

Antioxidant activity, mineral and lignocellulosic profile of *Theobroma cacao* L. Carmelo variety cocoa pod husk, for their potential utilization

Actividad antioxidante, perfil mineral y lignocelulósico de la cáscara de la vaina de *Theobroma cacao* L. variedad Carmelo, para su posible aprovechamiento

Edna E. Suárez-Patlán¹; Teodoro Espinosa-Solares²; José E. Herbert-Pucheta³; Emanuel Hernández-Núñez^{4*}; Holber Zuleta-Prada^{1*}

¹Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Preparatoria Agrícola, Área de Química, Laboratorio de Productos Naturales. km 38.5 carretera México-Texcoco. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

²Southern University Agricultural Research and Extension Center. Baton Rouge, LA 70813. USA.

³Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Química Orgánica. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, col. Santo Tomás. C. P. 11340. Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México, México.

⁴Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, Departamento de Posgrado e Investigación. Av. Ah Canul s/n por carretera federal. C. P. 24930. Calkiní, Campeche, México.

*Corresponding authors: hzuletap@chapingo.mx, tel.: +525520114956; ehernandez@itescam.edu.mx, tel.: +529991055211.

Abstract

Introduction. Mexico is the thirteenth largest cocoa-producing country in the world, yielding 20 000 tons (0.4 % of world production). Cocoa pod husks (CPH) represent an opportunity for the extraction of value-added products due to their chemical properties.

Objective. To determine the antioxidant activity, mineral profile and main chemical constituents of CPH (*Theobroma cacao* L. var. Carmelo).

Materials and Methods. The study quantified and determined the main organic and inorganic constituents of the CPH sample using analytical techniques (Technical Association for the Pulp and Paper Industries [TAPPI], American Society for Testing and Materials [ASTM] and other methods reported in the literature).

Results and discussion. A 19.4 % extractable content in organic solvents was obtained. The cellulose content was 30.5 %, hemicellulose 19 %, lignin 23.3 %, and ash 7.7 %. The total phenolic content was 24.59 ± 0.93 mg gallic acid equivalents·g⁻¹, and the flavonoid content was 2.35 ± 0.24 mg catechin equivalents·g⁻¹. The antioxidant activity was determined as 304.84 ± 57.59 mg trolox equivalents for ABTS (2,2'-azino-bis[3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) and 145.80 ± 3.84 mg trolox equivalents for FRAP (ferric reducing antioxidant power).

Conclusions. CPH is a viable source of lignin, and its cellulose and hemicellulose contents have the potential to serve as a carbohydrate source for biofuel production. Additionally, its high polyphenol content and antioxidant capacity position it as a promising source for the food and/or pharmaceutical industry.

Keywords: cacao; lignocellulosic material; flavonoid; minerals; phenolic content.

Resumen

Introducción. México es el decimotercer país productor de cacao con una producción anual de 20 000 toneladas (0.4 % de la producción mundial). Las cáscaras de vaina de cacao (CVC) representan una oportunidad para la extracción de productos de valor agregado debido a sus propiedades químicas.

Objetivo. Determinar la actividad antioxidante, el perfil mineral y los principales constituyentes químicos de CVC (*Theobroma cacao* L. var. Carmelo).

Materiales y métodos. Los principales constituyentes orgánicos e inorgánicos de la muestra de CVC se identificaron y cuantificaron mediante técnicas analíticas de la Asociación Técnica de las Industrias de Pulpa y Papel (TAPPI), Sociedad Estadounidense para Ensayos y Materiales (ASTM) y otros métodos reportados en la literatura.

Resultados y discusión. El contenido extraíble en disolventes orgánicos representó 19.4 %. El material lignocelulósico estuvo conformado por 30.5 % de celulosa, 19 % de hemicelulosa, 23.3 % de lignina y 7.7 % de cenizas. El contenido fenólico total fue 24.59 ± 0.93 mg equivalentes de ácido gálico·g⁻¹ y el contenido de flavonoides fue 2.35 ± 0.24 mg equivalentes de catequina·g⁻¹. Con respecto a la actividad antioxidante, se determinaron 304.84 ± 57.59 mg equivalentes de trolox para ABTS (ácido 2,2'-azino-bis[3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico]) y 145.80 ± 3.84 mg equivalentes de trolox para FRAP (poder antioxidante férrico reductor).

Conclusiones. La CVC es una fuente viable de lignina y sus contenidos de celulosa y hemicelulosa tienen potencial como fuente de carbohidratos en la producción de biocombustibles; además, el contenido elevado de polifenoles y su capacidad antioxidante la posicionan como una fuente prometedora para la industria alimentaria y farmacéutica.

Palabras clave: cacao; material lignocelulósico; flavonoides; minerales; contenido fenólico.

Please cite this article as follows (APA 7): Suárez-Patlán, E. E., Espinosa-Solares, T., Herbert-Pucheta, J. E., Hernández-Núñez, E., & Zuleta-Prada, H. (2024). Antioxidant activity, mineral and lignocellulosic profile of *Theobroma cacao* L. Carmelo variety cocoa pod husk, for their potential utilization. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 30(3) 19–34. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2024.05.011>

Received: May 8, 2024 / Accepted: September 11, 2024



<https://revistas.chapingo.mx/forestales>

Introduction

Theobroma cacao L. has been cultivated in Central America since pre-Columbian times and has spread from the Amazon Basin of Guyana and the Upper Orinoco to southern Mexico and the tropics of Africa and Asia (Espinosa-García et al., 2015; Porto de Souza-Vandenberghe et al., 2022). The motivation for this crop today is to respond to the growing demand for cocoa, mainly in Europe, the United States and Asia, and to contribute to the economic and social development of the agricultural sector in more than 70 countries in the tropics, with approximately 5 million producers worldwide (Alonso-Báez et al., 2020; Gómez Hoyos et al., 2020; Porto de Souza-Vandenberghe et al., 2022). The International Cocoa Organization reports that the world's major cocoa producers are Côte d'Ivoire, Ghana and Ecuador. In the 2022 harvest, 5.24 million tons of cocoa were produced, with African countries contributing about 75 % of the world's annual production, with Côte d'Ivoire being the most representative with about 44 % (Paracchini et al., 2022). Mexico is the thirteenth largest cocoa producing country in the world, with Chiapas and Tabasco being the states with the highest production in the country with just over 20 000 tons of cocoa per year, representing 0.4 % of world production (Alonso-Báez et al., 2020).

The cocoa fruit is composed of approximately 10 % of the seed, as this is the product that is marketed, the other 90 % of the fruit remains as residual biomass, which is composed of the cocoa bean shell (CBS), mucilage or pulp, placenta, and cocoa pod husk (CPH). The CBS is the covering that covers the cocoa seed, representing between 10 and 20 % of the total weight of the seed; the CPH is the covering of the ripe fruit, once the seed is removed, the pulp and placenta represent about 5 % of the weight of the fruit. These parts represent the largest volume of residual biomass, between 70 and 80 % of the weight of the fruit, so it is estimated that more than 16 million tons of CPH per year around the world (Sánchez et al., 2023; Vásquez et al., 2019).

CPH is an undervalued resource; it tends to remain in growing areas and accumulates in large piles, so its decomposition can cause environmental and phytosanitary problems, such as plant diseases that directly affect crop yields (Nii et al., 2021). This shell is composed of epicarp, mesocarp, a sclerotic lamina, and endocarp, whose chemical composition is cellulose, hemicellulose, lignin, pectins, and ash (Campos-Vega et al., 2018; Grob et al., 2021). Cellulose is a linear polymer of D-glucose units linked by β -1,4 bonds. Hemicellulose is a branched polysaccharide composed of pentoses and hexoses. Lignin is an aromatic heteropolymer

Introducción

Desde la época precolombina se cultiva *Theobroma cacao* L. en América Central y la especie se ha extendido desde la cuenca amazónica de Guyana y el Alto Orinoco hasta el sur de México y los trópicos de África y Asia (Espinosa-García et al., 2015; Porto de Souza-Vandenberghe et al., 2022). La motivación actual de este cultivo es responder a la demanda creciente de cacao, principalmente en Europa, Estados Unidos y Asia, y contribuir al desarrollo económico y social del sector agrícola en más de 70 países del trópico con aproximadamente 5 millones de productores (Alonso-Báez et al., 2020; Gómez Hoyos et al., 2020; Porto de Souza-Vandenberghe et al., 2022). La Organización Internacional del Cacao informa que los principales productores de cacao son Costa de Marfil, Ghana y Ecuador. En la cosecha 2022 se produjeron 5.24 millones de toneladas de cacao y los países africanos aportaron cerca del 75 % de la producción anual mundial, siendo Costa de Marfil el más representativo con cerca del 44 % (Paracchini et al., 2022). México es el decimotercer país productor, siendo Chiapas y Tabasco los estados con mayor producción con poco más de 20 000 toneladas de cacao al año, lo que representa 0.4 % de la producción mundial (Alonso-Báez et al., 2020).

El fruto de cacao está compuesto aproximadamente por 10 % de semilla (producto que se comercializa) y el otro 90 % queda como biomasa residual. Esta se compone de la cáscara del grano de cacao (CGC), el mucílago o pulpa, la placenta y la cáscara de la mazorca de cacao (CVC). La CGC es la cubierta que recubre la semilla de cacao y representa entre 10 y 20 % del peso total de la semilla. La CVC es la cubierta del fruto maduro; una vez que la semilla se retira, la pulpa y la placenta representan alrededor del 5 % del peso del fruto. Estas partes representan el mayor volumen de biomasa residual, entre 70 y 80 % del peso del fruto, por lo que se estiman más de 16 millones de toneladas de CVC anuales en todo el mundo (Sánchez et al., 2023; Vásquez et al., 2019).

La CVC es un recurso poco valorado. Este residuo tiende a permanecer en las zonas de cultivo y se acumula en grandes montones, por lo que su descomposición puede causar problemas medioambientales y fitosanitarios como enfermedades en las plantas que repercuten directamente en el rendimiento de los cultivos (Nii et al., 2021). La cáscara está compuesta por el epicarpio, mesocarpio, lámina esclerótica y endocarpio, cuya composición química incluye celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas y cenizas (Campos-Vega et al., 2018; Grob et al., 2021). La celulosa es un polímero lineal de unidades de D-glucosa conectadas por enlaces β -1,4. La hemicelulosa es un polisacárido ramificado compuesto de pentosas y hexosas. La lignina es un heteropolímero aromático compuesto por unidades de fenilpropano

composed of phenylpropane units (p-coumarilic, sinapyl, and coniferyl alcohols) (Zheng et al., 2017). These compounds can be depolymerized into molecules that serve as the basis for obtaining value-added chemical products; for example, the fermentation of cellulose and hemicellulose sugars could yield biofuels or sweeteners; from lignin, pesticide dispersants, emulsifiers, or their incorporation into polyurethanes and polyesters (Asiedu et al., 2019; Chávez-Sifontes & Domine, 2013; Porto de Souza-Vandenberghe et al., 2022). Likewise, its pectin content, composed mainly of uronic acid, has potential as a food additive (Paz-Cedeno et al., 2022). Finally, phenolics and flavonoids with oxide-reducing or antioxidant effects could be used in functional foods (Valadez-Carmona et al., 2017). CPH is considered a potential, renewable, low-cost, and readily available resource, attractive to the industrial sector and of interest to the scientific community, which is seeking alternatives for valorization and the development of technologies and patents for their use. This could bring additional benefits to the cocoa production chain (Porto de Souza-Vandenberghe et al., 2022).

