa), para módulo de Young de 3.63 N/s , valores de 1.54 % para porcentaje de punción, para permeabilidad al vapor de agua se determinaron valores de $1.83 \text{ g*mm/h *m}^2\text{*kPa}$, para la solubilidad valores de 46.2 %, un contenido de proteína soluble de 4.67 %, un espesor de 0.2 mm y una opacidad de 9.1 mm^{-1} . Lubis y col. (2018) diseñaron un bioplástico con semilla de yuca y celulosa de cáscara de cacao con glicerol como plastificante, determinaron valores de 15.76 a 30 % para porcentaje de elongación, la diferencia en la elasticidad de la película puede atribuirse a la interacción entre las moléculas del biopolímero y el coproducto en la formulación. Adilah y col. (2018), diseñaron películas comestibles activas adicionadas con cáscara de mango determinando valores de fuerza de extensión de 7.65 a 15.78 MPa, las principales diferencias en los valores podrían ser

explicadas por las interacciones moleculares que ocurren entre el complejo fibra-caseinato en nuestro trabajo, las cuales son interacciones electrostáticas, estéricas o covalentes, por lo que entre mayor sea la concentración de compuestos añadidos mayor será la resistencia (Wusigal, y col., 2020).

Lessa y col. (2021) desarrollaron una película a partir de nanofibras de cáscara de cacao con compuestos bioactivos, en las cuales determinaron valores de 1.1 a 22.8 %, para porcentaje de punción. Las nanofibrillas tienen una alta relación superficie-volumen lo que se traduce en una mayor resistencia mecánica, sin perder la elasticidad, esto es debido al acomodo molecular entre la proteína, el plastificante y la nanofibrilla, lo que puede explicar la diferencia entre los resultados obtenidos y los documentados (Ebrahimi., 2019).

Batista y col. (2023) desarrollaron películas con polisacáridos de posos de café reticulados (residuos que quedan después de preparar café, conocido también como borra o chancastle de café) con iones de calcio y ácido 1,4-fenilendiborónico, que para la actividad al vapor de agua determinaron valores de 1.67 a 2.6 g mm/ h*m²* KPa. La adición de plastificante puede influir en la permeabilidad al vapor de agua, plastificantes hidrofílicos como el glicerol son compatibles con el material polimérico afectando la permeabilidad. Esto se debe al mayor espacio intermolecular en la película lo que le permite la migración de moléculas de agua, aumentando así la capacidad de sorción (retención de sustancia en la superficie y dentro del cuerpo que retiene), por tal razón aumenta la permeabilidad en la película (Azeredo & Waldron, 2016), este factor y la interacción que tenga con el coproducto puede afectar la permeabilidad al vapor de agua.

La opacidad representa la propiedad de ciertos materiales para impedir el paso de la luz, lo que en películas comestibles les confiere la capacidad de retrasar la oxidación y degradación de compuestos en alimentos causado por la exposición a la luz (Zhao y col., 2022), la película con cáscara de cacao obtuvo la mayor opacidad con un valor de 9.1 mm⁻¹, a mayor opacidad menor paso de luz, y mayor protección.

Con los resultados obtenidos se puede observar que la película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao presenta las mejores capacidades de fuerza de extensión, un alto valor de elongación (%), una permeabilidad al vapor de agua mayor a la de la película de pulpa de café, así como el mayor valor de opacidad, tomando en consideración estos resultados y los obtenidos para la harina de cáscara de cacao, con una buena actividad antioxidante, actividad prebiótica, y una concentración importante de polifenoles, se

determinó utilizar la película comestible con adicionada con harina de cáscara de cacao para cubrir un jamón para continuar los estudios de este trabajo.

6.7 Análisis fisicoquímicos de jamón

Se realizaron 2 jamones de 1 kg aproximadamente, los cuales se dejaron enfriar por 24 h a 4°C, una vez transcurrido este tiempo, se cortaron en rebanadas de 5 cm de ancho por 10 cm de largo y 1 cm de grosor, las cuales se cubrieron con la película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao, la cual se había elaborado 48 h antes, un jamón sin película constituyó el testigo. Se almacenaron a 4°C, y se tomaron muestras 1, 8, 15, 22 y 30 días se realizaron los análisis fisicoquímicos de: rancidez oxidativa, humedad, pH, color y perfil de textura.

6.7.1 Rancidez oxidativa

En la Tabla 6.14 se muestran los resultados del análisis de rancidez oxidativa para jamón con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao y un jamón sin película que constituyó el testigo, durante los 30 días de duración de este estudio.

Existen diferencias estadísticamente significativas entre cada uno de los tratamientos, teniendo valores mayores para rancidez oxidativa en el jamón testigo con un valor final de 78.7 mg de malonaldehído/ kg de jamón, para el jamón cubierto con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao se determinó un valor final de 63.2 mg de malonaldehído/kg de jamón. Este resultado indica que la película comestible tiene un efecto protector al funcionar como una barrera física que limita el acceso del oxígeno lo que retrasa la oxidación lipídica; de igual forma los compuestos polifenólicos presentes en la harina de cáscara de cacao funciona como antioxidante capturando radicales libres y estabilizando los productos intermedios de la oxidación de lípidos (Moura-Alves y col., 2023).

El malonaldehído es un producto secundario de la rancidez oxidativa y es un indicativo de la oxidación lipídica, la cual afecta la calidad de los alimentos, alterando sus sabores y olores, lo que conlleva a la pérdida de nutrientes esenciales como ácidos grasos y vitaminas, así como cambios en la textura y el color. Valores bajos nos indican una buena calidad del alimento, ya que evidencian una menor oxidación de los lípidos, lo que contribuye a la conservación de las propiedades sensoriales del producto, como el sabor,

el olor y el color, manteniéndolo más fresco y aceptable para el consumidor (Domínguez y col., 2019).

Tabla 6-14 Análisis de rancidez oxidativa para jamón sin y con película comestible adicionada de cáscara de cacao

Tiempo (días)	Jamón con película comestible (mg de malonaldehído/ kg de jamón)	Jamón testigo (mg de malonaldehído/ kg de jamón)
1	2.9 ± 0.8 ^{a, A}	3.6 ± 0.7 ^{a, B}
8	3.4 ± 0.4 ^{b, A}	11.7 ± 0.6 ^{b, B}
15	11.9 ± 0.4 ^{c, A}	29.9 ± 0.7 ^{c, B}
22	46.8 ± 0.5 ^{d, A}	55.2 ± 0.8 ^{d, B}
30	63.2 ± 0.8 ^{e, A}	78.7 ± 0.5 ^{e, B}

Las letras mayúsculas indican que existe diferencia significativa entre cada tratamiento, y las letras minúsculas indican que existe diferencia por días de almacenamiento cuando se someten a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Existen diferencias estadísticamente significativas entre cada uno de los tratamientos con respecto al tiempo, para el día uno ambos tratamientos presentaron bajos niveles de malonaldehído; para los días 8 y 15, se observó un efecto protector de la película comestible, los valores de malonaldehído disminuyeron un 60 % en comparación con el jamón testigo, para los días 22 y 30 se observó que la producción de malonaldehído para ambos jamones siguió aumentando sin embargo los valores son menores para el jamón cubierto por película comestible, por lo que se concluye que la película comestible tiene un efecto protector, que retrasa la rancidez oxidativa con el tiempo. Cabe mencionar que el efecto protector disminuye con el tiempo, lo cual es esperable si los compuestos fenólicos o antioxidantes en la película se degradan o migran hacia el jamón.

Esta oxidación puede deberse a tres factores, el primero de ellos es la autooxidación, proceso por el cual los ácidos grasos insaturados y el oxígeno interactúan, y por tanto producen un deterioro oxidativo de productos cárnicos, segundo por fotooxidación lipídica, durante este proceso, se forman hidroperóxidos en presencia de sensibilizadores (como mioglobina o hemoglobina) y luz, y por último la oxidación lipídica enzimática, la cual es catalizada por la enzima lipoxigenasa (Amaral y col., 2018).

Autores como Haile y col. (2013) evaluaron el efecto de la luz, el envasado y el almacenamiento sobre el color y la estabilidad oxidativa en jamones cocidos, concluyendo que los jamones almacenados en completa oscuridad reducen la producción de malonaldehído de 0.4 a 0.02 µg/g, ellos concluyen que este efecto solo es válido las primeras dos semanas de almacenamiento, posteriormente la oxidación es mayor. Ruiz-Navajas y col. (2015) determinaron la rancidez oxidativa en jamón curado cocido usando una película de quitosano adicionada con aceite esencial de *Thymus moroderi* y *Thymus piperella*, determinando que la producción de malonaldehído aumenta de manera progresiva de 2.69 a 4 mg de malonaldehído/kg muestra para el jamón con película comestible y de 2.79 a 5.8 mg de malonaldehído /kg muestra para el jamón testigo, por lo que concluyen que la película de quitosano con aceite esencial aumenta la vida de anaquel del jamón curado cocido debido a la disminución de la oxidación lipídica.

Estos resultados indican que la película comestible tiene influencia en reducir la oxidación de las grasas saturadas presentes en el jamón, esto puede ser atribuido a la capacidad antioxidante de la cáscara de cacao, así como a la protección que la película aporta, al reducir la exposición a la humedad, al calor y la luz que son claves en la descomposición de grasas y producción de peróxidos (Taylor y col., 2022).

6.7.2 Humedad

En la Tabla 6.15 se muestran los resultados del análisis de humedad para jamón con película comestible adicionada con cáscara de cacao y el testigo.

Tabla 6-15 Análisis de humedad de jamón sin y con película comestible adicionada de harina de cáscara de cacao.

Tiempo (días)	Humedad del jamón con película (%)	Humedad del jamón testigo (%)
1	56.44 ± 0.5 ^{a, B}	63.32 ± 0.4 ^{a, A}
8	56.38 ± 0.4 ^{a, B}	62.61 ± 0.6 ^{a, A}
15	55.80 ± 0.5 ^{a, B}	61.63 ± 0.2 ^{a, A}
22	54.76 ± 0.9 ^{a, B}	58.35 ± 0.8 ^{b, A}
30	45.50 ± 0.8 ^{b, B}	51.37 ± 0.9 ^{c, A}

Las letras mayúsculas indican que existe diferencia significativa entre cada tratamiento, y las letras minúsculas indican que existe diferencia por días de almacenamiento cuando se someten a la prueba de Tukey (p < 0.05).

Existen diferencias significativas (P < 0.05) entre cada uno de los tratamientos utilizados, se presenta el menor valor para jamón cubierto con película comestible, el cual disminuye de manera progresiva con respecto al tiempo, con una determinación final de 45.50 % al

día 30, comparado con el 51.37 % para el jamón testigo, esta diferencia podría ser atribuida a las características higroscópicas de la harina de cáscara de cacao, que al tener una proporción de entre el 49-60 % de fibra tanto soluble como insoluble, capta el agua presente en el jamón, restándole humedad al mismo, lo que podría tener impacto en la textura, sabor y apariencia del jamón que resulta más duro (Ran y col., 2021).

Autores como Frontela y col. (2006) analizaron la relación entre los parámetros sensoriales fisicoquímicas e instrumentales del jamón cocido, determinaron humedad inicial de 70.7 a 74 % en un jamón sin película comestible. Santos y col. (2020) analizaron la durabilidad de un jamón cocido envuelto en fundas impermeables, determinando una humedad inicial de 69.7 % hasta 69.9, después de 6 meses de evaluación.

6.7.3 Determinación de pH

En la Tabla 6.16 se muestra el análisis de pH para un jamón con película comestible adicionada con cáscara de cacao y un testigo.

El análisis estadístico determinó que no existen diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos, Por lo que concluimos que nuestra película comestible no tiene algún efecto sobre la variación del pH en nuestro jamón.

Ran y col. (2021) evaluaron los cambios en la calidad y predijeron la vida de anaquel de un jamón curado cocido almacenado a diferentes temperaturas, encontrando valores de pH de 6.24 a 6.12 de 1 a 29 días, respectivamente, determinaron que no existen diferencias significativas en los valores de pH los primeros 29 días de almacenamiento, concluyeron que el aumento en la temperatura y el tiempo de almacenamiento influyen en la ligera disminución de los valores de pH, esto por la proliferación de bacterias ácido lácticas.

Tabla 6-16 Determinación de pH en un producto cárnico cocido (jamón), sin y con película comestible adicionada de harina de cáscara de cacao

Tiempo (días)	pH del jamón con película comestible	pH del jamón testigo
1	6.71 ± 0.06 ^{a, A}	6.69 ± 0.05 ^{a, A}
8	6.68 ± 0.05 ^{a, A}	6.64 ± 0.07 ^{a, A}
15	6.65 ± 0.09 ^{a, A}	6.61 ± 0.02 ^{a, A}
22	6.64 ± 0.02 ^{a, A}	6.46 ± 0.06 ^{b, A}
30	6.62 ± 0.07 ^{a, A}	6.44 ± 0.03 ^{b, A}

Las letras mayúsculas indican que existe diferencia significativa entre cada tratamiento, y las letras minúsculas indican que existe diferencia por días de almacenamiento cuando se someten a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

6.7.4 Determinación de color

En la Tabla 6.17 se muestra el análisis de color para jamón cubierto con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao y un testigo.

Tabla 6-17 Análisis de color para jamón sin y con película comestible adicionada de harina de cáscara de cacao.

