

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA



Extracción de compuestos bioactivos de residuos de cáscara de Pepino (*Cucumis sativus*) por dos métodos no convencionales: ultrasonido y enzimático.

Por:

XIMENA HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Mayo, 2026.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Tesis:

Extracción de compuestos bioactivos de residuos de cáscara de Pepino (*Cucumis sativus*) por dos métodos no convencionales: ultrasonido y enzimático.

Por:

XIMENA HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

Presentada como requisito parcial para obtener el título profesional de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



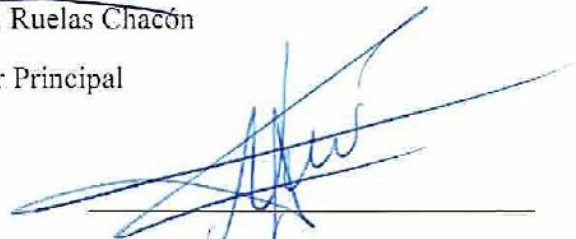
Dra. Xochitl Ruelas Chacón

Asesor Principal



Dra. Sonia Noemi Ramírez Barrón

Coasesor



Dr. Neymar Camposeco Montejo

Coasesor

Saltillo, Coahuila, México.

Mayo, 2026.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Tesis:

Extracción de compuestos bioactivos de residuos de cáscara de Pepino (*Cucumis sativus*) por dos métodos no convencionales: ultrasonido y enzimático.

Por:

XIMENA HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador

como requisito para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

De acuerdo con el artículo 90 del reglamento para Alumnos de Licenciatura

Dra. Sonia Noemi Ramírez Barrón
Presidente

Dra. Xochitl Ruelas Chacón
Vocal

Dr. Antonio Flores Naveda
Vocal

Dr. Neymar Camposeco Montejó
Vocal



M.C. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila, México.

Mayo, 2026.

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citar; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



Ximena Hernández Martínez

Agradecimientos

Principalmente a Dios, por ser mi guía y darme fortaleza para llegar hasta aquí, así como los momentos buenos que aún faltan por pasar.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por brindarme las bases de mi formación profesional y por las experiencias que llevaré siempre conmigo.

A mi asesora de tesis, Dra. Xochitl Ruelas Chacón por compartirme su conocimiento y dedicación desde que fui su alumna en materias hasta que me convertí en su alumna tesista, por sus enseñanzas más allá de lo académico y acompañarme en este proceso tan importante.

A la Dra. Sonia Noemi Ramírez Barrón por su colaboración en el desarrollo y revisión de mi trabajo de tesis, por formar parte de mi camino académico.

Al Dr. Neymar Camposeco Montejó por su colaboración en el desarrollo y revisión de mi trabajo de tesis.

Al Dr. Antonio Flores Naveda por su colaboración en el desarrollo y revisión de mi trabajo de tesis.

A unas personas muy especiales que me acompañaron a lo largo de estos años y que sin ellos no hubiera creado vivencias que llevaré siempre: Iris Rojas, Vanesa Cruz, Ismael Cavazos, Valeria Cavazos, Alhelí Solano, Eduardo Mata, Adolfo Morales, Marisol Sánchez, y Alejandro Alcocer, gracias por las comidas compartidas, por permitirme aprender algo de cada uno de ustedes, su apoyo incondicional y por hacer de esta etapa algo inolvidable.

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado principalmente a mis padres: María de los Ángeles y Juan Liborio, por enseñarme con su ejemplo que la constancia y la disciplina rinde frutos. Por sus sacrificios silenciosos, por confiar en mí y darme seguridad con solo saber que están ahí. Por estar presentes, el ser mi refugio y la razón por la que siempre supe que si importar que pasara, tenía un lugar al que regresar.

A mi hermano Angel Manuel, por nuestra forma única de querer, entre bromas y complicidad, por ser un ejemplo para mí el haberlo visto culminar profesionalmente e inspirarme para llegar a hacerlo de igual manera, por ser mi mejor amigo disfrazado de hermano y saber que siempre tendré a alguien con quien contar.

Gracias a los tres por su apoyo y amor gigantesco, que con cada "échale ganas hija, ya falta menos" resonara en mi cabeza cuando más lo necesitaba, por sostenerme desde lejos, y ser la razón por la que hoy puedo cerrar esta etapa con mucho orgullo.

Índice General

1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 Hipótesis	11
1.2 Objetivo general y objetivos específicos	11
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	13
2.1 Importancia de los componentes bioactivos en residuos agroindustriales	13
2.2 Relevancia del pepino como fuente de compuestos bioactivos.	13
2.3 Generalidades del pepino	14
2.3.1 Morfología, taxonomía y origen	14
2.3.2 Cultivo y producción	15
2.3.2 Composición química y nutricional del pepino	15
2.3.3 Composición química y nutricional de la cáscara de pepino	16
2.4 Clorofila (tipo a y b)	17
2.4.1 Definición y potencial.....	17
2.4.2 Estructura	17
2.5 Polifenoles	19
2.5.1 Definición y potencial.....	19
2.5.2 Estructura	19
2.6 Flavonoides	20
2.6.1 Definición y potencial.....	20
2.6.2 Estructura	21
2.7 Capacidad antioxidante	22
2.8 Métodos de determinación de capacidad antioxidante.....	22
2.7.1 Método DPPH.....	22
2.7.2 Método ABTS	22
2.8 Métodos de extracción de componentes bioactivos	23
2.8.1 Extracción convencional.....	23
2.8.2 Extracción por ultrasonido.....	23
2.8.3 Extracción enzimática.....	24

3. MÉTODOLOGÍA	26
3.1 Recolección y preparación de muestra	26
3.2 Métodos de extracción.....	26
3.2.1 Extracción convencional con solvente y ultrasonido.....	26
3.2.2 Extracción enzimática.....	26
3.3 Cuantificación de componentes bioactivos	27
3.3.1 Determinación de clorofila	27
3.3.2 Determinación de polifenoles por método Folin – Ciocalteu	27
3.3.3 Determinación de flavonoides	27
3.4 Determinación de capacidad antioxidante.....	28
3.4.1 Preparación de las muestras para determinar capacidad antioxidante	28
3.4.2 Método DPPH.....	28
3.4.3 Método ABTS.....	28
3.5 Análisis estadísticos	28
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1 Cuantificación de componentes bioactivos	29
4.1.1 Clorofila.....	29
4.1.2 Polifenoles	30
4.1.2 Flavonoides.....	32
4.1.4 DPPH	34
4.1.5 ABTS	36
5. CONCLUSIONES	39
6. REFERENCIAS	41

Índice de cuadros

Cuadro 1. Composición química del pepino por cada 100 g	15
Cuadro 2. Composición química de la cáscara de pepino en porcentaje.	16

Índice de figuras

Figura 1. Estructura química de la clorofila a y clorofila b.	18
Figura 2. Estructura química de los polifenoles.....	19
Figura 3. Estructura química de las subclases de los polifenoles.	20
Figura 4. Estructura química de los flavonoides.....	21
Figura 5. Contenido de clorofila por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.	29
Figura 6. Contenido de clorofila por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.	30
Figura 7. Contenido de polifenoles por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.	31
Figura 8. Contenido de polifenoles por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.	32
Figura 9. Contenido de flavonoides por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.	33
Figura 10. Contenido de flavonoides por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.....	34
Figura 11. Actividad antioxidante DPPH por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.....	35
Figura 12. Actividad antioxidante DPPH por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.	36
Figura 13. Actividad antioxidante ABTS por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.....	37
Figura 14. Actividad antioxidante ABTS por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.	38

Resumen

Los residuos agroindustriales de cáscara de pepino (*Cucumis sativus*) representan una fuente subvalorada de compuestos bioactivos. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de dos métodos no convencionales de extracción (ultrasonido y enzimático) para recuperar clorofila, polifenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante, analizando el efecto de la temperatura (50°C y 55°C) y el tiempo. Las muestras de cáscara se sometieron a ultrasonido (30 min) y a extracción enzimática con pectinasa (80 min). Los compuestos bioactivos se cuantificaron por espectrofotometría y la capacidad antioxidante mediante los métodos DPPH y ABTS. La extracción asistida por ultrasonido demostró ser más eficiente, logrando mayores rendimientos en menor tiempo: clorofila total (0.0242 mg/g a 30 min), polifenoles (86.31 mg GAE/g a 30 min), flavonoides (0.0987 mg/g a 30 min) y actividad antioxidante DPPH (9.04 ET mM/g a 20 min) y ABTS (54.45 μ M/g a 10 min). Si bien la extracción enzimática mostró una liberación gradual, alcanzando una clorofila máxima de 0.0358 mg/g a los 80 min, su eficiencia global fue menor. Para el ultrasonido, 55°C favoreció la extracción, aunque tiempos prolongados causaron ligera degradación. Para el método enzimático, 50°C resultó más adecuado para la estabilidad de la enzima. Se concluye que la extracción por ultrasonido es el método más efectivo para recuperar compuestos bioactivos de la cáscara de pepino en menor tiempo, apoyando su potencial para aplicaciones industriales sostenibles.

Palabras claves: *Cucumis sativus*, residuo, componente bioactivo, capacidad antioxidante, extracción por ultrasonido, extracción enzimática.

Correos electrónicos:

Tesista: Ximena Hernández Martínez, ximenahernandezmartinez407@gmail.com

Asesora principal: Dra. Xochitl Ruelas Chacón, xruelaschacon@gmail.com

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la búsqueda de alternativas para la utilización de residuos agroindustriales se ha vuelto extremadamente importante debido a la necesidad de reducir su impacto ambiental, así como a la necesidad de conservar y extraer recursos de la manera más eficiente posible. En este sentido, los residuos de vegetales, en particular el pepino, es una fuente valiosa de compuestos bioactivos, como polifenoles, flavonoides, clorofilas, antioxidantes, que se pueden recuperar y aprovechar en diversas aplicaciones, incluso en la producción de biopelículas.

La importancia de la presente investigación se centra en la disminución del desperdicio de alimentos y la generación de alternativas sostenibles para la elaboración de materiales eco-friendly, en este sentido específico, de la industria alimentaria. Igualmente, se pretende mejorar el proceso de extracción, con el uso de ultrasonido y tratamiento enzimático, para el aprovechamiento máximo de dichos residuos, con mayor eficiencia y rentabilidad.

De acuerdo con lo anterior planteamos las siguientes hipótesis:

1.1 Hipótesis

H₁: La extracción por método de ultrasonido, para la extracción de componentes bioactivos de residuos de cáscara de pepino (*Cucumis sativus*) será más eficiente en términos de tiempo de extracción y cantidad de componentes extraídos.

H₂: La extracción por método enzimático, para la extracción de componentes bioactivos de residuos de cáscara de pepino (*Cucumis sativus*) será más eficiente en términos de tiempo de extracción y cantidad de componentes extraídos.

Para poder comprobar las hipótesis planteadas se requiere establecer los objetivos siguientes:

1.2 Objetivo general y objetivos específicos

Este trabajo experimental tiene como **objetivo general**:

- Evaluar los métodos de extracción de componentes bioactivos recuperados de los residuos de pepino: ultrasonido y enzimático.