Three types of cocoa are recognized, two morphogeographical groups known as Criollo and Forastero cocoa, and a third derived from the natural cross between Criollo and Forastero, called Trinitario. Research has primarily focused on the Forastero and Trinitario, while little is known about the Mexican Criollo (Ricaño-Rodríguez et al., 2018). In Mexico, there is a variety called 'Carmelo', recognized under Breeder's Right 1036, granted to producer C. Carlos Hernández Echeverría, who through a breeding process obtained this variety, considered homogeneous, distinct, and stable. This was published in the Official Gazette of the Federation (DOF: 29/09/2015) and established by article 40. fraction I, of the Federal Law on Plant Varieties, Carlos Hernández Echevarría's Right to be recognized as Breeder of the Cocoa Plant Variety (*Theobroma cacao* L.), named 'Carmelo' (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2015). The Carmelo variety has its genetic origin in Criollo (Alonso-Báez et al., 2020). In this regard, the limited information available on Mexican Criollo cocoa is mainly related to cocoa seeds, so even less is known about by-products compared to vegetative varieties, and much less is known about the Carmelo variety, as due to the breeder's right, valid until 2031, this variety has been little propagated and studied.

Therefore, the objective of this research was to determine the antioxidant activity and chemical characterization of the main components of the shell of the pod of *T. cacao* variety Carmelo. To contribute to the knowledge of this variety and present elements of valorization of a highly available residue generated by the cocoa agroindustry.

(alcoholes p-cumarílico, sinapílico y coniferílico) (Zheng et al., 2017). Estos compuestos se pueden despolimerizar en moléculas que sirven de base para la obtención de productos químicos de valor añadido; por ejemplo, de la fermentación de azúcares de celulosa y hemicelulosa se podrían obtener biocombustibles o edulcorantes; y de la lignina, dispersantes de pesticidas, emulgentes o su incorporación en poliuretanos y poliésteres (Asiedu et al., 2019; Chávez-Sifontes & Domine, 2013; Porto de Souza-Vandenberghe et al., 2022). Asimismo, el contenido en pectina, compuesta principalmente por ácido urónico, tiene potencial como aditivo alimentario (Paz-Cedeno et al., 2022). Por último, los fenólicos y flavonoides con efectos oxidoreductores o antioxidantes podrían ser utilizados en alimentos funcionales (Valadez-Carmona et al., 2017). La CVC se considera un recurso potencial, renovable, de bajo coste y fácil disponibilidad, atractivo para el sector industrial y de interés para la comunidad científica que busca alternativas para la valorización y el desarrollo de tecnologías y patentes para su uso. Esto podría aportar beneficios adicionales a la cadena de producción del cacao (Porto de Souza-Vandenberghe et al., 2022).

Se reconocen tres tipos de cacao: dos grupos morfogeográficos conocidos como cacao Criollo y Forastero, y un tercero derivado de la cruce natural entre Criollo y Forastero, llamado Trinitario. La investigación se ha centrado principalmente en el cacao Forastero y Trinitario, mientras que se sabe poco sobre el Criollo mexicano (Ricaño-Rodríguez et al., 2018). En México existe una variedad llamada 'Carmelo', reconocida bajo el Derecho del Obtentor 1036 otorgado al productor C. Carlos Hernández Echeverría, quien mediante un proceso de mejoramiento obtuvo esta variedad considerada homogénea, distinta y estable. Esto se publicó en el Diario Oficial de la Federación (DOF, 29/09/2015) que establece el artículo 4.º fracción I de la Ley Federal de Variedades Vegetales, donde se reconoce el Derecho de Carlos Hernández Echeverría como obtentor de la Variedad Vegetal de Cacao (*Theobroma cacao* L.), denominada 'Carmelo' (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2015). Esta variedad tiene su origen genético en el Criollo (Alonso-Báez et al., 2020). En este sentido, la escasa información disponible sobre el cacao Criollo mexicano se relaciona principalmente con las semillas, por lo que se sabe aún menos sobre los subproductos en comparación con las variedades vegetativas, y mucho menos sobre la variedad Carmelo, ya que, debido al derecho del obtentor (válido hasta 2031), esta variedad se ha propagado y estudiado escasamente.

En tal contexto, el objetivo de esta investigación fue determinar la actividad antioxidante y la caracterización química de los componentes principales de la cáscara de la vaina de *T. cacao* variedad Carmelo.

Materials and methods

Raw material and study area

The raw material was the cocoa pod husk (CPH) of *T. cacao* variety Carmelo, which consists of the exocarp, mesocarp, sclerotic layer, and endocarp. The samples were collected from two locations: ranchería Río Seco in the municipality of Cunduacán (latitude: 18° 7' 55.90" N, longitude: 93° 18' 4.49" W) and the farm Jesús María in the municipality of Comalcalco (latitude: 18° 11' 0.22" N, longitude: 93° 14' 28.02" W), both located in the state of Tabasco, Mexico. The collection sites were at an elevation of 10 and 13 m (Figure 1). The plant material was provided by the C. Carlos Hernández Echeverría.

Reagents

Reagents: 96 % sulfuric acid (H_2SO_4), 99 % glacial acetic acid (CH_3COOH), 80-85 % sodium chlorite ($NaClO_2$), 99 % sodium hydroxide ($NaOH$), 99.5 % sodium carbonate (Na_2CO_3), Folin-Ciocalteu phenol reagent, diammonium salt (ABTS) 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 98 %, and (\pm)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, also known as Trolox, were purchased from SUPELCO (Merck KGaA, Saint Louis, Missouri, USA).

Esto con el fin de contribuir al conocimiento de la variedad y presentar elementos de valorización de un residuo altamente disponible, generado por la agroindustria del cacao.

Materiales y métodos

Materia prima y área de estudio

La materia prima fue la cáscara de la vaina de cacao (CVC) de *T. cacao* variedad Carmelo, la cual consta de exocarpio, mesocarpio, capa esclerótica y endocarpio. Las muestras se recolectaron en dos localidades: ranchería Río Seco en el municipio de Cunduacán (latitud: 18° 7' 55.90" N, longitud: 93° 18' 4.49" O) y la finca Jesús María en el municipio de Comalcalco (latitud: 18° 11' 0.22" N, longitud: 93° 14' 28.02" O), ambas ubicadas en el estado de Tabasco, México. Los sitios de colecta se situaron a 10 y 13 m de altitud (Figura 1). El material vegetal fue proporcionado por el C. Carlos Hernández Echeverría.

Reactivos

Reactivos: Ácido sulfúrico al 96 % (H_2SO_4), ácido acético glacial al 99 % (CH_3COOH), clorito de sodio al 80-85 % ($NaClO_2$), hidróxido de sodio al 99 % ($NaOH$), carbonato de sodio al 99.5 % (Na_2CO_3), reactivo de fenol según

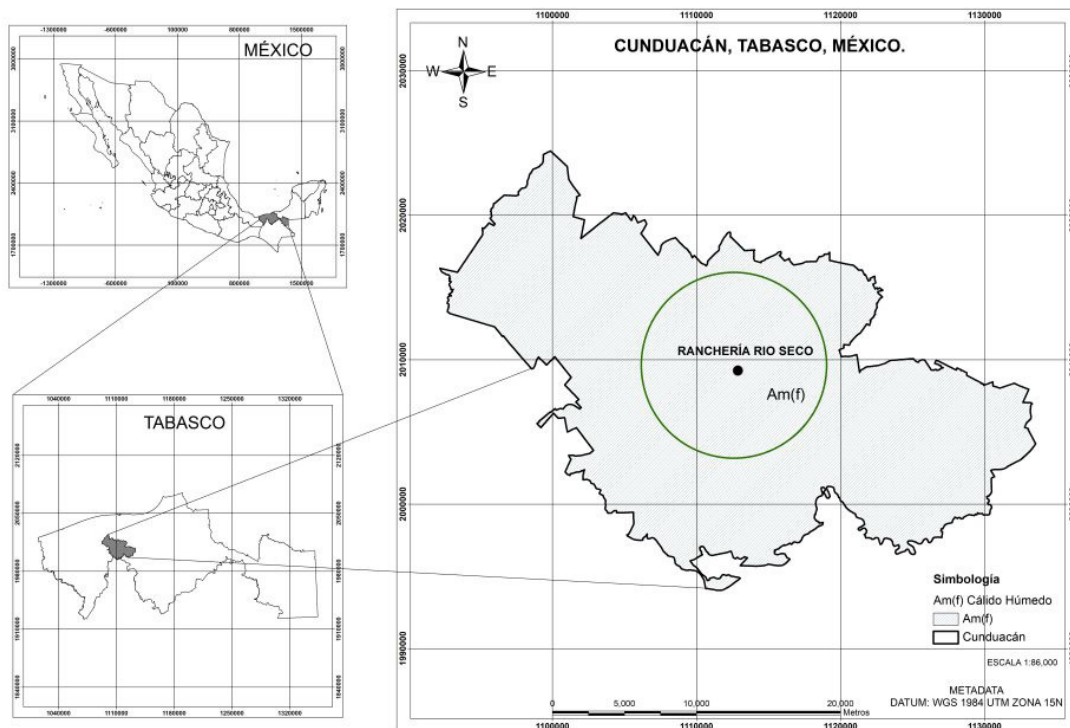


Figure 1. Location of the collection of *Theobroma cacao* L. variety Carmelo.

Figura 1. Localización de la colección de *Theobroma cacao* L. variedad Carmelo.

Cocoa pod husk preparation

The cocoa pod husk (CPH) were dried at room temperature with partial sun exposure for 18 days. Subsequently, they were ground in a laboratory mill (Thomas Wiley 4, Pennsylvania, USA). The ground material was then sieved using U. S. STD 45 and 60 mesh sieves (W. S. Tyler, Ohio, USA) to obtain particle size classifications of 355 μm and 250 μm , respectively. The meal retained on the 250 μm particle size 60 mesh was used for all chemical determinations. Finally, the samples were weighed as appropriate for each determination and dried to a constant weight in a conventional oven at 102 °C.

Main chemical components

The determination of lignocellulose was based on the use of two standards from the Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI), one standard from the American Society for Testing and Materials (ASTM), and a widely used chlorite-acetic method for the disintegration of lignocellulosic material (Rowell, 2012). TAPPI standard 204 cm-97 was used with modifications for sample preparation, solvent extraction, and quantification of extracts (TAPPI, 1997). The solvents used in this standard were replaced by hexane, dichloromethane, and methanol to eliminate the use of benzene, which is highly toxic and carcinogenic, as specified in the standard. For the determination of lignin, TAPPI standard 222 om-02 was used (TAPPI, 2002a); for ash quantification, TAPPI standard 211 om-02 (TAPPI, 2002b); and for the contents of holocellulose and cellulose ASTM standard D 1103-77 (ASTM, 1985). Finally, the hemicellulose content was quantified by weight difference. All determinations were performed in quadruplicate and the results were expressed as mean percentages \pm standard deviation.

