

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Valorización del licor proveniente de la carbonización
hidrotérmica de cáscara de cacao para síntesis de nanopartículas
de plata**

Mathías Salvador Solís Fonseca

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniero Químico

Quito, 19 de diciembre de 2023

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Valorización del licor proveniente de la carbonización hidrotérmica de
cáscara de cacao para síntesis de nanopartículas de plata**

Mathías Salvador Solís Fonseca

Nombre del profesor, Título académico

**Dr. – Ing. Herman Murillo
Dr. – Ing. Sebastián Ponce**

Quito, 19 de diciembre de 2023

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Mathías Salvador Solís Fonseca

Código: 00213710

Cédula de identidad: 1751249283

Lugar y fecha: Quito, 19 de diciembre de 2023

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

Resumen

Las nanopartículas de plata son estructuras fascinantes en medio de la diversidad de partículas metálicas que tienen aplicaciones potenciales en diversos sectores industriales. Este estudio detalla el proceso verde para síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) mediante la exposición a luz LED, utilizando la fase líquida obtenida de la carbonización hidrotérmica de la cáscara del cacao. Se aplicó un método para concentrar dicho líquido mediante un evaporador rotativo con el fin de obtener el extracto de dicha fase líquida. La absorción UV-Vis reveló la característica banda de resonancia plasmónica de las AgNPs a 435 nm. A través de la microscopía electrónica de transmisión (TEM), se mostraron imágenes donde se observa que la morfología de las AgNPs corresponde a una forma cuasi-esférica con dimensiones no mayores a los 100 nm. La caracterización de polifenoles y azúcares reductores utilizando la metodología de Folin-Ciocalteu y DNS, respectivamente, proporcionó valores de concentraciones de estos mismos, donde se observó que era necesario realizar un proceso de concentración del licor. La caracterización FTIR proporcionó detalles sobre los grupos funcionales presentes tanto en el extracto como en la solución de extracto. Finalmente, se concluyó que este proceso puede considerarse como una alternativa eficaz y sostenible para aprovechar los subproductos agrícolas, transformando el licor resultante de la carbonización hidrotérmica en una materia prima valiosa para aplicaciones específicas, como la síntesis de nanopartículas de plata.

Palabras clave: Carbonización hidrotérmica, cáscara de cacao, nanopartículas de plata, síntesis verde, licor, Folin-Ciocalteu, DNS, concentración de licor, extracción verde, polifenoles, azúcares reductores, efecto plasmón, caracterización.

Abstract

Silver nanoparticles are fascinating structures among the diversity of metallic particles that have potential applications in various industrial sectors. This study details the green synthesizing of light-assisted silver nanoparticles (AgNPs) through exposure to LED light, using the process water obtained from the hydrothermal carbonization of cocoa husk. That process water was concentrated via rotary evaporation to finally obtain the green extract to be used as reducing and capping agent in nanoparticle synthesis. It was revealed via UV-Vis spectroscopy that the characteristic plasmonic resonance band of the AgNPs at 435 nm. Moreover, by transmission electron microscopy (TEM), it was the morphology of the AgNPs reflecting a quasi-spherical morphology with dimensions no greater than 100 nm. The characterization of polyphenols and reducing sugars using the Folin-Ciocalteu and DNS methodology, respectively, was provided, where it was observed that it was necessary to carry out a liquor concentration process. FTIR characterization provided details on the functional groups present in both the extract and extract solution. Finally, it was concluded that this process can be considered an effective and sustainable alternative to take advantage of agricultural byproducts. It allows transforming the liquor resulting from hydrothermal carbonization into a valuable raw material for specific applications, such as the synthesis of silver nanoparticles.

Key words: Hydrothermal carbonization, cocoa shell, silver nanoparticles, green synthesis, liquor, Folin-Ciocalteu, DNS, liquor concentration, green extraction, polyphenols, reducing sugars, plasmon effect, characterization.

CONTENIDOS

1.	INTRODUCCIÓN	11
1.1.	Antecedentes	11
1.2.	Objetivos	14
1.2.1.	Objetivo General	14
1.2.2.	Objetivos específicos	15
1.3.	Terminología especializada	15
2.	METODOLOGÍA	16
2.1.	Materiales	16
2.2.	Carbonización hidrotérmica y obtención del extracto.....	16
2.3.	Síntesis de las nanopartículas de plata asistida con luz led.....	18
2.4.	Métodos Analíticos.....	18
2.4.1.	Caracterización de polifenoles del licor.....	18
2.4.2.	Caracterización de azúcares reductores	18
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
3.1.	Formación y caracterización de las nanopartículas de plata	20
3.2.	Caracterización del licor de cacao.....	27
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	30
5.	REFERENCIAS	32
6.	ANEXOS.....	36
6.1.	Anexo A: Filtrado del licor de la cáscara de cacao	36
6.2.	Anexo B: Proceso de concentrado del licor.....	38

6.3. Anexo C: Proceso de síntesis de las AgNPs	39
--	----

TABLAS

Tabla 1: Resumen de porcentajes de densidad TEM.....27

Tabla 2: Concentración de polifenoles y azúcares reductores presentes en el licor de cacao..28

FIGURAS

Figura 1. Superficie total utilizada para cultivos permanentes en Ecuador en el año 2022.....	11
Figura 2. Reactor de alta presión.....	17
Figura 3. Metodología de concentración del licor de cacao.....	18
Figura 4. Licor filtrado (izquierda), extracto obtenido (centro), solución de extracto (derecha).	20
Figura 5. Caracterización UV-Vis y comparación de absorbancia vs. Longitud de onda de las AgNPs sintetizadas de la solución de extracto.....	21
Figura 6. Caracterización UV-Vis y comparación de absorbancia máxima vs. Longitud de onda de las AgNPs sintetizadas de la solución de extracto.....	22
Figura 7. Solución de extracto sin ser iluminada con luz azul LED (izquierda) y solución de extracto iluminada con luz azul LED por 60 minutos (derecha).....	23
Figura 8. Caracterización TEM de la solución de extracto de cacao.....	24
Figura 9. Histograma de frecuencia numérica y función de densidad de probabilidad (FDP) de la distribución de AgNPs en la solución de extracto de cacao.....	26
Figura 10. Caracterización FTIR y comparación de transmitancia vs. longitud de onda del extracto de cacao y de las AgNPs.....	29

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

En el año 2022, en Ecuador, la superficie de cultivos agrícolas permanentes fue de aproximadamente 1.4 millones de hectáreas. Destacándose como un país productor de cacao, se evidencio que, en ese mismo año, el cultivo de cacao representó el 41.30% de esta superficie total plantada, en comparación a otras plantaciones como se puede evidenciar en la Figura 1 [1].