Tiempo (días)	Jamón con película L	Testigo L	Tiempo (días)	Jamón con película A	Testigo A
1	68.7 ± 0.4 ^{a, A}	67.3 ± 0.06 ^{a, A}	1	5.4 ± 0.2 ^{a, B}	5.3 ± 0.05 ^{a, A}
8	68.5 ± 0.04 ^{a, A}	67.1 ± 0.06 ^{a, A}	8	5.4 ± 0.01 ^{a, B}	5.0 ± 0.2 ^{a, A}
15	66.8 ± 0.03 ^{b, B}	72.7 ± 0.4 ^{b, A}	15	5.5 ± 0.02 ^{a, B}	4.5 ± 0.02 ^{b, A}
22	66.7 ± 0.3 ^{b, B}	73.5 ± 0.4 ^{b, A}	22	5.7 ± 0.1 ^{b, B}	3.7 ± 0.02 ^{c, A}
30	66.3 ± 0.15 ^{b, B}	75.3 ± 0.09 ^{b, A}	30	5.9 ± 0.09 ^{b, B}	2.8 ± 0.02 ^{d, A}

Tiempo (días)	Jamón con película B	Testigo B
1	12.5 ± 0.1 ^{a, B}	12.8 ± 0.2 ^{a, A}
8	12.7 ± 0.06 ^{a, B}	12.8 ± 0.1 ^{a, A}
15	13.2 ± 0.04 ^{b, B}	11.3 ± 0.1 ^{b, A}
22	13.5 ± 0.2 ^{b, B}	11.4 ± 0.2 ^{b, A}
30	13.7 ± 0.07 ^{b, B}	11.1 ± 0.03 ^{b, A}

Las letras mayúsculas indican que existe diferencia significativa entre cada tratamiento, y las letras minúsculas indican que existe diferencia por días de almacenamiento cuando se someten a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Se observan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos, para el jamón cubierto con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao se observan diferencias significativas en la luminosidad y un aumento en las coordenadas A y B, a partir del día 15, para el jamón testigo las diferencias son significativas a partir del día 8 especialmente para la coordenada A la cual presenta una disminución significativa entre los días, con un valor de 2.8 para el día 30, esta coordenada describe el cambio de color entre el espectro rojo y verde, este comportamiento podría ser explicado por la degradación de compuestos debido al deterioro del producto y la pérdida de la estabilidad del complejo nitrosilmioglobina (nitro-hemo), el aumento en la luminosidad puede estar asociado con la desnaturalización de las proteínas miofibrilares, lo que provoca que se destruya la estructura de la proteína y aumente el contenido de agua libre y la reflectancia de la luz superficial del jamón (Ran y col., 2021). En base a los resultados obtenidos podemos decir que la película comestible protege al jamón del deterioro, que puede ser causado por la exposición a la luz, al oxígeno e incluso a la temperatura, retrasando así la oxidación del complejo nitro-hemo, lo que se ve relegado en la calidad visual y sensorial del jamón (Mattos y col., 2003), la actividad protectora de las películas comestibles puede deberse a los polifenoles, Autores como Wu y col. (2024), determinaron que los compuestos polifenólicos tienen influencia en la oxidación de la mioglobina y la estabilidad del complejo nitro-hemo, lo que podría explicar el efecto protector de la película comestible y el efecto retardante de la cadena de oxidación.

Rakotondramavo y col. (2019), evaluaron la oxidación durante el almacenamiento de jamón cocido tratado a presión y el impacto en sus atributos tecnológicos, observaron que el tratamiento con presión y el tiempo de almacenamiento tienen influencia en la luminosidad con un valor de 1.89 contra 2.91 para el jamón sin tratamiento a alta presión lo que llevo a concluir que el tratamiento a alta presión causa la desnaturalización de mioglobina férrica o la desnaturalización de las proteínas.

Frontela y col. (2006) analizaron los parámetros sensoriales fisicoquímicos e instrumentales del jamón cocido determinando valores para A de 11.1 para el jamón A y de 12.1 para el jamón B, obtenido en los resultados de la encuesta a los consumidores que el jamón menos rosado fue el más aceptado por lo que concluyen que es un parámetro de suma importancia como sinónimo de calidad.

6.7.5 Perfil de textura

En la Tabla 6.18 se muestra el análisis de perfil de textura para jamón con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao y un testigo.

Tabla 6-18 Análisis de perfil de textura para jamón sin y con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao.

Tiempo (días)	Dureza (N) jamón con película	Dureza (N) Testigo	Tiempo (días)	Cohesividad jamón con película	Cohesividad Testigo
1	20.5 ± 0.2 ^{a, A}	18.2 ± 0.3 ^{a, B}	1	0.96 ± 0.01 ^{a, A}	0.95 ± 0.01 ^{a, A}
8	26.4 ± 0.2 ^{b, A}	20.8 ± 0.2 ^{b, B}	8	0.96 ± 0.01 ^{a, A}	0.95 ± 0.01 ^{a, A}
15	31.5 ± 0.7 ^{c, A}	25.9 ± 0.5 ^{c, B}	15	0.93 ± 0.01 ^{a, A}	0.93 ± 0.01 ^{a, A}
22	35.3 ± 0.8 ^{d, A}	29.9 ± 0.5 ^{d, B}	22	0.93 ± 0.02 ^{a, A}	0.93 ± 0.01 ^{a, A}
30	42.2 ± 0.9 ^{e, A}	35.3 ± 0.3 ^{e, B}	30	0.93 ± 0.02 ^{a, A}	0.93 ± 0.02 ^{a, A}

Tiempo (días)	Adhesividad (J) jamón con película	Adhesividad (J) Testigo	Tiempo (días)	Elasticidad jamón con película	Elasticidad Testigo
1	0.21 ± 0.02 ^{a, A}	0.21 ± 0.01 ^{a, A}	1	2.70 ± 0.01 ^{a, B}	2.75 ± 0.01 ^{a, A}
8	0.22 ± 0.02 ^{a, A}	0.21 ± 0.01 ^{a, A}	8	2.65 ± 0.02 ^{b, B}	2.71 ± 0.01 ^{b, A}
15	0.22 ± 0.02 ^{a, A}	0.22 ± 0.02 ^{a, A}	15	2.60 ± 0.03 ^{c, B}	2.65 ± 0.02 ^{c, A}
22	0.22 ± 0.04 ^{a, A}	0.23 ± 0.01 ^{a, A}	22	2.55 ± 0.02 ^{d, B}	2.60 ± 0.01 ^{d, A}
30	0.22 ± 0.05 ^{a, A}	0.23 ± 0.03 ^{a, A}	30	2.42 ± 0.03 ^{e, B}	2.56 ± 0.02 ^{e, A}

Las letras mayúsculas nos indican que existe diferencia significativa entre cada tratamiento, y las letras minúsculas nos indican que existe diferencia por días de almacenamiento cuando se someten a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Existen diferencias significativas entre tratamientos y para cada tratamiento con respecto al tiempo, con un nivel de significancia de ($P < 0.05$), para dureza en jamón con película comestible adicionada con cáscara de cacao se observan cambios desde el día uno con aumentos progresivos con respecto al tiempo y un valor final de 42.21 N, en comparación con 35.3 N para el jamón testigo, esta diferencia en los valores puede explicarse por la presencia de la cáscara de cacao en las películas comestibles. La cohesividad representa la resistencia de un material a la deformación, para términos de nuestro ensayo no se observan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni en cada tratamiento individual. En la elaboración del jamón la miosina, una proteína miofibrilar presente en la carne se solubiliza con la sal y los fosfatos que al cocinarse forma redes tridimensionales que mantienen el agua y la grasa atrapada lo que le confiere firmeza y cohesividad, en términos prácticos el jamón conserva su estructura al ser cortado y al ser consumido (Yu y col., 2025). La adhesividad refleja la fuerza necesaria para separar el jamón de la superficie de contacto, como puede ser la boca, o a algún instrumento, se puede relacionar con percepción de pegajosidad, para términos de nuestro análisis no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) esto puede ser explicado por las características propias del jamón pues un jamón de buena calidad debe tener valores de adhesividad bajos (González y col., 2009).

La elasticidad representa la capacidad del jamón para recuperar su forma original después de una deformación, para este trabajo se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) para cada tratamiento, mostrando disminución progresiva con respecto al tiempo, siendo mayor la pérdida de elasticidad para el jamón con película comestible, esto podría ser explicado debido a que la higroscopicidad de la harina de cáscara de cacao presente en la película absorbe humedad lo cual aumenta la dureza, por otro lado el deterioro de proteínas estructurales también podría ser un factor (Fioravante y col., 2024).

De Avila y col. (2014) evaluaron el comportamiento reológico de productos cárnicos cocidos comerciales evaluados mediante ensayo de tracción y análisis de perfil de textura, reportando valores para dureza entre 33 y 72 N, la cohesividad de 0.30 a 0.48 y la elasticidad 5 a 7 mm, concluyeron que las diferencias en los valores depende del producto cárnico elaborado y la parte de carne utilizada para el análisis, determinaron que un solo análisis puede dar un perfil de textura y un perfil de tracción.

6.8 Análisis sensorial del jamón recubierto con película comestible de cáscara de cacao

Tabla 6-19 Análisis sensorial de jamón con película comestible adicionada de harina de cáscara de cacao.

Día	Índice R (%)	Chi cuadrada
8	72.1	15.2
15	74.3	14.3
29	67.2	9.9

El índice R es una probabilidad estadística y ayuda a la cuantificación precisa de las diferencias y similitudes entre el alimento evaluado, toma valores de 50 a 100 %, cuando el valor es más cercano a 50 % las diferencias sensoriales son menos notorias (Lee & Van Hout, 2009). Esto puede tener distintas aplicaciones, en términos de nuestro trabajo se desea saber si existen diferencias sensoriales entre un jamón cubierto con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao y un jamón sin película comestible el cual es considerado el testigo. Para la realización del análisis se tomaron muestras del blanco (jamón sin película comestible) y la muestra problema (jamón con película comestible) en el caso de la muestra problema la película que cubría al jamón fue retirada esto con la finalidad de que no interviniera en la percepción visual del alimento y así solo el parámetro del sabor fuera evaluado. Para este proceso se llevó a cabo una prueba discriminatoria A no A, la cual consiste en presentarle a los evaluadores la muestra problema (A) dos veces, una de ellas camuflajeada como otra muestra y una vez el testigo, con la finalidad de tener un resultado sensorial correcto.

Se obtuvieron índices R de 67.2 a 74.3 entre los días 8 y 29, lo que nos indica que los evaluadores determinaron diferencia en el sabor que son evidentes desde el primer día, sin embargo, estas diferencias se mantuvieron constantes con respecto al tiempo hasta el final de la evaluación, por lo que se concluye que existen diferencias sensoriales entre el jamón cubierto con película comestible y el testigo, pero que el tiempo de almacenamiento no influye en el sabor del jamón hasta el día 29.

Los evaluadores describen el sabor de la muestra problema como menos salada, y un tanto más pastoso, esto debido a las características higroscópicas de la harina de cáscara de cacao que constituye la película.

Argaiz y col. (2005), realizaron la detección sensorial del desarrollo del sabor durante la pasteurización de una bebida de guayaba mediante el índice R, midieron la diferencia en el sabor de la bebida en un rango de temperatura de 85 a 90 °C determinando valores del índice R de 50% para una temperatura de 87.5 °C y un tiempo de pasteurización de 119 s y un valor de 89 % para una temperatura de 90 °C a un tiempo de 248 s, concluyendo que a menor temperatura y menor tiempo el sabor de la bebida no se ve alterado.

Lee y col. (2007), compararon el desempeño de las pruebas A-No-A, 2-AFC e igual-diferente para la discriminación del sabor de las margarinas: el efecto de las estrategias de decisión cognitiva, para lo cual se pusieron a prueba dos margarinas diferentes, en total participaron 7 jueces que emitieron 27 calificaciones cada uno, dando un total de 168 calificaciones en el que determinaron valores de índice R para prueba de A-No-A fue de 85%, para la prueba Recordatorio 2-AFC un valor de 77 % y para igual-diferente 69 %, concluyendo que al método de muestra única A-No A resultó en la mayor sensibilidad.

6.9 Análisis de crecimiento bacteriano en películas comestibles con bacterias patógenas

Para el análisis cinético de jamón inoculado con bacterias patógenas, se utilizaron cuatro cepas: dos Gram positivas: *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), y dos Gram negativas: *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) y *Escherichia coli* (*E. coli*). Se dejaron crecer en caldo soya triptocaseína y caldo nutritivo respectivamente, por 3 h; se midió la absorbancia a 585 nm hasta una alcanzar una densidad óptica de 0.76 y 0.8, pasado este tiempo se agregaron a cortes de jamón de 10 g y se dejaron reposar por 30 min, posteriormente se cubrieron con películas comestibles adicionadas con harina de cáscara de cacao, un jamón sin película comestible constituyó el testigo, se envasaron al vacío y se almacenaron en refrigeración a 4 °C, se tomaron muestras los días 1,8,15 y 22. Cabe destacar que en el análisis de las cinéticas de crecimiento cada se análisis realizó 8 veces y en todos los casos el coeficiente de variación fue menor a 10%.

Los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano permiten predecir el desarrollo bacteriano y comparar los diferentes tratamientos objetivamente. El modelo logístico es una expresión matemática que describe el crecimiento microbiano poblacional con respecto al tiempo, considerando la tasa específica de crecimiento y la concentración máxima de biomasa, se representa con una curva sigmoidea que describe las fases de crecimiento, en su forma diferencial se representa con la ecuación 6.1.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_{max}} \right) \quad \text{Ecuación 6.1}$$

Donde

$\frac{dX}{dt}$ = tasa de cambio de la biomasa con respecto al tiempo.

μ = Tasa específica de crecimiento máximo (días⁻¹)

X = Biomasa microbiana (UFC/g jamón).

X_{max} = Biomasa microbiana máxima (UFC/g jamón).

$\left(1 - \frac{X}{X_{max}} \right)$ = Factor que afecta la tasa de cambio de la biomasa y depende de los valores de la concentración de la biomasa tomando las siguientes consideraciones:

Si $X \ll X_{max}$ este factor es cercano a 1, y el cultivo se encuentra en fase de crecimiento exponencial.

Si $X = X_{max}$ este factor es igual a 0, el cultivo alcanzó su fase estacionaria.

Para la determinación de la biomasa microbiana (X) calculada se utilizó la forma integral del modelo, indicada en la ecuación 6.2

$$x = \frac{X_{max}}{1 + \left[\left(\frac{X_{max} - X_0}{X_0} \right) * \exp(-\mu * t) \right]} \quad \text{Ecuación 6.2}$$

Donde

X = crecimiento microbiano calculado (UFC/g jamón)

X_{max} = crecimiento microbiano máximo (UFC/g jamón)

X_0 = crecimiento microbiano inicial (UFC/g jamón)

μ = tasa específica de crecimiento máximo (días⁻¹)

t= tiempo de cultivo (días)

Los parámetros del modelo logístico se estimaron ajustando los datos experimentales de crecimiento microbiano y usando el método GRG (Gradiente reducido generalizado) de la subrutina del Solver de Excel.

En las Figuras 6.20 y 6.21, se observan los resultados de simulación del modelo logístico para del crecimiento bacteriano en la película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao para bacterias Gram negativas y Gram positivas y sus testigos respectivos (jamón sin película comestible).