Minerals Profile

To profile and quantify the minerals present in CPH, 0.5 g of CPH was placed in a microwave Teflon cell (Xpress Plus CEM), followed by the addition of 10 mL of 69 % HNO_3 . The sample was then introduced into a CEM microwave instrument, model Mars 6, using the U. S. EPA 3051 method for sample digestion (U. S. Environmental Protection Agency, 2007). The resulting digestion was volumized to 25 mL with deionized water to facilitate the identification and quantification of the concentration of each metal. Subsequently, an iCAP Q ICP-MS instrument (Thermo Scientific, Bremen, Germany) was used to identify and quantify the concentration of each metal ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), employing a calibration curve of standard solutions. Mineral determinations were conducted in triplicate, and the results were expressed as the mean \pm standard deviation.

Folin-Ciocalteu, sal diamónica (ABTS) ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) 98 % y ácido (\pm)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, también conocido como Trolox (SUPELCO, Merck KGaA, Saint Louis, Missouri, EE. UU.).

Preparación de la cáscara de la vaina de cacao

Las CVC se secaron a temperatura ambiente con exposición parcial al sol durante 18 días. Posteriormente, se trituraron en un molino de laboratorio (Thomas Wiley 4, Pensilvania, EE. UU.). A continuación, el material molido se tamizó con malla 45 y 60 U. S. STD (W. S. Tyler, Ohio, EE. UU.) para obtener clasificaciones granulométricas de 355 μm y 250 μm , respectivamente. La harina que quedó en la malla 60 con partículas de 250 μm se utilizó para las determinaciones químicas. Por último, las muestras se pesaron según correspondía para cada determinación y se secaron hasta alcanzar peso constante en una estufa convencional a 102 °C.

Principales componentes químicos

La determinación de la lignocelulosa se basó en el uso de dos normas de la Asociación Técnica de la Industria de la Pasta y el Papel (TAPPI), una norma de la Sociedad Estadounidense de Pruebas y Materiales (ASTM) y un método cloritoacético utilizado ampliamente para la desintegración del material lignocelulósico (Rowell, 2012). Para preparar las muestras, extraer los disolventes y cuantificar los extractos, se utilizó la norma TAPPI 204 cm-97 (TAPPI, 1997) con algunas modificaciones. Los disolventes utilizados en esta norma se sustituyeron por hexano, diclorometano y metanol para eliminar el uso de benceno que es altamente tóxico y cancerígeno. Para la determinación de lignina se utilizó la norma TAPPI 222 om-02 (TAPPI, 2002a); para la cuantificación de cenizas, la norma TAPPI 211 om-02 (TAPPI, 2002b); y para los contenidos de holocelulosa y celulosa, la norma ASTM D 1103-77 (ASTM, 1985). Por último, el contenido de hemicelulosa se cuantificó por diferencia de peso. Todas las determinaciones se realizaron por cuadruplicado y los resultados se expresaron como porcentajes medios \pm desviación estándar.

Perfil de minerales

Para perfilar y cuantificar los minerales presentes, se colocaron 0.5 g de CVC en una celda de teflón para microondas (Xpress Plus CEM), seguida de la adición de 10 mL de HNO_3 al 69 %. A continuación, la muestra se introdujo en un instrumento de microondas CEM (modelo Mars 6), utilizando el método US EPA 3051 para la digestión de muestras (U. S. Environmental Protection Agency, 2007). La digestión resultante se aforó a 25 mL con agua desionizada para facilitar la identificación y cuantificación de los metales.

Methanolic extract

An extract was prepared with 0.5 g dry base of CPH and 25 mL of 80 % methanol, adjusted to pH 3 with 0.1 N HCl. This mixture was subjected to vortex agitation at 3000 rpm for 3 min, followed by sonication for 15 min, then placed in a rotary incubator at 30 °C and 150 rpm for 30 min, finally it was centrifuged at 3000 rpm for 20 min, the excess was transferred to a volumetric flask and made up to 25 mL with 80 % methanol. This extract was used to determine the antioxidant properties of the CPH. The method used was reported by Hernández-Rodríguez et al. (2019), who indicate that, since phenolic compounds are polar substances, they can be extracted using organic solvents that have been acidified to promote protonation.

Phenolic content

The total phenolic content of CPH was determined by the method reported by Hernández-Rodríguez et al. (2016). Aliquots of 25 µg of methanolic extract of CPH were prepared, to which 25 µL of distilled water and 20 µL of Folin-Ciocalteu reagent were added, then 30 µL of 20 % Na₂CO₃ solution was added and allowed to react for 30 min in the absence of light, the absorbance was measured at a wavelength of 760 nm in a µQuant microplate reader (Biotek, Instruments Inc., USA). The result was expressed as milligram equivalents of gallic acid per gram of cocoa pod dry weight (mg GAE·g⁻¹).

Flavonoid content

The total flavonoid content was determined according to the method of Hernández-Rodríguez et al. (2019), 0.5 mL of CPH methanolic extract was mixed with 2.5 mL of distilled water and 0.15 mL of 5 % NaNO₂ solution. The mixture was allowed to stand for 6 min, after which 0.3 mL of 10 % AlCl₃·6H₂O was added. Following a 5-minute rest, 1 mL of 5 % NaOH was added and the solution was vortexed at 3000 rpm for 3 min. Subsequently, 200 µL of the aliquot was added to the microplate in quadruplicate, and absorbances were measured at 510 nm using the µQuant microplate reader (Biotek Instruments Inc., USA). The result was expressed as milligram equivalents of catechin per gram of cocoa pod shell dry matter (mg CE·g⁻¹).

ABTS (2,2'-azino-bis[3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) assay

The assay was carried out using the method described by Arzeta-Ríos et al. (2020). First, solution 1 was prepared by combining 7.4 mM ABTS and 2.6 mM sodium persulfate in equal volumes of 10 mL, and then incubating the mixture for 16 h at room temperature

Posteriormente, se utilizó un instrumento ICP-MS iCAP Q (Thermo Scientific, Bremen, Alemania) para la identificación y cuantificación de la concentración de cada metal (µg·g⁻¹), empleando una curva de calibración de soluciones patrón. Los minerales se determinaron por triplicado y los resultados se expresaron como media ± desviación estándar.

Extracto metanólico

Se preparó un extracto con 0.5 g de base seca de CVC y 25 mL de metanol al 80 %, ajustado a pH 3 con HCl 0.1 N. Esta mezcla se agitó en vórtex a 3000 rpm durante 3 min, seguida de sonicación durante 15 min, luego se colocó en un incubador rotatorio a 30 °C y 150 rpm durante 30 min; finalmente, se centrifugó a 3000 rpm durante 20 min, el exceso se transfirió a un matraz aforado y se enrasó a 25 mL con metanol al 80 %. Este extracto se utilizó para determinar las propiedades antioxidantes de la CVC. Este método fue reportado por Hernández-Rodríguez et al. (2019), quienes indican que, debido a su polaridad, los compuestos fenólicos pueden extraerse utilizando solventes orgánicos que se han acidificado para promover la protonación.

Contenido fenólico

El contenido fenólico total de la CVC se determinó mediante el método reportado por Hernández-Rodríguez et al. (2016). Se prepararon alícuotas de 25 µg de extracto metanólico de CVC, a las que se añadieron 25 µL de agua destilada y 20 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu; posteriormente, se añadieron 30 µL de solución de Na₂CO₃ al 20 % y se dejaron reaccionar durante 30 min en ausencia de luz. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 760 nm en un lector de microplacas µQuant (Biotek, Instruments Inc., EE. UU.). El resultado se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco de vaina de cacao (mg GAE·g⁻¹).

Contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides totales se determinó según el método de Hernández-Rodríguez et al. (2019). Para ello, 0.5 mL de extracto metanólico de CVC se mezcló con 2.5 mL de agua destilada y 0.15 mL de solución de NaNO₂ al 5 %. La mezcla se dejó reposar durante 6 min, tras lo cual se añadieron 0.3 mL de AlCl₃·6H₂O al 10 %. Tras un reposo de 5 minutos, se agregó 1 mL de NaOH al 5 % y la solución se agitó en vórtex a 3000 rpm durante 3 min. A continuación, se adicionaron 200 µL de alícuota a la microplaca por cuadruplicado y se midieron las absorbancias a 510 nm utilizando el lector de microplacas µQuant (Biotek Instruments Inc., EE. UU.). El resultado se expresó como miligramos

in the absence of light. Next, 600 μL of solution 1 was taken and topped up to 10 mL with absolute methanol. In a microplate reader μQuant (Biotek, Instruments Inc., USA), 20 μL of CPH extract, 20 μL of Trolox solution in concentrations ranging from 5 to 60 μL , and 180 μL of solution 1 were placed. The absorbances were then read at 734 nm after 10 minutes, and the data from the calibration curve were used to determine the results, which are expressed in μmol of Trolox equivalents per gram of CPH dry base ($\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$) required to trap the ABTS radical.

FRAP (ferric reducing antioxidant power) assay

The FRAP assay was carried out following the method described by Hernandez et al. (2019), FRAP reagent was prepared using a mixture of sodium acetate buffer (300 mM, pH 3.6), 10 mM 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) dilution (in 40 mM HCl), and 20 mM ferric chloride dilution in a 10:1:1 ratio. An aliquot (20 μL) of the extract was mixed with 180 μL of the FRAP dilution and 60 μL of distilled water. The absorbance was measured at 595 nm using a μQuant microplate reader (Biotek, Instruments Inc., USA). The results were expressed as μmol Trolox equivalents per gram of CPH dry weight ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$).

The determinations of total phenolic content, flavonoid content, the ABTS and FRAP assay were performed in quadruplicate, and the results were expressed as the mean \pm standard deviation.

Results and Discussion

The Carmelo variety is characterized by its elongated fruit with an absent to weak basal constriction, an obtuse apex shape, medium length, a large diameter, a moderately elongated length-to-diameter ratio, an orange exocarp, a moderately rough surface, medium depth of furrows, medium thickness, light cream flesh, a low number of white seeds, and a sweet taste.

The determination of extractables in polar solvents, lignocellulosic constituents, mineral profile and content, quantification of phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of *T. cacao* variety Carmelo shells is shown in Table 1.

Extractables in organic solvents

In the determination of extractives from lignocellulosic materials using ethanol-benzene solvents, fats, waxes, phytosterols, low molecular weight carbohydrates, resins and salts can be obtained (Jani & Rushdan, 2014). The total content of cocoa pod shell extracts obtained

equivalentes de catequina por gramo de materia seca de cáscara de vaina de cacao ($\text{mg CE}\cdot\text{g}^{-1}$).