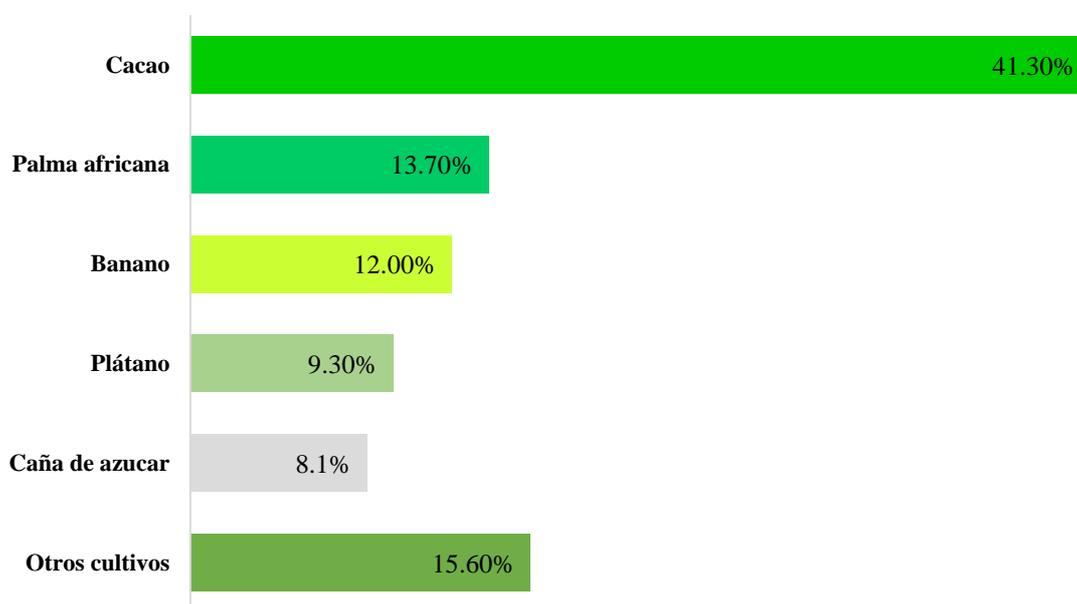


Figura 1. Superficie total utilizada para cultivos permanentes en Ecuador en el año 2022.

Por lo tanto, existe gran cantidad de desechos agrícolas provenientes de estas plantaciones, los cuales pueden ser contaminantes de fuentes de agua, vertederos; a estos desechos se les denomina biomasa, específicamente lignocelulósica, es decir, que presenta mayormente hemicelulosa, celulosa y lignina [2].

La biomasa hace referencia, en términos generales, a la materia orgánica derivada de plantas, animales y microorganismos. Esto incluye materiales como madera, cultivos, residuos de alimentos, estiércol, algas y otros componentes orgánicos. La biomasa residual se genera

en la mayoría de los procesos agrícolas como un desecho o subproducto, lo que implica que estos residuos requieran un proceso adicional para otorgarles valor agregado [2].

La biomasa agrícola es una materia prima ideal para sintetizar materiales a base de carbono, debido a que, al ser mayoritariamente materia orgánica, presenta un contenido significativo de carbono [2]. En el Ecuador, la agricultura representa la base de la economía del país. En el 2019, este sector aportaba con el 8% al PIB del Ecuador, por lo que existe una alta disponibilidad de esta materia prima [3].

Si bien la biomasa se puede utilizar directamente en algunos casos, como para generar calor en procesos industriales, se emplean diversos métodos para la transformación de esta con el fin de aprovecharla como fuente de energía o para la producción de bioproductos. Estos métodos pueden adoptar una naturaleza biológica, como la fermentación y la digestión anaerobia, para la producción de biogás. Este gas resultante contiene predominantemente metano (CH_4) y, en menor proporción, dióxido de carbono (CO_2), ambos en estado gaseoso [4], [5]. Métodos de naturaleza química, como la esterificación y la modificación química; o termoquímica, que incluye procesos como la pirólisis, gasificación, combustión y carbonización [4].

Existe un método termoquímico alternativo para el pretratamiento de la biomasa residual, llamado carbonización hidrotérmica o hidrotérmica (HTC, por sus siglas en inglés). Este proceso se lo realiza bajo un rango de temperatura de 180 a 260 °C, en el cual la biomasa es sumergida en agua y es calentada bajo presión (2 a 6 MPa), es decir, en agua en condiciones subcríticas. El producto final obtenido de la carbonización hidrotérmica es un compuesto sólido llamado hydrochar. También se producen subproductos líquidos, llamados licores; y gaseosos, principalmente CO_2 [6].

El hydrochar como producto de la carbonización hidrotérmica presenta una mejora en sus

propiedades de superficie con respecto al material de partida en términos de porosidad y funcionalización a través de grupos funcionales oxigenados. Estas características permiten que la superficie de este tipo de carbón presente una naturaleza hidrófila en su superficie, lo vuelve apto para aplicaciones como adsorción, catálisis y como precursor en la síntesis de carbón activado [6], [7].

Por otro lado, el licor de la carbonización hidrotérmica es el denominado líquido de proceso. Este licor contiene compuestos orgánicos que son solubles en agua, como ácidos grasos volátiles, azúcares, furfurales, fenoles, entre otros compuestos, que se liberan durante el proceso HTC, entre los que se destacan son ácido fórmico, ácido acético, fructosa, sacarosa, glucosa, entre otros [6]. La composición del líquido de proceso depende del tipo de biomasa residual utilizada en la carbonización, y de las condiciones del proceso [6]. El licor suele ser utilizado para el proceso de digestión anaerobia para la producción de biometano [8].

La digestión anaerobia es un proceso biológico en el cual los microorganismos descomponen la materia orgánica en ausencia de oxígeno para generar biogás, compuesto principalmente por metano y dióxido de carbono. No obstante, surge un problema al utilizar licor en este proceso debido a la presencia de polifenoles y furfurales en su composición química. Estos compuestos actúan como inhibidores de crecimiento microbiano, alterando el metabolismo de los microorganismos descomponedores, lo que ocasiona que el proceso no sea eficiente y el licor no pueda ser aprovechado de manera óptima, es decir, que quizás los rendimientos de metano sean bajos con respecto a otros sustratos susceptibles de ser tratados por la vía biológica [8]. Por lo tanto, se propone utilizar estos compuestos inhibidores previamente mencionados en el área de la nanotecnología.

La nanotecnología representa un ámbito científico, tecnológico y multidisciplinario centrado en la manipulación y control de la materia a una escala extremadamente pequeña, a

nivel de átomos y moléculas individuales [9]. Una nanopartícula es una estructura cuyas dimensiones son inferiores a 100 nanómetros, y puede ser producida a partir de una variedad de materiales, incluyendo metales. Las nanopartículas tienen múltiples aplicaciones en diferentes campos, incluyendo la medicina, la industria de la construcción, industria automotriz, industria alimentaria y la industria química [10].

La síntesis verde de nanopartículas adquiere gran relevancia al emplear en su producción métodos de origen biológico. Esta práctica disminuye el impacto ambiental y la toxicidad comparado con los métodos convencionales, que a menudo requieren el uso de sustancias nocivas como el borohidruro de sodio que funciona como agente reductor y surfactantes [10]. La síntesis verde se fundamenta en la reducción de metales, mediante especies naturales que poseen propiedades antioxidantes que reemplazan los agentes químicos reductores, plantas, algas, diatomeas, bacterias, levaduras, hongos, virus y células humanas. En el caso de la mazorca de cacao al igual que su semilla, estudios demuestran la presencia de flavonoides que poseen propiedades antioxidantes y que permiten la reducción de iones de metales para formar las nanopartículas [11].

Las nanopartículas desempeñan un papel importante en la industria química debido a sus propiedades excepcionales, que mejoran la eficiencia y la calidad de los procesos químicos. Sus aplicaciones principales incluyen ser catalizadores que aceleran y mejoran reacciones químicas, sensores altamente sensibles para detectar sustancias químicas en el entorno, refuerzos en materiales compuestos para incrementar su resistencia y durabilidad, al igual que sirven como vehículos para la liberación controlada de fármacos en el cuerpo, mejorando así la efectividad del tratamiento y minimizando los efectos secundarios [9], [10].