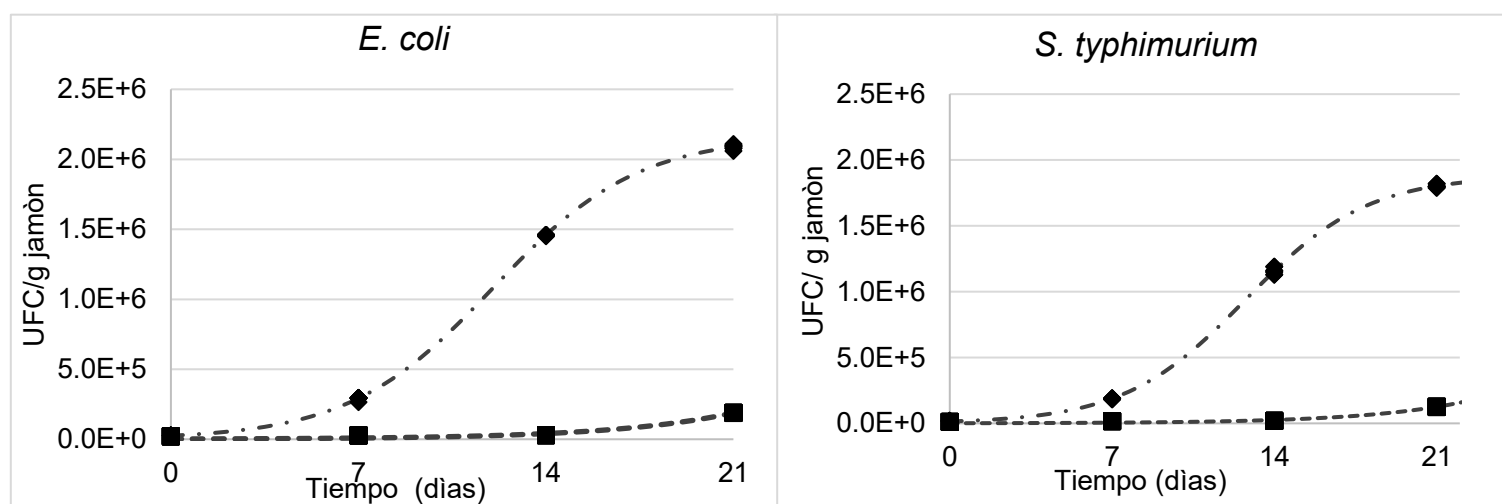


Figura 6.3 Simulación del crecimiento microbiano empleando el modelo logístico (líneas continuas)) para bacterias Gram negativas *E. coli* y *S. typhimurium* en jamón cubierto con película comestible (Cuadrados rellenos) y un testigo (rombo lleno).

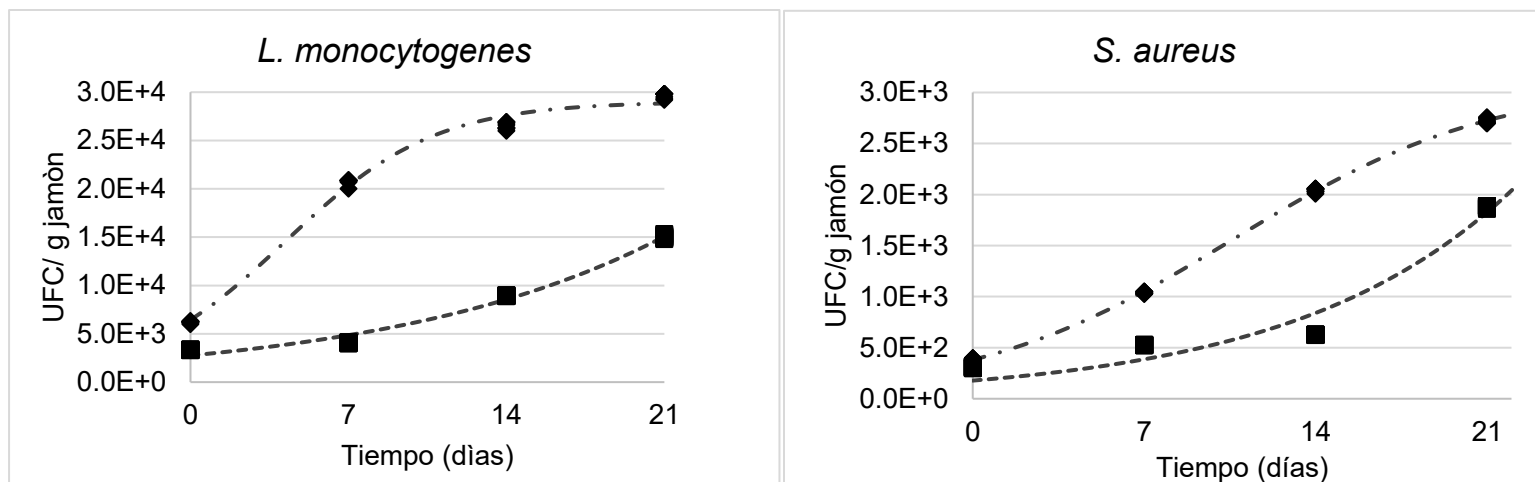


Figura 6.4 Simulación del crecimiento microbiano empleando el modelo logístico (líneas continuas) para bacterias Gram positivas *L. monocytogenes* y *S. aureus* en jamón cubierto con película comestible (cuadrados rellenos) y un testigo (rombo lleno).

Para *S. aureus*, bacteria Gram positiva, se observa un crecimiento máximo de 7.5 Ln UFC/g jamón con película comestible y de 7.9 Ln UFC/g jamón para el testigo y para *L. monocytogenes* se determinó un crecimiento de 9.6 Ln UFC/g jamón con película y de 10.3 Ln UFC/g para el testigo. Con base a la ecuación descrita anteriormente se determinó que el jamón cubierto con película comestible presenta una disminución en la tasa de crecimiento del 20 % para *S. aureus* y de 25 % para *L. monocytogenes*.

Para bacterias gram negativas, en el caso de *E. coli* se tienen un crecimiento máximo de 12 Ln UFC/ g jamón con película y de 15 Ln UFC/g jamón sin película, para *S. typhimurium* se determinaron valores de 11.7 Ln UFC/g jamón para jamón con película y de 14.5 Ln UFC/g jamón, comparado las pendientes tal como se explica para los microorganismos gram positivos se determinó que el jamón cubierto con película comestible presenta una disminución en el crecimiento del 55 % para *E. coli* y de 56% para *S. typhimurium*.

Los resultados sugieren que la película comestible es especialmente efectiva contra bacterias gram negativas, probablemente debido a la acción de compuestos fenólicos presentes en la harina de cáscara de cacao, que afectan la integridad de la membrana celular externa característica de los microorganismos gram negativos.

En base a los resultados obtenidos se presenta un retraso en la fase de latencia en el jamón cubierto con la película comestible con las cuatro cepas patógenas analizadas, este comportamiento se presenta en los primeros 15 días de almacenamiento pasado este tiempo el crecimiento se acelera, por lo que podríamos sugerir un efecto bacteriostático de nuestra película comestible, tal efecto podría ser atribuido a la capacidad protectora de la película la cual actúa como una barrera física que limita el contacto del alimento con el oxígeno, el vapor de agua y otros agentes externos que favorecen el crecimiento microbiano, así como a los compuestos polifenólicos presentes en la harina de cáscara de cacao, los cuales podrían tener actividad antimicrobiana, antifúngica y antioxidante (Rachmawaty y col., 2019). Tal comportamiento puede ser comparado con lo que reportaron autores como Oussalah y col. (2007) quienes evaluaron el efecto antimicrobiano de películas comestibles de alginato y aceites esenciales sobre *L. monocytogenes* y *S. typhimurium*, analizaron su crecimiento a 5 días de almacenamiento, determinando una reducción del crecimiento de 2.62 log UFC/cm² a 1.52 log UFC/cm² para *S. typhimurium*, concluyeron que las películas a base de alginato tienen un efecto bacteriostático contra *S. typhimurium* reduciendo su crecimiento. Pavli y col. (2019) evaluaron la actividad antimicrobiana de aceites de orégano en películas comestibles de alginato de sodio para el control biológico de *L. monocytogenes*, encontrando que la película logra una reducción de 1.5 log en la población de *L. monocytogenes* a 8 y 12 °C al final del período de almacenamiento, y una reducción de casi 2.5 log a 4 °C, concluyendo que la película comestible tiene un efecto inhibitorio en la proliferación de bacterias patógenas.

Los resultados obtenidos indican que las películas comestibles elaboradas con harina de cáscara de cacao generan un efecto inhibitorio sobre el crecimiento microbiano tanto en bacterias Gram negativas como en Gram positivas. En ambos casos, los modelos de crecimiento muestran un retraso en la fase de latencia, el cual se mantiene hasta el día 15, en comparación con el jamón control, como se puede observar en las Figuras 6.20 y 6.21, los cuales muestran los ajustes del modelo logístico aplicado a los cultivos microbianos.

En el caso de las bacterias Gram positivas se observa un crecimiento considerablemente más lento respecto a las bacterias gram negativas. Esta diferencia puede explicarse por la estructura de la pared celular característica de cada grupo. Las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa compuesta principalmente por peptidoglicano, pero carecen de una membrana externa lo que las hace más vulnerables a la acción de compuestos antimicrobianos, como los polifenoles presentes en la cáscara de cacao, que

pueden atravesar más fácilmente la pared celular, alterando su integridad estructural y funcional (Cuervo-Parra y col., 2024).

Estos hallazgos son consistentes con investigaciones previas que han reportado una mayor sensibilidad de bacterias Gram positivas a compuestos fenólicos derivados de fuentes vegetales, debido a su estructura celular más simple y permeable (Álvarez-Martínez y col., 2018).

La norma oficial mexicana NOM-158-SCFI-2003, “Jamón-Denominación y clasificación comercial, especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas, organolépticas, información comercial y métodos de prueba”, regula el contenido de microorganismos en jamón, indicando que para bacterias patógenas como *E. coli*, *L. monocytogenes* y *S. typhimurium*, no se acepta ninguna carga microbiana, con excepción de *S. aureus* con 100 UFC/g jamón, esto debido a que este microorganismo forma parte de nuestra microbiota natural en piel y boca (Garzón y col., 2019).

6.9.1 Parámetros cinéticos y porcentaje de inhibición

Los parámetros cinéticos describen el crecimiento de microorganismos de interés, para términos de nuestro estudio y como se detalla en la sección anterior se determinó la tasa específica de crecimiento por medio del modelo logístico (μ) y usando este parámetro se puede determinar el número de generaciones (k) el cual indica que tan rápido se duplica la población microbiana en términos de división celular y el tiempo de duplicación (t_d) que indica el tiempo necesario para que la población microbiana se duplique durante la fase exponencial, como se detalla en las ecuaciones 6.3 y 6.4.

$$k = \frac{\mu}{\ln(2)} \quad \text{Ecuación 6.3}$$

Donde

k = número de generaciones (generaciones/ días)

μ = tasa específica de crecimiento máximo (días⁻¹)

$$t_d = \frac{\ln(2)}{\mu} \quad \text{Ecuación 6.4}$$

Donde

t_d = tiempo de duplicación (días).

μ = tasa específica de crecimiento máximo (días⁻¹)

Para la determinación de la inhibición (%) se utilizaron las tasas específicas de crecimiento (pendientes de gráficas) para cada cepa con el testigo y con película comestible, como se describe en la ecuación 6.5.

$$Inhibicion (\%) = \left(\frac{\mu_{testigo} - \mu_{pelicula}}{\mu_{testigo}} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 6.5}$$

Donde

μ testigo = Tasa específica de crecimiento sin película.

μ película = Tasa específica de crecimiento con película.

En la Tabla 6.20 se muestran los parámetros cinéticos para *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhimurium* en jamón cubierto con película comestible adicionada con harina de cáscara de cacao y sin película comestible que se usa como testigo.

Tabla 6-20 Parámetros cinéticos y de inhibición (%) para cada uno de los microorganismos utilizados.

Microorganismo	Gram	Película		Testigo		Inhibición (%)
		μ (días ⁻¹)	t_d (días)	μ (días ⁻¹)	t_d (días)	
<i>E. coli</i>	-	0.21	3.30	0.37	1.87	40.7
<i>S. typhimurium</i>	-	0.22	3.15	0.38	1.82	40.9
<i>L. monocytogenes</i>	+	0.08	8.66	0.30	2.31	73.1
<i>S. aureus</i>	+	0.11	6.30	0.19	3.65	40.3

μ = tasa específica de crecimiento. t_d =Tiempo de duplicación.

El modelo logístico muestra que la tasa específica de crecimiento es menor para las bacterias gram positivas con película comestible, lo que se refleja en un mayor porcentaje de inhibición t_d

La tasa específica de crecimiento es menor para las bacterias gram positiva esto puede explicarse debido a que estas bacterias no poseen una membrana externa que funcione como barrera protectora, así mismo su pared de peptidoglicano tiene una característica porosa lo que permite una mayor difusión de compuestos polifenólicos presentes en la

harina de cáscara de cacao en la película comestible, alterando la permeabilidad de la membrana plasmática, causando pérdida de integridad, fuga de iones y desbalance osmótico. A diferencia de las bacterias gram negativas, las presenta una doble membrana y el espacio periplásmico extra le confieren una mayor resistencia (Cuervo-Parra y col., 2024).

Los resultados obtenidos muestran que la disminución de la tasa específica de crecimiento microbiano oscila entre el 40 % y el 73 %, esta tendencia sugiere una fuerte eficacia de la película comestible como barrera antimicrobiana, con una acción selectiva frente a bacterias Gram positivas. La gran diferencia de más del 70 % para *L. monocytogenes* puede ser explicada por su pared celular ya que no posee membrana externa la cual actúa como barrera que dificulta la entrada de compuestos, el efecto bacteriostático de la película se le atribuye a los compuestos polifenólicos presentes en la cáscara de cacao lo cual puede provocar disrupción de la integridad de la membrana provocando fuga de componentes, así como interferencia en funciones vitales como respiración celular, síntesis de ATP y transporte de nutrientes. (Benbettaïeb y col., 2018)

Desde una perspectiva tecnológica, esta inhibición representa una ventaja significativa para la conservación del jamón, *L. monocytogenes* es un patógeno relevante en productos listos para el consumo debido a su capacidad para crecer a bajas temperaturas y su alta resistencia a condiciones adversas. Por lo tanto, una reducción cercana al 70 % de su crecimiento puede traducirse directamente en un aumento de la vida útil del producto, al disminuir el riesgo microbiológico durante el almacenamiento.

Rodríguez y col. (2012), evaluaron la eficacia de películas antimicrobianas hechas a partir de suero lácteo y glicerol, contra *L. monocytogenes*, encontrando una inhibición de hasta 4.6 unidades logarítmicas, concluyendo que existe un efecto bactericida de la película en contra de *L. monocytogenes*.

El tiempo de duplicación ($t_d = \text{días}$) para bacterias gram negativas se puede observar que la película comestible alarga el tiempo entre cada división de 1.8 a 3.3 d, esto indica que la película comestible ralentiza el ciclo celular de *E. coli* y *S. typhimurium*, para *L. monocytogenes* el tiempo entre de duplicación aumenta de 2.3 a 8.7 y finalmente para *S. aureus* el tiempo de duplicación aumenta de 3.6 a 6.3, si bien para todos los microorganismos estudiados el tiempo de duplicación aumenta, el mayor aumento es para *L. monocytogenes*.