Ensayo ABTS (ácido 2,2'-azino-bis[3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico])

El ensayo se hizo con el método descrito por Arzeta-Ríos et al. (2020). Primero, se preparó la solución 1 combinando 7.4 mM de ABTS y 2.6 mM de persulfato de sodio en volúmenes iguales de 10 mL; posteriormente, la mezcla se incubó durante 16 h a temperatura ambiente en ausencia de luz. A continuación, se tomaron 600 μL de la solución 1 y se completaron hasta 10 mL con metanol absoluto. En un lector de microplacas μQuant (Biotek, Instruments Inc., EE. UU.) se colocaron 20 μL de extracto de CVC, 20 μL de solución de Trolox en concentraciones entre 5 y 60 μL y 180 μL de solución 1. Las absorbancias se leyeron a 734 nm al cabo de 10 minutos y se utilizaron los datos de la curva de calibración para determinar los resultados que se expresaron en μmol equivalentes de Trolox por gramo de base seca de CVC ($\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$) necesarios para atrapar el radical ABTS.

Ensayo FRAP (poder antioxidante férrico reductor)

El ensayo se hizo con el método descrito por Hernández et al. (2019). El reactivo FRAP se preparó utilizando una mezcla de tampón acetato sódico (300 mM, pH 3.6), 10 mM de dilución de 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ en HCl 40 mM) y 20 mM de dilución de cloruro férrico en una relación 10:1:1. Se mezcló una alícuota (20 μL) del extracto con 180 μL de dilución FRAP y 60 μL de agua destilada. La absorbancia se midió a 595 nm en un lector de microplacas μQuant (Biotek, Instruments Inc., EE. UU.). Los resultados se expresaron como μmol equivalentes de Trolox por gramo de peso seco de CVC ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$).

Las determinaciones del contenido fenólico total y flavonoides, ensayos ABTS y FRAP se realizaron por cuadruplicado y los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar.

Resultados y discusión

La variedad Carmelo se caracteriza por su fruto alargado con una constricción basal ausente o débil, un ápice obtuso, longitud media, diámetro grande, una relación longitud/diámetro moderadamente alargada, exocarpio naranja, superficie moderadamente rugosa, profundidad media de los surcos, grosor medio, pulpa de color crema claro, número reducido de semillas blancas y sabor dulce.

El Cuadro 1 muestra la determinación de extraíbles en solventes polares, los componentes lignocelulósicos, el perfil y contenido mineral, la cuantificación de

Table 1. Composition of the major chemical constituents of the cocoa pod husk of *Theobroma cacao* L. variety Carmelo.**Cuadro 1. Composición de los principales componentes químicos de la cáscara de la vaina de cacao de *Theobroma cacao* L. variedad Carmelo.**

Chemical Constituent / Componentes químicos		Average $\pm \sigma$ This study / Media $\pm \sigma$ Este estudio	Average Other research / Media Otros estudios	Reference / Referencia
Lignocellulosic (%) / Lignocelulósico (%)	Hexane extractables / Extraíbles de hexano	0.06 \pm 0.01	ND	This work / Este estudio
	Dichloromethane extractables / Extraíbles de diclorometano	0.32 \pm 0.05	ND	This work / Este estudio
	Methanol extractables / Extraíbles de metanol	19.01 \pm 1.29	ND	This work / Este estudio
	Total extractables / Extraíbles totales	19.39 \pm 1.35	23.66	Titiloye et al. (2013)
	Lignin / Lignina	23.28 \pm 0.44	24.16 27.90 14.70	Sandesh et al. (2020) Redgwell et al. (2003) Daud et al. (2014)
	Cellulose / Celulosa	30.52 \pm 1.03	30.41 28.25 35.40 35.00	Titiloye et al. (2013) Sandesh et al. (2020) Daud et al. (2014) Campos-Vega et al. (2018)
	Hemicellulose / Hemicelulosa	19.09 \pm 1.44	16.75 22.40	Sandesh et al. (2020) Redgwell et al. (2003)
	Ashes / Cenizas	7.75 \pm 0.69	8.32 / 8.42 6.70 / 10.02 6.40 / 8.40 6.70 / 13.00	Martínez et al. (2012) Campos-Vega et al. (2018) Lu et al. (2018) Vásquez et al. (2019)
Minerals ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) / Minerales ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Al	22.79 \pm 2.46	ND	This work / Este estudio
	V	0.06 \pm 0.00	ND	This work / Este estudio
	Cr	0.37 \pm 0.01	ND	This work / Este estudio
	Fe	164.44 \pm 1.79	58 466	Vriesmann et al. (2011) Aregheore (2002)
	Co	0.15 \pm 0.01	ND	This work / Este estudio
	Ni	10.70 \pm 0.30	3.10 / 6.27	Barraza et al. (2021)
	Cu	6.91 \pm 0.24	0.55 6.18	Moyin-Jesu (2007) Vriesmann et al. (2011)
	As	0.04 \pm 0.00	ND	This work / Este estudio
	Cd	1.00 \pm 0.02	0.60 / 0.80 0.16 / 0.27	Gramlich et al. (2016)
	Ba	63.58 \pm 0.36	98	Barraza et al. (2021)
	Zn	63.44 \pm 0.86	41.50 / 47.00 42.90 / 45.80 90 39	Barraza et al. (2021) Gramlich et al. (2016) Aregheore (2002) Vriesmann et al. (2011)
	Hg	0.03 \pm 0.02	ND	This work / Este estudio
	Pb	0.18 \pm 0.01	ND	This work / Este estudio

GAE: gallic acid equivalents (dry basis); CE: catechin equivalents (dry basis); TE: trolox Equivalent (dry basis). ABTS: 2,2'-azino-bis(3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); FRAP: ferric reducing antioxidant power.

GAE: equivalentes de ácido gálico (base seca); EC: equivalentes de catequina (base seca); ET: equivalente de trolox (base seca). ABTS: ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico); FRAP: poder antioxidante reductor del ion férrico.

Table 1. Composition of the major chemical constituents of the cocoa pod husk of *Theobroma cacao* L. variety Carmelo. (cont.)
Cuadro 1. Composición de los principales componentes químicos de la cáscara de la vaina de cacao de *Theobroma cacao* L. variedad Carmelo. (cont.)

Chemical Constituent / Componentes químicos	Average $\pm \sigma$ This study / Media $\pm \sigma$ Este estudio	Average Other research / Media Otros estudios	Reference / Referencia
Total phenolic compounds (mg GAE·g ⁻¹) / Compuestos fenólicos totales (mg GAE·g ⁻¹)	24.59 \pm 0.93	24.80 /	Nieto-Figueroa et al. (2020) Jamaluddin et al. (2022) Jamaluddin et al. (2022) Jamaluddin et al. (2022) Castro-Vargas et al. (2019) Siqueira-Melo et al. (2011) Valadez-Carmona et al. (2017) Martínez et al. (2012) Martínez et al. (2012)
Flavonoids (mg CE·g ⁻¹) / Flavonoides (mg EC·g ⁻¹)	2.35 \pm 0.24	1.10 / 1.30 0.97 0.56	Nieto-Figueroa et al. (2020) Valadez-Carmona et al. (2017) Castro-Vargas et al. (2019)
ABTS (μ mol TE·g ⁻¹) / ABTS (μ mol ET·g ⁻¹)	304.84 \pm 57.18	227.70 / 147.00 30.60 24.13 42 / 24	Nieto-Figueroa et al. (2020) Valadez-Carmona et al. (2017) Martínez et al. (2012) Lu et al. (2018)
FRAP (μ mol TE·g ⁻¹) / FRAP (μ mol ET·g ⁻¹)	145.80 \pm 3.84	521.73 1.98	Jamaluddin et al. (2022) Martínez et al. (2012)

GAE: gallic acid equivalents (dry basis); CE: catechin equivalents (dry basis); TE: trolox Equivalent (dry basis). ABTS: 2,2'-azino-bis(3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); FRAP: ferric reducing antioxidant power.

GAE: equivalentes de ácido gálico (base seca); EC: equivalentes de catequina (base seca); ET: equivalente de trolox (base seca). ABTS: ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico); FRAP: poder antioxidante reductor del ion férrico.

in this study was 19.4 %, of which 19 % corresponds to those soluble in methanol, which could be low molecular weight carbohydrates and salts, 0.32 % corresponds to those soluble in dichloromethane, and a percentage of 0.068 % are those extracted in hexane, which according to the (TAPPI, 1997) standard could be waxes and fats. Despite the exclusion of benzene as a solvent of low polarity compounds, the content of extractables determined in this work is close to the 23.66 % reported by Titiloye et al. (2013) for CPH, who did not specify the composition of these extractables. In this sense, it can be observed that the substitution of benzene did not alter the release of CPH extractables for subsequent lignocellulosic determinations, in which it is necessary to have the material free of these extractables.

Lignin content

The lignin content in this study was 23.28 %, similar to the 24.16 % reported by Sandesh et al. (2020) and close to the 27.9 % reported by Redgwell et al. (2003) in cocoa pod using the Klason lignin method. On the other hand, Daud et al. (2014) determined 14.7 %

fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de las cáscaras de *T. cacao* variedad Carmelo.

Extraíbles en disolventes orgánicos

Al determinar los extractivos de materiales lignocelulósicos utilizando disolventes etanol-benceno se pueden obtener grasas, ceras, fitoesteroles, carbohidratos de bajo peso molecular, resinas y sales (Jani & Rushdan, 2014). El contenido total de extractos de CVC fue 19.4 %, de los cuales 19 % corresponde a los solubles en metanol que podrían ser carbohidratos de bajo peso molecular y sales, 0.32 % corresponde a los solubles en diclorometano y 0.068 % son los extraídos en hexano, que según la norma TAPPI (1997) podrían ser ceras y grasas. A pesar de la exclusión del benceno como disolvente de compuestos de baja polaridad, el contenido de extraíbles en este trabajo se aproxima al 23.66 % reportado por Titiloye et al. (2013) para CVC, quienes no especificaron la composición. En este sentido, se puede observar que la sustitución del benceno no alteró la liberación de extractables de la CVC para determinaciones lignocelulósicas posteriores, en las que es necesario disponer del material libre de estos extractables.

lignin in CVC, a value much lower than that found in the present study and those cited above. According to Barhoum et al. (2020), the lignin content reported for other lignocellulosic materials such as wood is usually between 10 and 25 % depending on the species, some values reported for eucalyptus and pine are 21.5 % and 20 %, respectively, very similar to those reported in this study. Lignin has high value-added applications as a fertilizer, dispersant, chelating agent, and because of its high carbon content, it is a potential precursor for materials such as activated carbon and carbon electrodes. The paper industry generates 75 million tons of lignin per year in the pulp production process from wood fibers (Yao et al., 2022). However, this industry has been replacing wood fibers with recycled fibers as an environmental strategy (Jochem et al., 2021), so the production of lignin from CPH could be a viable option.