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Valorizar el licor proveniente de la carbonización hidrotérmica de la cáscara

del cacao, para la síntesis de nanopartículas de plata.

1.2.2. **Objetivos específicos**

- Caracterizar el licor proveniente de la carbonización hidrotérmica.
- Obtener el extracto del licor de la cáscara del cacao.
- Sintetizar nanopartículas de plata utilizando el extracto obtenido como agente reductor.

1.3. **Terminología especializada**

- **Polifenoles:** Metabolitos secundarios de las plantas, con diversas funciones fisiológicas. Se encuentran ampliamente distribuidos en plantas y sus frutos, pueden ser considerados importantes para la salud humana debido a sus propiedades antioxidantes [12]
- **Azúcares reductores:** Azúcares que contienen grupos funcionales aldehído o cetona, y cuentan con capacidad de reducir iones de metales [13]
- **Capacidad antioxidante:** Potencial de una sustancia o compuesto para inhibir o dificultar el proceso de oxidación de un sustrato, lo que evita la formación de radicales o especies reactivas de oxígeno [14].
- **Caracterización:** Evaluación de los aspectos funcionales de las nanopartículas sintetizadas [11].
- **Método inducido por fotones:** Método de reducción controlada y síntesis de nanopartículas de plata, sin la necesidad de promotores de absorción adicionales [15].
- **Síntesis verde:** Método alternativo a las técnicas físicas y químicas de la síntesis de nanopartículas. La formación de estas nanopartículas se produce mediante un proceso de reducción de los iones metálicos. Se utilizan extractos de plantas en reemplazo de químicos [11].
- **Nanopartícula:** Partículas con un rango de tamaño de 1 a 100 nm en sus dimensiones [16].

2. METODOLOGÍA

2.1. Materiales

Cáscara de cacao (*Theobroma cacao*) previamente molida y tamizada fue utilizada para la carbonización hidrotérmica junto con agua destilada. Sal de nitrato de plata (AgNO_3) (grado reactivo, Scharlau) y agua destilada fueron utilizados para la síntesis de nanopartículas de plata. 0.02 N reactivo Folin-Ciocalteu, 75 g/L de carbonato de calcio y agua destilada fueron utilizados para la caracterización de polifenoles. Reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), el cual fue preparado según el siguiente proceso encontrado en literatura: Disolver 0.8 g de NaOH (grado reactivo, Flasher Chemical) en agua destilada, luego agregar 15 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado y 0.5 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico. Posteriormente, aforar el volumen a 50 mL con agua destilada y almacenar la mezcla en un frasco ámbar a una temperatura de 4°C [17].

2.2. Carbonización hidrotérmica y obtención del extracto

La carbonización hidrotérmica se realizó mezclando biomasa de cáscara de cacao con agua destilada en relación biomasa:agua (1:12) -en un reactor de alta presión de 500 mL de volumen (modelo TGYF-B-500ML) a 220 °C por 60 minutos a 1000 rpm (Figura 2). Una vez realizada la carbonización, se realizó el proceso de filtrado del licor, separándolo del hydrochar que fue secado posteriormente a 70 °C por 24 horas. El licor fue guardado en refrigeración para prevenir la oxidación. Para la obtención del extracto, se utilizó el licor proveniente de la carbonización (~325 mL) y se sometió a una concentración en rotavapor (DLAB, RE100-Pro) para eliminar el agua presente en la muestra como se lo muestra en la Figura 3. Las condiciones de operación para la concentración fueron de 90 °C por 55 minutos a 50 rpm. El extracto obtenido de igual forma fue puesto en refrigeración. Todo este proceso se lo realizó bajo condiciones de obscuridad.



Figura 2. Reactor de alta presión.

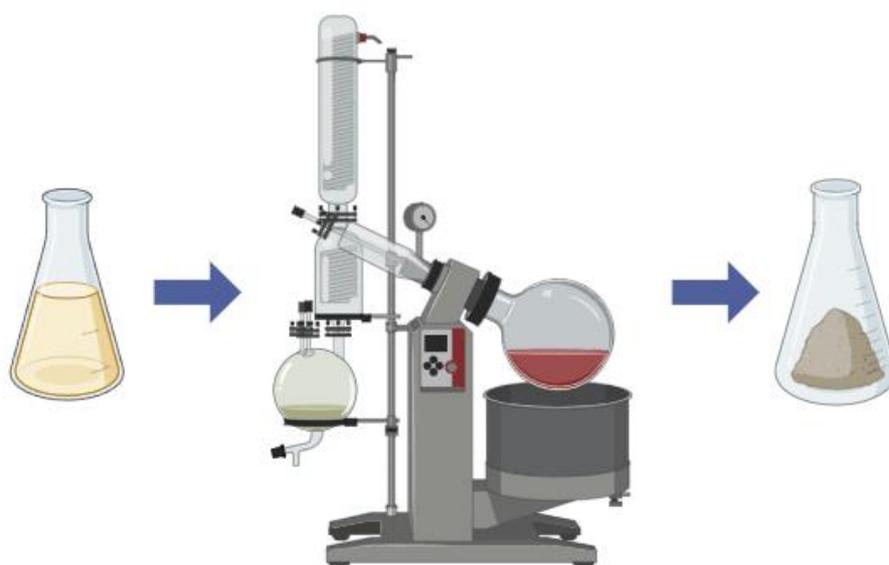


Figura 3. Metodología de concentración del licor de cacao.

2.3. Síntesis de las nanopartículas de plata asistida con luz led

El extracto del licor de cáscara de cacao (0.24 g) fue mezclado con agua destilada (25 mL) por 60 minutos a 40 °C bajo condiciones de obscuridad. El extracto acuoso se mezcló con una solución de AgNO₃ (2.5 mM). Para la síntesis de los coloides de nanopartículas de plata, se realizó una mezcla de AgNO₃:extracto (2:1) que fue preparada bajo condiciones de obscuridad [11]. Posteriormente, la solución fue iluminada con un reflector LED comercial (100 W, IP66). Alícuotas de 300 µL fueron tomadas, posteriormente mezcladas con 2000 µL de agua destilada, y medidas en el espectrofotómetro UV-Vis por diferentes periodos de tiempo, por 70 minutos.

2.4. Métodos Analíticos

2.4.1. Caracterización de polifenoles del licor

El reactivo Folin (1 mL) fue mezclado con agua destilada (10 mL). Al carbonato de calcio (3.75 g) se lo mezcló con agua destilada (50 mL). El licor proveniente de la carbonización hidrotérmica (100 µL) se lo mezcló con la solución de reactivo Folin (500 µL) previamente preparada. A la mezcla se la dejó en reposo durante 5 minutos. Posteriormente, se agregó una solución de carbonato de sodio (400 µL) [11]. La solución final se la almacenó durante 120 minutos a 25°C. Pasado el tiempo de almacenamiento, la solución final fue medida en el espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 760 nm. Todo este proceso se lo realizó bajo condiciones de obscuridad. Las concentraciones de polifenoles fueron cuantificadas mediante una curva de calibración previamente elaborada.

2.4.2. Caracterización de azúcares reductores

El licor proveniente de la carbonización hidrotérmica (100 µL) se lo mezcló con agua destilada (900 µL). A la mezcla se le añadió el reactivo DNS (1 mL) y agua destilada (5 mL).