Conclusiones parciales

Los resultados obtenidos en esta sección nos indican que la incorporación de harinas de cáscara de cacao y pulpa de café en la formulación de películas comestibles genera materiales biodegradables con características fisicoquímicas diferenciadas y potencial de aplicación en la conservación de productos cárnicos. Entre las formulaciones evaluadas, la película adicionada con harina de cáscara de cacao mostró el mejor desempeño general, destacándose por su mayor resistencia mecánica, adecuada elasticidad, buena capacidad de barrera al tener menor permeabilidad al vapor de agua y la opacidad más alta, lo que refuerza su capacidad protectora frente a luz y oxígeno.

Al aplicarla como recubrimiento activo, la película de cáscara de cacao evidenció un efecto protector claro sobre el jamón, la rancidez oxidativa se redujo de manera significativa durante los 30 días de almacenamiento, especialmente en las primeras dos semanas, mostrando niveles de malonaldehído hasta 60 % menores que el testigo. Este comportamiento se relaciona tanto con la barrera física como con la acción antioxidante de los polifenoles presentes en la cáscara de cacao. En cuanto al color, la película permitió preservar mejor la estabilidad del complejo nitrosil-mioglobina, retrasando la pérdida del tono rosado característico del jamón y moderando los incrementos de luminosidad asociados al deterioro proteico y oxidativo. Este efecto sugiere una protección frente a la fotooxidación y la desnaturalización proteica, factores clave en la percepción de frescura. En el análisis de humedad el jamón recubierto presentó valores menores con respecto al testigo, lo cual podría atribuirse a la capacidad higroscópica de la fibra de la cáscara de cacao.

El análisis de crecimiento microbiano, el cual fue analizado mediante el modelo logístico, complementado con los parámetros cinéticos de crecimiento, evidencia que la película comestible adicionada con cáscara de cacao provoca un retraso marcado en la fase de latencia durante los primeros 15 días de almacenamiento y reduce de manera consistente la tasa específica de crecimiento microbiano respecto al testigo sin película, en términos cuantitativos, la inhibición del crecimiento osciló entre 40 % y 73 %, siendo más pronunciada para la cepa de *L. monocytogenes*, lo cual es especialmente relevante dada su importancia en productos listos para consumo y su capacidad de proliferar a bajas temperaturas, la susceptibilidad de las bacterias Gram positivas puede atribuirse a su pared celular más simple y permeable, que facilita la acción de los compuestos polifenólicos presentes en la cáscara de cacao, los cuales alteran la integridad de la membrana celular, finalmente los

resultados obtenidos coinciden con estudios previos que reportan efectos bacteriostáticos en películas comestibles adicionadas con compuestos bioactivos.

En conjunto, los resultados confirman que la película comestible elaborada con harina de cáscara de cacao actúa como un recubrimiento funcional capaz de mejorar la estabilidad oxidativa, sensorial, visual y microbiológica al retrasar el crecimiento de patógenos, prolongar la vida útil del jamón y contribuir al cumplimiento de los estándares microbiológicos establecidos, además, su formulación basada en residuos agroindustriales la convierte en una alternativa sostenible, alineada con los principios de economía circular y reducción de materiales sintéticos. De esta manera, se valida su aplicabilidad como estrategia para prolongar la vida útil de productos cárnicos, reducir desperdicios y aportar valor agregado a subproductos agrícolas subutilizados.

7. Conclusiones

El presente estudio demuestra que tanto la pulpa de café como la cáscara de cacao representan coproductos agroindustriales con un elevado potencial de aprovechamiento como fuentes alternativas de compuestos funcionales, las cuales se utilizaron para diseñar una película comestible que cubrió un producto cárnico (jamón cocido) cumpliendo así con el objetivo planteado.

En primer lugar, el análisis bromatológico confirmó que ambos coproductos presentan una buena composición nutricional con elevados contenidos de proteína, grasa, cenizas, azúcares fermentables y fibra lo que le confiere propiedades benéficas para la salud intestinal. Para el análisis microbiológico las cargas microbianas se reportaron dentro de los rangos aceptables para su aprovechamiento. Estas características respaldan su viabilidad como materias primas seguras y funcionales

La cuantificación de polifenoles y la determinación de la actividad antioxidante mostraron perfiles diferenciados: la pulpa de café se distinguió por su riqueza en ácidos hidroxycinámicos como son ácido clorogénico y ácido cafeico, mientras que la cáscara de cacao presentó mayores niveles de polifenoles totales, flavonoides y taninos condensados, lo que se tradujo en una mayor capacidad antioxidante. Este hallazgo subraya que, aunque ambas matrices aportan bioactividad, sus aplicaciones pueden orientarse de manera específica según el perfil fenólico.

En relación con la actividad prebiótica ambos coproductos demostraron favorecer el crecimiento de bacterias benéficas y la producción de ácidos grasos de cadena corta, lo que los coloca como candidato a prebiótico. Demostraron actividad antimicrobiana y antifúngicas teniendo efectos inhibitorios frente a bacterias y hongos patógenos de alimentos.

En conjunto, los resultados permiten concluir que la pulpa de café y la cáscara de cacao son coproductos agroindustriales con un alto valor agregado, capaces de aportar fibra, antioxidantes, compuestos antimicrobianos y prebióticos que no solo fortalecen la sustentabilidad y la economía circular, sino que además abren la posibilidad de desarrollar películas comestibles funcionales con aplicaciones directas en la conservación y mejora de productos cárnicos.

La evaluación comparativa de las películas comestibles elaboradas con harina de pulpa de café y cáscara de cacao mostró diferencias notables en sus propiedades mecánicas, de barrera y funcionales. La película adicionada con harina de cáscara de cacao presentó desempeño mecánico, elongación alta, fuerza de extensión adecuada, y buena opacidad, lo que le confiere una mayor capacidad de protección frente al paso de la luz. Si bien su permeabilidad al vapor de agua fue elevada lo que restringe su biodegradabilidad sigue siendo adecuada para aplicaciones de recubrimiento. Considerando estas propiedades junto con su contenido de polifenoles, actividad antioxidante y potencial prebiótico, la película de cáscara de cacao representa la alternativa más adecuada para el envasado y protección de alimentos como el jamón cocido, contribuyendo a la innovación en materiales biodegradables.

La aplicación de películas comestibles adicionadas con harina de cáscara de cacao en jamón cocido mostró un efecto protector significativo sobre la calidad del producto durante el almacenamiento. En términos de rancidez oxidativa, los resultados evidenciaron una disminución en la formación de malonaldehído respecto al testigo, lo que confirma la actividad antioxidante de los polifenoles presentes en la cáscara de cacao y la función de la película como barrera física frente al oxígeno. En cuanto a la humedad, el jamón cubierto con película presentó valores más bajos, lo que puede atribuirse a la capacidad higroscópica de la fibra de la cáscara de cacao, generando una textura más firme con el tiempo. Finalmente, en el análisis de color, el recubrimiento permitió mantener la estabilidad de los parámetros asociados a la frescura y aceptabilidad visual, retrasando la pérdida del tono rojizo característico y protegiendo el complejo nitrosilmioglobina. En conjunto, estos resultados demuestran que la incorporación de películas comestibles con harina de cáscara de cacao contribuye a retrasar los procesos de deterioro oxidativo, preservar atributos sensoriales y prolongar la vida útil del jamón cocido.

En cuanto a la textura, se observó un incremento progresivo en la dureza del jamón con película respecto al testigo, alcanzando valores significativamente más altos al final del almacenamiento, lo cual puede explicarse por la capacidad higroscópica de la cáscara de cacao que favorece la pérdida de humedad. Sin embargo, en cohesividad y adhesividad no se detectaron diferencias significativas, manteniéndose valores estables que aseguran la estructura y calidad del producto. En el caso de la elasticidad, se registró una disminución más marcada en el jamón con película, lo que sugiere cierta rigidez asociada a la interacción del recubrimiento con el alimento. El análisis sensorial mostró diferencias en el sabor entre

el jamón recubierto y el testigo, el cual se detectó desde el inicio y que se mantuvo constante durante el almacenamiento. Las muestras recubiertas fueron descritas como menos saladas y ligeramente más pastosas, efecto atribuible a la capacidad de absorción de agua de la harina de cáscara de cacao. En conjunto, los resultados sugieren que la película comestible de cáscara de cacao modifica algunos atributos de textura y sabor, sin comprometer la aceptabilidad del jamón, además de aportar un valor agregado como recubrimiento biodegradable y funcional para la conservación de productos cárnicos.

La aplicación de películas comestibles adicionadas con harina de cáscara de cacao en jamón mostró un efecto antimicrobiano notable frente a bacterias patógenas, este efecto puede atribuirse tanto a la acción de los polifenoles presentes en la cáscara de cacao, capaces de alterar la permeabilidad y funcionalidad de la membrana celular, como a la función de la película como barrera física que limita el acceso de oxígeno y humedad. El análisis cinético reveló que la película comestible no solo reduce la tasa específica de crecimiento (μ), sino que también prolonga el tiempo de duplicación (t_d), lo que indica un efecto bacteriostático que retrasa la proliferación microbiana, especialmente durante los primeros 15 días de almacenamiento. La acción diferencial observada entre bacterias Gram positivas y negativas se relaciona con las diferencias estructurales de su pared celular, siendo las Gram positivas más susceptibles debido a su mayor porosidad y ausencia de membrana externa protectora. Desde el punto de vista tecnológico, estos resultados sugieren que las películas comestibles de cáscara de cacao constituyen una estrategia eficaz y sustentable para mejorar la inocuidad y prolongar la vida útil del jamón, reduciendo riesgos microbiológicos asociados a patógenos relevantes en productos listos para el consumo.

Perspectivas

Evaluar la adición de microorganismos probióticos para el desarrollo de una película simbiótica.

Evaluar la biodegradabilidad del material en condiciones ambientales e industriales con el fin de estimar el impacto ecológico y su potencial de integración en sistemas de economía circular.

8. Referencias

1. Abreu, A. A. Y., Milke-García, M., Argüello-Arévalo, G., La Barca, A. C., Carmona-Sánchez, R., Consuelo-Sánchez, A., Coss-Adame, E., García-Cedillo, M., Hernández-Rosiles, V., Icaza-Chávez, M., Martínez-Medina, J., Morán-Ramos, S., Ochoa-Ortiz, E., Reyes-Apodaca, M., Rivera-Flores, R., Zamarripa-Dorsey, F., Zárate-Mondragón, F., & Vázquez-Frias, R. (2021). Fibra dietaria y microbiota, revisión narrativa de un grupo de expertos de la Asociación Mexicana de Gastroenterología. *Revista de Gastroenterología de México*, 86(3), 287-304. <https://doi.org/10.1016/j.rgm.2021.02.004>.
2. Adilah, A. N., Jamilah, B., Noranizan, M., & Hanani, Z. N. (2018). Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. *Food Packaging And Shelf Life*, 16, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.006>
3. Aguirre, A. L., Rodríguez, Z., Saca, V. & Apolo, V. (2018). Bromatological characterization of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp for animal feeding purposes. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52 (2), 165-172.
4. Agus, B. A. P., Mohamad, N. N., & Hussain, N. (2018). Correction to: Composition of unfermented, unroasted, roasted cocoa beans and cocoa shells from Peninsular Malaysia. *Journal Of Food Measurement & Characterization*, 12(4), 2590. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9923-0>
5. Aiello, A., Pizzolongo, F., De Luca, L., Blaiotta, G., Aponte, M., Addeo, F., & Romano, R. (2023). Production of butyric acid by different strains of *Lactobacillus plantarum* (*Lactiplantibacillus plantarum*). *International Dairy Journal*, 140, 105589. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105589>
6. Alcalde, B., Granados, M., & Saurina, J. (2019). Exploring the Antioxidant Features of Polyphenols by Spectroscopic and Electrochemical Methods. *Antioxidants*, 8(11), 523. <https://doi.org/10.3390/antiox8110523>
7. Almeida -Alvarado, L. S., Aguilar-López, T. & Hervet -Hernández, D. (2014). La fibra y sus beneficios a la salud. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 27(1), 73-76.
8. Alvarado-Ambriz, S., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, L., Vernon-Carter, E. J. (2020). Wet processing coffee waste as an alternative to produce extracts with antifungal activity: *In vitro* and *in vivo* valorization. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(1), 135-149. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio1612>
9. Álvarez-Martínez, F. J., Barraji n-Catal n, E., Encinar, J. A., Rodr guez-D az, J. C., & Micol, V. (2018). Antimicrobial Capacity of Plant Polyphenols against Gram-positive

- Bacteria: A Comprehensive Review. *Current Medicinal Chemistry*, 27(15), 2576-2606. <https://doi.org/10.2174/0929867325666181008115650>
10. Amaral, A. B., Da Silva, M. V., & Da Silva Lannes, S. C. (2018). Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. *Food Science and Technology*, 38(suppl 1), 1-15. <https://doi.org/10.1590/fst.32518>
 11. Ameca, G. M., Cerrilla, M. E. O., Córdoba, P. Z., Cruz, A. D., Hernández, M. S., & Haro, J. H. (2018). Chemical composition and antioxidant capacity of coffee pulp. *Ciencia E Agrotecnologia*, 42(3), 307-313. <https://doi.org/10.1590/1413-70542018423000818>
 12. Anchundia, K., Santacruz, S. & Coloma, J. (2016). Caracterización física de películas comestibles a base de cáscara de plátano (*Musa paradisiaca*). *Revista Chilena de Nutrición*, 43(4), 394-399. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000400009>
 13. AOAC Internacional. AOAC. Official Methods of Analysis (1996) Association of Official Analytical Chemists (16 th ed.) Washington, DC.
 14. Argai, A., Pérez-Vega, O., & López-Malo, A. (2005). Sensory Detection of Cooked Flavor Development during Pasteurization of a Guava Beverage Using R-index. *Journal of Food Science*, 70(2), S149-S152. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07120.x>
 15. Ashaolu, T. J., Ashaolu, J. O., & Adeyeye, S. A. O. (2021). Fermentation of prebiotics by human colonic microbiota in vitro and short-chain fatty acids production: a critical review. *Journal of Applied Microbiology*, 130(3), 677–687. <https://doi.org/10.1111/jam.14843>
 16. Azeredo, H. M., & Waldron, K. W. (2016). Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact – A review. *Trends In Food Science & Technology*, 52, 109-122. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.04.008>
 17. Batista M. J. P. A., Marques M.B.F., Franca A. S. & Oliveira L. S. (2023). Development of Films from Spent Coffee Grounds' Polysaccharides Crosslinked with Calcium Ions and 1,4 Phenylenediboronic Acid: A Comparative Analysis of Film Properties and Biodegradability. *Foods*, 12 (2520). <https://doi.org/10.3390/foods12132520>.
 18. Bauer, A. W., Kirby, W.M. M. Sherris, J. C. & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45 (4), 493–496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493.