Cellulose and hemicellulose content

The cellulose content was 30.52 %, which is similar to the 30.41 % reported by Titiloye et al. (2013) and close to the 28.25 % reported by Sandesh et al. (2020). Other cellulose contents of CPH are 35.4 % and 35 % reported by Daud et al. (2014) and Campos et al. (2018) respectively, using the chlorite method as in this work. The cellulose content of other lignocellulosic materials, such as pine and eucalyptus wood, is 40 and 54 %, respectively (Barhoum et al., 2020) which is much higher than that of CPH. The hemicellulose content was 19.09 %, which is between the values of 16.75 % and 22.4 % of cocoa pod hemicelluloses reported by Sandesh et al. (2020) and Redgwell et al. (2003), respectively. According to Barhoum et al. (2020), wood biomass has a hemicellulose content ranging from 11 % to 35.9 % for hardwoods and 24 % to 27 % for softwoods. Agricultural and forestry residues represent a viable option for the production of alternative fuels (Devi et al., 2021). CPH of the Carmelo variety have potential as a source of cellulose and hemicellulose, comparable to cocoa husks from Chiapas, Mexico, which were studied and reported by Hernández-Mendoza et al. (2021) as having potential for bioethanol production.

Ash content

The ash content is 7.75 %, similar to 8.42 and 8.32 % of different origins studied by Martínez et al. (2012), and between the ranges of 6.7 to 10.02 %, 6.4 to 8.4 %, and 6.7 to 13 % reported by Campos et al. (2018), Lu et al. (2018) and Vazquez et al. (2019), respectively. The ash content is an average value of the mineral salts that are part of the lignocellulosic composition of CPH and is approximately 25 times higher than the ash content that ranges from 0.26 to 0.52 % in highly available lignocellulosic materials such as pine wood of various

Contenido de lignina

El contenido de lignina fue 23.28 % que es similar al 24.16 % reportado por Sandesh et al. (2020) y cercano al 27.9 % obtenido por Redgwell et al. (2003) en vainas de cacao con el método de lignina de Klason. Por otro lado, Daud et al. (2014) determinaron 14.7 % de lignina en CVC, valor mucho más bajo que el encontrado en el presente estudio y los ya citados. Según Barhoum et al. (2020), el contenido de lignina reportado para otros materiales lignocelulósicos como la madera suele estar entre 10 y 25 % dependiendo de la especie; algunos valores señalados para eucalipto y pino son 21.5 % y 20 %, respectivamente, muy similares a los del presente estudio. La lignina tiene aplicaciones de alto valor añadido como fertilizante, dispersante, agente quelante y, debido a su contenido alto en carbono, es un precursor potencial para materiales como el carbono activado y los electrodos de carbono. La industria papelera genera 75 millones de toneladas de lignina al año en el proceso de producción de pasta a partir de fibras de madera (Yao et al., 2022); sin embargo, esta industria ha ido sustituyendo las fibras de madera por fibras recicladas como estrategia medioambiental (Jochem et al., 2021), por lo que la producción de lignina a partir de CVC podría ser una opción viable.

Contenido de celulosa y hemicelulosa

El contenido de celulosa fue 30.52 % que es similar al 30.41 % obtenido por Titiloye et al. (2013) y cercano al 28.25 % reportado por Sandesh et al. (2020). Otros contenidos de celulosa de CVC son 35.4 % y 35 % reportados por Daud et al. (2014) y Campos et al. (2018), respectivamente, utilizando el método de clorito como en este trabajo. El contenido de celulosa de otros materiales como la madera de pino y eucalipto es de 40 y 54 %, respectivamente (Barhoum et al., 2020), valores mucho mayores que el de CVC. El contenido de hemicelulosa fue 19.09 % que se sitúa entre los valores de 16.75 % y 22.4 % de hemicelulosas de vaina de cacao comunicados por Sandesh et al. (2020) y Redgwell et al. (2003), respectivamente. Según Barhoum et al. (2020), la biomasa de madera tiene un contenido de hemicelulosa que oscila entre 11 % y 35.9 % para las maderas duras y entre 24 % y 27 % para las maderas blandas. En este sentido, los residuos agrícolas y forestales representan una opción viable para la producción de combustibles alternativos (Devi et al., 2021). La CVC de la variedad Carmelo tiene potencial como fuente de celulosa y hemicelulosa, comparable a la cáscara de cacao de Chiapas, México que fue señalada por Hernández-Mendoza et al. (2021) como potencial para la producción de bioetanol.

Contenido de ceniza

El contenido de cenizas es 7.75 %, similar a 8.42 y 8.32 % en CVC de otros orígenes analizados por Martínez et al.

species (Bernabé-Santiago et al., 2013). CPH ash has been studied as a fertilizer substitute in partial or total application (Campos-Vega et al., 2018). CVC has also been analyzed as compost and has been observed to increase soil pH and improve fertility by incorporating most of the essential elements; it also improves cocoa growth, offers a useful alternative to fungicides, and reduces the risk of black pod disease when properly managed and not just left as residue in cultivation areas (Doungous et al., 2018).

Mineral Profile

In relation to a high ash content, the CPH material has been widely recognized to be rich in mineral nutrients, with the following concentrations: K (2768 - 112.04 mg·100 g⁻¹), Mg (110.9 - 21.23 mg·100 g⁻¹), Ca (254 - 6.15 mg·100 g⁻¹), Zn (39.74 - 7.22 mg·100 g⁻¹), Mn (35.72 - 7.32 mg·100 g⁻¹), Na (10.5 - 0.47 mg·100 g⁻¹), Cu (8.55 - 6.18 mg·100 g⁻¹), Fe (5.8 - 5.04 mg·100 g⁻¹) and Se (0.01 mg·100 g⁻¹) (Vargas-Arana et al., 2022; Vriesmann et al., 2011). Minerals such as Mn, Cu, Zn, Ni and Mo are micronutrients required by plants, but there are others that are considered toxic to human health such as As, Cd, Cr and Pb (Barraza et al., 2021). Cd is known to accumulate in the cocoa bean, its derivatives and by-products, and other foods subproductos (Gramlich et al., 2016). Cd is a metal that is toxic to human health, has no biological function, occurs naturally in soil, and is increasing worldwide due to anthropogenic inputs (Gramlich et al., 2016).

CPH have been used locally in some West African countries for the production of 'black' soap. It has also been extensively used in composts and its potential as organic matter for soil replenishment, fertilization and biological control has been extensively studied (Doungous et al., 2018; Moyin-Jesu, 2007; Olubunmi-Kayode et al., 2018). However, the possibility of using it as an additive in the food industry has been raised, so it was important to measure some other minerals that have not been reported and could be considered toxic to human health, in addition to those already known.

In this study, 13 concentrations of minerals were determined in CPH of the Carmelo variety, presented in descending order of concentration: with the highest values between 164 and 63 µg·g⁻¹, Fe > Ba > Zn were found, followed by those with medium values between 22 and 1 µg·g⁻¹, Al > Ni > Cu > Cu > Cd and finally those with low values between 0.37 and 0.03 µg·g⁻¹, Cr > Pb > Co > V > As > Hg. Vriesmann et al. (2011) coincidentally reported higher Fe content in relation to Zn, with values of 58 and 39 µg·g⁻¹, respectively; Aregheore et al. (2002) agree with this trend, reporting 466 and 90 µg·g⁻¹ for Fe and Zn respectively, but with a value for Zn much higher than those reported by the generality. Barraza

(2012) y entre los rangos de 6.7 a 10.02 %, 6.4 a 8.4 % y 6.7 a 13 % reportados por Campos et al. (2018), Lu et al. (2018) y Vázquez et al. (2019), respectivamente. El contenido de cenizas es un valor medio de las sales minerales que conforman la composición lignocelulósica de CVC y es aproximadamente 25 veces superior al contenido que oscila entre 0.26 y 0.52 % en materiales lignocelulósicos de disponibilidad alta como la madera de pino de varias especies (Bernabé-Santiago et al., 2013). Las cenizas de la CVC se han estudiado como sustituto de fertilizantes en aplicación parcial o total (Campos-Vega et al., 2018). La CVC también se ha analizado como composta y se ha observado que aumenta el pH del suelo y mejora la fertilidad mediante la incorporación de la mayoría de los elementos esenciales; asimismo, mejora el crecimiento del cacao, ofrece una alternativa útil con respecto a los fungicidas y reduce el riesgo de la enfermedad de la vaina negra cuando se maneja adecuadamente y no solo se deja como residuo en las áreas de cultivo (Doungous et al., 2018).

Perfil mineral

En relación con el contenido alto de cenizas, el material de CVC es reconocido como rico en nutrientes minerales con las concentraciones siguientes: K (2768 - 112.04 mg·100 g⁻¹), Mg (110.9 - 21.23 mg·100 g⁻¹), Ca (254 - 6.15 mg·100 g⁻¹), Zn (39.74 - 7.22 mg·100 g⁻¹), Mn (35.72 - 7.32 mg·100 g⁻¹), Na (10.5 - 0.47 mg·100 g⁻¹), Cu (8.55 - 6.18 mg·100 g⁻¹), Fe (5.8 - 5.04 mg·100 g⁻¹) y Se (0.01 mg·100 g⁻¹) (Vargas-Arana et al., 2022; Vriesmann et al., 2011). Los minerales como Mn, Cu, Zn, Ni y Mo son micronutrientes necesarios para las plantas, pero hay otros que se consideran tóxicos para la salud como As, Cd, Cr y Pb (Barraza et al., 2021). Se sabe que el Cd se acumula en el grano de cacao, sus derivados y subproductos (Gramlich et al., 2016). El Cd es un metal tóxico para la salud, no tiene función biológica, se encuentra de forma natural en el suelo y su presencia está en aumento en todo el mundo debido a los efectos antropogénicos (Gramlich et al., 2016).

La CVC se ha utilizado localmente en algunos países de África Occidental para la elaboración de jabón 'negro'; también se ha usado en composta y se ha estudiado su potencial como materia orgánica para la reposición del suelo, fertilización y control biológico (Doungous et al., 2018; Moyin-Jesu, 2007; Olubunmi-Kayode et al., 2018). No obstante, se ha planteado la posibilidad de utilizarlo como aditivo en la industria alimentaria, por lo que se consideró medir algunos otros minerales que no se han reportado y que podrían considerarse tóxicos para la salud, además de los ya conocidos.