La solución fue llevada a ebullición durante 5 minutos. Pasado el tiempo de ebullición, la solución final fue medida en el espectrofotómetro UV-Vis (CE 204, CECIL, Buck Scientific, Norwalk, CT, EE. UU.) a una longitud de onda de 540 nm. Todo este proceso se lo realizó bajo condiciones de obscuridad. Las concentraciones de polifenoles fueron cuantificadas mediante una curva de calibración previamente construida.

2.4.3. Caracterización del coloide

Las absorbancias se registraron utilizando un espectrómetro UV-Vis (CE 204, CECIL, Buck Scientific, Norwalk, CT, EE. UU.) con un rango de longitud de onda de 300 a 1000 nm y un tamaño de celda de 10 mm. Se prepararon soluciones en blanco sustituyendo la solución de nitrato de plata por agua destilada. Los espectros FTIR se registraron en los regímenes de 500 a 4000 cm^{-1} utilizando un analizador Agilent Cary 630 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.). El coloide de plata (5 mL) fue secado en una plancha magnética a 150°C durante 15 minutos. Para el estudio del tamaño y la morfología de las partículas sintetizadas, se utilizó un microscopio electrónico de transmisión (TEM) FEI Spirit Twin (FEI Company, Hillsboro, OR, EE. UU.) con un filamento de LaB6, operando a una tensión de 80 kV [9], [11].

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Formación y caracterización de las nanopartículas de plata

Los resultados de la obtención del extracto del licor proveniente de la carbonización hidrotérmica de la cáscara de cacao, la síntesis de las nanopartículas de plata asistidas por luz (AgNPs) sintetizadas utilizando el extracto mencionado y sus respectivas caracterizaciones se encuentran resumidas en esta sección del estudio. Una vez que el licor fue obtenido, se realizó el proceso de concentración. El equipo donde se realizó el proceso de concentración del licor es mostrado en el Anexo B, Figura 1 B. La obtención del extracto se realizó en concordancia con la técnica previamente explicada. El agua contenida en el licor de cacao fue evaporada y se obtuvo el extracto concentrado. La solución acuosa de extracto fue realizada diluyendo el extracto con agua destilada. La figura 4 muestra el licor filtrado, el extracto obtenido, y la solución de extracto.



Figura 4. Licor filtrado (izquierda), extracto obtenido (centro), solución de extracto (derecha).

Con la solución de extracto preparada, la síntesis de las nanopartículas de plata con

iluminación LED fue realizada. La Figura 5 muestra la formación de las AgNPs utilizando la solución de extracto de cacao previamente preparada iluminada con luz azul LED (una fotografía del proceso se la puede encontrar en el Anexo C, Figura 1 C). Un pico máximo es observado a una longitud de onda de aproximadamente 435 nm, el cual está relacionado con la formación de nanopartículas de plata cuasi-esféricas [11].

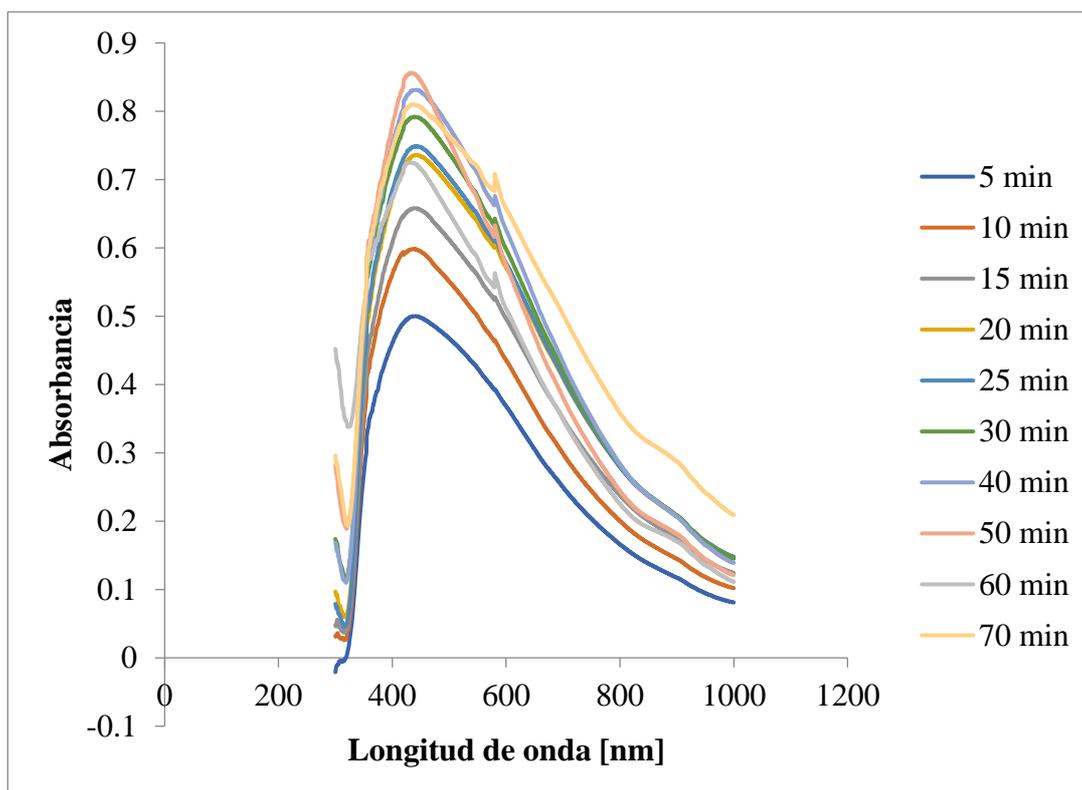


Figura 5. Caracterización UV-Vis y comparación de absorbancia vs. Longitud de onda de las AgNPs sintetizadas de la solución de extracto.

Para un mejor entendimiento de la formación de las AgNPs usando el extracto de cacao, en la Figura 6 la gráfica de picos máximos vs. tiempo de iluminación es descrita.