Para ello, se plantean **objetivos específicos** que incluyen:

- Analizar el efecto de dos niveles de temperatura de extracción y el tiempo de reacción para el proceso de extracción de componentes bioactivos recuperados de residuos de pepino, empleando el método de ultrasonido y el enzimático.
- Cuantificar los componentes bioactivos extraídos: clorofila total, flavonoides, polifenoles y capacidad antioxidante por ambos métodos no convencionales.
- Definir, cuál método es más efectivo para la extracción de compuestos bioactivos.

Si bien en esta investigación se limitó a residuos de pepino y a los métodos de ultrasonido y enzimático, sus alcances obtenidos abren la puerta para continuar estudiando la aplicación de estos compuestos en biopelículas y otros materiales biodegradables, brindando información valiosa para la optimización de procesos sostenibles en la industria alimentaria.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia de los componentes bioactivos en residuos agroindustriales

En la actualidad, los residuos agroindustriales se han descubierto como una fuente rica de componentes bioactivos; por ello, es importante que se exploten para obtener beneficios en varios campos, que incluyen la nutrición, la medicina y la industria. Según un estudio reciente, se concluye que los subproductos de la agroindustria son ricos reservorios de compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides y polisacáridos, los cuales tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas (Caballero et al., 2019). Por lo tanto, pueden emplearse para disminuir la huella ambiental de los desechos. Asimismo, una gran oportunidad de la economía circular es su reutilización. Según la fundación Ellen MacArthur (2015), dice que la economía circular es una forma de producir y consumir que busca aprovechar al máximo los recursos y generar la menor cantidad de residuos posible. En lugar de usar y tirar, este modelo propone reutilizar materiales y darles una segunda vida dentro del proceso productivo. Así, se reduce el desperdicio y se cuida el planeta al mismo tiempo (MacArthur et al., 2015).

El valor e importancia de estos compuestos bioactivos se basa en sus propiedades y capacidades de mejora de la salud humana y animal. En este ámbito, los extractos de cáscaras de frutas y vegetales, fuentes ricas en polifenoles, han probado ser capaces de modular la microbiota intestinal y disminuir la susceptibilidad de enfermedades crónicas como la diabetes y la obesidad. Asimismo, la aplicación en la industria alimentaria como aditivos naturales está tomando protagonismo dada la alta demanda de productos libres de químicos sintéticos (Ratu et al., 2023).

2.2 Relevancia del pepino como fuente de compuestos bioactivos.

El pepino (*Cucumis sativus*) es una hortaliza ampliamente consumida en todo el mundo. Se come no solo por su frescura y bajo valor calórico, sino también por su alto contenido de nutrientes y compuestos bioactivos potencialmente beneficiosos para la salud. Descubrimientos recientes han demostrado que el pepino contiene varios compuestos

fenólicos, flavonoides, cucurbitacinas y otros fitoquímicos; estos bioactivos son responsables de las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas del pepino (Uthpala et al., 2020).

Resulta que el pepino es una fuente importante de compuestos llamados fenólicos, como los ácidos cafeico y ferúlico. Estos compuestos tienen un gran poder antioxidante, lo que significa que nos ayudan a combatir el estrés oxidativo y a prevenir enfermedades crónicas relacionadas con el daño celular. Pero eso no es todo, estos compuestos no solo protegen nuestras células de los radicales libres, sino que también pueden influir en procesos biológicos importantes, como la inflamación y la regeneración celular (Uthpala et al., 2020).

Además, investigaciones recientes han descubierto algo fascinante sobre las cucurbitacinas, unos compuestos especiales que se encuentran en plantas de la familia del pepino (*Cucurbitaceae*). Estos compuestos no solo le dan al pepino sus propiedades únicas, sino que también tienen efectos antiinflamatorios e incluso anticancerígenos, lo que las convierte en candidatas prometedoras para el desarrollo de terapias naturales (Varela et al., 2022).

Pues ayudan a bloquear la producción de sustancias que causan inflamación y regulan procesos importantes en nuestras células. Ha llamado la atención por su posible papel en la prevención del cáncer. Un estudio más reciente, reveló que los extractos de pepino contienen sustancias como flavonoides y cucurbitacinas, que pueden "engañar" a las células cancerosas para que se autodestruyan (un proceso llamado apoptosis) y evitar que formen nuevos vasos sanguíneos para crecer (angiogénesis). Esto sugiere que el pepino podría ser un gran aliado en dietas orientadas a prevenir enfermedades crónicas, como el cáncer (Varela et al., 2022).

2.3 Generalidades del pepino

2.3.1 Morfología, taxonomía y origen

El pepino (*Cucumis sativus*) es una planta que durante miles de años nos ha acompañado como parte esencial en nuestra alimentación. Su fruto es largo, con un epicarpio duro

que varía entre el color verde oscuro y amarillo. Su pulpa es acuosa y de sabor refrescante, también presenta semillas ovaladas en su interior. La planta puede tener tallos trepadores o rastreros, con hojas ásperas y grandes, que tienen zarcillos para facilitar su crecimiento y soporte. Sus flores son amarillas y se desarrollan en las axilas de las hojas (Aguirre – Cobeña, et al., 2024).

Taxonómicamente, se clasifica en el reino *Plantae*, división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, género *Cucumis*, y especie *Cucumis sativus*. (Cañizares & Chasi, 2024)

Es originario del sur de Asia, principalmente de la India desde hace casi 3000 años antes. Su cultivo pasó de Europa a estar en América debido al comercio. (Aguirre – Cobeña, et al., 2024)

2.3.2 Cultivo y producción

Puede ser cultivado durante todo el año, siempre y cuando se disponga de riego, a la vez es fácil de adaptarse a climas cálidos. Su producción necesita de un correcto manejo en cuanto a la fertilización y protección hacia enfermedades que dañen su productividad (Cobeña, et al., 2024).

2.3.2 Composición química y nutricional del pepino

Cuadro 1. Composición química del pepino por cada 100 g.

Componente	Cantidad por 100 g
Calorías	15 kcal
Agua	96 %
Proteínas	0.6 g
Carbohidratos	3.6 g
Fibra	0.5 g
Vitamina K	16.4 µg
Vitamina C	2.8 mg
Potasio	147 mg
Magnesio	13 mg

Fuente: Infoagro, et al., 2019.

El pepino es una hortaliza reconocida por la cantidad de agua que contiene (aproximadamente un 96 %). Por su bajo contenido calórico y suficiente fibra es bueno para el sistema inmune y salud digestiva. Su composición química y nutricional también es destacada por los polifenoles, flavonoides, clorofila (a y b), entre otros antioxidantes que aportan beneficios a la salud (Infoagro, et al., 2019).

2.3.3 Composición química y nutricional de la cáscara de pepino

El pepino (*Cucumis sativus L.*) es una de las hortalizas más cultivadas y consumidas a nivel mundial, apreciado por su frescura y alto contenido de agua. Sin embargo, su procesamiento genera subproductos, como la cáscara, que representan aproximadamente el 10% del fruto fresco y que, en la mayoría de los casos, son desechados como residuos (Rodríguez, et al., 2020).

En términos de macronutrientes, la cáscara de pepino presenta una composición que refleja su naturaleza como tejido de protección. Un estudio reciente de Franco-Guanilo et al. (2025), enfocado en la valorización de subproductos vegetales, proporciona datos relevantes sobre la composición proximal de matrices similares, donde el contenido de humedad es el componente mayoritario, seguido de los carbohidratos. Aunque su estudio se centra en la papa andina, la metodología empleada para el análisis proximal es la misma que se aplica al pepino y permite establecer un marco de referencia para entender la distribución de nutrientes en tejidos vegetales.

Específicamente para la cáscara de pepino, la investigación de Rodríguez et al. (2020) determinó su composición (cuadro 2), revelando que:

Cuadro 2. Composición química de la cáscara de pepino en porcentaje.

Compuesto	Porcentaje, $\pm$ DS% (Desviación Estándar)
Fibra cruda	32.45 $\pm$ 0.21%
Proteína cruda	12.28 $\pm$ 0.10%
Carbohidratos	9.79 $\pm$ 0.10%
Lípidos	1.70 $\pm$ 0.06%
Cenizas	6.28 $\pm$ 0.05%

Fuente: Rodríguez et al. 2020.

Esta composición confirma que la cáscara es un subproducto con un perfil nutricionalmente alto, especialmente rico en fibra y con una contribución proteica muy razonable (Rodríguez, et al. 2020).

2.4 Clorofila (tipo a y b)

2.4.1 Definición y potencial

Cuando observamos la cáscara de un pepino, ese color verde característico no es un simple adorno; es la manifestación visible de la clorofila. Este pigmento, cuyo nombre proviene del griego *chloros* (verde) y *phyllon* (hoja), es el responsable de capturar la energía lumínica que sostiene la vida en el planeta. En los tejidos verdes como el epicarpio del pepino, conviven dos formas principales de este pigmento. La clorofila (a), que representa aproximadamente el 75% de los pigmentos fotosintéticos en vegetales superiores, actúa como el centro de reacción fotoquímico. Su hermana, la clorofila (b), cumple un rol igualmente indispensable pero distinto: funciona como un "embudo" molecular que amplía el espectro de luz capturada y la transfiere eficientemente hacia la clorofila (a) (Fabrowska, et al., 2020).

La clorofila tiene un panorama en el que deja de ser un simple pigmento para convertirse en una molécula con múltiples opciones terapéuticas y aplicaciones potenciales, son las actividades biológicas como la antioxidante, demostrada por su capacidad para combatir el estrés oxidativo y proteger las membranas celulares del daño inducido por micotoxinas; y la antiinflamatoria, evidenciada en casos de pancreatitis crónica, donde la administración de clorofila (a) logró normalizar los niveles de amilasa y aliviar síntomas como el dolor abdominal (Ulbricht, et al., 2014).