19. 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>
20. Benbettaïeb, N., Debeaufort, F., & Karbowiak, T. (2018). Bioactive edible films for food applications: mechanisms of antimicrobial and antioxidant activity. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 59(21), 3431-3455. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1494132>
21. Bernardi, M. D. & Augusto de Oliveira, R. (2023). Functional and technological properties of coffee mucilage (*Coffea arabica*) and its application in edible films. *Química Nova*, 46(8) 1-7. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20230052>
22. Bertelli, A., Biagi, M., Corsini, M., Baini, G., Cappellucci, G., Miraldi, E. (2021). Polyphenols: From theory to practice. *Foods*, 10(11), 2595. <https://doi.org/10.3390/foods10112595>.
23. Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A., & Kenny, J. (2013). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol–chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463-470. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.002>
24. Borycka-Kiciak, K., Banasiewicz, T. & Rydzewska, G. (2017). Butyric acid – a well-known molecule revisited. *Gastroenterology Review*, 12 (2), 83-89. <https://doi.org/10.5114/pg.2017.68342>.
25. Botella-Martínez, C., Lucas-González, R., Ballester-Costa, C., Pérez-Álvarez, J. Á., Fernández-López, J., Delgado-Ospina, J., Chaves-López, C. & Viuda-Martos, M. (2021). Ghanaian Cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells coproducts: effect of particle size on chemical composition, bioactive compound content and antioxidant activity. *Agronomy*, 11(2), 401. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020401>.
26. Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62-66.
27. Burgos B. G., Alcivar C. U., Suárez M. A. & Zambrano A. A. (2020). Evaluaciones técnicas de enriquecimiento de harina de trigo con cáscara de cacao (*Teobroma cacao*). *Revista colón ciencias, tecnología y negocios*, 7(2), 20-36.
28. Cañas, S., Rebollo-Hernanz, M., Braojos, C., Benítez, V., Ferreras-Charro, R., Dueñas, M., Aguilera, Y. & Martín-Cabrejas, M.A. (2022). Understanding the gastrointestinal behavior of the coffee pulp phenolic compounds under simulated conditions. *Antioxidants*, 11, 1818. <https://doi.org/10.3390/antiox11091818>
29. Cañas, S., Rebollo-Hernanz, M., Cano-Muñoz, P., Aguilar, Y., Benítez, V., Braojos, C., Gila-Díaz, A., Rodríguez-Rodríguez, P., Moneda, C. I., López de Pablo, Á. L.,

- González, M. C., Arribas, M. S. & Martin-Cabrejas, M. A. (2021). Critical evaluation of coffee pulp as an innovative antioxidant dietary fiber ingredient: nutritional value, functional properties, and acute and sub-chronic toxicity. *Proceedings* 70 (60), 1-8. https://doi.org/10.3390/foods_2020-07623
30. Castaldo, L., Graziani, G., Gaspari, A., Izzo, C., Mañes, J., Rubino, M., Meca, G. & Ritieni, A. (2018). Study of the chemical components, bioactivity and antifungal properties of the coffee husk. *Journal of Food Research*, 7(4), 43-54. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n4p43>.
 31. Castañeda, G. C. & Del Monte, M. A. (2015). Prebióticos y sus beneficios en la alimentación. *Revista Gastrohnup*, 17, 18-25.
 32. Castañeda-Guillot, C. D. (2017). Microbiota intestinal, probióticos y prebióticos. *Enfermería Investiga*, 2(4), 156-160. <http://doi.org/10.29033/ei.v2n4.2017.07>
 33. Chaffa, A. L., Rodríguez, Z., Boucourt, R. & Torres, V. (2016). Bromatological characterization of cocoa Shell (*Theobroma cacao*), from seven cantons of the Amazonia, Ecuador. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50 (2), 245-252.
 34. Chen, H., Wang, J., Cheng, Y., Wang, C., Liu, H., Bian, H., Pan, Y., Sun, J. & Han, W. (2019). Application of protein-based films and coatings for food packaging: a review. *Polymers*, 11(12), 2039. <https://doi.org/10.3390/polym11122039>
 35. Collazo-Bigliardi, S., Ortega-Toro, R., & Chiralt, A. (2019). Using lignocellulosic fractions of coffee husk to improve properties of compatibilised starch-PLA blend films. *Food Packaging And Shelf Life*, 22, 100423. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100423>
 36. Combs, C. A. (2016). Tannins: biochemistry, food sources and nutritional properties. *Nova Science Publishers*.
 37. Cruzalegui, J. R., Güivin, O., Fernández-Jeri, B. A. & Cruz, R. (2021). Caracterización de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de pulpa de café (*Coffea arabica* L.) deshidratada de tres fincas cafeteras de la región Amazonas (Perú). *Información tecnológica*, 32 (5), 157-166. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642021000500157>.
 38. Cuervo-Parra J. A., Aparicio-Burgos E. J., Pérez-España H. V., Morales-Ovando A. M., Peralta-Gil M. & Romeo-Cortes T. (2024). Bioquímica de pared celular de Gram positivas y Gram negativas Gram-positive and Gram-negative cell wall biochemistry. *Pädi boletín científico de ciencias básicas e ingenierías del ICBI*, 12(23): 1-8. DOI: <https://doi.org/10.29057/icbi.v12i23.11450>

39. De Ávila, M. D. R., Cambero, M. I., Ordóñez, J. A., De la Hoz, L., & Herrero, A. M. (2014). Rheological behaviour of commercial cooked meat products evaluated by tensile test and texture profile analysis (TPA). *Meat Science*, 98(2), 310-315. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.003>
40. Delgado-Ospina, J., Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., Martuscelli, M. & Chávez-López, C. (2021). Bioactive compounds and techno-functional properties of high-fiber co-products of the cacao agroindustrial chain. *Heliyon*, 7(4), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06799>
41. Desvita, H., Faisal, M., Mahidin M. & Suhendrayatna, S. (2021). Preliminary study on the antibacterial activity of liquid smoke from cacao pod shells (*Theobroma cacao* L.). Conference Series: *Materials Science and Engineering*. 1098, 022004. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1098/2/022004>.
42. Diario oficial de federación. (2003). NOM-158-SCFI-2003. *Jamón-Denominación y clasificación comercial, especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas, organolépticas, información comercial y métodos de prueba*. [https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=691922&fecha=14/08/2003#gsc.tab=0] (15 mayo 2025).
43. Díaz-Hernández, G. C., Alvarez-Fitz, P., Maldonado-Astudillo, Y. I., Jiménez-Hernández, J., Parra-Rojas, I., Flores-Alfaro, E., Salazar, R., & Ramírez, M. (2022). Antibacterial, antiradical and antiproliferative potential of green, roasted, and spent coffee extracts. *Applied Sciences*, 12(4), 1938. <https://doi.org/10.3390/app12041938>
44. Diaz-Montes, E. & Castro-Muñoz, R. (2021). Edible films and coatings as food-quality preservers: an overview. *Foods*, 10 (249). <https://doi.org/10.3390/foods10020249>
45. Díaz-Vela, J., Totosaus, A., Cruz-Guerrero, S. E. & Pérez-Chabela, M. L. (2013), In vitro evaluation of the fermentation of added-value agroindustrial by-products: cactus pear (*Opuntia ficus indica* L.) peel and pineapple (*Ananas comosus*) peel as functional ingredients. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(7), 1460-1467. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12113>.
46. Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. *Antioxidants*, 8(10), 429. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>.
47. Duangjai, A., Suphrom, N., Wungrath, J., Ontawong, A., Nuengchamnong, N., & Yosboonruang, A. (2016). Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and

- chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 324–331. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.09.001>
48. Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
 49. Duong, B., Marraccini, P., Maeght, J. L., Vaast P., Lebrun, M. & Duponnois, R. (2020). Coffee microbiota and its potential use in sustainable crop management. A review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 607935. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.607935>.
 50. Ebrahimi, S., Fathi, M., & Kadivar, M. (2019). Production and characterization of chitosan-gelatin nanofibers by nozzle-less electrospinning and their application to enhance edible film's properties. *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100387. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100387>
 51. Edwards, C. (2003). GUMS | Dietary Importance. En *Elsevier eBooks* (pp. 3007-3012). <https://doi.org/10.1016/b0-12-227055-x/00575-7>
 52. Engels, C., KnöDler, M., Zhao, Y., Carle, R., Gänzle, M. G., & Schieber, A. (2009). Antimicrobial Activity of Gallotannins Isolated from Mango (*Mangifera indica* L.) Kernels. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 57(17), 7712-7718. <https://doi.org/10.1021/jf901621m>
 53. Esfahani, A., Mohammadi, N. A., Baghaei, H. & Nouri, L. (2022). Fabrication and characterization of a smart film based on cassava starch and pomegranate peel powder for monitoring *lamb meat freshness*. *Food Science & Nutrition*, 10, 3293–3301. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2918>
 54. Esquivel, P. & Jiménez, V. M. (2011). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2), 488-495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>
 55. Etchegaray, M.J., Hidalgo, S., Gallardo R., Solar, P. & Philipi, D. (2017). Ingredientes funcionales: una nueva industria para chile. *Innova + agro*, 2(5), 3-96.
 56. Evangelista, S. R., Da Cruz Pedroso Miguel, M. G., Silva, C. F., Pinheiro, A. C. M., & Schwan, R. F. (2015). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal Of Food Microbiology*, 210, 102-112. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.008>

57. Fierro-Cabrales, N., Contreras-Oliva, A., González-Ríos, O., Rosas-Mendoza, E. S. & Morales-Ramos, V. (2018). Chemical and nutritional characterization of coffee pulp (*Coffea arabica* L.). *Agroproductividad*, 11(4), 9-13.
58. Fioravante Guerra, A., Gava Barreto, A., Rodrigues Viviani, I., Marques Costa, L., Alberto Guerra, C., Corich, V., Giacomini, A., & Lemos Junior, W. J. F. (2024). Impact of a Biopreservative Derived from Lactic Fermentation on Quality after Food Processing: A Case Study on Sliced Cooked Ham. *Fermentation*. 10(7), 336. <https://doi.org/10.3390/fermentation10070336>
59. Fontela C., López G., Ríos G. & Martínez G. (2006). Relación entre los parámetros sensoriales, fisicoquímicos e instrumentales en el jamón cocido. *Analecta veterinaria*, 22: 67-78.
60. Frometa, R. A. R., Sánchez, L. J. T & García, R. M. J. (2020). Evaluation of coffee pulp as substrate for polygalacturonase production in solid state fermentation. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(2), 117-124. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i2.2068>
61. Gaime-Perraud L., Roussos S. & Martinez-Carrera, D. (1993). Endogenous microflora of fresh coffee pulp. *Mycology Neotropical Applied*, 6, 95-103.
62. García, R. (2011). Evaluación de las respuestas fisicoquímicas y microbiológicas de un ensilado de pulpa de café (*Coffea arabica*) aplicando la metodología de superficie de respuesta. *Agroindustrial*. 1-14.
63. Garzón, J. P., Martinez, S. R., & Molina, L. M. (2019). Staphylococcus aureus. *Nova*, 17(32), 25-38. <https://doi.org/10.22490/24629448.3631>
64. Gennadios, A., Weller, C. & Testin, R. F. (1993). Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. *Journal of Food Science*, 58(1), 212-214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03247.x>.
65. Gibson, G. R. & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-12. <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>.
66. Gibson, G.R. (1999). Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. *The Journal of Nutrition*, 129 (7), 1438-1441. <https://doi: 10.1093/jn/129.7.1438S>.
67. Gill, K. S., Rossi, M., Bajka, B. & Whelan, K. (2020). Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18 (2), 101-116. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00375-4>.

68. Gómez, H. C., Mazo, M. P., Penagos, V. L., Serpa, G. A., Eceiza, A., Urbina, L., Velázquez-Cock, J., Gañan, R. P., Vélez, A. & Zuluaga, R. (2020). Cocoa shell: an industrial by-product for the preparation of suspensions of holocellulose nanofibers and fat. *Cellulose*, 27, 10873-10884. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03222-6>
69. Gontard, N., Guilbert, S. & Cuq, J. L. (1993). Water and glycerol as plasticizer affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, 58, 206-211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x>
70. Gonzáles, H. M. I., Suárez, M. H. & Martínez, A. L. O. (2009). Relación entre las características fisicoquímicas y sensoriales en jamón de cerdo durante el proceso de cocción y temperatura de almacenamiento. *Revista de la facultad de química farmacéutica*, 16(2), 183-189.
71. Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal Of Biological Chemistry*, 177(2), 751-766. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)57021-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)57021-6)
72. Granato, D. (2022). Functional foods to counterbalance low-grade inflammation and oxidative stress in cardiovascular diseases: A multilayered strategy combining food and health sciences. *Current Opinion in Food Science*, 47, 100894. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100894>.
73. Haile, D. M., De Smet, S., Claeys, E., & Vossen, E. (2013). Effect of light, packaging condition and dark storage durations on colour and lipid oxidative stability of cooked ham. *Journal Of Food Science and Technology*, 50(2), 239-247. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0352-x>
74. Han, X., Ma, Y., Ding, S., Fang, J. & Liu, G. (2023). Regulation of dietary fiber on intestinal microorganisms and its effects on animal health. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 22 (14), 356-369. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.06.004>.
75. Handojo, L. Triharyogi H, Indarto A. 2019. Cocoa bean shell waste as potential raw material for dietary fiber powder. *International Journal of Recyclin of Organic Waste in Agriculture*, (S1), 485–49. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-0271-9>.
76. Hassou, A., Cropotova, J., Trif, M., Rusu, A.V., Bobis, O., Nayik, G. A., Jagdale, Y. D., Saeed, F., Afzaal, M., Mostashari, P., Khaneghah, M. A. & Regenstein, M. J. (2022). Consumer acceptance of new food trends resulting from the fourth industrial revolution technologies: A narrative review of literature and future perspectives. *Frontiers in Nutrition*, 9: 972154. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.972154>.