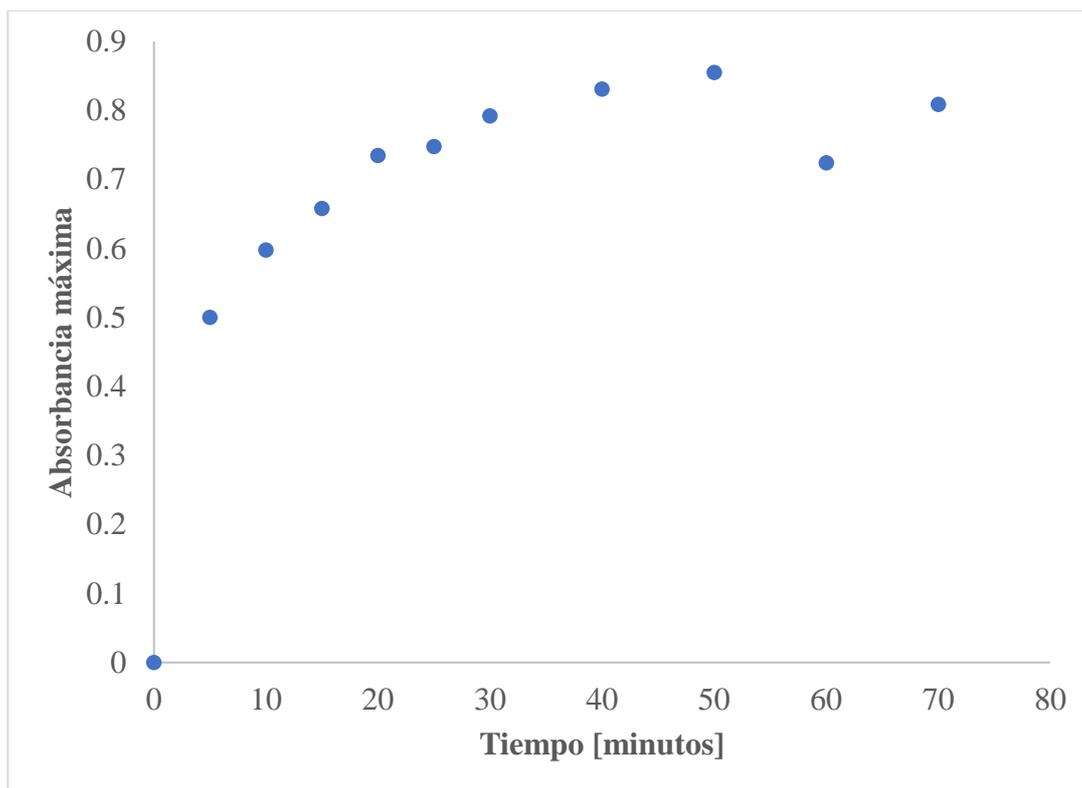


Figura 6. Caracterización UV-Vis y comparación de absorbancia máxima vs. Longitud de onda de las AgNPs sintetizadas de la solución de extracto.

Se observa que, pasado los 60 minutos de iluminación con luz led azul, la mayoría de la sal de plata fue consumida para formar las nanopartículas. Conforme las AgNPs se iban formando, se observó un cambio de coloración en la solución de extracto: pasados los primeros 5 minutos, la solución pasó de una tonalidad naranja a un color café. Con el transcurso de los minutos, la tonalidad sufrió un nuevo cambio hacia un color café oscuro, como es mostrado en la Figura 7. Este cambio de tonalidad es un parámetro cualitativo de confirmación para la formación inicial de las AgNPs debido al efecto plasmón.

El efecto plasmón es un fenómeno óptico clave en la síntesis de nanopartículas metálicas, como las de plata, vinculado a la interacción entre la luz y los electrones en superficies metálicas. Cuando una partícula metálica se expone a una fuente de luz (en este caso la luz led azul), los electrones en su superficie se excitan, generando plasmones que son resonancias

electrónicas en la interfaz entre la partícula y su entorno. Estos plasmones varían en frecuencia según el tamaño y la forma de la partícula, siendo esenciales en la síntesis al influir en la reducción de iones metálicos, controlar el tamaño y la forma, y contribuir a la estabilidad coloidal mediante fuerzas repulsivas que evitan la aglomeración [18]

Conforme con la literatura, la cáscara del cacao contiene actividad antioxidante debido a la cantidad de polifenoles presentes en su composición, sobre todo flavonoides que son compuestos bioactivos que presentan propiedades antioxidantes. Algunos de los flavonoides que pueden estar presentes en la cáscara del cacao son: catequinas, epicatequinas y procianidinas, las cuales son responsables de la capacidad antioxidante [19].



Figura 7. Solución de extracto sin ser iluminada con luz azul LED (izquierda) y solución de extracto iluminada con luz azul LED por 60 minutos (derecha).

La disminución en la intensidad del pico en la Figura 6 podría atribuirse a una reacción redox entre los polifenoles, específicamente entre los flavonoides y los iones de Ag^+ [9], [20]. La variación en la tonalidad de la solución de extracto, como se mencionó anteriormente, constituye uno de los indicadores más comúnmente empleados para señalar el inicio de la reacción de formación de nanopartículas. No obstante, tras llevar a cabo una caracterización mediante espectroscopía UV-Vis, se procedió a realizar la caracterización mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) como se muestra en la Figura 8.

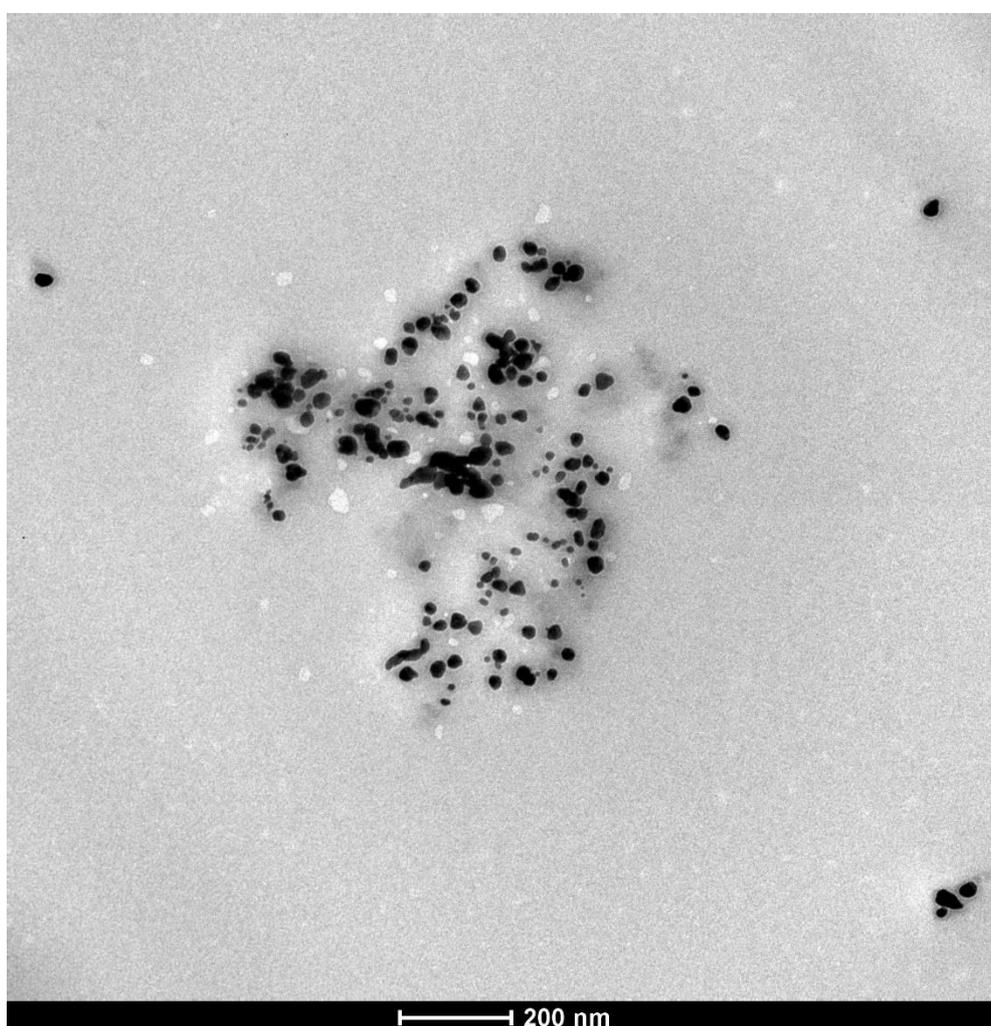


Figura 8. Caracterización TEM de la solución de extracto de cacao.