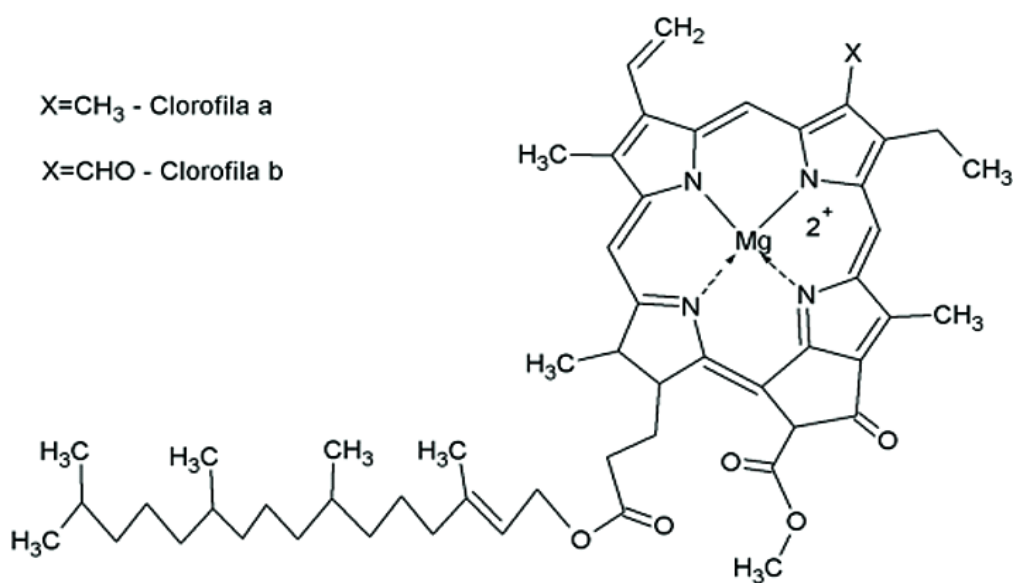
2.4.2 Estructura

Estructuralmente, las clorofilas son moléculas pertenecientes a la clase de las porfirinas. Poseen una "cabeza" hidrofílica: un anillo tetrapirrólico complejo (anillo de porfirina) que alberga en su centro un átomo de magnesio (Mg). A esta cabeza se ancla una larga "cola" hidrofóbica: una cadena lateral hidrocarbonada de naturaleza alcohólica conocida como fitol. Esta dualidad química es la que, en palabras de un trabajo fundamental de fisiología de cultivos, define su comportamiento: "ambas consisten en una cabeza de

Mg-porfirina que es hidrofílica y una cola de fitol que es lipofílica" (Fabrowska, et al., 2020).

Para ser extraída, la clorofila debe ser "convencida" de abandonar su entorno lipídico en la membrana del tilacoide. Esto explica por qué los solventes orgánicos (acetona, etanol, metanol) son históricamente la primera opción, y han sido ampliamente utilizados en la investigación con microalgas (Vanegas et al., 2022).

La diferencia química entre la clorofila (a) y la (b) es sutil pero determinante para su comportamiento espectral y de la mano para su cuantificación por espectrofotometría UV-Vis. Mientras la clorofila (a) presenta un grupo metilo ($-\text{CH}_3$) en el carbono 3 del anillo pirrólico II, la clorofila (b) presenta un grupo formilo ($-\text{CHO}$) en la misma posición (Fig. 1) (Vanegas et al., 2022).



2.5 Polifenoles

2.5.1 Definición y potencial

Se les define formalmente como metabolitos secundarios, un diverso grupo de compuestos que a diferencia de los primarios (como proteínas o azúcares), no son esenciales para su supervivencia, sino para la interacción de la planta con su entorno. Como bien señala Tai et al. (2025) son "un tipo de metabolitos secundarios con estructura de grupo fenol-hidroxilo en los tejidos vegetales". Por lo tanto, son la respuesta química de la planta al estrés de vivir: la radiación ultravioleta, la amenaza de patógenos o las heridas mecánicas activan su síntesis.

El potencial de los polifenoles se ha convertido en un aliado de la salud humana. En una investigación científica de Qu et al. (2025) se habla de que una alta ingesta de estos compuestos puede ejercer un efecto protector. Dentro de sus múltiples funciones, destacan como poderosos antioxidantes capaces de neutralizar especies reactivas de oxígeno y mitigar el estrés oxidativo, un factor clave en el desarrollo de enfermedades crónicas como las cardiovasculares y neurodegenerativas (Bhardwaj, et al., 2025; Zhang, et al., 2025).

2.5.2 Estructura

Son caracterizados por poseer al menos un anillo aromático (fenilo) unido a uno o más grupos hidroxilo (-OH) (Fig. 2).

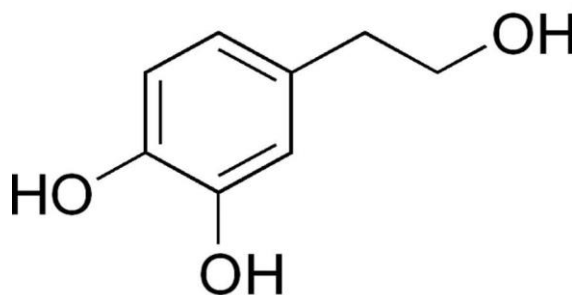


Figura 2. Estructura química de los polifenoles.

Fuente: Smallops, et al., 2022.

Se clasifican según el número de anillos y sus elementos estructurales, como los flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos, entre otros (Fig. 3) (Bhardwaj, et al., 2025).

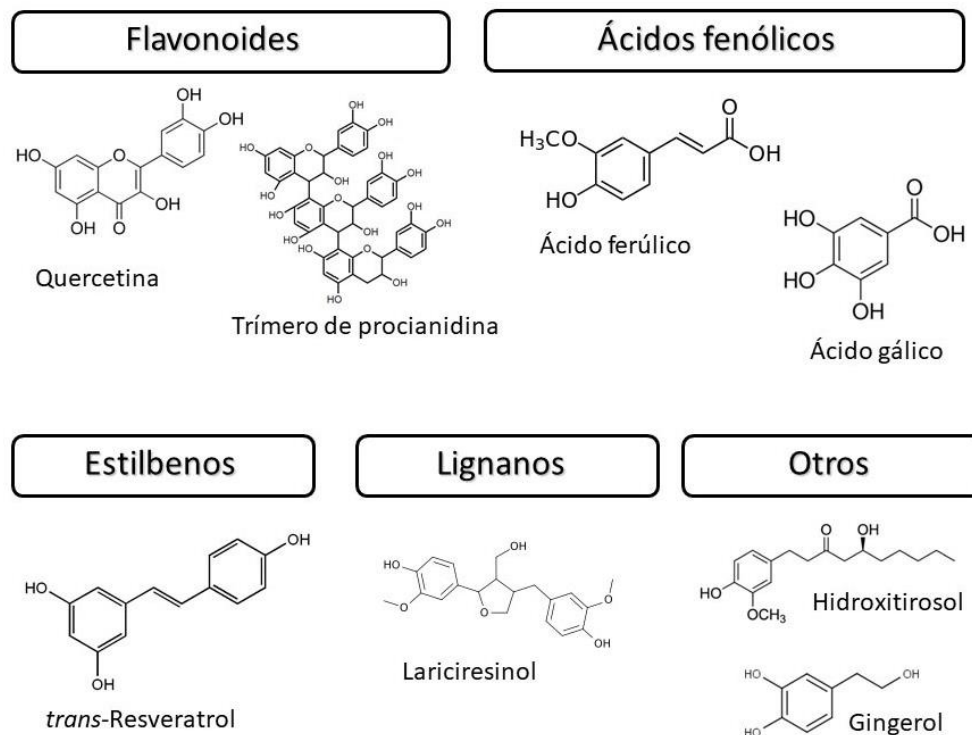


Figura 3. Estructura química de las subclases de los polifenoles.

Fuente: Pérez, et al., 2019.

2.6 Flavonoides

2.6.1 Definición y potencial

Los flavonoides son metabolitos secundarios polifenólicos, sintetizados por las plantas como respuesta a la presión de su entorno. No intervienen directamente en su crecimiento, pero son cruciales ya que actúan como filtro solar natural contra la radiación UV, como reclamo visual para polinizadores y como escudo químico frente a patógenos y herbívoros, destacando además sus efectos antiinflamatorios y su potencial en la protección cardíaca y el metabolismo (Duarte, et al., 2025).

2.6.2 Estructura

Se definen por poseer un esqueleto carbonado fundamental de tipo C6-C3-C6 (difenilpropano), el cual consiste en dos anillos de benceno (anillo A y anillo B) unidos a través de un anillo heterocíclico de tres carbonos (anillo C), lo cual se puede observar en la figura 4 (Duarte, et al., 2025).

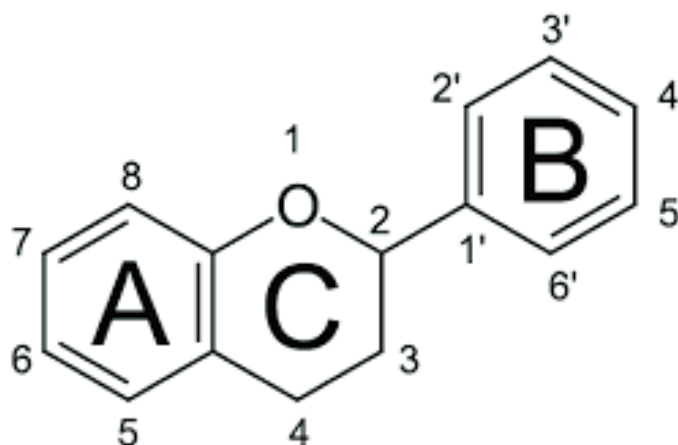


Figura 4. Estructura química de los flavonoides.

Fuente: Trujillo, et al., 2012.

La clasificación de dichos compuestos se realiza en función del grado de oxidación del anillo heterocíclico C y de la posición del anillo B. Las principales subclases incluyen: flavonas, flavonoles, flavanonas, isoflavonas, flavanoles (también conocidos como flavan-3-oles), antocianidinas y sus polímeros, los proantocianidinos. Cada subclase presenta características estructurales distintivas que determinan su función biológica y su actividad en los sistemas vegetales y animales (Wang, et al., 2025).

Un cuadro comparativo publicado en la revista Foods, resume los compuestos bioactivos identificados en diferentes partes de cucurbitáceas, reportando para la cáscara de pepino la presencia de flavonoides, taninos, saponinas, glucósidos y antraquinonas. Pero el dato más revelador proviene de un estudio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) que identificó y cuantificó flavonoides específicos en el fruto entero de pepino. Los resultados confirmaron la presencia de rutina, quercetina, apigenina y kaempferol,

con una concentración total de 2.63 mg/kg, lo que demuestra que el pepino es una fuente concreta de estos valiosos compuestos (Borecka, et al., 2025).

2.7 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante es una medida fundamental para evaluar el potencial de compuestos bioactivos extraídos de matrices vegetales, como la cáscara del pepino (*Cucumis sativus*). Estos compuestos, principalmente polifenoles y flavonoides, son capaces de neutralizar radicales libres que, de otro modo, inducirían estrés oxidativo y daño celular. Wołosiak et al. (2022), señala que los métodos ABTS y DPPH son entre los ensayos más populares para determinar actividad antioxidante. Su uso conjunto permite evaluar el potencial antioxidante desde distintos mecanismos de interacción con radicales libres, lo cual es fundamental para comparar la eficacia de distintos métodos de extracción de compuestos bioactivos.

2.8 Métodos de determinación de capacidad antioxidante

2.7.1 Método DPPH

El método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) es posiblemente el ensayo más común para evaluar la actividad antioxidante in vitro. Se basa en la capacidad de un extracto para donar electrones u hidrógenos al radical DPPH, un radical estable con un intenso color violeta, provocando su decoloración medida con espectrofotómetro a 517 nm. La disminución de absorbancia se interpreta como un incremento en la capacidad de captura de radicales libres del extracto (Jia, et al., 2024).

2.7.2 Método ABTS

El ensayo ABTS se basa en la formación del catión radical ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)), que presenta un color azul-verdoso intenso. Cuando un antioxidante está presente, este radical se reduce y pierde su color, lo cual se cuantifica con espectrofotómetro a 734 nm (Jia, et al., 2024).