77. Heeger, A., Kosinska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E. & Andlauer, W. (2017). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221, 969–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>.
78. Henrique, B. R., Oliveira, L. de C., Lima, T. A. A. & Cristianini, M. (2022). Techno-functional properties of coffee by-products are modified by dynamic high pressure: A case study of clean label ingredients in cookies. *LWT Food Science and Technology*, 154, 112601. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112601>.
79. Hernández-Alcántara, M. A., Totosaús, A. & Pérez-Chabela, M.L. (2016). Evaluation of agroindustrial co-products as source of bioactive compounds: fiber, antioxidants and prebiotic. *Acta Universitaria Cibiensis series E: Food technology*, 20(2), 1-15. <https://doi.org/10.1515/auaft-2016-0011>.
80. Herrera-Rengifo, D. J., Villa-Prieto, L., Olaya-Cabrera, C. A. & García-Alzate, L. S. (2020). Extracción de almidón de cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.) como alternativa de bioprospección. *Revista ION*, 33(2), 25-34. <https://doi.org/10.18273/revion.v33n2-2020002>
81. Hipsley, E. (1953). Dietary Fiber and pregnancy toxemia. *British Medical Journal*, 2, 420 – 422. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.4833.420>.
82. Huebner, J., Wehling, R. L. & Hutkins, R. W. (2007). Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17(7), 770-775. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.10.006>.
83. Huerta-Madroñal, M., Aguilar, R. M. & Vázquez-Lasa, B. (2022). Polifenoles: Propiedades y papel en desarrollos biomédicos. *Revista de Plásticos Modernos*, 123(775), 23-29.
84. Huertas-Molina, O. F., Londoño-Vásquez, D. & Olivera-Angel, M. (2020). Hiperce-tonemia: bioquímica de la producción de ácidos grasos volátiles y su metabolismo hepático. *Revista U D C A Actualidad & Divulgación Científica*, 23 (1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n1.2020.1304>.
85. Hutasoit, C., Setyaningsih, Y. & Pramono, A. (2020). Antifungal effectiveness of cacao bean shell extract (*Theobroma cocoa* L.) on *Trichophyton rubrum* in vitro. *Biomedika*, 12(2), 65-71. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v12i2.1017>.
86. Jaisan, C. & Punbusayakul, N. (2016). Development of coffee pulp extract-incorporated chitosan film and its antimicrobial and antioxidant activities. *Khon Kaen University Research Journal*, 22 (1), 140-149. <https://doi.org/10.14456/kkurj.2016.17>.

87. Kareena, A., Siripongvutikorn, S., Usawakesmanee, W. & Wichienchot, S. (2021). *In vitro* evaluation of probiotic bacteria and yeast growth, pH, changes and metabolites produced in a pure culture system using protein base products with various added carbon sources. *Food Science and Technology Campinas*, 42, 1-10. <https://doi.org/10.1590/fst.18321>
88. Kayaputri, L. I., Djali, M., Sukri, N., & Fazaryasti, R. H. (2020). The antimicrobial effectiveness of cacao shell and cacao husk combination on inhibition of pathogenic bacteria in food products. *IOP Conference. Series: Earth and Environmental Science.*, 443, 012077. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/443/1/012077>
89. Khezrian, A. & Shahbazi, Y. (2018). Application of nanocomposite chitosan and carboxymethyl cellulose films containing natural preservative compounds in minced camel's meat. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 1146-1158. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.117>
90. Kolida, S. & Gibson, G. R (2007). Prebiotic capacity of inulin-type fructans. *The Journal of Nutrition*, 137, 2503S-2506. <https://doi.org/10.1093/jn/137.11.2503s>
91. Kotlyarov, S. (2022). Role of short-chain fatty acids produced by gut microbiota in innate lung immunity and pathogenesis of the heterogeneous course of chronic obstructive pulmonary disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (9), 4768. <https://doi.org/10.3390/ijms23094768>
92. Kumar, V., Hasan, M., Mangaraj, S., Pravitha, M., Verma, D. K. & Srivastav, P. P. (2022). Trends in edible packaging films and its prospective future in food: a review. *Applied Food Research*, 2(1), 100118. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100118>.
93. Lacerda, D. C., Urquiza-Martínez, M.V., Manhaes-de-Castro, R., Visco, B. C., Derosier C., Mercado-Camargo, R., Torner, L., Toscano, A. E. & Guzmán-Quevedo, O. (2022). Metabolic and neurological consequences of the treatment with polyphenols: a systematic review in rodent models of noncommunicable diseases. *Nutritional Neuroscience*, 25 (8), 1680-1696. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2021.1891614>
94. Lakey-Beita, J., Burillo, M. A., Penna, L. G., Hegde, M. & Rao K. S. (2020). Polyphenols as potential metal chelation compounds against alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 82(1), 335-337. <https://doi.org/10.3233/JAD-200185>.
95. Lawlor, J., Sheehy, P., Kerry, J., Buckley, D., & Morrissey, P. (2000). Measuring Oxidative Stability of Beef Muscles Obtained from Animals Supplemented with

- Vitamin E Using Conventional and Derivative Spectrophotometry. *Journal Of Food Science*, 65(7), 1138-1141. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10253.x>
96. Lecumberri, E., Mateos, R., Izquierdo-Pulido, M., Rupérez, P., Goya, L., & Bravo, L. (2007). Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry*, 104(3), 948–954. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.054>
 97. Lee, H., & Van Hout, D. (2009). Quantification of Sensory and Food Quality: The R-Index Analysis. *Journal Of Food Science*, 74(6). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01204.x>
 98. Lee, H., Van Hout, D., & Hautus, M. (2007). Comparison of performance in the A–Not A, 2-AFC, and same–different tests for the flavor discrimination of margarines: The effect of cognitive decision strategies. *Food Quality and Preference*, 18(6), 920-928. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2007.03.008>
 99. Lessa, O. A., De Carvalho Tavares, I. M., Souza, L. O., Tienne, L.G., Días, M. C., Tonoli, G. H., Vilas, d B. B. E. V., Leite, S. G., Gutarra, M. L., Irfan, M., Bilal, M. & Franco, M. (2021b). New biodegradable film produced from cocoa shell nanofibrils containing bioactive compounds. *Journal of Coatings Technology and Research*, 18(6), 1613 – 1624. <https://doi.org/10.1007/s11998-021-00519-4>.
 100. Li-Jiaxu., Zhang, X. Jiale, L. V., Yang, J., Liu, X., Zhang, X. & Zhang, W. (2024). Fabrication and characterization of blue honeysuckle anthocyanins-loaded nanocomposite films and the application in pork preservation. *Food Hydrocolloids*, 149, 109600. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109600>.
 101. Li-Min., Guo, L., Mu, Y., Huang, X., Jin, L., Xu, Q. & Wang, Y. (2024). Gelatin films reinforced by tannin-nanocellulose microgel with improved mechanical and barrier properties for sustainable active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 149, 109642. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109642>
 102. Little, A. (1975). Off on a tangent. *Journal of Food Science*, 40, 410-411. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb02213.x>.
 103. Liu, M., Li, X. Q., Weber, C., Lee, C. Y., Brown, J. & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2926-2930. <https://doi.org/10.1021/jf0111209>
 104. Lobiuc, A., Pavăl, N. E., Mangalagiu, I. I., Gheorghită, R., Teliban, G. C., Amăriucăi-Mantu, D. & Stoleru, V. (2023). Future antimicrobials: natural and functionalized phenolics. *Molecules*, 28(3), 1114. <https://doi.org/10.3390/molecules28031114>.

105. Lu, F., Rodriguez-Garcia, J., Van Damme, I., Westwood, N. J., Shaw, L., Robinson, J. S., Warren, G., Chatzifragkou, A., Mason, S. M., Gomez, L., Faas, L., Balcombe, K., Srinivasan, C., Picchioni, F., Hadley, P., & Charalampopoulos, D. (2018). Valorisation strategies for cocoa pod husk and its fractions. *Current Opinion In Green and Sustainable Chemistry*, 14, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.07.007>
106. Lubis M., Gana A., Maysarah S., Ginting M. H. S. & Harahap M. B. (2018). Production of bioplastic from jackfruit seed starch (*Artocarpus heterophyllus*) reinforced with microcrystalline cellulose from cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) using glycerol as plasticizer. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 309 (012100). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/309/1/012100>
107. Maceda, A, Soto-Hernández, M., Peña-Valdivia, C. B., Trejo, C. & Terrazas, T. (2021). Lignina: composición, síntesis y evolución. *Madera y Bosques*, 27(2). E2137 <https://doi.org/10.21829/myb.2021.2722137>
108. Machado, M., Espírito, S. L., Machado, S., Lobo, J. C., Costa, A. S. G., Oliveira, P. P. B. M., Ferreira, H. & Alvares, C. R. (2023). Bioactive potential and chemical composition of coffee by-products: from pulp to silverskin. *Foods*, 12, 2354. <https://doi.org/10.3390/foods12122354>
109. Manasa, V., Padmanabhan, A. & Appaiah, A. K. S. (2021). Utilization of coffee pulp waste for rapid recovery of pectin and polyphenols for sustainable material recycle. *Waste Management*, 12, 2354 762-771. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.10.045>
110. Manderson, K., Pinart, M., Tuohy, K. M, Grace, W. E., Hotchkiss, A. T., Widmer, W., Yadhav, P. M., Gibson, G. R. & Rastall, R. A. (2005). *In vitro* determination of prebiotic properties of oligosaccharides derived from an orange juice manufacturing by-product stream. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (12), 8383-8389.
111. Mandić, L., Sadžak, A., Strasser, V., Baranović, G., Jurašin, D. D., Sikirić, M. D. & Šegota, S. (2019). Enhanced protection of biological membranes during lipid peroxidation: study of the interactions between flavonoid loaded mesoporous silica nanoparticles and model cell membranes. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11):2709. <https://doi.org/10.3390/ijms20112709>.
112. Manrique, V. D. & Gonzáles, S. E. M. (2017). Ácidos grasos de cadena corta (ácido butírico) y patologías intestinales. *Nutricion Hospitalaria*, 34(4). 58-61. <https://doi.org/10.20960/nh.1573>.

113. Marcia-Fuentes, A. J., Palma-Murillo, E. C., Torres-Loza, J. M., Vera-Murillo, M. I., Peralta-Matute, B. K., Amador-Zelaya, C. H., Díaz-Antúnez, A. H. & Chavarría-Carrión, A. L. (2020). Descripción de parámetros físicoquímicos de la pulpa de café (*Coffea arabica*) en diferentes variedades y pisos altitudinales. *Nexo*, 33 (2), 777-786.
114. Marcos, B., Aymerich, T., Monfort, J. M., & Garriga, M. (2007). Use of antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham. *International Journal Of Food Microbiology*, 120(1-2), 152-158. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.003>
115. Markowiak-Kopeć, P. & Śliżewska, K. (2020). The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. *Nutrients*, 12(4):1107. <https://doi.org/10.3390/nu12041107>.
116. Martínez-Ángel, J. D., Villamizar-Gallardo, R. A. & Ortiz-Rodríguez, O. O. (2015). Characterization and evaluation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk as a renewable energy source. *Agro ciencia*, 49, 329-345.
117. Mattos, E. C., Noreña, C. P., & Brandelli, A. (2003). Kinetics of pigment degradation in sliced cooked ham. *Journal Of Muscle Foods*, 14(3), 221-231. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2003.tb00702.x>
118. Mawaddah, M., Setiawan, A., Zulnasri, Z., Permata Putri, A., Khan, N.A. & Jain, V. (2022). Hydrolysis of coffee pulp as raw material for bioethanol production: sulfuric acid variations. *Journal of Renewable energy, electrical & Computer engineering*. 2(1), 1-6. <https://doi.org/10.29103/jreece.v2i1.6382>.
119. McLoughlin, R.F., Berthon, B. S., Jensen, M. E., Baines, K. J. & Wood, L. G. (2017). Short-chain fatty acids, prebiotics, synbiotics, and systemic inflammation: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 106 (3), 930-945. <https://doi.org/10.3945/ajcn.117.156265>.
120. Mindarti, S., Zalizar, L., Damat., Saati, A. E. & Fajriani, S. (2020). Characterization of fiber fraction, physical and chemical properties of coffee flour (*Coffea* sp.) as functional foodstuff for diabetes mellitus patient. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 462, 012017. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/462/1/012017>.
121. Monod, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*, 3, 371-394. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.03.100149.002103>.
122. Moreno, J., Cozzano, S., Mercedes, P. A., Arcia, P. & Curutchet, A. (2019). Coffee pulp waste as a functional ingredient: effect on salty cookies quality. *Journal of Food and Nutrition Research*, 7(9), 632-638. <https://doi.org/10.12691/jfnr-7-9-2>.

123. Moura-Alves, M., Esteves, A., Ciriaco, M., Silva, J. A., & Saraiva, C. (2023). Antimicrobial and Antioxidant Edible Films and Coatings in the Shelf-Life Improvement of Chicken Meat. *Foods*, 12(12), 2308. <https://doi.org/10.3390/foods12122308>
124. Myo, H., Nantararat, N. & Khat-Udomkiri, N. (2021). Changes in Bioactive Compounds of Coffee Pulp through Fermentation-Based Biotransformation Using *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 and Its Antioxidant Activities. *Fermentation*, 7(4), 292. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040292>
125. Nguyen, C. M. D., Seo, D. J., Lee, B. D., Kim, I. S., Kim, K. Y., Park, R. D. & Jung, J. W. (2013). Antifungal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against *Fusarium solani*. *Microbial Pathogenesis*, 56, 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2013.01.001>
126. Nielsen, S. (1998). *Food Analysis* Second Edition; An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, USA, pp. 5-9.
127. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1999, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa
128. Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
129. Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
130. Okiyama, G. C. D., Soares, D. I., Cuevas, S. M., Crevelin, J. E., Moraes A. B. L., Melo, P. M., Oliveira, L. A. & Rodrigues, E. C. C. (2018). Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. *Food Research International*, 114, 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.055>.
131. Oktaviani, L., Astuti, D. I., Rosmiati, M. & Abduh, Y. M. (2020). Fermentation of coffee pulp using indigenous lactic acid bacteria with simultaneous aeration to produce cascara with a high antioxidant activity. *Heliyon*, 6, e04462. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04462>
132. Oliveira, G., Passos, P. C., Ferreira, P., Coimbra A. M & Gonçalves, I. (2021). Coffee by-products and their suitability for developing active food packaging materials. *Foods*, 10(3):683. <https://doi.org/10.3390/foods10030683>.
133. Oregel-Zamudio, E., Aguilar, C. N., Oyoque-Salcedo, G., Angoa-Pérez, V. & Mena-Violante, G. H. (2016). Caracterización fisicoquímica de películas comestibles