Para comprobar que la formación de las nanopartículas fue realizada con éxito, se llevó a cabo una caracterización utilizando imágenes obtenidas mediante un microscopio electrónico

de transmisión (TEM). Este análisis nos brinda detalles sobre la morfología, distribución y tamaño de las nanopartículas. Además, permite evaluar la presencia de aglomeración o la efectiva dispersión entre ellas [21]. La luz láser que es dispersada y que atraviesa los colides es analizada, con el fin de determinar tamaños, morfologías y distribución de partículas dentro de una solución acuosa [9].

En la Figura 8, que presenta la imagen obtenida mediante TEM, se evidencia la formación de partículas en la solución de extracto, donde la morfología predominante es la esférica. De igual manera, se observa que existe cierta aglomeración entre las mismas, sin embargo, en general las nanopartículas se encuentran ligeramente dispersadas. En la imagen TEM se observa que la absorbancia máxima registrada a 435 nm se debe a que las nanopartículas formadas presentan una forma cuasi-esférica [9]. En la Figura 9, se indica un análisis detallado del tamaño y la distribución de las nanopartículas observadas en la Figura 8, representado a través de un histograma.

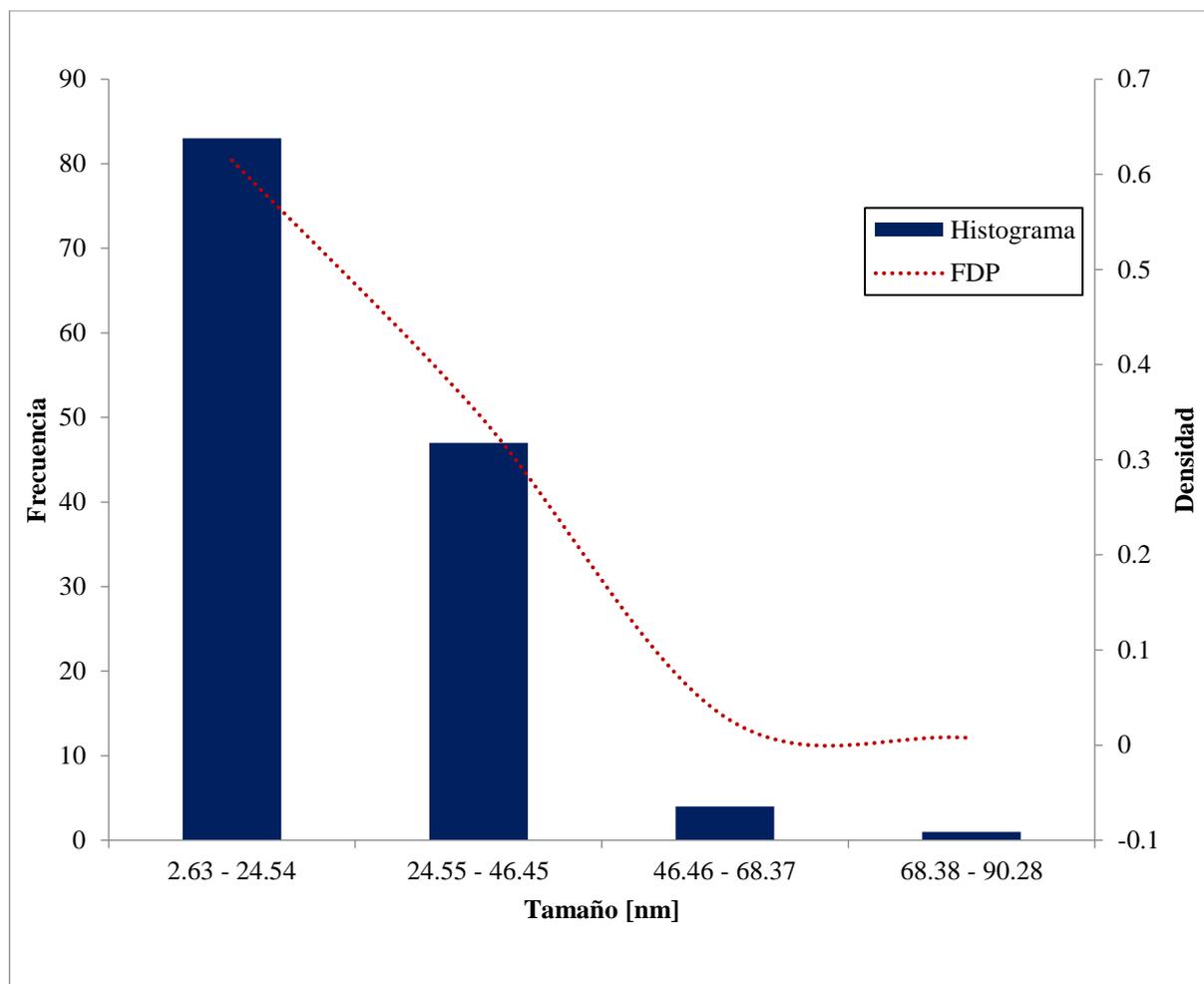


Figura 9. Histograma de frecuencia numérica y función de densidad de probabilidad (FDP) de la distribución de AgNPs en la solución de extracto de cacao.

La Figura 9 ilustra la relación entre la frecuencia numérica y la función de densidad de la probabilidad vs. un rango de tamaños. Al tratarse de datos continuos, el histograma traza una curva que representa la distribución de frecuencias del tamaño de las nanopartículas. Se observa una distribución sesgada hacia la derecha, lo que indica que los valores obtenidos son positivos [22]. La mayoría de las nanopartículas tienen un rango de tamaño de 2.63 a 24.54 nm. Una nanopartícula se define como una estructura con dimensiones iguales o inferiores a los 100 nm (es decir $1 \cdot 10^{-7}$ metros). Por lo tanto, las estructuras visibles en la imagen TEM se clasifican como nanopartículas [16].

En el extremo derecho de la gráfica, en el eje de las ordenadas, se presentan los valores de

densidad. Estos valores proporcionan información sobre el área correspondiente a cada intervalo de tamaño expresado en porcentaje [22]. Así, aproximadamente el 61.48% de las nanopartículas generadas tienen dimensiones comprendidas entre 2.63 y 24.54 nm. Los demás valores son explicados en la Tabla 1.

Tabla 1: Resumen de porcentajes de densidad TEM.

<i>Rango de tamaño de nanopartícula [nm]</i>	<i>Porcentajes de densidad</i>
2.63 – 24.54	61.48%
24.55 – 46.45	34.82%
46.46 – 68.37	2.96%
68.38 – 90.28	0.74%

3.2. Caracterización del licor de cacao

Se empleó el ensayo de Folin-Ciocalteu para medir la concentración total de fenoles en el licor de cacao. Esta técnica se fundamenta en el transporte de electrones, esto proporciona la capacidad de reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu, lo que produce un cambio de coloración que puede ser medido mediante espectrofotometría [19], [23]. La intensidad del color producido por el cambio de coloración es proporcional a la cantidad de compuestos fenólicos presentes en la muestra, que en este caso corresponde al licor proveniente de la carbonización hidrotérmica de cáscara de cacao [19]. De igual forma, para la caracterización del contenido de azúcares reductores totales presentes en el licor de cáscara de cacao se realizó en concordancia con la técnica previamente explicada. El DNS (ácido dinitrosalicílico) es un reactivo químico empleado para cuantificar la concentración de azúcares reductores liberados

durante la carbonización hidrotérmica. La solución de DNS reacciona con estos azúcares reductores y esa reacción genera un cambio de color que puede ser cuantificado espectrofotométricamente a una longitud de onda específica (540 nm en este caso). La cantidad de azúcares reductores producidos se puede calcular a partir de la absorbancia medida [24]. Los resultados obtenidos de ambos ensayos se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2: Concentración de polifenoles y azúcares reductores presentes en el licor de cacao.