En este estudio se determinaron 13 concentraciones de minerales en CVC variedad Carmelo, presentadas en orden descendente de concentración: con los

et al. (2021) reported Zn concentrations of 41.5 and 47 mg·kg⁻¹ and Ba concentrations of 98 mg·kg⁻¹ in cocoa beans in Ecuador, while Gramlich et al. (2016) reported Zn concentrations of 42.9 and 45.8 mg·kg⁻¹ in CPH of two varieties from Bolivia. Zn values are close to those reported in this study; however, those for Ba are much higher. Concerning Cu, concentrations of 0.55 mg·kg⁻¹ and 6.18 mg·100 g⁻¹ of CPH were reported by Moyin-Jesu (2007) and Vriesmann et al. (2011), respectively, which are similar to those reported in this study. Barraza et al. (2021) reported mean Ni concentrations of 3.10 and 6.27 mg·kg⁻¹ in two varieties of CPH from Ecuador, which are significantly lower than those found in this study for the Carmelo variety. On the other hand, Gramlich et al. (2016) reported Cd concentrations ranging from 0.6 to 0.8 and 0.16 to 0.27 mg·kg⁻¹ for CPH and seeds, respectively, observing that the concentration of Cd in the shells was significantly higher than that in the seeds. In this sense, the value reported in this study for Cd is relatively higher. Regarding the presence of Al in this lignocellulosic material. No previous reports were found on this matter; however, it is presumed that this element was bioadsorbed by the material, probably originating from the soil or water containing this type of contaminants. It is important to note that Al would not be suitable for food or pharmaceutical uses. Finally, for Cr, Pb, Co, V, As and Hg, there are no comparative references in CPH, but the concentrations determined by this study are low in relation to the rest of the minerals that make it up and in relation to Cd, as a reference of contaminant and toxic mineral.

The concentrations of minerals in CPH will vary according to the origin, type of soil, type of crop, crop management and surrounding activity association (Barraza et al., 2021; Gramlich et al., 2016). However, if CPH material were to be considered for any food use, it would be necessary to verify that the volume contribution of contaminant minerals does not exceed the 2.5 µg·kg⁻¹ body weight tolerable monthly intake concentration established by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and the EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (European Food Safety Authority, 2012).

Total phenolic and flavonoid content

The total phenolic content for cacao nibs of variety Carmelo extracted with methanol-water was 24.59 mg GAE·g⁻¹ dry base sample, this result is comparable to the range of values reported by Nieto-Figueroa et al. (2020) from 24.8 to 27.3 mg GAE·g⁻¹ of cacao nibs from Tabasco Mexico dried by different methods. Moreover, the content is within the range reported by Jamaluddin et al. (2022) for phenolic contents of acetone (17.62 mg GAE·g⁻¹), ethanol (19.83 mg GAE·g⁻¹), and methanol

valores más altos entre 164 y 63 µg·g⁻¹ se encontraron Fe > Ba > Zn, seguidos por los de valores medios entre 22 y 1 µg·g⁻¹, Al > Ni > Cu > Cu > Cd y, finalmente, los de valores bajos entre 0.37 y 0.03 µg·g⁻¹, Cr > Pb > Co > V > As > Hg. Vriesmann et al. (2011) reportaron coincidentemente contenido más alto de Fe en relación con el Zn, con valores de 58 y 39 µg·g⁻¹, respectivamente; Aregheore et al. (2002) concuerdan con esta tendencia y señalaron 466 y 90 µg·g⁻¹ para Fe y Zn, respectivamente, pero con el valor de Zn superior a los reportados por la generalidad. Barraza et al. (2021) indicaron concentraciones de Zn de 41.5 y 47 mg·kg⁻¹ y concentraciones de Ba de 98 mg·kg⁻¹ en granos de cacao en Ecuador, mientras que Gramlich et al. (2016) reportaron concentraciones de Zn de 42.9 y 45.8 mg·kg⁻¹ en CVC de dos variedades en Bolivia. Estos últimos valores de Zn son cercanos a los reportados en el presente estudio; sin embargo, los de Ba son mucho más altos. Con respecto a Cu, Moyin-Jesu (2007) y Vriesmann et al. (2011) reportaron concentraciones de 0.55 mg·kg⁻¹ y 6.18 mg·100 g⁻¹ de CVC, respectivamente, que son similares a las reportadas en este estudio. Barraza et al. (2021) determinaron concentraciones medias de Ni de 3.10 y 6.27 mg·kg⁻¹ en dos variedades de CVC de Ecuador, que son significativamente inferiores a las encontradas para la variedad Carmelo. Por otro lado, Gramlich et al. (2016) informaron concentraciones de Cd de 0.6 a 0.8 y 0.16 a 0.27 mg·kg⁻¹ de CVC y semillas, respectivamente, y observaron que la concentración de Cd en las cáscaras fue significativamente mayor que en las semillas. En este sentido, el valor de Cd obtenido en este estudio es relativamente mayor. En cuanto a la presencia de Al en este material lignocelulósico, no se encontraron estudios al respecto; sin embargo, se presume que este elemento haya sido bioadsorbido por el material, probablemente proveniente del suelo o del agua que contiene este tipo de contaminantes. Es importante señalar que el Al no es apto para fines alimentarios o farmacéuticos. Finalmente, para Cr, Pb, Co, V, As y Hg no existen referencias comparativas en la CVC, pero las concentraciones determinadas en este estudio son bajas comparadas con el resto de los minerales que lo componen y en relación con Cd como referencia de mineral contaminante y tóxico.

Las concentraciones de minerales en CVC variarán en función del origen, tipos de suelo y cultivo, y su manejo y asociación con actividades del entorno (Barraza et al., 2021; Gramlich et al., 2016). No obstante, si el material de CVC se considerara para cualquier uso alimentario, sería necesario verificar que la contribución en volumen de minerales contaminantes no supere la concentración de ingesta mensual tolerable de 2.5 µg·kg⁻¹ de peso corporal establecida por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios y la Comisión Técnica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria de la EFSA (European Food Safety Authority, 2012).

(34.88 mg GAE·g⁻¹) extracts of CPH from Malaysia. These values are comparable to 35.53 mg GAE·g⁻¹ and 16.57 mg GAE·g⁻¹ of mango and grape peel reported by Castro-Vargas et al. (2019) and Siqueira et al. (2011), respectively. On the other hand, Valadez et al. (2017) reported 323.7 mg GAE·100 g⁻¹ of CPH from Chiapas, Mexico, which is similar to the phenolic content of ethanol (206.67-227 mg GAE·100 g⁻¹) and methanol-acetone (352.67-365.33 mg GAE·100 g⁻¹) extracts of CPH from two locations in Ecuador (Martínez et al., 2012). These values are significantly lower than those found in the present study and those reported by other authors. However, in all cases the trend of higher phenolic content in methanol extracts is maintained.

The phenolic content of cocoa nib extracts depends on the variety or genotype, the origin of the raw material, the extraction method (technology, conditions and solvents) and the pre-treatment. The time and method of drying have a significant influence, as dehydration of the raw material at low temperatures results in higher levels of phenolics, flavonoids and antioxidant activity (Sánchez et al., 2023; Valadez-Carmona et al., 2017). Regarding the flavonoid content of the CPH of the Carmelo variety, a value of 2.35 mg CE·g⁻¹ dry base sample was determined, which is close to the value of 1.1-1.3 mg CE·g⁻¹ reported by Nieto-Figueroa et al. (2020) and higher than the value of 0.097 g CE·g⁻¹ reported by Valadez et al. (2017) for cacao nibs from Chiapas, Mexico. CPH is mainly composed of catechin, quercetin, (-)-epicatechin, gallic acid, coumaric acid, and protocatechinic acid (Lu et al., 2018; Valadez-Carmona et al., 2017). The polyphenols present in CPH are bioactive compounds that represent a potential source for antioxidant-rich foods (Campos-Vega et al., 2018).

Antioxidant Activity

The value of CPH may be largely due to their high content of phenolics and antioxidants, which could benefit human health by being used as an additive in foods or other value-added products (Jamaluddin et al., 2022). The evaluation of antioxidant activity requires different test methods, as a single method can provide basic information, and the combination of several methods can describe the antioxidant properties in more detail. This is because each method measures the ability of a plant's antioxidants to scavenge specific radicals through different electron transfer pathways, either by inhibiting lipid peroxidation or by chelating metal ions (Cádiz-Gurrea et al., 2014; Martínez et al., 2012). In this study, ABTS and FRAP methods were used to evaluate the antioxidant capacity of CPH Carmelo variety. It was observed that ABTS was found to have a higher antioxidant capacity than FRAP, which is attributed to the low selectivity of the ABTS⁺ radical to reach with hydroxylated aromatic compounds, while

Contenido de fenoles y flavonoides totales

El contenido fenólico total para los *nibs* de cacao variedad Carmelo extraídos con metanol y agua fue 24.59 mg GAE·g⁻¹ de muestra base seca. Este resultado se puede comparar con el rango de valores obtenidos por Nieto-Figueroa et al. (2020) de 24.8 a 27.3 mg GAE·g⁻¹ de *nibs* de cacao de Tabasco, México, secados por varios métodos. Asimismo, el contenido está dentro del rango reportado por Jamaluddin et al. (2022) para contenidos fenólicos de extractos de acetona (17.62 mg GAE·g⁻¹), etanol (19.83 mg GAE·g⁻¹) y metanol (34.88 mg GAE·g⁻¹) de CVC proveniente de Malasia. Estos valores son comparables con los valores señalados por Castro-Vargas et al. (2019) y Siqueira et al. (2011) de 35.53 mg GAE·g⁻¹ y 16.57 mg GAE·g⁻¹ de cáscara de mango y uva, respectivamente. Por otro lado, Valadez et al. (2017) indicaron 323.7 mg GAE·100 g⁻¹ de CVC proveniente de Chiapas, México, el cual es similar al contenido fenólico de los extractos de etanol (206.67-227 mg GAE·100 g⁻¹) y extractos de metanol-acetona (352.67-365.33 mg GAE·100 g⁻¹) de CVC de dos sitios en Ecuador (Martínez et al., 2012). Dichos valores son significativamente inferiores a los encontrados en el presente estudio y a los reportados por otros autores; sin embargo, en todos los casos se mantiene la tendencia de contenido fenólico más elevado en los extractos de metanol.

El contenido fenólico de los extractos de cacao depende de la variedad o genotipo, origen de la materia prima, método de extracción (tecnología, condiciones y disolventes) y pretratamiento. El tiempo y método de secado tienen influencia significativa, ya que la deshidratación de la materia prima a temperaturas bajas da lugar a niveles más altos de fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante (Sánchez et al., 2023; Valadez-Carmona et al., 2017). En cuanto al contenido de flavonoides de CVC variedad Carmelo se determinó un valor de 2.35 mg CE·g⁻¹ de muestra en base seca, el cual es cercano al valor de 1.1-1.3 mg CE·g⁻¹ de Nieto-Figueroa et al. (2020) y superior al valor de 0.097 g CE·g⁻¹ de Valadez et al. (2017) para los *nibs* de cacao de Chiapas, México. La CVC está compuesta principalmente por catequina, quercetina, (-)-epicatequina, ácido gálico, ácido p-cumárico y ácido protocatecínico (Lu et al., 2018; Valadez-Carmona et al., 2017). Los polifenoles presentes en la CVC son compuestos bioactivos que representan una fuente potencial de alimentos ricos en antioxidantes (Campos-Vega et al., 2018).

Actividad antioxidante

El valor de las CVC puede deberse en gran medida a su contenido alto en fenoles y antioxidantes que pueden beneficiar la salud al utilizarse como aditivo en alimentos u otros productos de valor añadido

FRAP is based on the ability of phenolic compounds to reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} in the presence of 2,4,6-tripyridyl-s-triazine.