- a base de cera de candelilla. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 17 (1), 1-7.
134. Oussalah M., Caillet S., Salmiéri S., Saucier L. & Lacroix M. (2007). Antimicrobial effects of alginate-based films containing essential oils on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* present in bologna and ham. *Journal of Food Protection*, 70(4):901-908. doi: 10.4315/0362-028x-70.4.901. PMID: 17477259.
 135. Öztürk, E. & Ova, G. (2020). Cocoa bean hulls: effect on nutritional quality, texture and sensory properties of pound cake. *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*, 8(3), 560-567. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i3.560-567.2865>.
 136. Pacheco-Gómez, V., Caballero-Zamora, A., Martínez-González, S., Prado-Rebolledo, O. & García-Casillas, A. (2021). Bioquímica y vías metabólicas de polisacáridos, lípidos y proteínas. *Abanico Veterinario*, 11, e503. <https://doi.org/10.21929/abavet2021.47>
 137. Pagliari, S., Celano, R., Rastrelli, L., Sacco, E., Arlati, F., Labra, M. & Campone, L. (2022). Extraction of methylxanthines by pressurized hot water extraction from cocoa shell by-product as natural source of functional ingredient. *Food Science and Technology*, 170, 114115. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114115>
 138. Palframan, R., Gibson, G. & Rastall, R. (2003b). Development of a quantitative tool for the comparison of the prebiotic effect of dietary oligosaccharides *Letters in Applied Microbiology*, 37(4), 281-284. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2003.01398.x>
 139. Palmeri, M. G. S., Cruz, T. L., Bertgesa, S. F., Húngaroa, M. H., Batista, L.R., Da Silva, S.S., Fonseca, V. J.M., Rodartea, P.M., Vilela, P. M. F. & Do-Amarala, H. P. M. (2018). Enhancement of antioxidant properties from green coffee as promising ingredient for food and cosmetic industries. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.011>.
 140. Panche, N.A., Diwan, D. A. & Chandra R. S. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Sciences*. 5(47). 1-15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
 141. Papillo, A. V., Locatelli, M., Travaglia, F., Bordiga, M., Garino, C., Coisson, D. J. & Arlorio, M. (2019). Cocoa hulls polyphenols stabilized by microencapsulation as functional ingredient for bakery applications. *Food Research International*, 115, 511-518. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.004>.
 142. Pavli, F., Argyri, A. A., Skandamis, P., Nychas, G.-J., Tassou, C., & Chorianopoulos, N. (2019). Antimicrobial Activity of Oregano Essential Oil Incorporated in Sodium Alginate Edible Films: Control of *Listeria monocytogenes* and

- Spoilage in Ham Slices Treated with High Pressure Processing. *Materials*, 12(22), 3726. <https://doi.org/10.3390/ma12223726>
143. Peng, M., Bruce-Cooper, U. A. Debabrata, B. (2015). Metabolites produced during the growth of probiotics in cocoa supplementation and the limited role of cocoa in host-enteric bacterial pathogen interactions. *Food Control*, 53, 124-133. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.014>
 144. Pérez, A. L. L., Paz, A. C. I., Sandoval, A. P. A. & Peñalosa, A. C.G. (2020). Use of cocoa pod husk (*Theobroma cacao*. L) in the removal of chromium from aqueous solutions. *Revista EIA*, 17 (34), 1-13. <https://doi.org/10.24050/reia.v17i34.1393>
 145. Pérez-Calvo, A., Paz-Ruiz, N., Delgado-Espinoza, Z. (2023). Coffee pulp: a sustainable and affordable source for developing functional foods. *Processes*, 11, 1693. <https://doi.org/10.3390/pr11061693>.
 146. Pinto-Ruiz, R., Guevara-Hernández, F., Medina, J. A., Hernández-Sánchez, D., Leyde Coss, A. & Guerra-Medina, E. (2017). Conducta ingestiva y preferencia bovina por el ensilaje de Pennisetum y pulpa de café. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 59-67. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.23120>.
 147. Portillo, O.R. & Arévalo, A.C. (2022). Coffee's carbohydrates. A critical review of scientific literature. *Revista Bionatura*, 7(3), 11. <https://doi.org/10.21931/RB/2022.07.03.11>
 148. Putri-Agus, B. A., Mohamad, N. N. & Hussain, N. (2018). Correction to: Composition of unfermented, unroasted, roasted cocoa beans and cocoa shells from Peninsular Malaysia. *Food Measure*, 12(4), 2590.
 149. Quero, J., Mármol, I., Cerrada, E. & Rodríguez-Yoldi, M. J. (2020). Insights on potential application of polyphenol-rich dietary intervention on degenerative diseases management. *Food & Function*, 9(1), 1-38. <https://doi.org/10.1039/D0FO00216J>.
 150. Rachmawaty, A., Munisa., Hasri, Pagarra H., Hartati. & Maulana, Z. (2018). Active compounds extraction of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) and potential as fungicides. *Journal of Physics: Conference Series*, 1028, 012013. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1028/1/012013>.
 151. Rachmawaty, N., Mu'nisa, A., Hasri, N., Pagarra, H., & Hartati, N. (2019). Analysis of phenolic content and antioxidant activity of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Physics Conference Series*, 1317(1), 012087. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1317/1/012087>

152. Rahmat, Y. D. & Syarifuddin, A. (2024). Cocoa bean shell by-products as potential ingredients for functional food and beverage- A review. *Bio web of Conferences*, 96 (01006). <https://doi.org/10.1051/bioconf/20249601006>.
153. Rakotondramavo, A., Ribourg, L., Meynier, A., Guyon, C., De Lamballerie, M., & Pottier, L. (2019). Monitoring oxidation during the storage of pressure-treated cooked ham and impact on technological attributes. *Heliyon*, 5(8), e02285. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02285>
154. Ramón-Gonçalves, M., Gómez-Mejía, E., Rosales-Conrado N., León-González, M. E. & Madrid, Y. (2019). Extraction, identification and quantification of polyphenols from spent coffee grounds by chromatographic methods and chemometric analyses. *Waste Management*, 96, 15-24. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.07.009>
155. Ran M., He L., Li Q., Zhu Q. & Zeng X. (2021). Quality Changes and Shelf-Life Prediction of Cooked Cured Ham Stored at Different Temperatures. *Journal of Food Protection*, 84 (7), 1252–1264. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-374>
156. Randhir, R. & Shetty, K. (2007). Mung beans processed by solid-state bioconversion improves phenolic content and functionality relevant for diabetes and ulcer management. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 197-204. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.10.003>.
157. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
158. Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Segovia, A., 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>.
159. Rezende, E. S. V., Lima, G. C., & Naves, M. M. V. (2021). Dietary fibers as beneficial microbiota modulators: A proposed classification by prebiotic categories. *Nutrition*, 89, 111217. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111217>.
160. Rico, D. & Martín, D. B. A. (2023). Nutraceuticals and functional foods as health boosters: the need of a “tailored design”. *Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria*, XVII (2): 103-118. <https://doi.org/10.7400/NCM.2023.17.2.5121>.

161. Rizal, S., Khalil, A. H. P. S., Hamid, S. A., Ikramullah, I., Kurniawan, R., Hazwan, C. M., Muksin, U., Aprilia, S. & Alfatah, T. (2023). Coffee waste macro-particle enhancement in biopolymer materials for edible packaging. *Polymers*, 15(2), 365. <https://doi.org/10.3390/polym15020365>
162. Rodríguez C. D., López S. L. & Orjuela M. E. (2012). Película antimicrobiana para el control de *Listeria monocytogenes* en jamón. *Vitae*, 19 (1), 144-146.
163. Rodríguez-Duran, L. V., Ramírez-Coronel, M. A., Aranda-Delgado, E., Madhavan Nampoothiri, K., Favela-Torres, E., Aguilar, C. N. & Saucedo-Castaneda, G. (2014). Soluble and bound hydroxycinnamates in coffee pulp (*Coffea arabica*. L) from seven cultivars at three ripening stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 7869-7876. <https://doi.org/10.1021/jf5014956>.
164. Rohaya, S., Anwar, H. S., Amhar, B. A., Sutriana, S. & Muzaifa, M. (2023). Antioxidant activity and physicochemical composition of coffee pulp obtained from three coffee varieties in Aceh, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1182, 012063. <https://doi.org/10.1088/17551315/1182/1/012063>
165. Röhe, I. & Zentek, J. (2021). Lignocellulose as an insoluble fiber source in poultry nutrition: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(82), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00594-y>.
166. Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Zeppa, G. & Stévigny, C. (2020). Cocoa bean shell-a by-product with nutritional properties and biofunctional potential. *Nutrients*.12(4), 1123. <https://doi.org/10.3390/nu12041123>.
167. Rosales, D. S., Alzate, A. A. F. & Rojano, B. (2019). Antioxidant capacity, bioactive compounds in coffee pulp and implementation in the production of infusions. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 18(3), 235-248. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2019.0663>.
168. Ruan, C., Zhang, Y., Sun, Y., Gao, X., Xiong, G. & Liang, J. (2019). Effect of sodium alginate and carboxymethyl cellulose edible coating with epigallocatechin gallate on quality and shelf life of fresh pork. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.247>.
169. Ruenroengklin, N., Zhong, J., Duan, X., Yang, B., Li, J. & Jian, Y. (2008). Effects of various temperatures and pH values on the extraction yield of phenolics from litchi fruit pericarp tissue and the antioxidant activity of the extracted anthocyanins. *International Journal of Molecular Sciences*, 9; 1333-1341. <https://doi.org/10.3390/ijms9071333>.

170. Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Barber, X., Pérez-Álvarez, J. A. & Fernández-López, J. (2015). Effect of chitosan edible films added with *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oil on shelf-life of cooked cured ham. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 6493–6501. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1733-3>
171. Salvia-Trujillo, L., Soliva-Fortuny, R., Rojas-Graü, A. M., McClements, J. D. & Martín-Belloso, O. (2017). Edible nanoemulsions as carriers of active ingredients: A Review. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8, 439-466. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-025908>.
172. Sánchez, M., Laca, A., Laca, A., & Díaz, M. (2023). Cocoa bean shell: a by-product with high potential for nutritional and biotechnological applications. *Antioxidants*, 12(5), 1028. <https://doi.org/10.3390/antiox12051028>.
173. Sangta, J., Wongkaew, M., Tangpao, T., Withee, P., Haituk, S., Arjin, C., Sringarm, K., Hongsibsong, S., Sutan, K., Pusadee, T., Sommano, S. R., & Cheewangkoon, R. (2021). Recovery of Polyphenolic Fraction from Arabica Coffee Pulp and Its Antifungal Applications. *Plants*, 10(7), 1422. <https://doi.org/10.3390/plants10071422>.
174. Santana, V. R. E., Carielo, L. G., Dos Santos, L. M., Siqueira, G. C. A. & Veloso, N.M.M. (2022). Prebiotic potential of isolated commercial dietary fibres compared to orange albedo in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species. *Nutrition Research Reviews*, 28, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2022.100316>.
175. Santos R., Ramos M., Sevillano-Arnesto E., Nuñez de Villavicencio M., Calderon M., D. Flores I., Ruiz-Maura M. (2020). Durabilidad de un jamon cocido extendido. *Ciencia y tecnología de alimentos*. 30 (3), 31-36.
176. Sanyang, M. L., Sapuan, S. M. & Haron, M. (2017). Effect of cocoa pod husk filler loading on tensile properties of cocoa pod husk/polylactic acid green biocomposite films. *AIP Conference Proceeding*, 1891 (020126). <https://doi.org/10.1063/1.5005459>.
177. Serna-Jiménez, J. A., Torres-Valenzuela, L. S., Villareal, S.A., Roldan, C., Marín, M. A., Siles, A. & Chica, A. F. (2023). Advanced extraction of caffeine and polyphenols from coffee pulp: Comparison of conventional and ultrasound-assisted methods. *Food Science and Technology*, 177, 114571. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114571>.

178. Serrat-Diaz, M. C., De la Fé, I. D., De la Fé, A. J. & Montero, C. C. (2018). Extraction and characterization of coffee pulp pectin from Robusta variety. *Revista Cubana de química*, 30(3), 522-538.
179. Shanbhag, C., Shenoy, R., Shetty, P., Srinivasulu, M., & Nayak, R. (2023). Formulation and characterization of starch-based novel biodegradable edible films for food packaging. *Journal Of Food Science And Technology*, 60(11), 2858-2867. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05803-2>
180. Shavisi, N, Khanjari, A, Basti, A.A, Misaghi, A, Shahbazi, Y. (2017). Effect of PLA films containing propolis ethanolic extract, cellulose nanoparticle and Ziziphora clinopodioides essential oil on chemical, microbial and sensory properties of minced beef. *Meat Science*, 124, 95-104. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.015>.
181. Singh, A., Gu Y., Castellarin, D. S., Kitts, D. D. & Pratap-Singh, A. (2020). Development and characterization of the edible packaging films incorporated with blueberry pomace. *Foods*, 9, 1599. <https://doi.org/10.3390/foods9111599>.
182. Singla, K. R., Dubey, K. A., Garg, A., Sharma, K. R., Fiorino, M., Ameen, M. S., Haddad, A. M. & Al-Hiary, M. (2019). Natural polyphenols: chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1397. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0133>.
183. Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
184. Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J., Templeton D.& Crocker D. (2011). Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass (Technical Report NREL/TP-510-42618). *National Renewable Energy Laboratory*.
185. 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>.
186. Song, D.H., Hoa, V. B., Kim, H. W., Khang, S. M., Cho, S. H., Ham, J. S. & Seol, K. H. (2021). Edible films on meat and meat products. *Coatings*, 11(11), 1344. <https://doi.org/10.3390/coatings11111344>.
187. Sri-Rachmania, J., Delftya, E. & Rizka, U. H. (2017), "Organic fertilizer from bioethanol solid waste, agricultural waste, and banana peels waste by bio-act em4 and