<i>Compuesto</i>	<i>Concentración media medida experimentalmente</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Concentración teórica</i>
<i>Polifenoles</i>	1.6 mg GAE/g	0.09	5.64 mg GAE/g
<i>Azúcares reductores</i>	8.37 g/L	0.11	3.02 a 17.85 g/L

El ácido gálico se utiliza ampliamente como estándar en el ensayo de Folin-Ciocalteu debido a su disponibilidad, estabilidad y capacidad para reaccionar de manera representativa con el reactivo de Folin-Ciocalteu, lo que refleja la presencia de otros compuestos fenólicos en la muestra. La elección del ácido gálico como estándar simplifica la expresión de los resultados en equivalentes de ácido gálico, facilitando la comparación de los niveles de compuestos fenólicos entre diferentes muestras y estudios [19]. Según literatura, los valores de concentración para polifenoles son aproximadamente de 5.64 mg de ácido gálico/g, y la concentración de azúcares reductores puede variar entre 3.02 a 17.85 g/L [19], [25]. Por lo tanto, se decidió concentrar el licor de cacao con el fin de obtener un extracto concentrado en polifenoles para la elaboración de la solución de extracto.

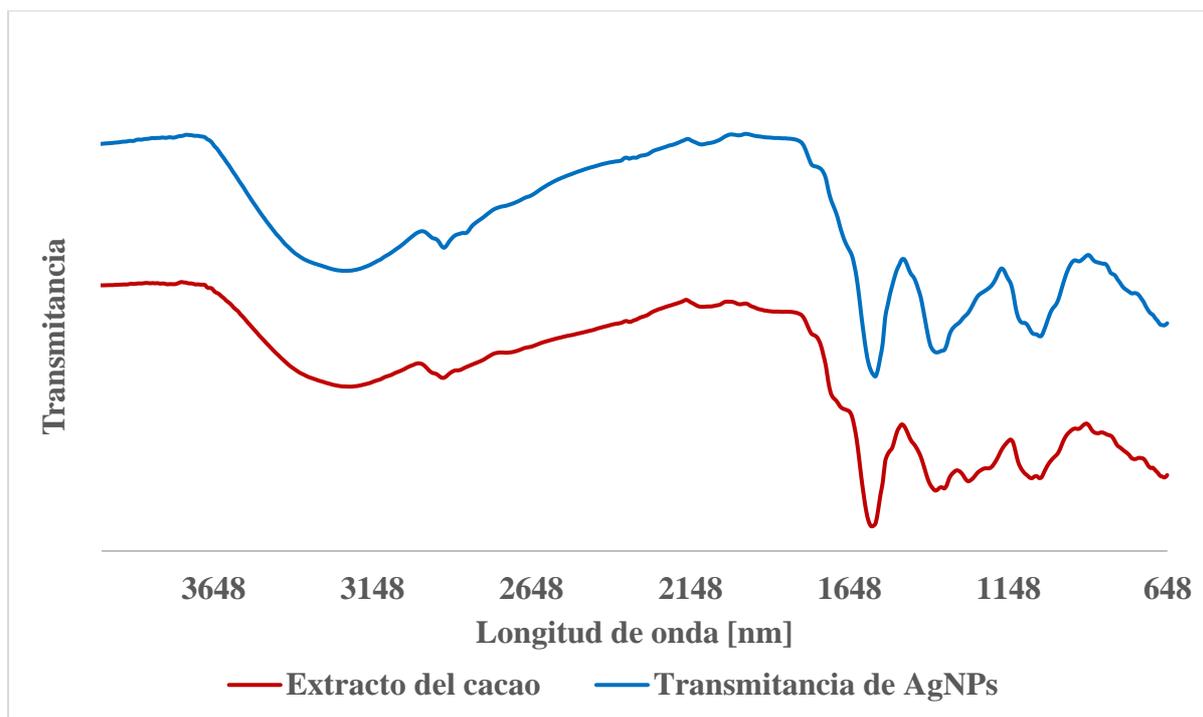


Figura 10. Caracterización FTIR y comparación de transmitancia vs. longitud de onda del extracto de cacao y de las AgNPs.

El análisis vía FTIR constituye una herramienta eficaz para examinar los grupos funcionales de las biomoléculas, como terpenoides y flavonoides del cacao, los cuales desempeñan el papel de agentes reductores y encapsuladores en la síntesis de nanopartículas de plata AgNPs [26]. En la Figura 10, se exhiben los espectros FTIR correspondientes a la solución de extracto y a las AgNPs sintetizadas. Los picos evidencian la generación de las AgNPs. Los grupos -OH ceden electrones, llevando a cabo la oxidación de los grupos hidroxilo y la reducción de los iones Ag^+ para originar las AgNPs [9], [27].

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se demuestra la capacidad de los residuos agroindustriales de cáscaras de cacao, para ser considerado como recursos renovables y ecoamigables en la síntesis verde de AgNPs, formadas por la iluminación de luz azul LED, sin la adición de cualquier agente reductor externo.

Se sintetizaron nanopartículas de plata utilizando el extracto obtenido del licor de la cáscara del cacao como agente reductor. Esto demuestra la viabilidad de utilizar compuestos presentes en el licor como agentes efectivos para la reducción de iones metálicos en la sal de plata, permitiendo la formación de nanopartículas metálicas.

Se obtuvo una estabilidad en la formación de las AgNPs, ya que un 61.48% de las nanopartículas formadas se encontraban dentro de un rango de tamaño de 2.63 a 24.54 nm. Además, todas las nanopartículas formadas que fueron caracterizadas presentaban dimensiones por debajo de los 100 nm, por lo que cumplen con el tamaño para ser consideradas nanopartículas.

Se puede considerar a este proceso como una alternativa efectiva y sostenible para aprovechar los subproductos agrícolas, convirtiendo el licor resultante de la carbonización hidrotérmica en una materia prima valiosa para aplicaciones específicas, como la síntesis de nanopartículas de plata.

Se recomienda pasar al extracto de cacao por un proceso de liofilización, para facilitar la preparación de la solución de extracto.

Variar la cantidad de extracto de cacao utilizado en la solución de extracto, al igual que la concentración de la solución de nitrato de plata, para así analizar el efecto que tendría en la síntesis de las AgNPs.

Caracterizar la solución de extracto, para observar el efecto que tiene el proceso de

obtención del extracto a partir del licor en la concentración de polifenoles y azúcares reductores.

Dejar en reposo por una mayor cantidad de tiempo y sin iluminación al coloide, y medir su absorbancia para observar si existe aglomeraciones.

Realizar la metodología mostrada en ausencia de luz azul LED, para poder comparar el efecto que esta tiene en la síntesis de las AgNPs.