The antioxidant capacity values obtained in this study were $304.84 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ and $145.80 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ for ABTS and FRAP, respectively. These results are close to the ABTS antioxidant capacity ($227.7\text{-}147 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$) in cacao reported by Nieto et al. (2020) and to the ABTS antioxidant capacity of grape skin ($240 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$) reported by Siqueira et al. (2011) but are higher than the ABTS antioxidant capacity of carrot skin beta-carotene ($79.15 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$) reported by Jayesree et al. (2021). These values are higher than the ABTS antioxidant capacity of cocoa pod shell ($30.6 \mu\text{M ET}\cdot\text{g}^{-1}$, $24.13 \mu\text{M ET}\cdot\text{g}^{-1}$ and $42\text{-}24 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$) reported by Valadez et al. (2017), Martínez et al. (2012) and Lu et al. (2018), respectively. Regarding the FRAP assay, a wide range of values was found in the literature for the antioxidant capacity of CPH, ranging from $521.73 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ to $1.98 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ (Jamaluddin et al., 2022; Lu et al., 2018; Martínez et al., 2012). There is a linear correlation between phenolic compounds and the antioxidant capacity of a plant (Cádiz-Gurrea et al., 2014). According to Campos et al. (2018), the antioxidant activity of CPH has been studied in green chemistry as nanoparticles with larvicidal activity and against resistant bacteria, resulting in potentially viable products.

Conclusions

Lignocellulose content, antioxidant capacity and mineral profile of cocoa pod husk (CPH, *Theobroma cacao* L. Carmelo variety) were determined for the first time. With the data obtained in this study and those reported in the literature, it was found that the Carmelo variety does not present any peculiarities with respect to other varieties. CPH is a viable source of lignin, and the cellulose and hemicellulose contents have potential as a source of carbohydrates to produce biofuels; however, the high content of polyphenols and its antioxidant capacity characterize it as a potential source for the food and/or pharmaceutical industry. Although heavy metals were detected at trace levels in this study, the mineral profile should always be analyzed as it is determined by the area of origin. Contrary to cocoa bean, CPH has been little studied in terms of antioxidant capacity. Therefore, the present study contributes to the understanding of a by-product with valorization potential.

Acknowledgements

The authors thank the Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCYT) for the Postgraduate Grant no. 763652, the Dirección General de Investigación y Posgrado (DGIP) of the

(Jamaluddin et al., 2022). La evaluación de la actividad antioxidante requiere varios métodos de análisis, ya que uno solo puede proporcionar información básica y la combinación de varios puede describir las propiedades antioxidantes con más detalle. Esto se debe a que cada método sirve para evaluar la capacidad de los antioxidantes de una planta para eliminar radicales específicos a través de varias vías de transferencia de electrones, ya sea inhibiendo la peroxidación lipídica o por quelación de iones metálicos (Cádiz-Gurrea et al., 2014; Martínez et al., 2012). En este estudio se utilizaron los métodos ABTS y FRAP para evaluar la capacidad antioxidante de CVC variedad Carmelo. Se observó que ABTS tiene mayor capacidad antioxidante que FRAP, lo que se atribuye a la escasa selectividad del radical ABTS⁺ para reaccionar con compuestos aromáticos hidroxilados, mientras que FRAP se basa en la capacidad de los compuestos fenólicos para reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} en presencia de 2,4,6-tripiridil-s-triazina.

Los valores de capacidad antioxidante en este estudio fueron $304.84 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ y $145.80 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ para ABTS y FRAP, respectivamente. Estos resultados son cercanos a la capacidad antioxidante ABTS ($227.7\text{-}147 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$) en cacao reportada por Nieto et al. (2020) y a la capacidad antioxidante ABTS de la piel de la uva ($240 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$) señalada por Siqueira et al. (2011), pero son superiores a la capacidad antioxidante ABTS del betacaroteno de la piel de la zanahoria ($79.15 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$) estudiada por Jayesree et al. (2021). Estos valores son superiores a la capacidad antioxidante ABTS de la cáscara de la vaina de cacao, analizada por Valadez et al. (2017), Martínez et al. (2012) y Lu et al. (2018): $30.6 \mu\text{M ET}\cdot\text{g}^{-1}$, $24.13 \mu\text{M ET}\cdot\text{g}^{-1}$ y $42\text{-}24 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. En cuanto al ensayo FRAP, en la literatura se encontró un rango amplio de valores para la capacidad antioxidante de CVC que van desde $521.73 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ a $1.98 \mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ (Jamaluddin et al., 2022; Lu et al., 2018; Martínez et al., 2012). Existe correlación lineal entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de una planta (Cádiz-Gurrea et al., 2014). Según Campos et al. (2018), la actividad antioxidante de CVC ha sido estudiada en química verde como nanopartículas con actividad larvídica y contra bacterias resistentes, resultando en productos potencialmente viables.

Conclusiones

Por primera vez se determinó el contenido de lignocelulosa, la capacidad antioxidante y el perfil mineral de la cáscara de la vaina de cacao (CVC, *Theobroma cacao* L. variedad Carmelo). Con los datos obtenidos y los reportados en la literatura, se encontró que la variedad Carmelo no presenta peculiaridades con respecto a otras variedades. La CVC es una fuente viable de lignina y los contenidos de celulosa y hemicelulosa tienen potencial como fuente de carbohidratos para

Universidad Autónoma Chapingo for funding projects: 20007-DTT-90, 22003 EIP, the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), the Marine Geochemistry and LANNBIO laboratories of CINVESTAV-IPN, Unidad Mérida. HZP thanks C. Carlos Hernández Echeverría for providing cocoa pod husk of the Carmelo variety.

End of English version

References / Referencias

- Alonso-Báez, M., Avendaño-Arrazate, C. H., Alonso-López, B. L., Iracheta-Donjuan, L., Martínez-Bolaños, M., Ruíz-Cruz, P., & Ortiz-Curiel, S. (2020). Nutritional removal of cacao fruit (*Theobroma cacao* L.) in Mexico. *Agroproductividad*, 13(8), 53–59. <https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1713>
- American Society for Testing and Materials (1985). *Method of test for alpha-cellulose in wood ASTM D1103 – 77*. USA: ASTM International.
- Aregheore, E. M. (2002). Chemical evaluation and digestibility of cocoa (*Theobroma cacao*) byproducts fed to goats. *Tropical Animal Health and Production*, 34(4), 339–348. <https://doi.org/10.1023/A:1015638903740>
- Arzeta-Ríos, A. J., Guerra-Ramírez, D., Reyes-Trejo, B., Ybarra-Moncada, M. C., & Zuleta-Prada, H. (2020). Microwave heating effect on total phenolics and antioxidant activity of green and mature coconut water. *International Journal of Food Engineering*, 16(12). <https://doi.org/10.1515/ijfe-2019-0378>
- Asiedu, N. Y., Neba, F. A., & Addo, A. (2019). Modeling the attainable regions for catalytic oxidation of renewable biomass to specialty chemicals: Waste biomass to carboxylic acids. *South African Journal of Chemical Engineering*, 30, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2019.07.003>
- Barhoum, A., Jeevanandam, J., Rastogi, A., Samyn, P., Boluk, Y., Dufresne, A., Danquah, M. K., & Bechelany, M. (2020). Plant celluloses, hemicelluloses, lignins, and volatile oils for the synthesis of nanoparticles and nanostructured materials. *Nanoscale*, 10(4), 1622–1630. <https://doi.org/10.1039/D0NR04795C>
- Barraza, F., Schreck, E., Uzu, G., Lévêque, T., Zouiten, C., Boidot, M., & Maurice, L. (2021). Beyond cadmium accumulation: Distribution of other trace elements in soils and cacao beans in Ecuador. *Environmental Research*, 192(September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110241>
- Bernabé-Santiago, R., Ávila-Calderón, L. E. A., & Rutiaga-Quiñones, J. G. (2013). Chemical components of the wood of five pine species of Morelia, Michoacán. *Madera y Bosques*, 19(2), 21–35. <https://doi.org/10.21829/myb.2013.192338>
- Cádiz-Gurrea, M. L., Lozano-Sanchez, J., Contreras-Gámez, M., Legeai-Mallet, L., Fernández-Arroyo, S., & Segura-Carretero, A. (2014). Isolation, comprehensive characterization and antioxidant activities of *Theobroma cacao* extract. *Journal of Functional Foods*, 10, 485–498. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.016>

producir biocombustibles; además, el contenido elevado de polifenoles y su capacidad antioxidante la caracterizan como una fuente potencial para la industria alimenticia y farmacéutica. Aunque en este estudio se detectaron metales pesados a niveles traza, el perfil mineral debe analizarse siempre, ya que está determinado por la zona de origen. A diferencia del cacao en grano, la CVC se ha estudiado muy poco en términos de capacidad antioxidante; por lo tanto, el presente estudio contribuye a la comprensión de un subproducto con potencial de valorización.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCYT) por la beca de posgrado núm. 763652; a la Dirección General de Investigación y Posgrado (DGIP) de la Universidad Autónoma Chapingo por el financiamiento de los proyectos: 20007-DTT-90, 22003 EIP; al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP); y a los laboratorios de Geoquímica Marina y LANNBIO del CINVESTAV-IPN, Unidad Mérida. HZP agradece al C. Carlos Hernández Echeverría por haber proporcionado cáscara de vaina de cacao de la variedad Carmelo.

Fin de la versión en español

- Campos-Vega, R., Nieto-Figueroa, K. H., & Oomah, B. D. (2018). Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds. *Trends in Food Science and Technology*, 81, 172–184. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.022>
- Castro-Vargas, H. I., Ballesteros-Vivas, D., Ortega-Barbosa, J., Morantes-Medina, S. J., Aristizabal-Gutiérrez, F., & Parada-Alfonso, F. (2019). Bioactive phenolic compounds from the agroindustrial waste of Colombian mango cultivars ‘sugar mango’ and ‘Tommy Atkins’—An alternative for their use and valorization. *Antioxidants*, 8(41), 1–19. <https://doi.org/10.3390/antiox8020041>
- Chávez-Sifontes, M., & Domine, M. E. (2013). Lignin, structure and applications: depolymerization methods for obtaining aromatic derivatives of industrial interest. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 4(4), 15–46. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4710101>
- Daud, Z., Awang, H., Mohd Kassim, A. S., Mohd Hatta, M. Z., & Mohd Aripin, A. (2014). Cocoa pod husk and corn stalk: Alternative paper fibres study on chemical characterization and morphological structures. *Advanced Materials Research*, 911, 331–335. <https://doi.org/doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.911.331>
- Devi, A., Niazi, A., Ramteke, M., & Upadhyayula, S. (2021). Techno-economic analysis of ethanol production from lignocellulosic biomass—a comparison of fermentation, thermo catalytic, and chemocatalytic technologies. *Bioprocess*

- and *Biosystems Engineering*, 44(6), 1093–1107. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02504-4>
- Doungous, O., Minyaka, E., Longue, E. A. M., & Nkengafac, N. J. (2018). Potentials of cocoa pod husk-based compost on *Phytophthora* pod rot disease suppression, soil fertility, and *Theobroma cacao* L. growth. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(25), 25327–25335. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2591-0>
- Espinosa-García, J. A., Uresti-Gil, J., Vélez-Izquierdo, A., Moctezuma-López, G., Inurreta-Aguirre, H. D., & Gongora-González, S. F. (2015). Productivity and profit potential of cocoa (*Theobroma cacao* L.) in the Mexican tropics. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(5), 1–13. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v6n5/v6n5a12.pdf>
- European Food Safety Authority (EFSA). (2012). Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal*, 10(1), 1–37. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2551>
- Gómez Hoyos, C., Mazo Márquez, P., Penagos Vélez, L., Serpa Guerra, A., Eceiza, A., Urbina, L., Velásquez-Cock, J., Gañán Rojo, P., Vélez Acosta, L., & Zuluaga, R. (2020). Cocoa shell: an industrial by-product for the preparation of suspensions of holocellulose nanofibers and fat. *Cellulose*, 27(18), 10873–10884. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03222-6>
- Gramlich, A., Tandy, S., Andres, C., Chincheros Paniagua, J., Armengot, L., Schneider, M., & Schulin, R. (2016). Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management. *Science of the Total Environment*, 580, 677–686. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.014>
- Grob, L., Ott, E., Schnell, S., & Windhab, E. J. (2021). Characterization of endocarp powder derived from cocoa pod. *Journal of Food Engineering*, 305, 110591. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110591>
- Hernández-Mendoza, A. G., Saldaña-Trinidad, S., Martínez-Hernández, S., Pérez-Sariñana, B. Y., & Láinez, M. (2021). Optimization of alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) for ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 154(March). <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106268>
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Hernández-Eugenio, G., Villa-García, M., Reyes-Trejo, B., & Guerra-Ramírez, D. (2016). Influence of polar solutions on the extraction of phenolic compounds from capulín fruits (*Prunus serotina*). *Sociedad Química de México*, 60(2), 73–78. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-249X2016000200073&lng=es&nrm=iso&tlang=en
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Pérez-López, A., Salgado-Escobar, I., & Guerra-Ramírez, D. (2019). Antioxidant capacity of capulín (*Prunus serotina* subsp. *capuli* (Cav.) McVaugh) fruit at different stages of ripening. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 6(16), 35–44. <https://doi.org/10.19136/era.a6n16.1947>
- Jamaluddin, M., Rizlan Ross, E. E., M. N. Azmi, A. F., Zubir, I., Nazir, N., Inderan, V., & Raseetha, S. (2022). Effect of extraction solvents on phenolic compounds of *Theobroma cacao* L. by-products using ultrasound-assisted extraction. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 12(1), 359–364. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.12.1.13030>
- Jani, S. M., & Rushdan, I. (2014). Effect of bleaching on coir fibre pulp and paper properties (Kesan pelunturan terhadap sifat-sifat pulpa dan kertas sabut kelapa). *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 42(1), 51–61. https://www.researchgate.net/publication/270886139_Effect_of_bleaching_on_coir_fibre_pulp_and_paper_properties_Kesan_pelunturan_terhadap_sifat-sifat_pulpa_dan_kertas_sabut_kelapa
- Jayesree, N., Hang Pui, K., Priyanga, A., Prasad Krishnamurthy, N., Nagasundara, R. R., Turki M.S., A., Galanakis, C. M., & Chien Wei, O. (2021). Valorisation of carrot peel waste by water-induced hydrocolloidal complexation for extraction of carotene and pectin. *Chemosphere*, 272, 129919. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129919>
- Jochem, D., Bösch, M., Weimar, H., & Dieter, M. (2021). National wood fiber balances for the pulp and paper sector: An approach to supplement international forest products statistics. *Forest Policy and Economics*, 131, 102540. <https://doi.org/10.1016/j.forpol.2021.102540>
- Lu, F., Rodriguez-García, J., Van Damme, I., Westwood, N. J., Shaw, L., Robinson, J. S., Warren, G., Chatzifragkou, A., McQueen Mason, S., Gomez, L., Faas, L., Balcombe, K., Srinivasan, C., Picchioni, F., Hadley, P., & Charalampopoulos, D. (2018). Valorisation strategies for cocoa pod husk and its fractions. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 14, 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.07.007>
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) co-products. *Food Research International*, 49(1), 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.005>
- Moyin-Jesu, E. I. (2007). Use of plant residues for improving soil fertility, pod nutrients, root growth and pod weight of okra (*Abelmoschus esculentum* L.). *Bioresource Technology*, 98(11), 2057–2064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.03.007>
- Nieto-Figueroa, K. H., Mendoza-García, N. V., Gaytán-Martínez, M., Wall-Medrano, A., Loarca-Piña, M. G. F., & Campos-Vega, R. (2020). Effect of drying methods on the gastrointestinal fate and bioactivity of phytochemicals from cocoa pod husk: In vitro and in silico approaches. *Food Research International*, 137, 109725. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109725>
- Nii, N., Jo, D., John, C., Mark, W., Robert, M., Eunice, A., Francis, K., & Julius, A. (2021). Potential of bioenergy in rural Ghana. *Sustainability (Switzerland)*, 13(381), 1–16. <https://doi.org/10.3390/su13010381>
- Olubunmi-Kayode, C., Olajire-Adeoye, G., Ezekiel-Adewoyin, D. T., Ayanfe-Oluwa, O. E., & Ogur, D. (2018). Influence of cocoa pod husk-based compost on nutrient uptake of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH) and soil properties on an Alfisol. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(17), 2113–2122. <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1499108>
- Paz-Cedeno, F. R., Solorzano-Chavez, E. G., Manfrin-Dias, L., Octaviano, C. A., Bustamante, L. J. A., Monti, R., Martínez-Galán, J. P., & Masarin, F. (2022). Composition and chemical structure of

- hemicelluloses and polysaccharides with capability of gel formation. *Clean Energy Production Technologies*, 4, 111–137. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3682-0_4
- Paracchini, M. L., Wezel, A., Masden, S., Stewart, B., Karuga, J., Attard, P., Zingari, P. C. (2022). *Agroecological practices supporting food production and reducing food insecurity in developing countries*. Doctoral dissertation, Publications Office of the European Union.
- Porto de Souza-Vandenberghe, L., Valladares-Diestra, K. K., Amaro-Bittencourt, G., Murawski de Mello, A. F., Sarmiento-Vásquez, Z., Zwiercheczewski de Oliveira, P., Melo-Pereira, G. V. de, & Soccol, C. R. (2022). Added-value biomolecules' production from cocoa pod husks: A review. *Bioresource Technology*, 344, 126252. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126252>
- Redgwell, R., Trovato, V., Merinat, S., Curti, D., Hediger, S., & Manez, A. (2003). Dietary fibre in cocoa shell: characterisation of component polysaccharides. *Food Chemistry*, 81(1), 103–112. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00385-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00385-0)
- Ricaño-Rodríguez, J. (2018). El estudio genómico del cacao (*Theobroma cacao* L.); breve recopilación de sus bases conceptuales. *Agro Productividad*, 11(9). <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i9.1211>
- Rowell, R. M. (2012). Cell wall chemistry. In Rowell, R. M., R. Pettersen, & A. M. Tshabalala (Eds.), *Handbook of wood chemistry and wood composites* (pp. 33–72). CRS Press. <https://doi.org/10.1201/b12487-5>
- 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>
- Sandesh, K., Shishir, R. K., & Vaman Rao, C. (2020). Optimization and comparison of induction heating and LPG assisted acid pretreatment of cocoa pod for ABE fermentation. *Fuel*, 262, 116499. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116499>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2015). *AVISO de inscripción de la transmisión de derechos de una variedad vegetal protegida con el título de obtentor 1036*. México: Diario Oficial de la Federación. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5409759&fecha=29/09/2015#gsc.tab=0
- Siqueira-Melo, P., Boone-Bergamaschi, K., Tiveron, A. P., Prado-Massarioli, A., Cadorin-Oldoni, T. L., Zanusli-Giuliano, M. C., Pereira, E., & Matias de Alencar, S. (2011). Phenolic composition and antioxidant activity of agroindustrial residues. *Ciencia Rural*, 41(6), 1088–1093. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000600027>
- Technical Association for the Pulp and Paper Industries (TAPPI). (1997). *Preparation of extractive free-wood*. TAPPI test method T 204 cm-97. Atlanta, USA: TAPPI Press.
- Technical Association for the Pulp and Paper Industries (TAPPI). (2002a). *Lignin acid is insoluble in wood and pulp*. TAPPI test method T 222 om-02. Atlanta, USA: TAPPI Press.
- Technical Association for the Pulp and Paper Industries (TAPPI). (2002b). *Ash in wood and pulp*. TAPPI test method T 211 om-02. Atlanta, USA: TAPPI Press.
- Titiloye, J. O., Abu Bakar, M. S., & Odetoye, T. E. (2013). Thermochemical characterisation of agricultural wastes from West Africa. *Industrial Crops and Products*, 47, 199–203. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.03.011>
- U. S. Environmental Protection Agency. (2007). *Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils*. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-12/documents/3051a.pdf>
- Valadez-Carmona, L., Plazola-Jacinto, C. P., Hernández-Ortega, M., Hernández-Navarro, M. D., Villarreal, F., Necoechea-Mondragón, H., Ortiz-Moreno, A., & Ceballos-Reyes, G. (2017). Effects of microwaves, hot air and freeze-drying on the phenolic compounds, antioxidant capacity, enzyme activity and microstructure of cocoa pod husks (*Theobroma cacao* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 378–386. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.012>
- Vargas-Arana, G., Merino-Zegarra, C., Tang, M., Pertino, M. W., & Simirgiotis, M. J. (2022). UHPLC–MS characterization, and antioxidant and nutritional analysis of cocoa waste flours from the Peruvian Amazon. *Antioxidants*, 11(595), 1–14. <https://doi.org/10.3390/antiox11030595>
- Vásquez, Z. S., de Carvalho Neto, D. P., Pereira, G. V. M., Vandenberghe, L. P. S., de Oliveira, P. Z., Tiburcio, P. B., Rogez, H. L. G., Góes Neto, A., & Soccol, C. R. (2019). Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. *Waste Management*, 90, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.04.030>
- Vriesmann, L. C., de Mello Castanho Amboni, R. D., & De Oliveira Petkowicz, C. L. (2011). Cocoa pod husks (*Theobroma cacao* L.): Composition and hot-water-soluble pectins. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 1173–1181. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.04.004>
- Yao, M., Bi, X., Wang, Z., Yu, P., Dufresne, A., & Jiang, C. (2022). Recent advances in lignin-based carbon materials and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 223(PA), 980–1014. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.070>
- Zheng, Y., Shi, J., Tu, M., & Cheng, Y. S. (2017). Principles and development of lignocellulosic biomass pretreatment for biofuels. In Y. Li, & X. Ge (Eds.), *Advances in Bioenergy* (vol. 2, pp. 1–68). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.aibe.2017.03.001>