Una de las ventajas más significativas de este método es su versatilidad, ya que permite evaluar la capacidad antioxidante de compuestos de diversa polaridad. Esta característica lo hace especialmente adecuado para muestras complejas, como los extractos de cáscara

de pepino, que pueden contener una mezcla de fitoquímicos hidrofílicos (como ciertos flavonoides glicosilados) y lipofílicos (como carotenoides o clorofilas) (Jia, et al., 2024).

2.8 Métodos de extracción de componentes bioactivos

2.8.1 Extracción convencional

En esencia, la extracción por solventes se busca "lavar" el material vegetal con un líquido (el solvente) que sea capaz de disolver y arrastrar consigo los compuestos que nos interesan (Sun, et al., 2025). La extracción sólido-líquido su principio fundamental se basa en que los compuestos solubles presentes en la matriz vegetal migran hacia el solvente en el que están inmersos (Husaini, et al., 2025).

Dentro de esta categoría, la maceración es uno de los procedimientos más simples, que consiste en dejar el material vegetal en contacto con el solvente a temperatura ambiente durante un período prolongado, con agitación ocasional o constante. A diferencia de la maceración estática tradicional, la maceración dinámica emplea agitación mecánica continua. Este movimiento constante acelera el proceso de transferencia de masa, permitiendo que el solvente entre en contacto con la superficie de la muestra de manera más eficiente (Ojeda, et al., 2024).

2.8.2 Extracción por ultrasonido

La Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU) se ha posicionado como una de las tecnologías emergentes más exitosas y ampliamente adoptadas para la extracción de compuestos bioactivos, siendo considerada una técnica de "extracción verde" por su eficiencia y reducido impacto ambiental (Özdemir, et al., 2022).

Para entender por qué el ultrasonido es tan efectivo, hay que imaginar lo que sucede dentro del líquido donde se sumerge la muestra. Las ondas ultrasónicas, al viajar a través del solvente, generan ciclos de compresión y expansión. En la fase de expansión, se forman diminutas burbujas de vacío que crecen hasta que, al cambiar el ciclo, colapsan violentamente. Este colapso es un evento de una energía increíblemente concentrada (Vuković, et al., 2025).

Es decir, la implosión de estas burbujas actúa como un "martillo" que rompe las paredes celulares de la planta, permitiendo que el solvente penetre y arrastre los compuestos del interior con una facilidad y rapidez inigualables (Vuković, et al., 2025).

Las ventajas de la Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU) son múltiples, Özdemir et al. (2022) destaca que "la extracción asistida por ultrasonido proporciona numerosas ventajas, incluyendo su facilidad de uso, mayor eficiencia y reproducibilidad, reducción del uso de solventes, consumo de energía, costos operativos y tiempo de procesamiento, mejora de la pureza del producto, mejor protección de la bioactividad de los compuestos termosensibles, y su operatividad a temperatura ambiente y presión atmosférica". El uso de la potencia y la frecuencia varía dependiendo del material vegetal y los componentes que se desean extraer.

Los principales factores que influyen en la eficiencia de la UAE incluyen la potencia y frecuencia ultrasónica, la temperatura, el tiempo de extracción, el tipo de solvente. Esta capacidad de operar en condiciones suaves es crucial para preservar la integridad de compuestos como flavonoides y polifenoles, que son particularmente sensibles al calor. (Özdemir et al., 2022)

2.8.3 Extracción enzimática

La Extracción Asistida por Enzimas (EAE) representa un enfoque biotecnológico, altamente específico y respetuoso con el medio ambiente para la recuperación de compuestos intracelulares. A diferencia de los métodos físicos que utilizan fuerzas mecánicas o térmicas para romper las células, la EAE emplea enzimas hidrolíticas para degradar de manera selectiva los componentes estructurales de la pared celular vegetal (Sun, et al., 2025).

La pared celular es una barrera compleja formada por polisacáridos como celulosa, hemicelulosa y pectina, que atrapan los compuestos bioactivos en su interior. Las enzimas como celulasas, pectinasas, hemicelulasas o su combinación catalizan la hidrólisis de estos biopolímeros, debilitando la estructura de la pared y facilitando la liberación de su contenido sin someter a los compuestos de interés a condiciones agresivas de temperatura o pH (Silva, et al., 2025).

En este caso la pectinasa, su acción es tan específica y suave que, al degradar selectivamente la pectina, liberan el contenido celular sin dañar otros compuestos que podríamos querer preservar (Silva, et al., 2025).

Un estudio de 2025 sobre la extracción de compuestos bioactivos del cáliz de la rosa jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es un ejemplo perfecto de esta precisión. Los investigadores compararon diferentes enzimas y descubrieron que cada una tenía un talento especial. La pectinasa, en particular, demostró ser la mejor aliada para obtener el vibrante color de la flor: "La condición optimizada reveló que la celulasa (10%, 60 °C) produjo el mayor contenido de fenoles totales y flavonoides, la pectinasa (15%, 50 °C) produjo el mayor contenido de antocianinas (127.79 mg/100 g), y la amilasa (3%, 60 °C) logró la mayor actividad antioxidante". Este hallazgo es fascinante porque muestra que no se trata solo de "romper la pared", sino de hacerlo de manera selectiva (Priyanka, et al., 2025).

Las ventajas de la EAE son particularmente notables en términos de selectividad y preservación de la integridad molecular (Silva, et al., 2025).

Sin embargo, la EAE también presenta desafíos específicos. Los parámetros críticos para optimizar incluyen el tipo y concentración de la enzima, el pH, la temperatura de incubación (generalmente entre 40-60°C, el óptimo para la actividad enzimática), y el tiempo de tratamiento. El costo de las enzimas y su estabilidad pueden ser limitantes para la aplicación industrial (Sun, et al., 2025).

3. MÉTODOLOGÍA

3.1 Recolección y preparación de muestra

Para la obtención de residuos de cáscaras de pepino, se compraron las unidades en un mismo supermercado tomando en cuenta que la mayoría posible contara con características similares (sin manchas, frescura, tamaño) para que evitar variabilidad considerable.

En el caso de la extracción por ultrasonido, para la preparación de la muestra, se utilizaron 10 gramos de cáscara de pepino fresco y se molieron junto con 100 mL de alcohol etílico al 96%, y se realizó por triplicado, considerando un reactor control y el reactor de tratamiento.

En el caso de la extracción por método enzimático, para la preparación de la muestra, también se agregaron 10 gramos de cáscara de pepino fresco, buffer de acetato a pH 5 junto con la enzima pectinasa, para reactor tratamiento, y buffer de acetato a pH 5 con 10 gramos de cáscara de pepino para reactor de control.

3.2 Métodos de extracción

3.2.1 Extracción convencional con solvente y ultrasonido

Se utilizó un baño maría de laboratorio para conectar los reactores a una bomba y que de esta manera circulará el agua uniformemente hasta alcanzar la temperatura establecida, también se utilizó un baño ultrasónico para sumergir el reactor tratamiento. Ambos reactores fueron tapados para evitar su evaporación.

Durante 30 minutos, se tomaron muestras de 10 mL cada 10 minutos por triplicado (en tubos de vidrio forrados y con tapa), para observar cómo evolucionaba la extracción a lo largo del tiempo.

3.2.2 Extracción enzimática

La enzima que se utilizó para la extracción de los compuestos bioactivos de la cáscara de pepino fue la pectinasa. Para ello, preparamos dos reactores (como se explica en el punto

3.1), ambos reactores se colocaron en una placa de agitación y fueron tapados para evitar su evaporación.

Se realizó a temperaturas de 50°C y 55 °C, en el momento de añadir la enzima, empezamos a tomar muestras de 10 mL al tiempo 0, 10, 20, 40, 60, 80 minutos por triplicado. De este modo, pudimos comparar cómo la acción de romper la pectina de la pared celular con la enzima influía en la liberación de clorofila, polifenoles y flavonoides a lo largo del tiempo.

3.3 Cuantificación de componentes bioactivos

3.3.1 Determinación de clorofila

Para medir la cantidad de clorofila presente, tomamos una porción de cada muestra, la mezclamos con acetona al 85% y la llevamos a un volumen conocido en matraces aforados. Finalmente, colocamos estas soluciones en el espectrofotómetro, por triplicado, para obtener los valores de absorbancia que nos permitirían calcular no solo la clorofila total, sino también sus formas a y b.

3.3.2 Determinación de polifenoles por método Folin – Ciocalteu

Para los polifenoles se realizó por triplicado, a 10 mL de muestra se le añadieron 10 mL de acetona al 30%, se agitó en vórtex por 1 minuto a 5000 rpm y se dejó reposar durante toda la noche en refrigeración y en ausencia de luz. Al día siguiente, se centrifugaron las muestras por 20 minutos a 3000 rpm para obtener un líquido limpio (sobrenadante), de este líquido se tomaron 400 µL (se utilizó un blanco de 400 µL de agua destilada) y se le añadieron 400 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, se homogenizó y se dejó reposar por 5 minutos, posteriormente se añadieron 400 µL de carbonato de sodio 0.01M, de nuevo se homogenizaron las muestras y se dejaron reposar por 5 minutos, finalmente se adicionaron 2 mL de agua destilada para medir inmediatamente en el espectrofotómetro a 725 nm.

3.3.3 Determinación de flavonoides

Se realizó por triplicado con el método de tricloruro de aluminio utilizando como estándar la Quercetina, en donde a 1 mL de muestra con 1 mL de tricloruro de aluminio

(AlCl₃) al 2%, se dejó que reaccionaran durante una hora a oscuridad y a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se midió en espectrofotómetro la absorbancia a 420 nm.

3.4 Determinación de capacidad antioxidante

3.4.1 Preparación de las muestras para determinar capacidad antioxidante

Se homogenizó 10 mL de muestra con 100 mL de metanol al 80% en un agitador durante 30 minutos en ausencia de luz. Posteriormente se centrifugó a 3000 rpm a 25°C durante 20 minutos, el precipitado fue descartado y el sobrenadante fue utilizado para la determinación de capacidad antioxidante.

3.4.2 Método DPPH

Se calibró con un blanco de 1.5 mL de metanol al 80%, y como absorbancia control 1.5 mL de DPPH-MeOH. A 0.05 mL (50 µL) de muestra se le adicionó 1.45 mL (1,450 µL) de solución de DPPH, se agitó vigorosamente y se mantuvo en oscuridad por 30 minutos. Posteriormente se leyó y se registró la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 517 nm.

3.4.3 Método ABTS

Se utilizó un blanco con 2 mL (2,000 µL) de buffer de acetato con un pH 5, para el control de absorbancia se añadió 2.2 mL (2,200 µL) de agua destilada con 0.8 mL (800 µL) de solución radical ABTS-Buffer. Y para las muestras se utilizó 0.2 mL (200 µL) de muestra más 2 mL (2,000 µL) de agua destilada y 0.8 mL (800 µL) de la solución radical ABTS-Buffer. Posteriormente, después de 3 minutos de reposar las muestras, se leyó y se registró la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 734 nm.

3.5 Análisis estadísticos

Los experimentos se realizaron bajo un diseño completamente al azar (DCA) para cada método de extracción evaluado, y se llevaron a cabo por triplicado.

Para determinar diferencias significativas entre los tratamientos (temperaturas y tiempos de extracción), se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software estadístico InfoStat. Se realizó la prueba de comparación de medias de Fisher (LSD, Least Significant Difference) para identificar qué tratamientos diferían entre sí.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Cuantificación de componentes bioactivos

4.1.1 Clorofila

Extracción asistida por ultrasonido:

El contenido de clorofila aumentó progresivamente en ambas temperaturas, alcanzando valores de 0.0233 mg/g (50°C) y 0.0242 mg/g (55°C) a los 30 minutos. La temperatura de 55°C favoreció una mayor extracción, alcanzando valores superiores desde los primeros tiempos de tratamiento (Fig. 5). Özdemir et al. (2022) señala que "la extracción asistida por ultrasonido proporciona numerosas ventajas, incluyendo su facilidad de uso, mayor eficiencia y reproducibilidad, reducción del uso de solventes y tiempo de procesamiento". Este efecto se atribuye a la cavitación ultrasónica que rompe las paredes celulares, facilitando la liberación de los compuestos.

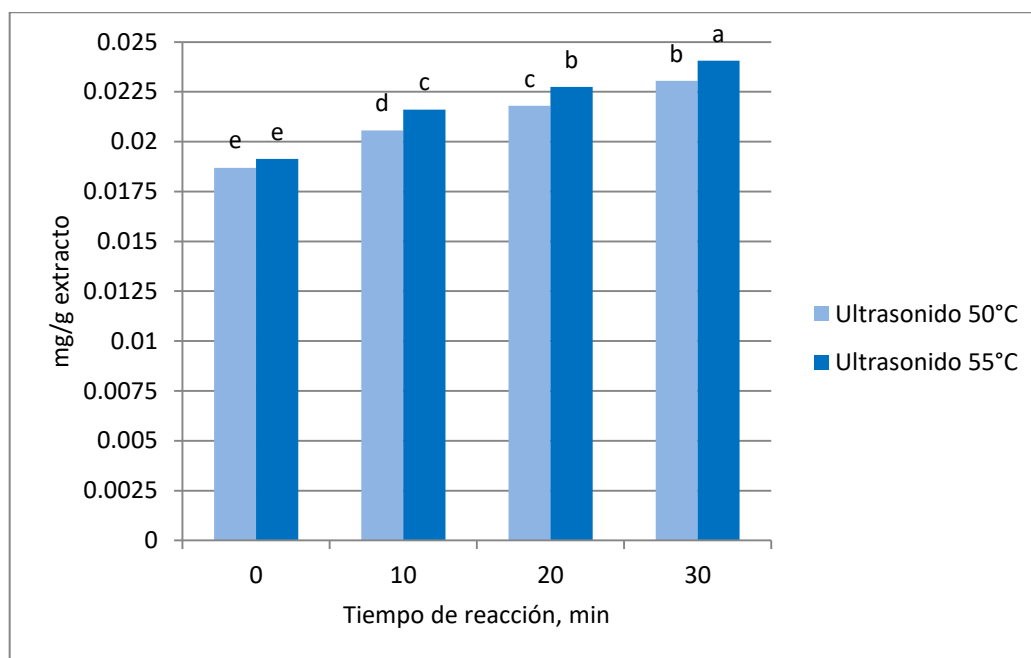


Figura 5. Contenido de clorofila por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.

Extracción enzimática:

El contenido de clorofila extraído aumentó progresivamente con el tiempo en ambas temperaturas. De acuerdo con la figura 6, a la temperatura de 50°C, se observó un incremento constante desde 0.0182 mg/g hasta 0.0358 mg/g a los 80 minutos. A 55°C, la extracción mostró un aumento hasta los 60 minutos, alcanzando un valor de 0.0259 mg/g, para luego descender a 0.0227 mg/g a los 80 minutos. Este comportamiento sugiere que a 55°C, aunque inicialmente acelera la liberación, puede ocurrir una degradación térmica de las clorofilas en tiempos prolongados. Según Fabrowska et al. (2020), "las clorofilas son moléculas termosensibles que pueden degradarse a feofitinas cuando se exponen a temperaturas elevadas durante períodos prolongados".

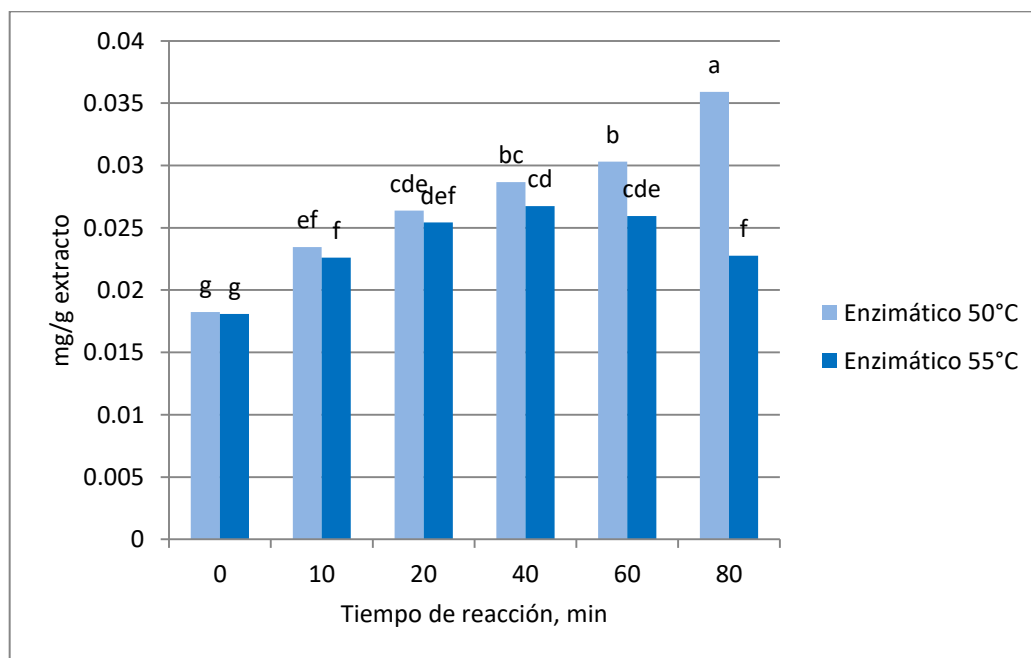


Figura 6. Contenido de clorofila por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.

4.1.2 Polifenoles

Extracción asistida por ultrasonido:

El contenido de polifenoles extraídos por ultrasonido mostró que, a 50°C, aumentó de 49.73 mg GAE/g a 84.31 mg GAE/g a los 30 minutos (Fig. 7). A 55°C, se alcanzó un valor máximo de 86.31 mg GAE/g también a los 30 minutos. Estos valores son

considerablemente superiores a los obtenidos por extracción enzimática, lo que demuestra la alta eficiencia del ultrasonido para la extracción de compuestos fenólicos. Se destaca que la capacidad antioxidante está directamente relacionada con el contenido de polifenoles, lo que sugiere que los extractos obtenidos por ultrasonido presentarían una mayor actividad biológica (Jia, et al., 2024).

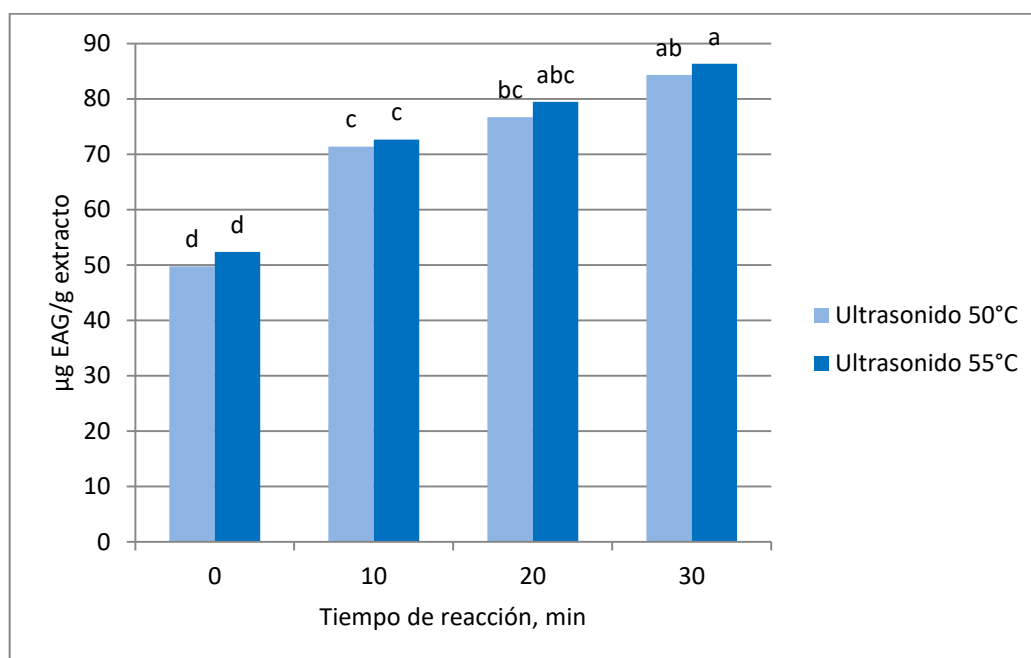


Figura 7. Contenido de polifenoles por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.

Extracción enzimática:

Los polifenoles presentaron el incremento más pronunciado con el tiempo de extracción. En la figura 8 se puede observar que a 50°C, el contenido aumentó de 19.06 mg GAE/g a 34.75 mg GAE/g a los 80 minutos. A 55°C, se observó un aumento constante desde 18.75 mg GAE/g hasta 28.46 mg GAE/g a los 80 minutos, aunque con un valor ligeramente inferior al obtenido a 50°C. Este patrón sugiere que la temperatura de 50°C es más adecuada para la extracción enzimática de polifenoles, posiblemente por una mayor estabilidad de la enzima y los compuestos a esta temperatura. Silva et al. (2025) destaca que "la extracción asistida por enzimas emplea enzimas hidrolíticas para degradar de manera selectiva los componentes estructurales de la pared celular vegetal",

lo que explica la mayor liberación de compuestos fenólicos al romperse las estructuras pécticas que los retienen.

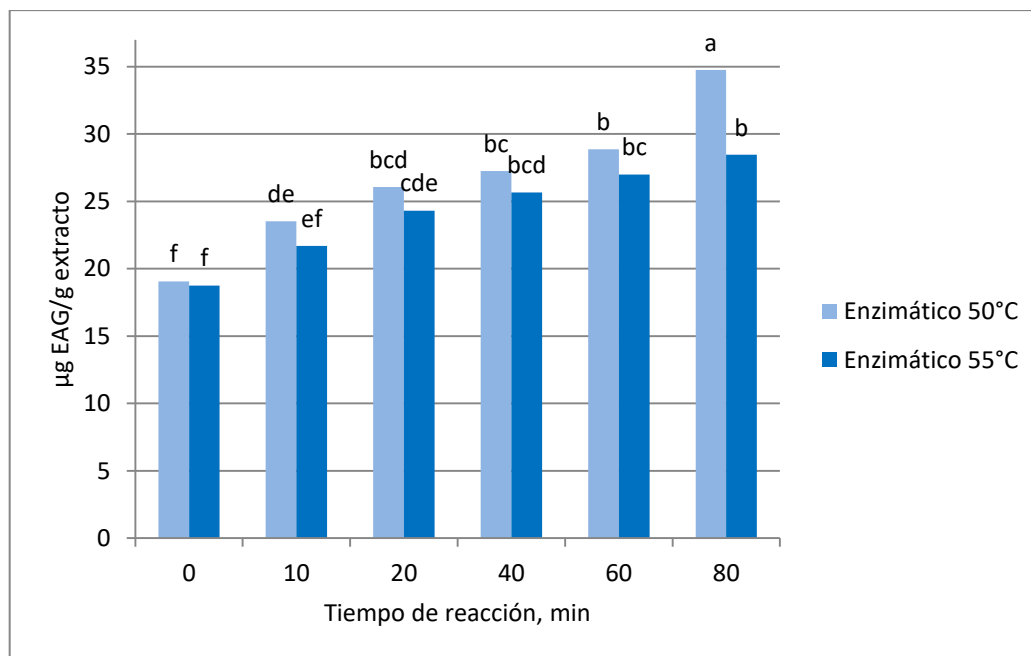


Figura 8. Contenido de polifenoles por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.

4.1.2 Flavonoides

Extracción asistida por ultrasonido:

Se observó que, a 50°C, los valores aumentaron de 0.0518 mg/g en tiempo cero a 0.0883 mg/g a los 30 minutos. A 55°C, el incremento fue aún más pronunciado, alcanzando 0.09878 mg/g a los 30 minutos. Este comportamiento evidencia que la combinación de ultrasonido y temperatura moderada (55°C) potencia significativamente la liberación de flavonoides desde la matriz vegetal. Borecka y Karaś et al. (2025) reportaron en una revisión exhaustiva que el fruto entero de pepino contiene una concentración total de flavonoides (rutina, quercetina, apigenina y kaempferol) de 62.63 mg/kg. Comparado con este valor, la extracción de nuestro experimento (98.78 mg/kg) representa una concentración superior. Considerando que la cáscara representa solo una fracción menor del peso total del fruto (aproximadamente un 5-10%), este valor tan elevado en una biomasa tan reducida demuestra que la cáscara actúa como un órgano de acumulación de

flavonoides, alcanzando una concentración muy superior a la reportada para la pulpa. Esto justifica su aprovechamiento como subproducto de alto valor.

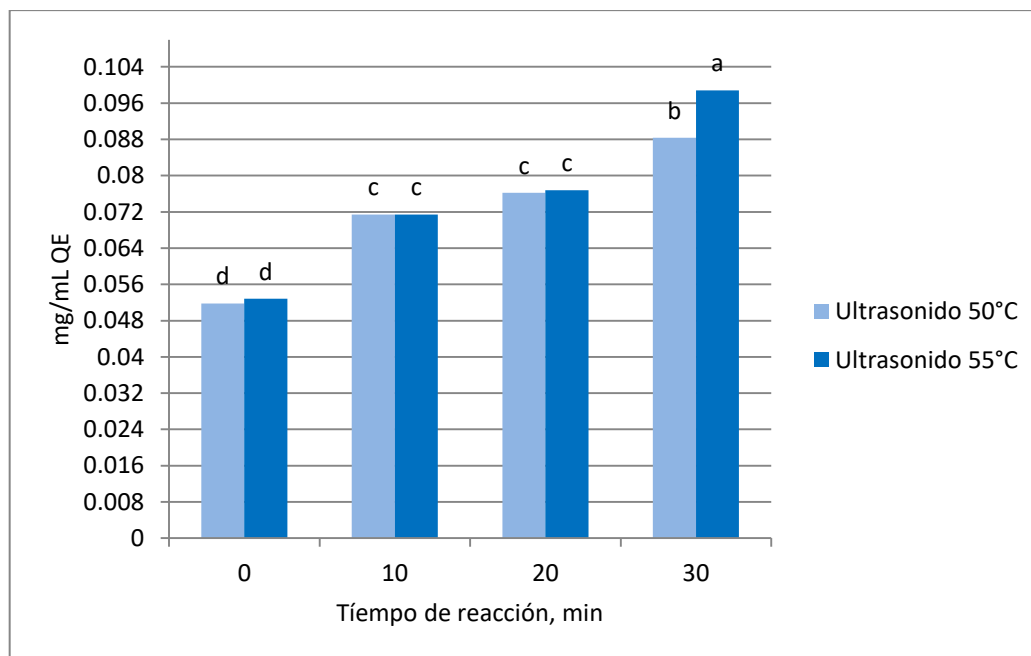


Figura 9. Contenido de flavonoides por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.

Extracción enzimática:

La extracción de flavonoides mostró un comportamiento similar en ambas temperaturas. A 50°C, el contenido aumentó de 0.0125 mg/g en tiempo cero a un máximo de 0.0477 mg/g a los 60 minutos. A 55°C, se observó un incremento gradual hasta 0.0379 mg/g a los 60 minutos, con una ligera disminución a los 80 minutos (0.0362 mg/g) (Fig. 10). Este comportamiento coincide con lo reportado por Priyanka et al. (2025), quienes encontraron que "la pectinasa (50 °C) produjo el mayor contenido de antocianinas (127.79 mg/100 g)" en extractos de cáliz de rosa Jamaica, demostrando la efectividad de esta enzima a temperaturas moderadas.

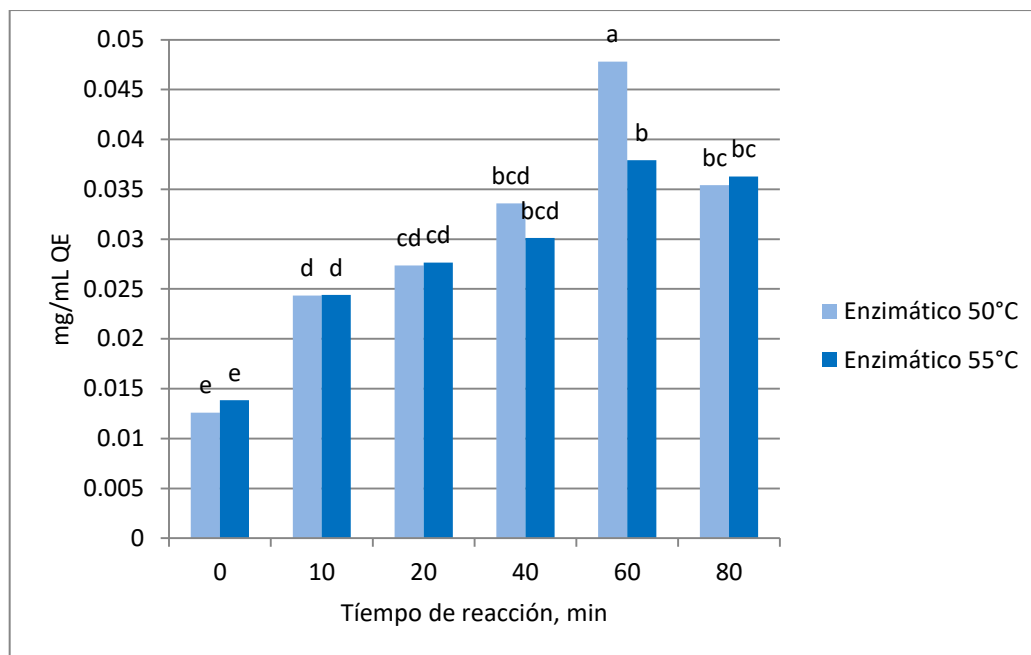


Figura 10. Contenido de flavonoides por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.

4.1.4 DPPH

Extracción asistida por ultrasonido:

En la figura 11 se presenta el comportamiento de la actividad antioxidante DPPH durante la extracción asistida por ultrasonido a 50°C y 55°C. A 50°C, los valores de capacidad antioxidante aumentaron desde 5.10 ET mM/g en tiempo cero hasta un máximo de 7.54 ET mM/g a los 30 minutos. A 55°C, se observó un comportamiento diferente: los valores aumentaron rápidamente desde 5.79 ET mM/g hasta alcanzar 9.04 ET mM/g a los 20 minutos, para luego descender ligeramente a 8.04 ET mM/g a los 30 minutos.

Este comportamiento indica que la combinación de ultrasonido y temperatura moderada (55°C) permite una liberación rápida de compuestos antioxidantes en los primeros 20 minutos, alcanzando su punto máximo a este tiempo. Sin embargo, tiempos prolongados (30 minutos) podrían causar una ligera degradación de algunos compuestos termosensibles.

Özdemir et al. (2022) señalan que la extracción asistida por ultrasonido proporciona "mejor protección de la bioactividad de los compuestos termosensibles", aunque nuestros resultados sugieren que existe un tiempo óptimo (20 minutos a 55°C) más allá del cual la actividad antioxidante puede comenzar a disminuir.

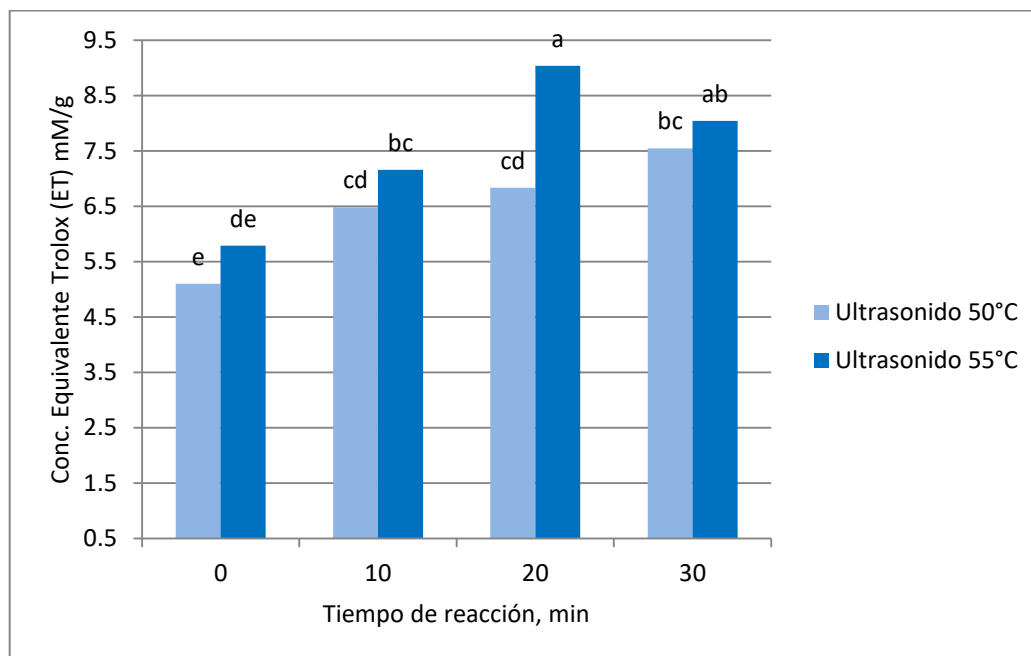


Figura 11. Actividad antioxidante DPPH por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.

Extracción enzimática:

En la figura 12, 50°C, se observó un ligero incremento desde el tiempo 0 (5.133 ET mM/g) hasta alcanzar un valor máximo a los 10 minutos (5.136 ET mM/g), seguido de una disminución gradual hasta los 80 minutos (5.129 ET mM/g).

A 55°C, el comportamiento fue diferente. Se observó un valor máximo a los 20 minutos (5.134 ET mM/g), seguido de una disminución progresiva hasta alcanzar el valor más bajo a los 80 minutos (5.126 ET mM/g). La diferencia entre el valor máximo (20 min) y el mínimo (80 min) fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$), lo que confirma que el tiempo de extracción influye en la actividad antioxidante de los extractos obtenidos por este método. Esto sugiere que la temperatura de 50°C es más adecuada para preservar la actividad de la enzima pectinasa o la integridad de los compuestos antioxidantes

liberados. Además, Fabrowska et al. (2020) señala que "las clorofilas son moléculas termosensibles que pueden degradarse a feofitinas cuando se exponen a temperaturas elevadas durante períodos prolongados", lo que podría explicar la disminución de actividad antioxidante a 55°C en tiempos prolongados.

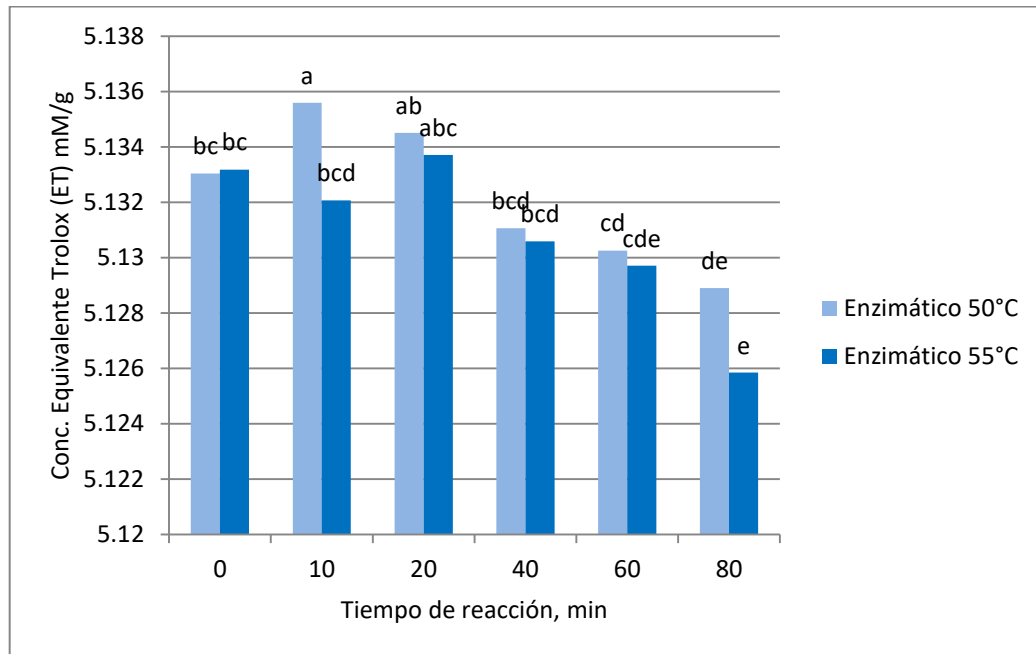


Figura 12. Actividad antioxidante DPPH por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.

4.1.5 ABTS

Extracción asistida por ultrasonido:

En la figura 13 se presenta la actividad antioxidante ABTS durante la extracción asistida por ultrasonido. A 50°C, los valores de capacidad antioxidante se mantuvieron relativamente constantes durante los 30 minutos de extracción, con valores que oscilaron entre 0.50 y 0.52 ET $\mu\text{M/g}$. A 55°C, se observó un comportamiento más interesante: los valores aumentaron desde 0.50 ET $\mu\text{M/g}$ en tiempo cero hasta alcanzar un máximo de 0.54 ET $\mu\text{M/g}$ a los 10 minutos, para luego descender progresivamente hasta 0.50 ET $\mu\text{M/g}$ a los 20 minutos y 0.50 ET $\mu\text{M/g}$ a los 30 minutos.

Este comportamiento sugiere que la actividad antioxidante medida por ABTS alcanza su punto máximo en tiempos muy cortos (10 minutos) a 55°C, lo que indica que los

compuestos responsables de esta actividad son liberados rápidamente por la acción del ultrasonido. La posterior disminución podría deberse a la degradación o transformación de estos compuestos con el tiempo.

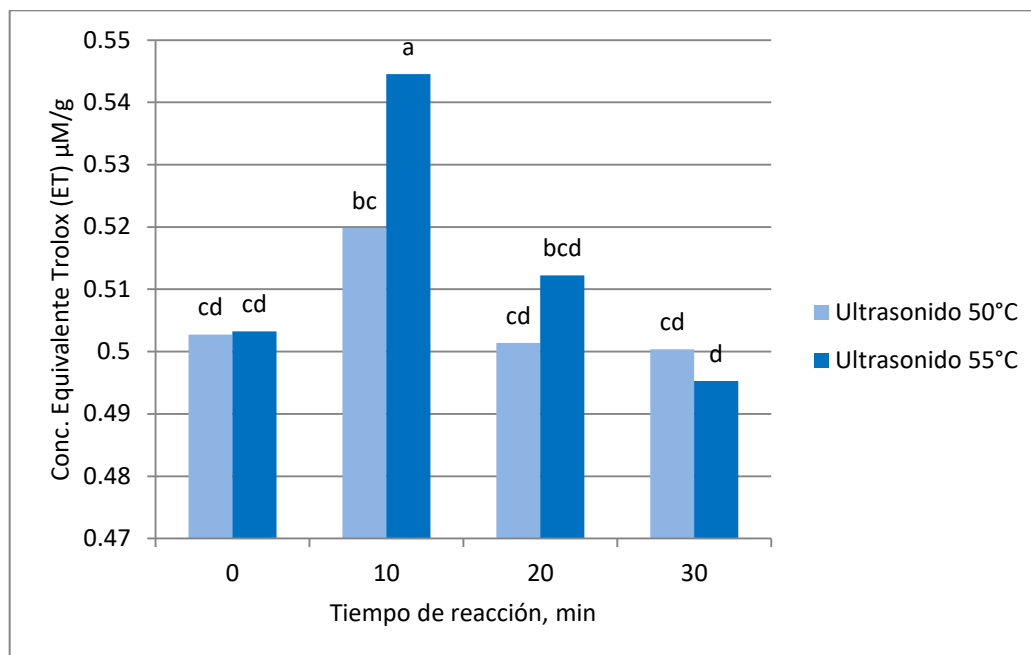


Figura 13. Actividad antioxidante ABTS por medio de extracción asistida por ultrasonido a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 30 minutos.

Extracción enzimática:

En la figura 14 se muestra la actividad antioxidante ABTS durante la extracción enzimática. A 50°C, los valores aumentaron desde 0.41 ET µM/g en tiempo cero hasta alcanzar un máximo de 0.48 ET µM/g a los 20 minutos, para luego descender progresivamente hasta 0.33 ET µM/g a los 80 minutos. A 55°C, se observó un comportamiento similar, con un valor máximo de 0.42 ET µM/g a los 20 minutos, seguido de una disminución hasta 0.29 ET µM/g a los 80 minutos.

Esto sugiere que la pectinasa logró liberar compuestos con capacidad de reaccionar con el radical ABTS, alcanzando un máximo a los 20 minutos, para luego disminuir posiblemente por degradación de los compuestos liberados.

Jia et al. (2024) señalan que "una de las ventajas más significativas del método ABTS es su versatilidad, ya que permite evaluar la capacidad antioxidante de compuestos de diversa polaridad", incluyendo tanto compuestos hidrofílicos como lipofílicos.

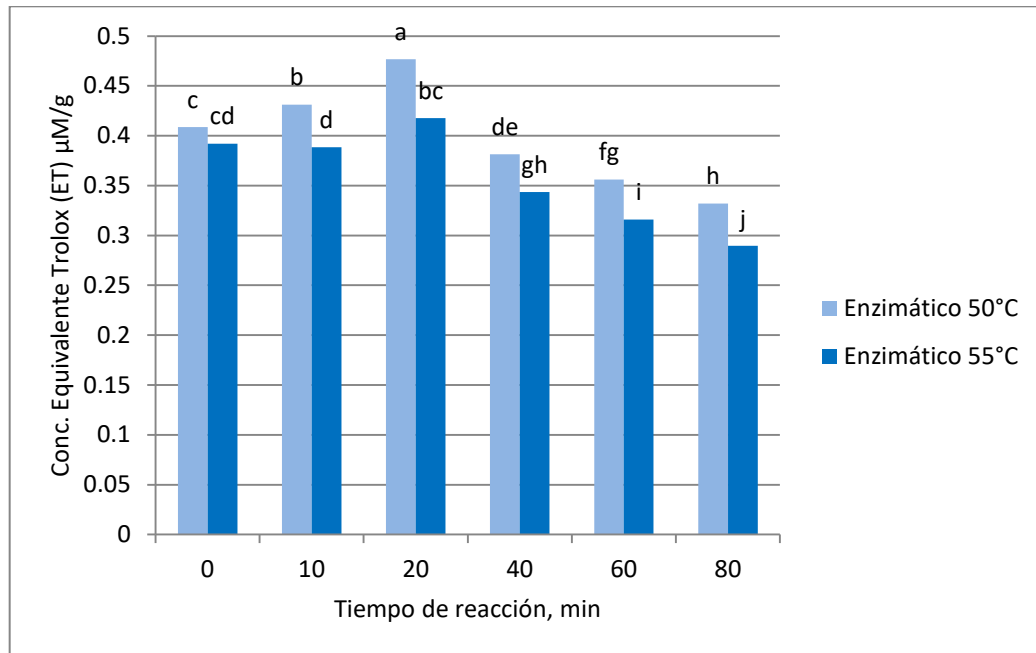


Figura 14. Actividad antioxidante ABTS por medio de extracción enzimática a temperatura de 50°C y 55°C a tiempos de 0 a 80 minutos.

5. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye lo siguiente:

El método de extracción asistida por ultrasonido demostró ser más eficiente que el método enzimático en términos de tiempo de extracción y cantidad de compuestos bioactivos extraídos (polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante). Esto se evidenció en valores superiores de clorofila (0.0240 mg/g), polifenoles (86.31 mg GAE/g), flavonoides (0.0987 mg/g) y actividad antioxidante DPPH (9.04 ET mM/g) y ABTS (54.45 μ M/g), alcanzados en menor tiempo.

Por lo tanto, se acepta la Hipótesis 1 (H_1) planteada al inicio: "La extracción por método de ultrasonido será más eficiente en términos de tiempo de extracción y cantidad de componentes extraídos".

Respecto a la Hipótesis 2 (H_2), si bien el método enzimático permitió una liberación gradual y selectiva de compuestos, alcanzando buenos rendimientos en clorofila (0.0358 mg/g a 80 min) y flavonoides (0.0477 mg/g a 60 min), su eficiencia fue menor en comparación con el ultrasonido tanto en tiempo como en concentración máxima de la mayoría de los compuestos evaluados. Por ello, la H_2 se rechaza bajo las condiciones experimentales establecidas.

Sobre el efecto de la temperatura y el tiempo, para el ultrasonido, la temperatura de 55°C favoreció una extracción más rápida y con mayores rendimientos en la mayoría de los compuestos, aunque tiempos prolongados pueden provocar una ligera degradación de compuestos termosensibles, como se observó en la capacidad antioxidante DPPH y ABTS. Para el método enzimático, la temperatura de 50°C resultó más adecuada que 55°C, ya que permitió una mayor estabilidad de la enzima pectinasa y de los compuestos extraídos, especialmente en tiempos prolongados (60-80 min). La temperatura de 55°C mostró una disminución en la extracción de clorofila y capacidad antioxidante a tiempos superiores a 60 minutos, probablemente por degradación térmica.

Sobre la cuantificación de compuestos bioactivos, la cáscara de pepino (*Cucumis sativus*) es una fuente valiosa de clorofila, polifenoles, flavonoides y compuestos con

capacidad antioxidante, lo que justifica su aprovechamiento como residuo agroindustrial de alto valor. Los valores de flavonoides obtenidos por ultrasonido (98.78 mg/kg) superan los reportados en fruto entero de pepino (62.63 mg/kg), demostrando que la cáscara actúa como un órgano de acumulación de estos compuestos.

Recomendaciones finales:

- Para aplicaciones que requieran alta concentración de compuestos bioactivos en poco tiempo, se recomienda el método de ultrasonido a 55°C durante 20-30 minutos.
- Para aplicaciones que requieran mayor selectividad y condiciones más suaves (preservación de compuestos sensibles), el método enzimático a 50°C durante 60 minutos es una alternativa viable.
- Se recomienda continuar con estudios de aplicación de estos extractos en biopelículas y materiales biodegradables, así como evaluar la estabilidad de los compuestos extraídos a lo largo del tiempo.

6. REFERENCIAS

- Aguirre-Cobeña, L., Salguero-Ramos, D., Bonilla-Bonilla, A., & Salazar-López, R. (2024). Evaluación del desempeño del cultivo de pepino (*Cucumis sativus*) frente a tres fertilizantes foliares en la parroquia Nuevo Paraíso, Orellana, Ecuador. Revista Bionatura, 9 (1), 11. <https://revistabionatura.org/wp-content/uploads/2024/03/2024.09.01.11.pdf>
- Bhardwaj, M. (2025). A review on exploring the health benefits and antioxidant properties of bioactive polyphenols. Discover Food, 5, 367. <https://doi.org/10.1007/s44187-025-00637-7>
- Borecka, M., & Karaś, M. (2025). A Comprehensive Review of the Nutritional and Health-Promoting Properties of Edible Parts of Selected Cucurbitaceae Plants. Foods, 14 (7), 1200. <https://doi.org/10.3390/foods14071200>
- Caballero, E., & Soto, C. (2019). Valorization of Agro-Industrial Waste into Bioactive Compounds: Techno-Economic. Biorefinery: Integrated Sustainable Processes for Biomass Conversion to Biomaterials, Biofuels, and Fertilizers, 235. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=_p2SDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA235&ots=2SSIy3HeXB&sig=6x6MxxxMvkNA4sewh3yDBRweEfA#v=onepage&q&f=false
- Cañizares, C., Chasi, A. (2024). Efecto de la aplicación de extractos vegetales en la producción de plántulas de cucurbitáceas (*Cucumis sativus* L. y *Cucumis melo* L.). Universidad Técnica de Cotopaxi. Proyecto de investigación. <https://repositorio.utc.edu.ec/server/api/core/bitstreams/15ae5ec5-5914-4486-b2c1-9958bae38323/content>
- Duarte, M., et al. (2025). The biological potential and health-benefits of flavonoids: A review and development opportunities. Chemico-Biological Interactions, 421, 111755. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2025.111755>
- Espinosa-Trujillo, Edgar. Bioquímica y Genética de las Antocianinas del Grano de Maíz. 2012. INIFAP. MEXICO, 2012. ISBN: 978-607-425-859-2.
- Fabrowska, J., Messyas, B., Szyling, J., Walkowiak, J., & Łęska, B. (2020). Isolation of chlorophylls and carotenoids from freshwater algae using different

extraction methods. *Phycological Research*, 66 (1), 52–57.
<https://doi.org/10.1111/pre.12191>

- Husaini, M., Lawan, I., Hamza, M., & Mu'azu, J. B. (2025). Traditional and Advanced Extraction Methods of Bioactive Compounds: A Review. *Journal of Applied and Fundamental Sciences*, 6 (3).
<https://doi.org/10.48393/IMIST.PRSM/jases-v6i3.62299>
- Infoagro (2019). Consulta: 24 de octubre 2025.
<https://infoagro.com/hortalizas/pepino.htm>
- Jia, X., Aziz, Z., Bi, Y., He, C., Tang, M., & Dong, K. (2024). Influence factors analysis of two methods for evaluating antioxidant activity in vitro: DPPH and ABTS assays. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 866-872.
<https://doi.org/10.3969/j.issn.2097-2806.2024.07.015>
- Lis-Vanegas, L, Velasco Santamaría, Y. (2022). Producción de compuestos con aplicación biotecnológica en la microalga *Chlorella vulgaris* expuesta a diferentes longitudes de onda. Universidad de los Llanos.
<https://repositorio.unillanos.edu.co/handle/001/4824>
- MacArthur, E. (2015). Towards a circular economy: Business rationale for an accelerated transition. <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/>
- Ojeda, G. A. (2024). Integrated Approach for the Optimization of the Sustainable Extraction of Polyphenols from a South American Abundant Edible Plant: *Neltuma ruscifolia*. *Foods*, 14 (17), 2927. <https://doi.org/10.3390/foods14172927>
- Özdemir, M., Ak, İ., Coşkun, S., & Ünverdi, N. (2022). Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from plants. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (35), 1-12. Recuperado de: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida>
- Pérez-Jiménez J. (2019). Polifenoles de la dieta y enfermedades cardiometabólicas. *ANALES RANM* [Internet]. Real Academia Nacional de Medicina de España; An RANM número 136 (03):298-307.
<https://doi.org/10.32440/ar.2019.136.03.rev11>
- Priyanka, A., Nila Shireen, B., Ganga Kishore, S., Paramadhas, S., Rahul, R., Dwivedi, M., Pandiarajan, T., Divyabharathi, R., & Chanu, N. S. (2025). Enzyme-assisted extraction and characterization of red roselle calyx (*Hibiscus*

sabdariffa L.) bioactives and their application in ice cream matrices. Sustainable Food Technology, Advance Article. <https://doi.org/10.1039/D5FB00789E>

- Qu, S. (2025). Nature's sophisticated architecture: a strategic approach for protein-polysaccharide complexes to address the "shelf-life vs. bioavailability" dilemma of polyphenols in food applications. *Frontiers in Nutrition*, 12, 1733545. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1733545>
- Rațu, R. N., Veleșcu, I. D., Stoica, F., Usturoi, A., Arsenoaia, V. N., Crivei, I. C., ... & Brumă, I. S. (2023). Application of agri-food by-products in the food industry. *Agriculture*, 13(8), 1559. <https://www.mdpi.com/2077-0472/13/8/1559>
- Rodríguez, M. A. (2020). Determinación del contenido de polifenoles, actividad antioxidante y composición proximal de la cáscara de pepino. *Revista Red de Investigación Científica*, 1 (1), 24-31. Recuperado de <https://www.redcien.com/index.php/redcien/article/view/56>
- Silva, A. R., Duarte, A. R. C., & Mano, J. F. (2025). Brown Seaweed Polysaccharide Extraction: Enzyme-Assisted Techniques and Magnetic Nanoparticle-Based Immobilization. *The Open Biotechnology Journal*, 19, e18740707416530. <https://doi.org/10.2174/0118740707416530251009072926>
- Smallops (2022). Consulta: 12 de noviembre 2025. <https://smallops.eu/solucion-polifenoles-en-la-digestion-anaerobia/>
- Sun, S., Yu, Y., Jo, Y., Han, J. H., Xue, Y., Cho, M., ... & Zhuang, S. (2025). Impact of extraction techniques on phytochemical composition and bioactivity of natural product mixtures. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1615338. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1615338>
- Tai, Z. (2025). Research Progress of the Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation and Physiological Functions in Plant Polyphenols. *Science and Technology of Food Industry*, 46 (15), 425-434. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024080304>
- Ulbricht, C., Bramwell, R., Catapang, M., Giese, N., Isaac, R., Le, T. D., ... & Zeolla, M. M. (2014). An evidence-based systematic review of chlorophyll by the Natural Standard Research Collaboration. *Journal of Dietary Supplements*, 11(2), 198-239.

- Uthpala, T. G., Marapana, R. A. U., Lakmini, K. P., & Wettimuny, D. C. (2020). Nutritional bioactive compounds and health benefits of fresh and processed cucumber (Cucumis sativus L.). <http://dr.lib.sjp.ac.lk/bitstream/handle/123456789/12306/Nutritional%20Bioactive%20Compounds%20and%20Health%20Benefits%20of%20Fresh%20and.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vallejo, William & Diaz, Carlos & Alvis, Maria & Cantillo Guzman, Alvaro & Fajardo, Catalina. (2018). Degradación de azul de metileno bajo irradiación visible sobre electrodos de TiO₂ sensibilizados con pigmentos de clorofila. <https://doi.org/10.15665/rp.v16i2.1455>
- Varela, C., Melim, C., Neves, B. G., Sharifi-Rad, J., Calina, D., Mamurova, A., & Cabral, C. (2022). Cucurbitacins as potential anticancer agents: new insights on molecular mechanisms. *Journal of translational medicine*, 20 (1), 630. <https://link.springer.com/article/10.1186/s12967-022-03828-3>
- Vuković, G., et al. (2025). Ultrasound-Assisted Microextraction for Food Chemical Contaminant Analysis: A Review. *Processes*, 13(11), 3677. <https://doi.org/10.3390/pr13113677>
- Wang, Y., et al. (2025). Biosynthesis and Regulatory Mechanisms of Plant Flavonoids: A Review. *Plants*, 14 (12), 1847. <https://doi.org/10.3390/plants14121847>
- Wołosiak, R., Drużyńska, B., Derewiaka, D., Piecyk, M., Majewska, E., Ciecierska, M., Worobiej, E., & Pakosz, P. (2022). Verification of the Conditions for Determination of Antioxidant Activity by ABTS and DPPH Assays—A Practical Approach. *Molecules*, 27 (1), 50. <https://doi.org/10.3390/molecules27010050>
- Zhang, H. (2025). Plant polyphenols delay aging: A review of their anti-aging mechanisms and bioavailability. *Food Research International*, 218, 116900. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116900>