5. REFERENCIAS

- [1] INEC, “Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua.”
- [2] P. Elizabeth and G. Cabrera, “UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA Obtención de carbón mediante Carbonización Hidrotermal utilizando bagazo de caña Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación para la obtención del título de Ingeniera Química.”
- [3] Gobierno del Ecuador, “Agricultura, la base de la economía y la alimentación.”
- [4] P. Elías and P. Martínez, “BIOMASA RESIDUAL VEGETAL: TECNOLOGÍAS DE TRANSFORMACIÓN Y ESTADO ACTUAL.”
- [5] M. Sc, P. D. Toxicología Ambiental Bióloga, M. Sc Microbiología, C. Alberto Severiche Sierra, and R. Leonor Acevedo Barrios, “Biogás a partir de residuos orgánicos y su apuesta como combustibles de segunda generación Biogas from Organic Waste and its Commitment as a Second Generation Fuels.”
- [6] M. Heidari, A. Dutta, B. Acharya, and S. Mahmud, “A review of the current knowledge and challenges of hydrothermal carbonization for biomass conversion,” *Journal of the Energy Institute*, vol. 92, no. 6. Elsevier B.V., pp. 1779–1799, Dec. 01, 2019. doi: 10.1016/j.joei.2018.12.003.
- [7] A. Jain, R. Balasubramanian, and M. P. Srinivasan, “Hydrothermal conversion of biomass waste to activated carbon with high porosity: A review,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 283. Elsevier, pp. 789–805, Jan. 01, 2016. doi: 10.1016/j.cej.2015.08.014.
- [8] H. A. Murillo, J. Pagés-Díaz, L. A. Díaz-Robles, F. Vallejo, and C. Huiliñir, “Valorization of oat husk by hydrothermal carbonization: Optimization of process parameters

and anaerobic digestion of spent liquors,” *Bioresour Technol*, vol. 343, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2021.126112.

[9] A. Gabrielle Cañadas Garcés Nombre del profesor, T. académico Lourdes Orejuela, and D.-I. Sebastián Ponce José Álvarez, “Green synthesis of silver nanoparticles in absence and presence of LED light.” [Online]. Available: <http://bit.ly/COPETheses>.

[10] M. Gómez Garzón, “Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde,” vol. 27, no. 2, pp. 75–80, 2018, doi: 10.31260/RepertMedCir.v27.

[11] A. Cañadas *et al.*, “Green Synthesis of Antibacterial Silver Nanocolloids with Agroindustrial Waste Extracts, Assisted by LED Light,” *Colloids and Interfaces*, vol. 6, no. 4, Dec. 2022, doi: 10.3390/colloids6040074.

[12] E. Valencia-Avilés, I. Ignacio-Figueroa, E. Sosa-Martínez, M. Carmen Bartolomé-Camacho, H.-E. Martínez-Flores, and M.-E. García-Pérez, “Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas Polyphenols: antioxidant and toxicological properties,” 2016.

[13] V. De Caña, “ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SACAROSA Y AZÚCARES REDUCTORES EN MIEL ANA CECILIA HERRERA ZAMBRANO UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA FACULTAD DE TECNOLOGÍAS PROGRAMA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA PEREIRA 2011.”

[14] A. Benítez-Estrada, J. Villanueva-Sánchez, G. González-Rosendo, V. E. Alcántar-Rodríguez, R. Puga-Díaz, and A. G. Quintero-Gutiérrez, “Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP),” *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 23, Sep. 2020, doi: 10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244.

- [15] S. K. Srikar, D. D. Giri, D. B. Pal, P. K. Mishra, and S. N. Upadhyay, “Light Induced Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract of *Prunus amygdalus*,” *Green and Sustainable Chemistry*, vol. 06, no. 01, pp. 26–33, 2016, doi: 10.4236/gsc.2016.61003.
- [16] M. Gómez Garzón, “de Medicina y Cirugía,” vol. 27, no. 2, pp. 75–80, 2018, doi: 10.31260/RepertMedCir.v27.
- [17] R. Ávila Núñez, B. Rivas Pérez, R. H. Motzezak, and M. Chirinos, “Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en *Agave cocui* Trelease Content of total, Reducing and Non-Reducing Sugars in *Agave cocui* Trelease,” *MULTICIENCIAS*, vol. 12, pp. 129–135, 2012.
- [18] A. M. O. Anaya, J. J. M. Fajardo, and Ó. Cornejo, “ESTUDIO TEÓRICO DEL PLASMÓN EN NANOESFERAS DE ORO,” 2019.
- [19] Y. C. Rahayu, E. M. Setiawatie, R. P. Rahayu, and D. E. Ramadan, “Analysis of antioxidant and antibacterial activity of cocoa pod husk extract (*Theobroma cacao* L.),” *Dent J*, vol. 56, no. 4, pp. 220–225, Dec. 2023, doi: 10.20473/J.DJMKG.V56.I4.P220-225.
- [20] J. L. López-Miranda, M. Vázquez, N. Fletes, R. Esparza, and G. Rosas, “Biosynthesis of silver nanoparticles using a *Tamarix gallica* leaf extract and their antibacterial activity,” *Mater Lett*, vol. 176, pp. 285–289, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.matlet.2016.04.126.
- [21] B. Akbari, M. Pirhadi Tavandashti, and M. Zandrahimi, “PARTICLE SIZE CHARACTERIZATION OF NANOPARTICLES – A PRACTICAL APPROACH,” 2011.
- [22] F. Ocampo Osorio *et al.*, “Drug loading comparison of commercial ibuprofen on magnetite nanoparticles surface by UV–Vis spectrophotometry and acid-alkali titration by a

factorial design of experiments,” *OpenNano*, vol. 14, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.onano.2023.100193.

[23] M. Salim *et al.*, “Phytochemical screening and evaluation of antioxidant, total phenolic and flavonoid contents in various weed plants associated with wheat crops,” *Brazilian Journal of Biology*, vol. 84, 2024, doi: 10.1590/1519-6984.256486.

[24] Y. Le Strat *et al.*, “Quantification of Xylanolytic and Cellulolytic Activities of Fungal Strains Isolated from *Palmaria palmata* to Enhance R-Phycoerythrin Extraction of *Palmaria palmata*: From Seaweed to Seaweed,” *Mar Drugs*, vol. 21, no. 7, Jul. 2023, doi: 10.3390/md21070393.

[25] L. Y. Ouattara *et al.*, “Optimization of thermochemical hydrolysis of potassium hydroxide-delignified Cocoa (*Theobroma cacao* L) pod husks under low combined severity factors (CSF) conditions,” *Sci Afr*, vol. 22, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.sciaf.2023.e01908.

[26] Z. ur R. Mashwani, M. A. Khan, T. Khan, and A. Nadhman, “Applications of plant terpenoids in the synthesis of colloidal silver nanoparticles,” *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 234. Elsevier B.V., pp. 132–141, Aug. 01, 2016. doi: 10.1016/j.cis.2016.04.008.

[27] D. Thatikayala, N. Jayarambabu, V. Banothu, C. B. Ballipalli, J. Park, and K. V. Rao, “Biogenic synthesis of silver nanoparticles mediated by *Theobroma cacao* extract: enhanced antibacterial and photocatalytic activities,” *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 30, no. 18, pp. 17303–17313, Sep. 2019, doi: 10.1007/s10854-019-02077-3.

6. ANEXOS

6.1. Anexo A: Filtrado del licor de la cáscara de cacao



Figura 1 A. Proceso de filtración del licor de cáscara de cacao, para separar la fase sólida (hydrochar) y líquida (licor).



Figura 2 A. Hydrochar seco de la cáscara de cacao.

6.2. Anexo B: Proceso de concentrado del licor



Figura 1 B. Evaporador rotacional utilizado para la obtención del extracto.

6.3. Anexo C: Proceso de síntesis de las AgNPs



Figura 1 C. Proceso de iluminación con luz azul LED a tubos de ensayo con solución de extracto para la formación de las AgNPs.