- Aspergillus niger*". *Knowledge E Life Sciences*, 2017193–201. <https://doi.org/10.18502/kls.v3i5.993>.
188. Starzynska-Janiszewska, A., Stodolak, B. & Jamroz, M. (2008). Antioxidant properties of extracts from fermented and cooked seeds of polish cultivars of *Lathyrus sativus*. *Food Chemistry*, 109, 285-292. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.028>.
 189. Sucheta, N., Rai, S. K., Chaturvedi, K., & Yadav, S. K. (2019). Evaluation of structural integrity and functionality of commercial pectin based edible films incorporated with corn flour, beetroot, orange peel, muesli and rice flour. *Food Hydrocolloids*, 91, 127-135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.022>
 190. Sung, S. & Lee, G. D. (2010). Antifungal action of chlorogenic acid against pathogenic fungi, mediated by membrane disruption. *Pure and Applied Chemistry*, 82 (1), 219-226. <https://doi.org/10.1351/PAC-CON-09-01-08>
 191. Suriati, L., Mangku, I. G. P., Krisnawati, G. A. S. W., & Girindra, A. A. N. S. (2023). The Impact of Chitosan at the Physical Performance of the Coffee Skin-Based Edible Film. *Journal Of Agriculture And Crops*, 92, 156-163. <https://doi.org/10.32861/jac.92.156.163>
 192. Shay, P., Trofymow, J. A., & Constabel, C. P. (2017). An improved butanol-HCl assay for quantification of water-soluble, acetone:methanol-soluble, and insoluble proanthocyanidins (condensed tannins). *Plant Methods*, 13(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0213-3>
 193. Swanson, K. S., De Voz, M. W., Martens, E. C., Gilberto, J. A., Menón, R. S., Soto-Vaca, A., Hautvast J., Meyer, P. D., Borewicz, K., Vaughan, E. E. & Slavin, J.L. (2020). Effect of fructans, prebiotics and fibres on the human gut microbiome assessed by 16S rRNA-based approaches: a review. *Beneficial Microbes*, 11(2), 101-129. <https://doi.org/10.3920/BM2019.0082>
 194. Tamrin, F. R. H. F., Ibrahim, M. N., Rejeki, S., Ufrianto, N. & Cahyani, D.R. (2020). Understanding the heat stability and solubility of cocoa bean shell extract as antioxidant and antibacterial functional ingredients. *International Food Research Journal*. 27(4). 660-665.
 195. Taofiq, O., González-Paramás, A. M. B., Barreiro, M. F. & Ferreira, I. C. (2017) Hydroxycinnamic acids and their derivatives: cosmeceutical significance, challenges and future perspectives, a review. *Molecules*, 22(2), 281. <https://doi.org/10.3390/molecules22020281>

196. Taylor J. R. N., De Kock H, L., Makule E., Adebawale O. J., Hamaker B. R. & Milani P. (2022). Opportunities and challenges for wholegrain staple foods in sub-Saharan Africa. *Journal of Cereal Science*, 104: 103438.
197. Téllez-Rangel, E. C., García-Martínez, I., Rodríguez-Huezo, E. & Totosaus, A. (2017). Películas comestibles de proteína con aceite de maíz emulsionado como acarreador de paprika para mejorar color y rancidez en Boloña de res. *Nacameh*, 11 (1), 8-32.
198. Teneda-Llerena, T. W. F., Ah-Hen, K. & Lemus-Mondaca, R. (2017). Characterization of a cocoa (*Theobroma cacao* L., var.) husks infusion with aromatic herbs. *Agrosur*, 43(3), 45-55. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2017.v45n3-07>.
199. Tomàs-Pejò, E., González- Fernández, C., Grese, S., Kennes, C., Oteló-Logil, N., Veiga, C.M., Bolzonella, D., Muller, B. & Passoth, V. (2023). Production of short-chain fatty acids (SCFAS) as chemicals or substrates for microbes to obtain biochemicals. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 16 (96), 2-17. <https://doi.org/10.1186/s13068-023-02349-5>.
200. Torres-Mancera, M. T., Córdova-López, J., Rodríguez-Serrano, G., Roussos, S., Ramírez-Coronel, Ma. A., Favela-Torres, E., Saucedo-Castañeda, G. (2011). Enzymatic extraction of hydroxycinnamic acids from coffee pulp. *Food Technology and Biotechnology*, 49(3), 369-373.
201. Totosaus, A., Pérez-Chabela, M. L. & Gutiérrez-Cruz, R. (2016). Películas comestibles de caseinato de sodio y carragenina como acarreadores de bacterias lácticas termotolerantes. Inhibición de microorganismos patógenos, in vitro. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(2), 762-768.
202. Truzzi, F., Tibaldi, C., Zhang, Y., Dinelli, G. & D'Amen, E. (2021). An overview on dietary polyphenols and their biopharmaceutical classification system (BCS). *International Journal of Molecular Sciences*, 22,1-23. <https://doi.org/10.3390/ijms22115514>
203. Umaraw P., MuneKata, P. E.S., Verma, K. A., Barbac, F. J., Singha, V. P., Kumard, P., Lorenzo, J. M. (2020). Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 10-24. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.032>
204. Valdespino-León, M., Calderón-Domínguez, G., De la Paz Salgado-Cruz, M., Rentería-Ortega, M., Farrera-Rebollo, R. R., Morales-Sánchez, E., Gaona-Sánchez, V. A., & Terrazas-Valencia, F. (2020). Biodegradable Electrosprayed Pectin Films:

- An Alternative to Valorize Coffee Mucilage. *Waste And Biomass Valorization*, 12(5), 2477-2494. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01194-z>
205. Vallejos-Jiménez, A., Cadena-Chamorro, E. M., Santa, J. F., Buitrago-Sierra, R., Dugmore, J. I. T. Bose, S. & Matharu, S. A. (2025). Development of Novel Pectin-Based Films from Coffee Waste: Mucilage and Pulp. *Waste and biomass valorization* <https://doi.org/10.1007/s12649-025-02926-9>
 206. Vega, A., De Leon, J. A. & Reyes, S. M. (2017). Determinación del contenido de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de 34 cafés comerciales de Panamá. *Información Tecnológica*, 28(4), 29-38. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000400005>
 207. Venkatachalam, K, Lekjing, S. (2020). A chitosan-based edible film with clove essential oil and nisin for improving the quality and shelf life of pork patties in cold storage. *Royal Society of Chemistry Advances*, 10(30), 17777-17786. <https://doi.org/10.1039/d0ra02986f>.
 208. Villamizar-Jaimes, A. R. & López-Giraldo, J. L. (2017). Cocoa husk source of polyphenol and fiber: simulation of a pilot plant for their extraction. *Respuestas*, 22(1), 75-83. <https://doi.org/10.22463/0122820X.821>.
 209. Virtanen, V., Green, J. R. & Karonen, M. (2022). Interactions between hydrolysable tannins and lipid vesicles from *Escherichia coli* with isothermal titration calorimetry. *Molecules*, 27. 1-18. <https://doi.org/10.3390/molecules27103204>.
 210. Wachenheim, D. E., Patterson, J. A., & Ladisch, M. R. (2002). Analysis of the logistic function model: derivation and applications specific to batch cultured microorganisms. *Bioresource Technology*, 86(2), 157-164. [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(02\)00149-9](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(02)00149-9)
 211. Wang, X., Qui, Y. & Zeng, H. (2022). Dietary polyphenol, gut microbiota, and health benefits. *Antioxidants*, 11, 1-18 <https://doi.org/10.3390/antiox11061212>.
 212. Widayat, P. H., Jaya, R., Safrijal, H. & Fitria, E. (2022). New product development for mixed beverages of Aceh robusta coffee and cocoa. *Czech Journal of Food Sciences*, 40 (1), 76-82. <https://doi.org/10.17221/94/2021-CJFS>
 213. Wu H., Bak K. H., Goran G. V. & Tatiyaborworntham N. (2024). Inhibitory mechanisms of polyphenols on heme protein-mediated lipid oxidation in muscle food: New insights and advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(15):4921-493

214. Wu, Y., Zhang, C., Huang, Z., Lyu, L., Li, J. & Li W. (2021). The color difference of rubus fruits is closely related to the composition of flavonoids including anthocyanins. *Food Science and Technology*, 149, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111825>.
215. Wusigale, N., Liang, L., & Luo, Y. (2020). Casein and pectin: Structures, interactions, and applications. *Trends In Food Science & Technology*, 97, 391-403. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.027>
216. Yang, L. & Paulson, A.T. (2000). Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*, 33(7), 563-570. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00092-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00092-2).
217. Younes, A. Karboune, S., Liu L., Spadoni, E. A. & Dahman, S. (2023). Extraction and characterization of cocoa bean shell cell wall polysaccharides. *Polymers*. 15 (745). <https://doi.org/10.3390/polym15030745>.
218. Yu, C., Hu, W., Chen, L., Ouyang, K., Chen, H., Lin, S., & Wang, W. (2025). Basic Amino Acids as Salt Substitutes in Low-Salt Gel-Based Meat Products: A Comprehensive Review of Mechanisms, Benefits, and Future Perspectives. *Foods*, 14(4), 637. <https://doi.org/10.3390/foods14040637>
219. Yu, Z., Yu, D., Dong, J., Xia, W. (2022). Ultrasound-reinforced encapsulation of proanthocyanidin by chitosan-chondroitin sulfate nanosystem. *Food Hydrocolloids*, 132, 107872. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107872>
220. Yuan, D., Meng, H., Huang, Q., Li, C., & Fu, X. (2021). Preparation and characterization of chitosan-based edible active films incorporated with Sargassum pallidum polysaccharides by ultrasound treatment. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 183, 473-480. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.147>
221. Zakaria, Z., Afandi, A. A., Noor, M. N. S., Hussin, N. & Shahidan, N. (2018). Prebiotic activity score of breadfruit resistant starch (*Artocarpus altilis*), breadfruit flour, and inulin during *In-Vitro* fermentation by pure cultures (*Lactobacillus Plantarum*, and *Bifidobacterium Bifidum*). *Journal of Agrobiotechnology*, 9(1S), 122-131.
222. Zamora-Guevara, A. J., Campoverde-Mori, J. R., Jimenez-Jimenez, J. W. & Mariscal-Santi, E. W. (2022). Actividad antioxidante de pulpa, semilla y pericarpio de mazorca del *Theobroma cacao*. *Reciamuc*, 6(3):564-574. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.564-574](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.564-574)

223. Zhao J., Wang, Y. & Liu C. (2022). Transparency and opacity measurements. *Food analytical methods*, 15, 2840–2846. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02343x>
224. Zhi-Wei, G., En-Ze, Y. & Qiang, F. (2021). Soluble dietary fiber, one of the most important nutrients for the gut microbiota. *Molecules*, 26 (6802), 1-16. <https://doi.org/10.3390/molecules26226802>.
225. Zipser, M.W. & Watts, B.M. (1962). A modified 2-thiobarbituric acid (TBA) method for the determination of malonaldehyde in cured meats. *Food Technology*, 16(7), 102-10

9. Anexos

9.1 Artículos publicados.



CARPATHIAN JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

journal homepage: http://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian_journal/index.html

THE POTENTIAL OF COFFEE (*COFFEA ARABICA* L.) PULP AND CACAO (*THEOBROMA CACAO* L.) HUSK AS A SOURCE OF PREBIOTICS, ANTIOXIDANTS, AND ANTIMICROBIAL COMPOUNDS

Pacheco-Martínez,¹ C.K., Saucedo-Castañeda, G.,¹ Rodríguez-Durán, L.V.,² Trejo-Aguilar, G.M.,¹ Pérez-Chabela, M.L.¹

¹Biotechnology Department, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Alcaldía Iztapalapa, 09340 CDMX.

²Universidad Autónoma de Tamaulipas Unidad Académica Multidisciplinaria Mante Blvd. Enrique Cárdenas González No. 1201 Pte. Col. Jardín C.P. 89840

[✉]lpch@xanum.uam.mx

<https://doi.org/10.34302/crpfst/2024.16.3.7>

Article history:

Received:

June 19th, 2023

Accepted:

September 23rd, 2024

Keywords:

Cacao husk;
Coffee pulp;
Dietary fiber;
Prebiotic;
Short-chain fatty acids;
Polyphenols;
Antioxidant activity;
Antimicrobial activity.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the viability of the most important agro-industrial coproducts, such as cacao husk and coffee pulp, as sources of bioactive compounds, as prebiotic fiber, and polyphenols as antioxidants and antimicrobials. Main carbohydrates and prebiotic activity score were determined, as well as the characterization of main polyphenols, antimicrobial and antioxidant capability. The flours presented a higher dietary fiber content (64 % for coffee pulp and 70 % for cacao husk), with a higher glucose content in cacao husk flour. This explained the higher prebiotic activity score obtained, as compared to coffee pulp. During lactic acid fermentation, the SCFA was adequate, with a higher production of lactate and acetate when coffee pulp was employed as a carbon source. Total polyphenols content was higher in cacao husk, and although TEAC was higher with this flour, DPPH, and total antioxidant activity were higher for coffee pulp. Cacao husk flour or coffee pulp can be employed as functional ingredients to improve intestinal health promoting the selective growth of probiotics, as well as inhibiting pathogens microorganisms due to their antimicrobial activity. Both ingredients can be employed as natural antioxidants as well.

Characteristics of microorganisms used as probiotics and new probiotics

Características de microorganismos utilizados como probióticos tradicionales y nuevos probióticos

Claudia Karina Pacheco-Martínez¹, Gerardo Saucedo-Castañeda¹, Luis Víctor Rodríguez-Durán², María de Lourdes Pérez-Chabela^{1*}

Abstract

Probiotics are live microorganisms that when properly administered confer a health benefit to the host. Lactic acid bacteria are among the main microorganisms recognized as probiotics. Not all lactic bacteria are considered probiotics as they must meet certain characteristics such as growth at a pH lower than 4.0, are able to exert control on pathogenic bacteria, can survive in the gastrointestinal tract, have tolerance to bile salts, are able to adhere to intestinal mucus and epithelial cells, have the ability to co-aggregate and self-aggregate, etc. Bacteria that possess these characteristics are called traditional probiotics. However, over the years other microorganisms with probiotic potential have been studied. Among the differences between traditional probiotics and new probiotics is their origin, as new probiotics are always isolated from the human gastrointestinal tract, which makes them difficult to cultivate because they are sensitive to oxygen. In contrast, traditional probiotics can be isolated from the gastrointestinal tract, but the main sources are from foods, fermented or not. An important characteristic of new probiotics is that benefits in the treatment of specific diseases are attributed to them. In this review, the main characteristics of traditional probiotics and new probiotics are reviewed.

Keywords: lactic acid bacteria, traditional probiotics, new probiotics



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

Pág. 00300

Matrícula: 2173801817

Pulpa de café y cáscara de cacao: ingredientes con propiedades funcionales empleados en el desarrollo de películas comestibles en productos cárnicos.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 15:00 horas del día 15 del mes de diciembre del año 2025 en la Unidad Ixtapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. JESUS GERARDO SAUCEDO CASTAÑEDA
DR. LUIS VICTOR RODRIGUEZ DURAN
DR. ALFONSO TOTOSAUS SANCHEZ
DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTORA EN BIOTECNOLOGÍA

DE: CLAUDIA KARINA PACHECO MARTINEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

CLAUDIA KARINA PACHECO MARTINEZ

ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALBA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH ARENAS RÍOS

PRESIDENTE

DR. JESUS GERARDO SAUCEDO
CASTAÑEDA

VOCAL

DR. LUIS VICTOR RODRIGUEZ DURAN

VOCAL

DR. ALFONSO TOTOSAUS SANCHEZ

SECRETARIA

DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA