

Extracción, identificación y cuantificación de capsorrubina presente en el fruto de la especie
vegetal *Carludovica palmata*

Camilo Andrés Camargo Jaimes

Director

Dr. William Fernando Hidalgo Bucheli

Codirector

Dr. Herminul de Jesús Cano Calle

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2025

Dedicatoria

*A mi nono Carlos Julio Jaimes,
por brindarme la oportunidad de crecer como persona y formarme como profesional.*

*A mi nona María del Socorro,
que ya no está presente, pero hizo parte fundamental día a día en esta formación con su
peculiar forma de dar amor y aprecio.*

*A mis tías Esmeralda y Paula Jaimes,
por ese apoyo constante e incondicional que se extiende más allá de este logro, ya que
siempre han estado presentes.*

Agradecimientos

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mi director William Hidalgo, por su valiosa orientación, constante apoyo y compromiso durante el desarrollo de este trabajo de grado. Su experiencia y dedicación fueron fundamentales para alcanzar los objetivos propuestos. Agradezco también al Laboratorio de Bioquímica y Productos Naturales, por brindarme el espacio, los recursos y el ambiente propicio para llevar a cabo esta investigación

Extiendo mi gratitud a la Escuela de Química y a la Universidad Industrial de Santander, por haberme formado académicamente y proporcionado las herramientas necesarias para crecer como profesional y como persona.

Finalmente, agradezco a mis compañeros del laboratorio, por su colaboración, compañerismo y disposición durante este proceso. Compartir este camino con ustedes enriqueció tanto el aspecto académico como el personal de esta etapa tan importante.

Tabla de Contenido

Introducción.....	13
1. Objetivos.....	16
1.1 Objetivo general	16
1.2 Objetivos específicos	16
2. Marco teórico	17
2.1.1 <i>Carludovica palmata</i>	17
2.1.2 Fitoquímicos	19
2.1.2.1 Terpenos.....	20
2.1.2.2 Carotenoides.....	21
2.1.2.3 Capsorrubina	23
2.1.3 Extracción de compuestos bioactivos	24
2.1.4 Técnicas extractivas	25
2.1.4.1 Extracción asistida por ultrasonido	25
2.1.4.2 Extracción por dispersión de matriz en fase sólida	26
2.1.5 Técnicas analíticas	26
2.1.5.1 Espectrofotometría UV-vis	27
2.1.5.2 Cromatografía líquida de alta eficiencia y ultra eficiencia	27
2.1.5.3 Cromatografía en capa fina.....	29
2.2 Estado del arte	30
3. Metodología.....	36
3.1 Material vegetal	36
3.2 Procedimientos de extracción a partir del fruto de <i>Carludovica palmata</i>	36

3.2.1	Proceso de extracción asistida por ultrasonido (UAE).....	37
3.2.2	Proceso de extracción por dispersión de matriz en fase sólida (MSPD)	38
3.2.3	Saponificación del extracto orgánico	40
3.3	Análisis del extracto por medio de técnicas analíticas	41
3.3.1	Análisis por UV-VIS	41
3.3.2	Análisis por UPLC-TQD-MS	42
3.3.3	Identificación y cuantificación de capsorrubina por HPLC-DAD.....	43
3.3.5	Análisis por cromatografía en capa fina cuantitativa (qTLC)	44
3.3.4	Determinación de figuras analíticas de mérito por HPLC-DAD y q-TLC...	46
4.	Resultados y discusión	49
4.1	Rendimiento de extracción.....	49
4.2	Evaluación de parámetros de extracción para la especie <i>C. palmata</i>	50
4.3	Análisis de capsorrubina por técnicas analíticas	52
4.3.1	Determinación de capsorrubina por UV-Vis.	52
4.3.2	Identificación de capsorrubina por UPLC-TQD-MS	54
4.3.3	Identificación y cuantificación de capsorrubina por HPLC-DAD.....	57
4.3.3.1	Figuras de mérito.....	58
4.3.3.2	Cuantificación relativa de capsorrubina en los extractos	60
4.3.4	Identificación y cuantificación de capsorrubina por q-TLC.....	62
4.3.4.1	Figuras de mérito.....	63
4.3.4.2	Cuantificación de capsorrubina por q-TLC	64
5.	Conclusiones.....	67
	Referencias bibliográficas	68

Apéndices80

Lista de tablas

Tabla 1 Información taxonómica de la especie vegetal <i>C. palmata</i> Ruiz & Pav	19
Tabla 2 Diseño experimental completamente aleatorizado para la extraacción por ultrasonido de la especie vegetal <i>C. palmata</i>	38
Tabla 3 Diseño experimental completamente aleatorizado para la extracción por MSPD de la especie vegetal <i>C. palmata</i>	39
Tabla 4 Coeficientes de absorción específico determinados por Murillo <i>et al.</i> (2021) para la luteína y capsorrubina en etanol como solvente	41
Tabla 5 Resultados de los rendimientos de extracción por UAE a partir del fruto de la especie vegetal <i>C. palmata</i>	49
Tabla 6 Resultados de los rendimientos de extracción con acetona por MSPD a partir del fruto de la especie vegetal <i>C. palmata</i>	50
Tabla 7 Mejores condiciones encontradas para la extracción por UAE y MSPD para la especie vegetal <i>C. palmata</i>	52
Tabla 8 Cuantificación de capsorrubina por UV-vis.....	53
Tabla 9 Análisis del estándar primario “capsorrubina” realizado por UPLC-TQD-MS/MS	54
Tabla 10 Repetibilidad y reproducibilidad en áreas cromatográficas del extracto por HPLC-DAD	59
Tabla 11 Linealidad y sensibilidad determinados por HPLC-DAD para la sustancia patrón	60
Tabla 12 Cuantificación de capsorrubina por HPLC-DAD y estándar externo a partir del extracto obtenido por UAE y MSPD	61
Tabla 13 Linealidad y sensibilidad determinads por q-TLC para la sustancia patrón	64

Tabla 14 Cuantificación de capsorrubina como equivalentes de beta-caroteno por q-TLC y estándar externo a partir del extracto obtenido por UAE y MSPD	65
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------

Lista de figuras

Figura 1 Planta <i>Carludovica palmata</i>	17
Figura 2 Rutas de la biosíntesis de los carotenoides.....	22
Figura 3 Estructura molecular de la capsorrubina	24
Figura 4 Número de publicaciones por año sobre la capsorrubina. Periodo de observación: 1995-2023.....	30
Figura 5 Áreas de investigación relacionadas con el estudio de la capsorrubina. Periodo de observación: 1995-2023	31
Figura 6 Fruto de la especie <i>C. palmata</i> antes y después de macerar	36
Figura 7 Obtención de extractos orgánicos por medio de extracción asistida por ultrasonido	37
Figura 8 Obtención de extractos orgánicos por medio de extracción MSPD	40
Figura 9 Proceso de saponificación y lavado de los extractos hasta neutralidad, separación de fases.....	40
Figura 10 Cámara de iluminación para toma de imágenes para el análisis por q-TLC	46
Figura 11 Cromatograma de masas SIR por UPLC-TQD-MS del patrón de capsorrubina.....	55
Figura 12 Cromatograma de masas SIR por UPLC-TQD-MS del extracto obtenido de <i>C. palmata</i>	56
Figura 13 Mecanismo de fragmentación de la capsorrubina.....	57
Figura 14 Comparación de los cromatogramas por HPLC-DAD del extracto (en verde) y patrón de referencia (capsorrubina, en morado) a 450 nm.....	58
Figura 15 Placa de TLC extracto orgánico (E) vs patrón de capsorrubina (P).....	62

Lista de Apéndices

Apéndice A. Análisis estadístico prueba tipo de solvente para extracción por ultrasonido	80
Apéndice B. Análisis estadístico prueba cantidad de solvente para extracción por ultrasonido ..	86
Apéndice C. Análisis estadístico prueba tiempo de extracción por ultrasonido.....	92
Apéndice D. Análisis estadístico prueba cantidad de solvente por extracción MSPD	98
Apéndice E. Análisis estadístico prueba relación soporte sólido-materia vegetal por extracción MSPD	102
Apéndice F. Curva de calibración a partir de β -caroteno para cuantificación por HPLC.....	108
Apéndice G. Curva de calibración a partir de β -caroteno para cuantificación por q-TLC	111

Resumen

Título: Extracción, identificación y cuantificación de capsorrubina presente en el fruto de la especie vegetal *Carludovica palmata*. *

Autor: Camilo Andrés Camargo Jaimes. **

Palabras clave: Capsorrubina, carotenoides, *C. palmata*, extractos, dispersión de matriz en fase sólida, cromatografía en capa fina, análisis de imagen.

Descripción: Los productos naturales han sido utilizados desde la antigüedad debido a sus propiedades medicinales y terapéuticas. De hecho, los metabolitos secundarios presentes en las plantas han demostrado poseer actividades biológicas importantes, como efectos antimicrobianos, antiinflamatorios, antioxidantes y anticancerígenos. Uno de estos metabolitos de interés es la capsorrubina, un carotenoide de alto potencial bioactivo, que ha sido aislado de frutos y flores de diferentes especies vegetales. En este trabajo de investigación se evaluaron dos métodos de extracción como extracción asistida por ultrasonido (UAE) y dispersión de matriz en fase sólida (MSPD), para extraer, identificar y cuantificar la capsorrubina presente en las infrutescencias de *Carludovica palmata*, comúnmente conocida como palma de iraca, especie vegetal tradicionalmente usada en Colombia para la elaboración de artesanías.

La identificación y cuantificación de la capsorrubina se realizó mediante el análisis por espectrofotometría UV-Vis, HPLC-DAD, UPLC-MS/MS y cromatografía cuantitativa en capa fina (*q*-TLC). Se lograron cuantificar la concentración de carotenoides totales rojos por UV-Vis ($286,34 \pm 2,80 \mu\text{g/g}$ en los extractos orgánicos por UAE y $381,74 \pm 16,64 \mu\text{g/g}$ para MSPD). Se cuantificó capsorrubina por HPLC-DAD ($40,17 \pm 0,71 \mu\text{g/g}$ en los extractos orgánicos por UAE y $144,57 \pm 0,32 \mu\text{g/g}$ para MSPD). Asimismo, por *q*-TLC se encontró $98,79 \pm 10,54 \mu\text{g/g}$ por UAE y $357,89 \pm 63,14 \mu\text{g}$ equivalentes de beta-caroteno por gramo de material fresco para los extractos orgánicos por MSPD. Los resultados mostraron que la capsorrubina era el componente más abundante en los extractos obtenidos, además, se determinó que la extracción MSPD permitió extraer mayor cantidad del analito de interés comparado con el método por UAE. Finalmente, la infrutescencia de la palma de iraca es una fuente promisoría de carotenoides con actividad bilógica (como la capsorrubina), otorgando un valor agregado a aquello que actualmente es un residuo orgánico.

*Trabajo de Grado

**Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: William Fernando Hidalgo Bucheli, Químico, PhD.

Abstract

Title: Extracción, identificación y cuantificación de capsorubina presente en el fruto de la especie vegetal *Carludovica palmata*. *

Author: Camilo Andrés Camargo Jaimes. **

Key Words: Capsorubin, carotenoid, *C. palmata*, MSPD, Thin-Layer Chromatography, image analysis.

Description: Natural products have been used since ancient times due to their medicinal and therapeutic properties. Indeed, the secondary metabolites present in plants have demonstrated significant biological activities, such as antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer effects. One of these metabolites of interest is capsorubin, a carotenoid with high bioactive potential, which has been isolated from the fruits and flowers of various plant species. In this research, two extraction methods—ultrasound-assisted extraction (UAE) and matrix solid-phase dispersion (MSPD)—were evaluated to extract, identify, and quantify capsorubin present in the infructescences of *Carludovica palmata*, commonly known as iraca palm, a plant species traditionally used in Colombia for handicraft production.

The identification and quantification of capsorubin were carried out using UV-Vis spectrophotometry, HPLC-DAD, UPLC-MS/MS, and quantitative thin-layer chromatography (q-TLC). The total red carotenoid concentration was quantified by UV-Vis spectrophotometry, yielding 286.34 ± 2.80 $\mu\text{g/g}$ in UAE organic extracts and $381,74 \pm 16,64$ $\mu\text{g/g}$ in those obtained via MSPD. Capsorubin was quantified by HPLC-DAD, with concentrations of $40,17 \pm 0,71$ $\mu\text{g/g}$ for UAE and $144,57 \pm 0,32$ $\mu\text{g/g}$ for MSPD extracts. Similarly, q-TLC analysis showed capsorubin concentrations of 110.56 ± 11.79 $\mu\text{g/g}$ for UAE and 400.55 ± 70.69 $\mu\text{g/g}$ for MSPD. The results demonstrated that capsorubin was the most abundant component in the obtained extracts. Moreover, the MSPD extraction method yielded a higher amount of the target analyte compared to the UAE method. Ultimately, the infructescence of *Carludovica palmata* represents a promising source of biologically active carotenoids (such as capsorubin), adding value to what is currently considered an organic waste material.

*Project to degree.

**Science Faculty. Chemistry School. Director: William Fernando Hidalgo Bucheli, Chemistry PhD.

Introducción

El interés de la humanidad por los componentes activos se remonta desde la antigüedad, papiros egipcios demostraron que ya se utilizaba el aceite de ricino con fines medicinales, cosméticos y conservantes. Es así, como el conocimiento acerca de los productos naturales ha venido evolucionando. A razón de esto, el Grupo de Investigación en Bioquímica y Microbiología (GIBIM), ubicado en la Universidad Industrial de Santander, ha enfocado la búsqueda de metabolitos secundarios extraídos de plantas que posean una potente actividad biológica, demostrando que estos componentes funcionan como antibacterianos, antiinflamatorios o anti-biopelícula (Caceres *et al.*, 2020).

Los productos naturales son de gran importancia ya que han sido utilizados desde las civilizaciones antiguas para diversas funciones y, en la actualidad, se siguen empleando en diversas ramas de la ciencia, desde medicinas para tratar varios tipos de enfermedades, venenos, agentes para la eutanasia, narcóticos, alucinógenos, estimulantes, perfumes y ambientadores, entre otros usos. Los productos naturales, también conocidos como metabolitos secundarios, son compuestos sintetizados por uno o varios organismos con una estrecha relación entre sí (Claramount V *et al.*, 2013). En el caso de las plantas, los metabolitos secundarios cumplen un papel fundamental en la defensa y la resistencia de estas frente a agentes externos; además, se le atribuyen efectos antimicrobianos, antiinflamatorios, anticancerígenos, anti-biopelícula y anti-quorum sensing (Schmidt & Klaser Cheng, 2017). La capsorrubina es un metabolito biosintetizado por diferentes especies de plantas y ha sido aislado a partir de frutos de *Carludovica palmata*, variedades de pimientos (*Capsicum annuum* L.) y pétalos de lirios (*Lilium trigrinum*), el cual, posee propiedades biológicas generando un interés significativo por las industrias farmacéuticas y alimenticias. Sin embargo, para que la capsorrubina sea una alternativa viable a la hora de buscar soluciones frente

a un problema de salud pública, como la resistencia de las bacterias a los antibióticos o como agente anticancerígeno, primeramente, la extracción es uno de los principales inconvenientes, siendo el primer paso para el aislamiento y purificación de los compuestos bioactivos. Por otro lado, aparte del aporte científico, el uso de la palma de iraca (*Carludovica palmata*) puede contribuir a que la población de campesinos colombianos utilice esta planta como una alternativa de cultivo, utilizando desde sus fibras para la elaboración de artesanías, sus cogollos para alimentos, que hasta el momento es la única utilidad que ha tenido la palma, y ahora, las infrutescencias como fuente de metabolitos de interés, agregándole valor a un subproducto que antes no era utilizado.

No obstante, sigue siendo un reto la extracción debido a la inestabilidad del compuesto y a los procesos de extracción convencionales, que utilizan disolventes tóxicos por tiempos prolongados, desencadenando la degradación de los metabolitos (Galviz-Quezada *et al.*, 2023). Por consiguiente, el propósito de este proyecto de investigación se basa en la evaluación de dos métodos de extracción para determinar la eficiencia en el aislamiento de capasorrubina presente en el fruto de la planta *Carludovica palmata*, más conocida en Colombia como palma de Iraca, estos métodos corresponden a, extracción asistida por ultrasonido (UAE, por sus siglas en inglés *Ultrasound-Assisted Extraction*) y dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD, por sus siglas en inglés *Matrix Solid-Phase Dispersion*), y su posterior análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés *High-Performance Liquid Chromatography*), cromatografía líquida de ultra eficiencia (UPLC, por sus siglas en inglés *Ultra-Performance Liquid Chromatography*) y cromatografía en capa fina cuantitativa (*q*-TLC, por sus siglas en inglés *Thin-Layer Chromatography*); se espera que los resultados del presente proyecto puedan aportar hacia

un rendimiento alto de extracción, de bajo costo y verde, en resumidas cuentas, que facilite la obtención del metabolito

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Evaluar los procesos de extracción UAE y MSPD para el aislamiento de la capsorrubina contenida en la infrutescencia de la especie vegetal *Carludovica palmata*.

1.2 Objetivos específicos

Obtener extractos del fruto de la especie vegetal *Carludovica palmata* por medio de los métodos de extracción a evaluar: extracción asistida por ultrasonido UAE y extracción por dispersión de matriz en fase sólida MSPD.

Identificar y cuantificar la capsorrubina presente en cada extracto obtenido por cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD, por sus siglas en inglés *High-Performance Liquid Chromatography-Diode array detector*) y cromatografía en capa fina/ análisis de imagen.

2. Marco teórico

2.1.1 *Carludovica palmata*

Carludovica palmata, palma de iraca o como es conocida en Santander, nacuma. Es una planta que hace parte de la familia de las Cyclanthaceae (véase **Tabla 1**), siendo la más común de encontrar de tres especies que pertenecen al género *Carludovica* (Bennett *et al.*, 1992). Especie perenne silvestre nativa de la región neotropical del continente americano que abarca un territorio desde México hasta Bolivia. En Colombia, se reproduce bien en todos los climas cálidos, entre 1000 y 1800 m.s.n.m. a temperaturas entre 22°C y 25°C (Conrado Iglesias, 1999).

Su tallo es un rizoma simpodial subterráneo y crece de forma horizontal, de allí, emergen numerosos peciolos que alcanzan más de 2,5 m de longitud y terminan en hojas flabeliformes (en forma de abanico) (véase **Figura 1**) (Tuberquia & Muñoz, 1999). Dichas hojas antes de abrir, llamadas cogollos, son precursoras de una fibra natural de calidad que es utilizada para la elaboración de artesanías, destacando el tejido del “sombbrero jipi-japa” como es conocido en el centro y sur de Nariño, siendo parte importante del sector textil en Colombia, tanto así, que, a mediados del siglo XIX, las exportaciones de sombreros significaban el 24% del valor total de las exportaciones nacionales (Carreño, 1993).

Figura 1

Planta Carludovica palmata



Nota: Foto tomada por el autor Camilo Camargo. Fecha: febrero 25 de 2025. Lugar: UIS, Bucaramanga.

Ya recientemente, artesanías de Colombia reportó que en el 2021 las ventas de artesanías fueron de 23568 millones de pesos, con un total de 13332 beneficiarios atendidos, la mayoría mujeres cabeza de hogar, población víctima y vulnerable (ColombiaArtesanías de Colombia, 2022). De hecho, esta planta presenta un gran potencial económico para muchas familias que residen en el campo, como uso de producto forestal no maderable, como producto industrial, como planta promisorio de uso alimenticio o como una posible fuente de fibras vegetales en biocompuestos (Hoyos Sánchez *et al.*, 2020).

Las infrutescencias de la palma de iraca son un espádice de geometría casi cilíndrica de color verde consideradas como un subproducto sin valor en los cultivos. En su maduración, la fruta de forma alargada crece entre 15 a 25 cm, luego, se abre irregularmente llegando a mostrar colores intensos en su pulpa de color rojo anaranjado, similar a mangos, naranjas, piñas y pimientos. Estos

frutos mencionados, de colores intensos, poseen una fuente importante de metabolitos secundarios y hacen parte de una dieta balanceada (Galviz-Quezada *et al.*, 2023).

De la misma forma, el fruto de la palma de iraca almacena compuestos fenólicos y carotenoides que pueden ser aprovechados, como remplazo de conservantes sintéticos y como antioxidantes, respectivamente. Cabe agregar, que según la investigación de Murrillo *et al.* (2021), los extractos de la infrutescencia de iraca tienen potencial como colorantes alimentarios, aditivos o potenciadores. De manera que los frutos terminan siendo utilizados y otorgándoles un valor agregado.

Tabla 1

Información taxonómica de la especie vegetal C. palmata Ruiz & Pav.

Reino	Plantae
Clase	Liliopsida
Familia	Cyclanthaceae
Género	<i>Carludovica</i>
Especie	<i>Carludovica palmata</i> Ruiz & Pav
Nombre común	Palma de iraca

Nota: Tomado de Catalogo Plantas Colombia UNAL (2025). Elaboración propia

2.1.2 Fitoquímicos

Las plantas vivas biosintetizan una amplia cantidad de sustancias químicas que son de vital importancia para su funcionamiento y desarrollo, más conocidos como fitoquímicos. Estas sustancias producidas por las plantas son separadas en dos clases: metabolitos primarios y metabolitos secundarios. Primeramente, los metabolitos primarios tienen directamente roles en el crecimiento, desarrollo y estructura. Además, son esenciales en procesos como la fotosíntesis,

ciclo de Krebs y en la cadena de transporte de electrones. Entre estas sustancias están: aminoácidos, azúcares y ácidos grasos. Estos compuestos de bajo peso molecular se unen en largas cadenas para formar macromoléculas como lo son las proteínas, carbohidratos y lípidos (Schmidt & Klaser Cheng, 2017).

Los metabolitos secundarios se producen aguas abajo de las rutas metabólicas primarias y son específicos de algunos grupos taxonómicos (familias, géneros). Son constituyentes importantes que se forman bajo condiciones ambientales y juegan un papel crucial en la protección de la planta en contra de enfermedades, contaminación, sequía, exposición a rayos UV, plagas y estrés fisiológico (Tariq *et al.*, 2021). Este grupo incluye compuestos como fenoles, carotenoides, alcaloides, saponinas, glucosinolatos, terpenos, etc, donde cada uno dispone de diferentes actividades biológicas, que en la medicina tradicional y etnofarmacología se ha utilizado durante siglos para curar o proteger de enfermedades (Krzyzanowska *et al.*, 2010).

2.1.2.1 Terpenos

Los isoprenoides, también conocidos como terpenos, hacen parte de los mencionados metabolitos secundarios. Se agrupan en categorías en función de su estructura y vías para su biosíntesis. Los terpenos se derivan del dimetilalilo difosfato (DMAPP) y su isómero isopentil difosfato (IPP). Existen en su unidad más pequeña desde hemiterpero (de 5 carbonos), monoterpeno (C10), sesquiterpeno (C15), diterpeno (C20), triterpenos (C30), Tetraterpenos (C40), hasta los politerpenos, formados por más de 40 carbonos en su estructura (Tetali, 2019).

Los terpenos son compuestos ubicuos en la naturaleza y componentes esenciales de todas las células individuales o multicelulares vivas, incluyendo bacterias, protistas y eucariotas, los cuales, están presentes tanto en el metabolismo primario y secundario en las células (Rodríguez-Concepción, 2014). Sin embargo, la mayoría de los terpenos se encuentran en el reino vegetal,

gracias a su amplio número de enzimas pertenecientes a la clase de terpenoides sintasas (TPS) (Tetali, 2019). Tal como en otros metabolitos secundarios, los terpenos tienen una amplia gama de actividades biológicas, funcionando como alternativa para combatir el cáncer, la malaria, la inflamación y una variedad de enfermedades infecciosas (virales y bacterianas) (Wang *et al.*, 2005).

2.1.2.2 Carotenoides

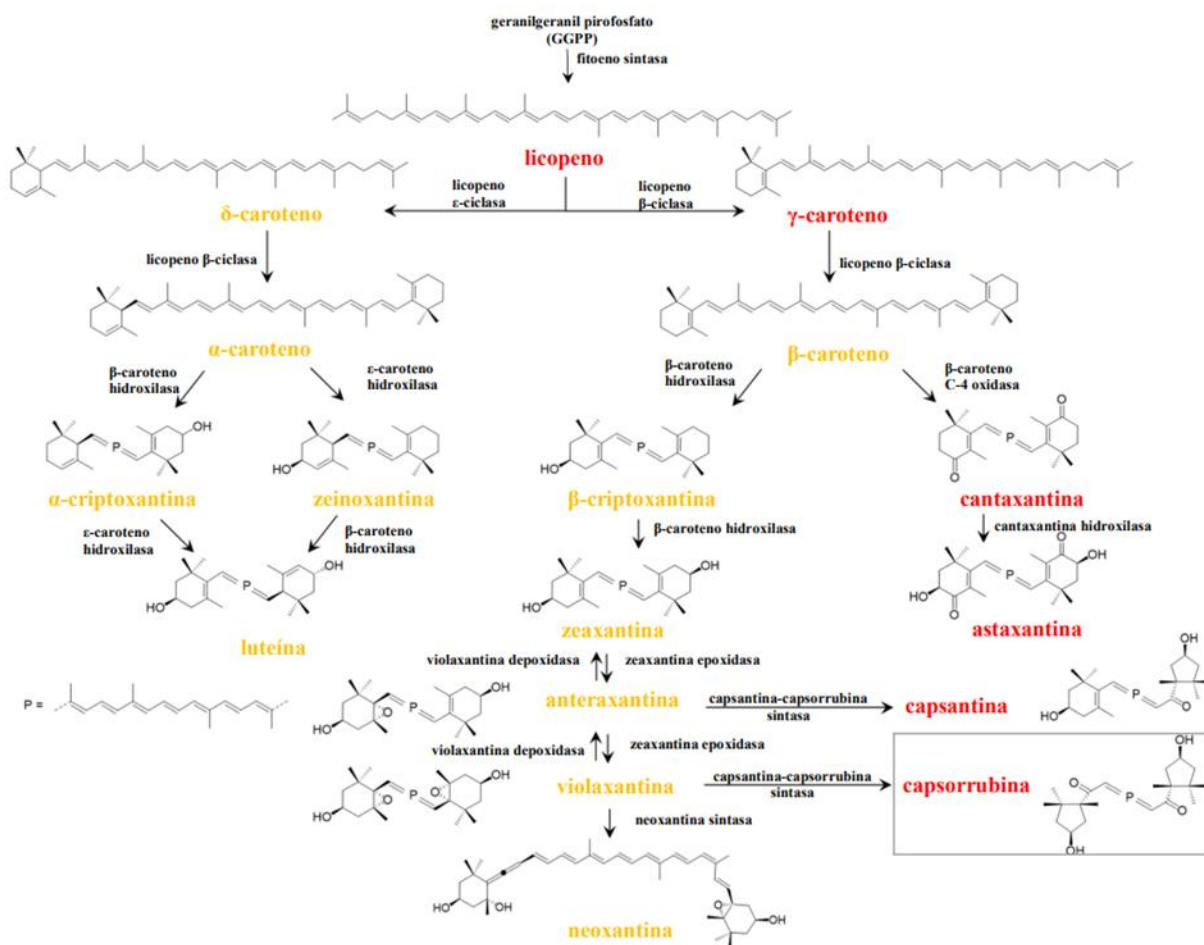
Los carotenoides integra parte de los terpenos, más específicamente de los tetraterpenos. Su estructura se caracteriza por ser una larga cadena conjugada de dobles enlaces y una simetría casi bilateral alrededor del doble enlace central. Se clasifican según su composición química, carotenos, que poseen átomos de carbono e hidrógeno y, xantofilas (oxicarotenoides), que tienen en su estructura átomos de carbono, hidrógeno y al menos un átomo de oxígeno (Krzyzanowska *et al.*, 2010).

Hacen parte de la familia de compuestos pigmentados que son sintetizados por plantas y microorganismos, pero no por animales. En la dieta humana, las frutas y vegetales son el recurso alimenticio donde más se encuentran los carotenoides, confiriendo el color amarillo, naranja y rojo a los alimentos (Mangels *et al.*, 1993). Cabe resaltar, que más de 600 de estos compuestos han sido identificados en la naturaleza, pero, solo 40 están presentes en una dieta regular humana, y, la mitad de esos 40 se han identificado en el plasma sanguíneo y los tejidos, mayormente representados por β -caroteno, α -caroteno, licopeno, luteína y criptoxantina (Gerster, 1997). Son responsables de las propiedades beneficiosas de las frutas, previniendo enfermedades cardiovasculares, el cáncer y otras enfermedades crónicas. De la misma forma, es un importante recurso de vitamina A en la dieta (Rao & Rao, 2007).

La biosíntesis de carotenoides ocurre en todos los organismos fotosintéticos, como bacterias, algas y plantas, asimismo, como en variedad de hongos y bacterias no fotosintéticos (Hirschberg *et al.*, 1997). La ruta sigue la vía del mevalonato, produciendo geranyl-geranyl pirofosfato, dando paso al fitoeno, precursor del licopeno. Las xantofilas se producen a partir de la ciclización y la hidroxilación del licopeno, las cuales se pueden oxidar a carotenoides epóxidos, tales como anteraxantina y violaxantina, que se convierten directamente en capsantina y capsorrubina, respectivamente, gracias a la enzima capsantina-capsorrubina sintasa (véase **Figura 2**).

Figura 2

Rutas de la biosíntesis de los carotenoides



Nota: Imagen traducida obtenida a partir de Murillo *et al.* (2024)

2.1.2.3 Capsorrubina

El interés por la obtención de este producto natural comenzó con los estudios realizados por los químicos Húngaros L. Zechmeister y L. Cholnoky. Ellos separaron la capsorrubina con un rendimiento del 0,003% por la adsorción sobre CaCO_3 a partir de los pimentones, además, describieron los 9 enlaces dobles entre átomos de carbono y la fórmula molecular equivocada de $\text{C}_{40}\text{H}_{60}\text{O}_4$. Fue hasta que, en el trabajo hecho por Cholnoky & Szabolcs. (1957), dieron con la fórmula exacta de la capsorrubina $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_4$.

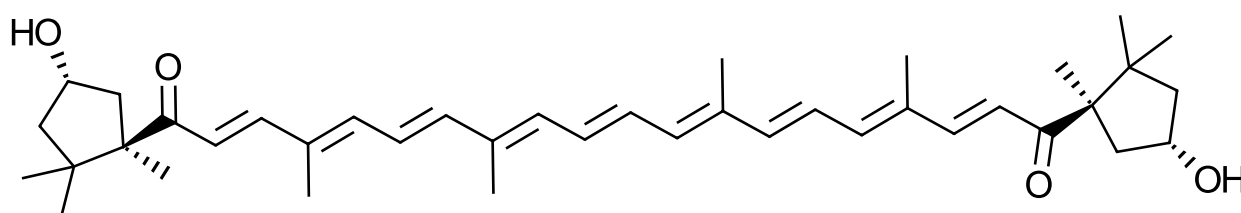
La capsorrubina es un metabolito secundario liposoluble, sensible a la luz y perteneciente al grupo de los carotenoides, es una xantofila y posee en su estructura dos anillos terminales de cinco carbonos bastante inusuales (véase **Figura 3**), su grupo 3-hidroxi-6-oxo-k-final resulta un factor importante mostrando excelentes resultados como antioxidante en comparación con otros tipos de carotenoides (Maoka *et al.*, 2001). Es el pigmento principal de los pimientos rojos, pimentones y frutos de la *Carludovica palmata* (Frederico *et al.*, 2009). Además de las fuentes anteriores, la capsorrubina ha sido aislada de *Caiophora lateritia*, de lirios, y a partir de los frutos de *Asparagus officinalis*, *Asparagus falcatus* (Murrillo *et al.*, 2021).

Existe un gran interés en este metabolito ya que posee una extensa gama de propiedades biológicas. Primeramente, la capsorrubina funciona como un eficiente neutralizador de oxígeno singulete y en la inhibición de la peroxidación lipídica causada por radicales libres (Hirayama *et al.*, 1994; Maoka *et al.*, 2001). Inhibe la peroxidación de lípidos en los procesos inflamatorios, interactúa con moléculas de señal para desacelerar la evolución tumoral y la metástasis (Murakami *et al.*, 2000). Comparte una propiedad muy destacada con otros carotenoides, la capsorrubina es capaz de inhibir las proteínas de resistencia a múltidrogas (MDR por sus siglas en inglés, *Multidrug resistance*), lo que conduce a una mejor acumulación de fármacos que se dirigen a la diana, por

ejemplo, células tumorales (Molnar *et al.*, 2004). Además, la capsorrubina tiene actividad en enfermedades relacionadas con la obesidad, de manera que promueve la expresión y secreción de ARNm de adiponectina, un regulador que está involucrado en el metabolismo de lípidos, metabolismo de la glucosa en la sangre y presión arterial, regulador que es afectado por la obesidad (Maeda *et al.*, 2013).

Figura 3

Estructura molecular de la capsorrubina



Nota: Elaboración propia.

2.1.3 Extracción de compuestos bioactivos

La extracción se define como la transferencia de uno o más componentes que poseen actividad biológica desde su fuente a una fase fluida. En la extracción sólido-líquido, como componente objetivo a partir de una matriz vegetal, es un mecanismo unitario que consiste en la separación de solutos (compuestos solubles) mediante el uso de disolvente(s), utilizando a su favor propiedades como la solubilidad o la capacidad del analito de absorción o adsorción sobre un soporte sólido (Lloyd & Van Wyk, 2012).

Cabe señalar que la extracción depende de varios factores, entre ellos están: (i) la naturaleza de la matriz vegetal y del analito a extraer, (ii) las condiciones operativas del proceso de extracción, como, la presión y la temperatura, que modifican las propiedades físicas del solvente al reducir la tensión superficial, aumentando tanto la solubilidad del soluto como la velocidad de difusión (Cardenas *et al.*, 2015). De manera que el método de extracción juega un papel importante a la

hora de proporcionar un producto bioactivo de alta calidad, por lo que escoger el procedimiento adecuado es vital para la eficiencia de la extracción. Para este proyecto de investigación, se plantea utilizar extracción asistida por ultrasonido y dispersión de matriz en fase sólida como métodos extractivos.

2.1.4 Técnicas extractivas

2.1.4.1 Extracción asistida por ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido UAE utiliza este tipo de onda de sonido que puede ser percibida por los humanos, sin embargo, las frecuencias van más allá de lo que podemos escuchar, en las extracciones, usualmente el rango de frecuencia va desde 20 kHz a 100 MHz. Durante la extracción, tal y como se comporta una onda, esta va oscilando desde la compresión a la expansión, este proceso da lugar a la creación, crecimiento y eventual colapso de burbujas. Este ciclo por el que pasan las burbujas se llama cavitación, de modo que la energía cinética del movimiento puede convertirse en calentamiento contenido de la burbuja, calentamiento que puede llegar aproximadamente a unos 5000 K y a una presión aproximada de 1000 atm (Kumar Jha & Sit, 2022).

Cabe resaltar que la cavitación solo puede ocurrir en líquidos y líquidos que contienen sólidos. La energía aplicada por el ultrasonido facilita los movimientos de compuestos derivados de la matriz vegetal, tanto orgánica como inorgánica. Por consiguiente, los efectos mecánicos del ultrasonido hacen que el solvente tenga un acceso más rápido a los componentes del material vegetal y mejoran la transferencia de masa, siendo la difusión a través de la membrana el principal fenómeno físico utilizado en el mecanismo de extracción por ultrasonidos (Mason *et al.*, 1996). Es así, como el ultrasonido ha tomado una posición principal en la investigación y desarrollo en diversos procesos industriales. Es común el uso de esta técnica en química analítica para la

preparación de muestras en productos farmacéuticos, nutraceúticos y otras industrias químicas. Hay que mencionar que brinda el beneficio de tener un amplio rango de elección de solvente, reemplazando los solventes orgánicos tóxicos por solventes que reducen los costos, reduce el impacto ambiental y los riesgos para la salud (Tiwari, 2015).

2.1.4.2 Extracción por dispersión de matriz en fase sólida

La dispersión de matriz en fase sólida MSPD se desarrolló como un método nuevo de extracción para el aislamiento de fármacos en tejidos en 1989, este, durante la búsqueda de eliminar las dificultades en el pretratamiento de las muestras, ya que las recuperaciones en el aislamiento eran inferiores a las ideales (Barker *et al.*, 1989). Desde entonces, este proceso ha demostrado ser una técnica versátil y eficiente para el aislamiento de una extensa gama de fármacos, pesticidas y componentes naturales encontrados en muestras vegetales y animales (Barker, 2007).

Su aplicación se ha encaminado como un proceso analítico para la preparación, extracción y fraccionamiento de muestras biológicas sólidas, semisólidas o altamente viscosas. La extracción por MSPD se basa en varios principios químicos y físicos. Primeramente, la mezcla de la muestra biológica con un soporte sólido (silica gel, arena u otro material de soporte) involucran fuerzas mecánicas aplicadas de corte y trituración que inciden en la disrupción completa de la muestra, además, las interacciones dinámicas entre la matriz de la muestra, el analito, el soporte sólido y los disolventes ocurriendo simultáneamente durante la extracción. De esta manera, un solvente apropiado, o una secuencia de solventes, dispersan la muestra sobre la superficie del material de soporte produciendo una única fase mixta, en la cual, se pueden aislar directamente un compuesto objetivo a elección. (Barker, 2007)

2.1.5 Técnicas analíticas

2.1.5.1 Espectrofotometría UV-vis

La espectrofotometría UV-vis es una técnica analítica que permite medir la cantidad de luz que absorbe un compuesto en el rango de 190-800 nm (Passos & Saraiva, 2019). La radiación electromagnética interactúa con las moléculas, estas absorben la radiación provocando una disminución en la intensidad, dicha disminución, conocida como absorbancia, esta relacionada directamente con la concentración del analito. Según la ley de Beer expresada como: $A = \epsilon * b * c$. La absorbancia (A) es directamente proporcional a la concentración y a la distancia que recorre la luz dentro de la muestra (b), siendo ϵ el coeficiente de absorción molar (Tissue, 2012).

Esta técnica se utiliza ampliamente en la determinación de iones metálicos, compuestos orgánicos con sistemas conjugados y macromoléculas biológicas como proteínas, ácidos nucleicos y, como en esta investigación, carotenoides (Skoog, Holler, & Crouch, 2017).

2.1.5.2 Cromatografía líquida de alta eficiencia y ultra eficiencia

La cromatografía líquida de alta eficiencia es una de las técnicas más utilizadas en química analítica. Es una forma de cromatografía líquida y funciona para separar, analizar y cuantificar compuestos que se disuelven en solución. Este equipo consta con un depósito de fase móvil, una bomba de alta presión, un inyector, una columna analítica (con temperatura controlada) y un detector. La muestra es inyectada en la columna y llevada por la fase móvil, en el cual, los componentes son separados a causa de las diferentes velocidades en la que van fluyendo cada componente con respecto al comportamiento entre la fase líquida móvil y la fase estacionaria. De hecho, la mezcla se puede separar según el tipo de fase estacionaria que posea la columna, por ejemplo, en función de su carga (cromatografía de intercambio de aniones o catión débil/fuerte), según su masa molecular (cromatografía de exclusión por tamaño), por su hidrofobicidad/polaridad (HPLC de fase reversa) y por características específicas (afinidad

cromatográfica) (Luykx *et al.*, 2008). Este método es adaptable a cantidad de técnicas de detección, entre los más comunes están: la detección por espectrometría de masas (MS), por resonancia magnética nuclear (NMR), por espectroscopia de absorción (UV-vis) o detección por arreglo de diodos (DAD) (Anderson, 1999).

Para proporcionar un ejemplo de la amplia gama de compuestos que puede caracterizar la cromatografía de alta eficiencia, solo en análisis de alimentos se ha utilizado para detectar carbohidratos, vitaminas, aditivos, micotoxinas, aminoácidos, proteínas, triglicéridos en grasas, lípidos, compuestos quirales y pigmentos (Luykx *et al.*, 2008), además, de su aplicabilidad en la determinación de compuestos importantes en la industria como los fármacos, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y variedad de sustancias inorgánicas (Skoog *et al.*, 2017). Aparte, el costo de un instrumento de HPLC no es tan alto, sumado que es una técnica robusta, sencilla y reproducible, razones por las cuales lo hacen un método eficiente (Luykx *et al.*, 2008).

La cromatografía de ultra eficiencia (UPLC) implica el uso de columnas con partículas de menor tamaño (menor a 2,5 μm) con flujos más altos, lo que supone mayor presión de trabajo sin disminuir su rendimiento, en consecuencia, mejora significativamente la eficiencia de la separación cromatográfica, ofreciendo la capacidad de lograr alta resolución y velocidad (Swartz, 2005).

Para la cromatografía líquida y la espectrometría de masas es utilizado un interfaz de ionización por *electrospray* (ESI, por sus siglas en inglés, *Electrospray Ionization*) que aporta la más alta eficiencia en la ionización y una alta sensibilidad (Novakova y col, 2017). Asimismo, el acoplamiento a uno o varios analizadores de masas, como lo son, el cuadrupolo simple o el triple cuadrupolo se utilizan frecuentemente. El cuadrupolo simple consiste en cuatro varillas metálicas

dispuestas en forma cuadrada, conectadas de dos en dos, en ese sentido, los pares opuestos son conectados eléctricamente creando un campo eléctrico que filtra un rango o iones de masa específica (Gross, 2004). En una estructura más avanzada, como lo es el triple cuadrupolo para la espectrometría de masas (MS/MS), el primer cuadrupolo funciona como el cuadrupolo simple ya mencionado; el segundo se desempeña como celda de colisión, el cual, deja pasar un gas de colisión (N, Ar, He) que rompe la molécula en varios fragmentos de iones, por medio de un proceso llamado descomposición inducida por colisión; por último, el tercer cuadrupolo se encarga de filtrar y detectar los fragmentos hijos producidos en la celda de colisión, permitiendo un análisis estructural detallado (Allwood & Goodacre, 2010).

2.1.5.3 Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina (TLC) es un método planar ampliamente usado en la investigación de productos naturales. Se destaca por ser una técnica sencilla y económica, aplicable en análisis, aislamiento y que brinda parámetros para una posterior cromatografía en columna. Frecuentemente, se utiliza sílice o alúmina como fase estacionaria (más polares) y disolventes orgánicos como fase móvil (menos polares) para cromatografía de fase normal. No obstante, para cromatografía en fase reversa, la fase estacionaria es menos polar, empleando sílice o alúmina con enlaces alquilo, por ende, se utiliza un solvente polar como agua o alcohol como fase móvil (Rasul, 2018).

Existen dos tipos de cromatografía en capa fina: TLC preparativa y TLC analítica. En la primera mencionada, (P-TLC) proporciona el aislamiento a pequeña escala de productos naturales a partir de su extracto. De otro modo, la cromatografía analítica estudia el extracto vegetal con la finalidad de obtener una idea del número de compuestos presentes en la mezcla (Bulugahapitiya, 2013).

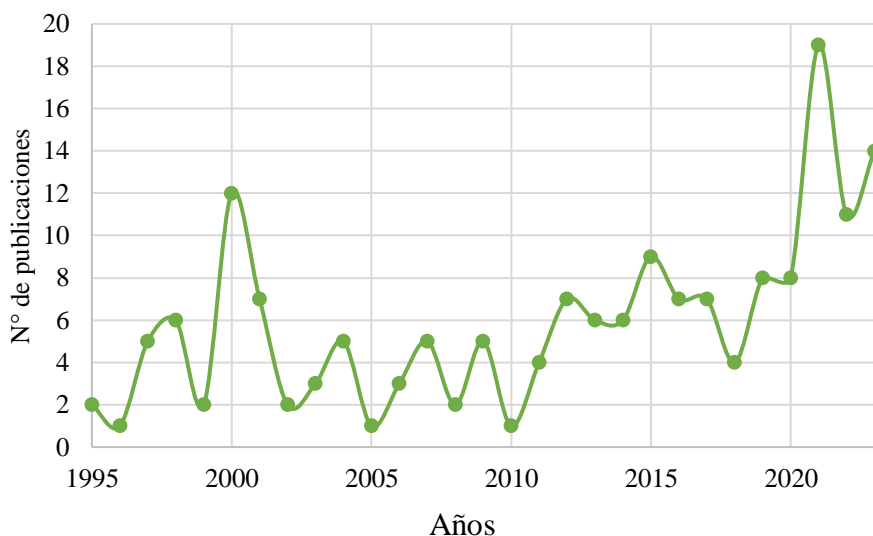
Un enfoque estratégico y novedoso, es acoger los métodos analíticos basados en teléfonos inteligentes como instrumentos de detección, como lo es en acople con cromatografía en capa fina, implicando una captura rápida de placas de TLC por medio de la cámara del dispositivo móvil, con la virtud de poder iluminarlas con distintas fuentes de luz. Seguido de un análisis de imágenes digitales para medir la intensidad del color. Esta metodología (TLC cuantitativa o *q*-TLC, por sus siglas en inglés, *Quantitative Thin-Layer Chromatography*) se ha utilizado considerablemente y, además, se ha demostrado su validez en la determinación de fármacos, plantas medicinales y el control de medicamentos falsos (Wadie M. *et al.*, 2023).

El análisis de imágenes es uno de los campos en la computación científica que ha logrado un enorme avance durante los últimos 50 años. Siendo relativamente corto su aporte en el campo, la variedad de herramientas de software disponibles, la diversidad en los campos de acción y la constante creación de nuevas herramientas, lo hacen una estrategia viable y muy económica (Schneider *et al.*, 2012). Un ejemplo de ello, es el software *ImageJ* creado por Wayne Rasband, aplicación que tiene matices que lo diferencian de la competencia como: un interfaz sencillo que se puede ejecutar en ordenadores asequibles; aplicación y código libre para el usuario; funcionalidad adaptable según las necesidades del usuario (Schindelin *et al.*, 2015). En general, el análisis de imágenes implica mejorar la imagen o extraer datos de píxeles. Por consiguiente, la diferencia entre los píxeles de las áreas de interés y los píxeles de fondo permiten la detección específica en las placas de TLC, permitiendo cuantificar muestras por medio de sus densidades integradas. Lo que hace posible comparar puntos estándar de concentración conocida para calcular concentraciones estimadas de compuestos de interés (Sowers *et al.*, 2022).

2.2 Estado del arte

Figura 4

Número de publicaciones por año sobre la capsorrubina. Periodo de observación: 1995-2023

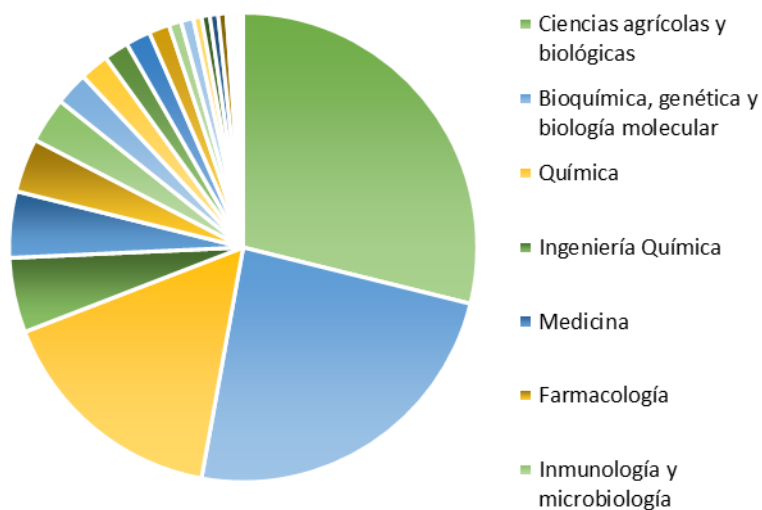


Nota: Fecha de consulta: 28 de febrero del 2024. Fuente: Scopus (Elsevier), elaboración propia.

Con la finalidad de conocer las investigaciones desarrolladas sobre la Capsorrubina, sus características principales, actividad biológica del metabolito secundario y los métodos de extracción, se realizó una búsqueda bibliográfica utilizando la base de datos *Scopus* (Elsevier). De esta forma, mediante la palabra clave “*Capsorubin*” y en un periodo que abarca desde 1995 al 2023. Se encontró un total de 181 documentos, que se presentan en la **Figura 4** en relación según el año de publicación. Entre ellos, 155 artículos, diez capítulos de libros y diez revisiones son reportados (fecha de consulta: 28 de febrero de 2024). La mayoría, en áreas como: agricultura y ciencias biológicas, bioquímica, química; farmacología, toxicología y farmacéutica; medicina, entre otras (véase **Figura 5**). Sin embargo, en Colombia, no se han encontrado documentos de investigación sobre la capsorrubina según la base de datos *Scopus* (Elsevier).

Figura 5

Áreas de investigación relacionadas con el estudio de la capsorrubina. Periodo de observación: 1995-2023



Nota: Fecha de consulta: 28 de febrero del 2024. Fuente: Scopus (Elsevier), elaboración propia.

Para comprender el atractivo que tiene la capsorrubina, Maeda *et al.* (2021) realizó una revisión de la literatura compilando un resumen sobre las propiedades biológicas de carotenoides en pimientos, dentro de ellas, la amplia gama de propiedades biológicas que posee la capsorrubina. En primer lugar, el grupo 3-hidroxi-6-oxo-k-final encontrado en la capsorrubina le confiere una potente actividad antioxidante inhibiendo la peroxidación lipídica causada por radicales libres (Maoka *et al.*, 2001). Asimismo, describe como la capsorrubina promueve la secreción de reguladores metabólicos (metabolismo de lípidos, metabolismos de glucosa en sangre), combatiendo una amenaza para la salud en todo el mundo como lo es el síndrome metabólico (Maeda *et al.*, 2013). El potencial que tiene frente al cáncer, por ejemplo, interactuando con moléculas de señal para desacelerar la evolución del tumor y la metástasis (Molnar *et al.*, 2004).

Continuando con la búsqueda bibliográfica, se añadió a la palabra “*Extract*” a la fórmula de búsqueda, de manera que quedo: “*Capsorubin AND Extract*”. Además, se acorto el periodo desde 1997 a 2023. La mayoría de las investigaciones sobre la extracción de la capsorrubina se han realizado a partir de la especie vegetal *Capsicum annuum L.*, conocido como pimentón, pimiento o pimiento morrón. En el trabajo hecho por Weissenberg *et al.* (1997) se utilizó

secuencialmente éter dietílico y metanol como solventes para la extracción de los carotenoides a partir del pimiento rojo. Se ideó un método basado en un sistema no acuoso isocrático de cromatografía líquida de alta eficiencia para separar y cuantificar las xantófilas, proponiendo una detección rápida para los extractos del pimentón.

Jarén-Galan *et al.* (1999) obtuvieron el extracto del pimiento mediante extracción con dióxido de carbono supercrítico, donde, a presiones altas de extracción, hubo una mayor proporción de carotenoides rojos (principalmente capsorrubina) con etanol o acetona como cosolventes. Para agregar, el estudio realizado por De Aguiar *et al.* (2022) analiza el uso de extracciones por fluidos supercríticos de componentes bioactivos de alto valor como los compuestos fenólicos, capsaicinoides y carotenoides. Reportaron el uso de dióxido de carbono supercrítico, utilizando etanol al 20% (modificador) durante 5 minutos en condiciones estáticas y, luego, se procede a condiciones dinámicas (20 minutos a 60°C y 331 bar). En una segunda etapa, se retira el modificador y se repite la extracción con las mismas condiciones mencionadas. Demostrando ventajas sobre técnicas de extracción clásicas por su disminución en la cantidad de solventes, tiempos de extracción más cortos, especificidad y escalabilidad.

De los estudios buscados para la extracción, se encontró el que realizó Fernández-Ronco *et al.* (2012), quienes utilizaron extracción asistida por ultrasonido y extracción por maceración para determinar el rendimiento y la capacidad colorante de la oleorresina a partir del pimentón. Se encontró que UAE reduce el tiempo requerido para la extracción y mejora la calidad debido a su menor exposición a las altas temperaturas. Además, determinaron al n-hexano como mejor disolvente, una relación de 1:4,3 material vegetal-solvente a una temperatura de 298 K, recuperando un 84% de oleorresina.

Huang *et al.* (2022), en su trabajo, optimizaron el proceso de extracción rápida de oleorresina a partir del pimentón. Compararon métodos de extracción por macerado ME, extracción asistida por ultrasonido UAE y extracción por líquido presurizado PLE, siendo este último el método con más eficiencia en el rendimiento de extracción de oleorresina. Las condiciones de extracción que optimizaron (temperatura: 78°C; 2 ciclos; 28 minutos; acetona como solvente) mostraron un valor mayor en la evaluación del color, además, una mayor cantidad de capsorrubina en el extracto.

Continuando con la búsqueda bibliográfica, se llevó a cabo usando las palabras-clave: “*Carludovica AND Palmata*” donde se reportaron 24 artículos, seis de ellos en Colombia según la base de datos *Scopus*. Recientemente, se reportó que el estudio de Galviz-Quezada *et al.* (2023) utilizaron el fruto de la palma de iraca obtenidos de la ciudad de Pasto, Colombia, como fuente para la obtención de fenoles. Realizaron diferentes tipos de extracciones, entre ellas: UAE, extracción Soxhlet SE y extracción por solvente a baja presión LPSE (por sus siglas en inglés, *Low-pressure solvent extraction*). Como resultado, UAE fue el método más eficiente en la extracción de compuestos fenólicos, siendo un proceso amigable con el medio ambiente. Por consiguiente, el estudio demostró que es un método económicamente viable en la extracción de fenoles y, análogo, podría ser prometedor en la extracción de la capsorrubina.

Comúnmente, la capsorrubina es obtenida de los pimentones, sin embargo, la investigación realizada en Panamá por Murrillo *et al.* (2021), determinaron que este producto natural es el de mayor proporción en los frutos de la especie vegetal *Carludovica palmata*, con 48,71 % en la composición total de carotenoides. Establecieron que la cantidad de *k*-carotenoides aumenta durante la maduración, lo que es notable por el cambio de color (de verde a rojo). Los hallazgos promueven el aislamiento de capsorrubina a partir de la palma de iraca en cantidades más altas,

primeramente, porque el cultivo de la palma sirve como alternativa a las familias campesinas de América Latina y, segundo, por el potencial de actividades biológicas que posee este metabolito secundario.

Pese a la información recolectada, la especie vegetal *Carludovica palmata* es una planta poco estudiada, evidenciando la carencia de información acerca de los métodos extractivos, en el cual, no se encontró reporte acerca de la extracción del metabolito secundario de interés por medio de la técnica por dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD). Por esta razón, se buscó en la literatura extracciones realizadas por MSPD sobre carotenoides a partir de otras especies vegetales. Por ejemplo, Putzbach *et al.* (2005) realizaron la extracción MSPD de carotenoides a partir de espinaca, en una relación matriz vegetal-soporte sólido 1:3 con silica gel C18 modificada como soporte y acetona como eluyente, posteriormente, determinando por separación cromatográfica la presencia de (all-E) luteína, (all-E) β -caroteno, incluidos, dos estereoisómeros del β -caroteno, (9,13-ZZ) β -caroteno y (9-Z) β -caroteno. Por otra parte, en el estudio de Jin *et al.* (2019) desarrollo un método de dispersión de matriz en fase sólida para la determinación simultanea de fucoxantina, luteína y astaxantina a partir de diferentes microalgas, determinando metanol como eluyente, relación matriz vegetal-soporte de 1:2 y, donde no hay mucha diferencia en el uso entre el soporte C₈ y C₁₈.

De este modo, la comunidad científica aún está en la investigación de encontrar métodos de extracción de metabolitos secundarios con alta eficiencia, alto rendimiento y amigable con el medio ambiente, y, poder reemplazar los métodos tradicionales que utilizan solventes altamente tóxicos en sus procesos

3. Metodología

La metodología que se realizó para cumplir con los objetivos se resume en: (i) obtención de materia prima, (ii) extracción, (iii) identificación y cuantificación de la capsorrubina a partir de la infrutescencia de *Carludovica palmata*.

3.1 Material vegetal

Los frutos de la especie vegetal *Carludovica palmata* (palma de iraca) fueron enviados por el profesor Dr. Rodrigo Hoyos, director del grupo de investigación de biotecnología vegetal, localizado en la Universidad Nacional de Colombia (sede Medellín, Colombia). El material vegetal se manejó como lo describe Galviz-Quezada *et al.* (2023). El fruto fue proporcionado ya liofilizado, por ende, se procedió a triturar con ayuda de nitrógeno líquido y un mortero como se observa en la **Figura 6**. Seguido, se almaceno en tubos Falcon de 50 mL a -30°C para posteriores análisis.

Figura 6

Fruto de la especie C. palmata antes y después de macerar



Nota: Foto tomada por el autor Camilo Camargo. Lugar: Laboratorio de Bioquímica y productos naturales, UIS. Fecha: 11 de julio de 2023

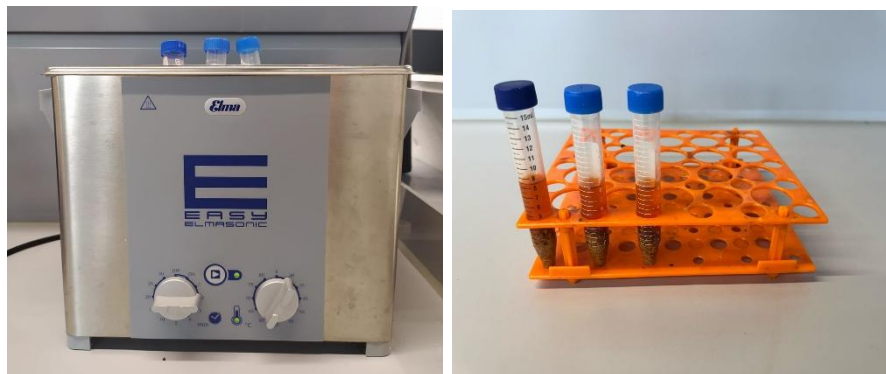
3.2 Procedimientos de extracción a partir del fruto de *Carludovica palmata*.

3.2.1 Proceso de extracción asistida por ultrasonido (UAE)

La recolección del extracto de la infrutescencia de la especie vegetal *Carludovica palmata* fueron obtenidos por medio del método descrito por Fernández-Ronco *et al.* (2012), con algunas modificaciones. Primeramente, se desarrolló un diseño experimental completamente aleatorizado como ensayos preliminares utilizando un análisis de varianza (ANOVA) cuya variable de respuesta correspondió a la concentración relativa de capsorrubina en los extractos ya saponificados (véase **Tabla 2**) con el fin de evaluar parámetros como solvente de extracción (acetona, etanol y n-hexano), relación de solvente (relación material vegetal-solvente 1:5, 1:7 y 1:10) y tiempo de extracción (5, 15 y 25 minutos), para un total de 9 ensayos con tres réplicas técnicas para cada caso. En consecuencia, se estipuló la siguiente metodología: se pesaron 1 g del material vegetal previamente macerado (y seco) y se adicionaron 7 mL de acetona (1:7 en relación con el peso de material vegetal). Luego de un minuto en el vortex, se realizó el baño de ultrasonido en un equipo EASY 30 H (Elmasonic, Signen, Alemania) por un tiempo de 25 minutos con una frecuencia de 37 kHz, una potencia nominal efectiva de 280 W y a una temperatura controlada de 25°C (véase **Figura 7**). Seguido, se pasó a una centrifuga Z206A (HERMLE, Wehingen, Alemania) por 15 minutos a 3000 rpm. Los extractos obtenidos se secaron a una temperatura ambiente protegidas de la luz y, luego, se pesaron para calcular los rendimientos de extracción.

Figura 7

Obtención de extractos orgánicos por medio de extracción asistida por ultrasonido



Nota: Foto tomada por el autor Camilo Camargo. Fecha: agosto 28 de 2024. Lugar: Laboratorio de Bioquímica y productos naturales, UIS, Bucaramanga.

Tabla 2

Diseño experimental completamente aleatorizado para la extracción por ultrasonido de la especie vegetal C. palmata.

Ensayo	Tipo de solvente	Cantidad de solvente	Tiempo de extracción	Variable evaluada
1	Acetona	10 mL	5 minutos	Tipo de solvente
2	Etanol	10 mL	5 minutos	Tipo de solvente
3	Hexano	10 mL	5 minutos	Tipo de solvente
4	Acetona	10 mL	5 minutos	Cantidad de solvente
5	Acetona	7 mL	5 minutos	Cantidad de solvente
6	Acetona	5 mL	5 minutos	Cantidad de solvente
7	Acetona	7 mL	5 minutos	Tiempo de extracción
8	Acetona	7 mL	15 minutos	Tiempo de extracción
9	Acetona	7 mL	25 minutos	Tiempo de extracción

Nota: Elaboración propia

3.2.2 Proceso de extracción por dispersión de matriz en fase sólida (MSPD)

Los extractos fueron obtenidos mediante el método aplicado por Putzbach *et al.* (2005) para la extracción, en este caso, con algunas modificaciones. Brevemente, también se realizó un diseño experimental completamente aleatorizado para estudios preliminares usando un análisis de varianza (ANOVA) (véase **Tabla 3**) para evaluar los parámetros: cantidad de solvente (2 y 4 mL) y relación materia vegetal-soporte sólido (1:1, 1:3 y 1:5 relación soporte sílice-material vegetal), para un total de 5 ensayos con tres réplicas técnicas para cada caso. Se determinó las siguientes condiciones de extracción: 50 mg de la muestra vegetal previamente almacenada se mezcló en un mortero de porcelana con 50 mg de sílica gel C18 fase reversa (para cromatografía de columna fully end capped, Sigma) como soporte sólido (en una relación 1:1 soporte-material vegetal) y con 1 mL de acetona como solvente dispersante se homogeneizó por 10 minutos. La mezcla homogénea se introdujo en una jeringa tipo cartucho de 3 mL y se compacto hasta formar una cama de columna entre dos trampas hechos con algodón, así pues, el extracto se eluyó con 2 mL de acetona (véase **Figura 8**). Para terminar, los extractos obtenidos se secaron a una temperatura ambiente protegidas de la luz y, luego, se pesaron para calcular los rendimientos de extracción.

Tabla 3

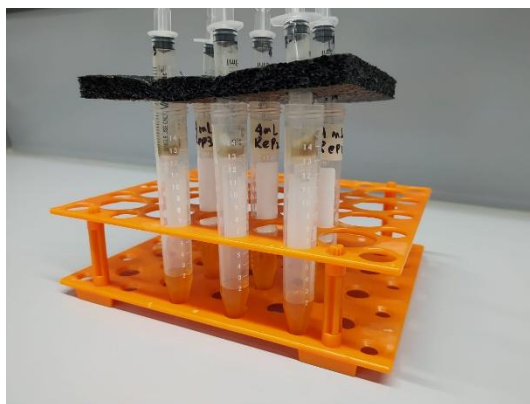
Diseño experimental completamente aleatorizado para la extracción por MSPD de la especie vegetal C. palmata

Ensayo	solvente	Cantidad de solvente	Relación soporte-material	Variable evaluada
1	Acetona	2 mL	1:3	Cantidad de solvente
2	Acetona	4 mL	1:3	Cantidad de solvente
3	Acetona	2 mL	1:1	Relación soporte-material
4	Acetona	2 mL	1:3	Relación soporte-material
5	Acetona	2 mL	1:5	Relación soporte-material

Nota: Elaboración propia

Figura 8

Obtención de extractos orgánicos por medio de extracción MSPD



Nota: Foto tomada por el autor Camilo Camargo. Fecha: noviembre 13 de 2024. Lugar:

Laboratorio de Bioquímica y productos naturales, UIS, Bucaramanga.

3.2.3 Saponificación del extracto orgánico

Luego de los procedimientos de extracción por MSPD y UAE, se realizó un proceso de saponificación del extracto para obtener carotenoides libres (principalmente capsorrubina) para su posterior caracterización. Esta parte experimental se desarrolló con base en el trabajo realizado por Murrillo *et al.* (2021) en la caracterización de la capsorrubina, lo anterior, con algunas modificaciones. Los extractos obtenidos se suspendieron en 2 mL de éter etílico y se saponificaron con 1 mL KOH metanólico al 0,5 M en un balón de reacción de 25 mL durante toda la noche. La mezcla de reacción se pasó a un embudo de decantación y se lavó con agua hasta alcanzar la neutralidad (pH~7.0) (véase **Figura 9**). La fase orgánica, la cual contiene el extracto con los carotenoides libres se dejó secar a temperatura ambiente protegidas de la luz para su posterior análisis por UV-Vis.

Figura 9

Proceso de saponificación y lavado de los extractos hasta neutralidad, separación de fases



Nota: Foto tomada por el autor Camilo Camargo. Fecha: noviembre 15 de 2024. Lugar:

Laboratorio de Bioquímica y productos naturales, UIS, Bucaramanga.

3.3 Análisis del extracto por medio de técnicas analíticas

3.3.1 Análisis por UV-VIS

Los carotenoides (principalmente luteína y capsorrubina) de los extractos saponificados del fruto de la *Carludovica palmata* fueron cuantificados espectrofotométricamente según el método utilizado por Murrillo *et al.* (2021) en un espectrofotómetro de doble haz UV-Vis Shimadzu UV-1800 (Shimadzu, Kyoto, Japón). Cada uno de los extractos fueron resuspendidos en etanol y se realizaron las mediciones de absorbancia a dos longitudes de onda (445nm y 510nm), posterior, se utilizaron las ecuaciones (véase **Ecuación 1-2**) y los coeficientes de absorción $A^{1\%}$ (véase **Tabla 2**) utilizados por Murrillo *et al.* (2021) para determinar la concentración relativa de capsorrubina presente en la muestra (la concentración relativa de capsorrubina como variable respuesta en la evaluación de los parámetros de estudio).

Tabla 4

Coeficientes de absorción específico determinados por Murillo et al. (2021) para luteína y capsorrubina en etanol como solvente.

	A ^{1%} a 445 nm	A ^{1%} a 510 nm
Luteína	2550,0	82,6
Capsorrubina	1353,3	2013,6

Nota: Tomado de Murillo *et al.* (2025). Elaboración propia

$$C_{lut} = \frac{1,49 A_{445} - A_{510}}{3716,9} g/100mL \quad \text{Ecuación 1}$$

$$C_{cap} = \frac{A_{445} - 2550 C_{lut}}{1353,3} g/100mL \quad \text{Ecuación 2}$$

3.3.2 Análisis por UPLC-TQD-MS

Previo al análisis por LC-MS, las muestras (extractos orgánicos) fueron sometidas a un *clean-up* por extracción en fase sólida (SPE). Para ello, se utilizó una columna de extracción (LiChrolut RP-18 100mg fase sólida, Merck). Cada muestra de extracto fue disuelta en una disolución 70:30 de Acetonitrilo:MeOH, la cual fue adicionada al cartucho de SPE y se pasó inicialmente un volumen de agua tipo I para arrastrar componentes impurezas polares. Posterior a ello, se recuperó los compuestos de interés pasando una solución de metanol acuoso (80% v/v, tres volúmenes). Finalmente, la fase orgánica (metanólica) se dejó evaporar a temperatura ambiente, bajo condiciones de oscuridad, para luego resuspender en 500 µL de MeOH (grado HPLC), se filtraron utilizando filtro PTFE hidrofílico (ALWSCI technologies) con tamaño de poro 0,22 µm.

Los extractos recuperados se analizaron en un cromatógrafo líquido de ultra eficiencia (UPLC), Acquity Class I (Waters Corp., Milford, MA, USA), equipado con un sistema de gestión de solventes binario BSM y un sistema de gestión de muestras con flujo a través de aguja SM-FNT. 1 µL de cada muestra, de concentración 1,0 mg/mL, se inyectaron en el cromatógrafo a una velocidad de flujo de 0,2 mL/min, y la separación de los compuestos se realizó en una columna

apolar Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (Waters Corp., Milford, MA, USA) de 150 mm de longitud, 2.1 mm d.i., 1.7 µm de tamaño de partícula y la temperatura del termostato se ajustó a 30°C. La fase móvil fue una solución acuosa de ácido fórmico (0,01%) (A) y acetonitrilo (B), con gradiente de elución programado así: inicia con 70% (B), aumenta a 100 % (B) en 18 min, seguido de un reequilibrio desde 18.1-20 min con 70 % (B). Los espectros de masas se obtuvieron en modo SIR (por sus siglas en inglés, *Selected Ion Recording*) con 601.00 *m/z*, 583.40 *m/z*, 473.00 *m/z*, 109.00 *m/z* y 83.00 *m/z* como iones objetivo, operado en modo de iones positivos, utilizando un triple cuadrupolo como analizador de masas (XEVO, Waters Corp., Milford, MA, USA) a través de una interfaz ESI. Se empleo argón (Ar) como gas de colisión y nitrógeno (N₂) como gas de nebulización. Los parámetros optimizados de detección fueron los siguientes: voltaje de cono 30 V; voltaje capilar 2.91 kV; temperatura de desolvatación 298°C; flujo de gas de cono 297 L/h, flujo de gas de desolvatación 647 L/h; rango de masas *m/z* 80-1100. Se aplicó un voltaje de fragmentación de 25 V. La adquisición de datos se obtuvo por el *software MassLynx* versión 4.1 (Waters), seguidamente, se procesaron los datos utilizando el *TargetLynx* para obtener los cromatogramas de masas.

3.3.3 Identificación y cuantificación de capsorrubina por HPLC-DAD

Los extractos obtenidos de la infrutescencia fueron tratados mediante extracción en fase sólida (SPE), utilizando como solvente MetOH y una columna de extracción LiChrolut RP-18, siguiendo la misma metodología reportada en la sección 3.3.2. Una vez realizado el *clean-up* de las muestras, se pesaron 2 mg del extracto seco, se le adicionaron 1 mL Metanol y, fueron filtradas haciendo uso de un filtro de jeringa de PTFE hidrofílico (ALWSCI technologies) con tamaño de poro 0,22 µm con anillo exterior.

Posterior, el análisis de la capsorrubina de los extractos de la especie vegetal *Carludovica palmata* se realizó mediante un cromatógrafo líquido de alta eficiencia acoplado a un detector de arreglo de diodos de inyección automática Agilent 1100/1200 (Agilent Technologies, CA, USA). Se siguió la metodología reportada por Murrillo *et al.* (2021) con algunas modificaciones, cuya separación conto con una columna C₁₈ como fase estacionaria de 250 mm de longitud x 4 mm de diámetro interior, LiChrospher 100 RP-18 y 5 µm de tamaño de partícula (Merck, Darmstadt, Alemania), con una fase móvil isocrática de H₂O: MeOH = 12:88 % (v/v). El flujo de la fase móvil fue de 1 mL/min y se ajustó la temperatura a 25°C, con un volumen de inyección de 5µL de muestra (concentración 5mg/mL) y un tiempo de corrida de 25 minutos. El análisis fue monitoreado a una longitud de onda de 450 nm.

La cuantificación relativa de capsorrubina se realizó usando una curva de calibración externa, utilizando beta-caroteno como compuesto de referencia preparado en un rango de concentración de 0,0025-0,4 nM. La ecuación de respuesta fue corregida utilizando un factor de respuesta relativo (FRR) equivalente a 0,5 respecto al beta-caroteno, la cual se determinó a partir de los coeficientes de absorción específicas para el analito (2620 para beta-caroteno y 1353.3 para capsorrubina, en etanol a una longitud de onda de 450 nm) (Murrillo *et al.*, 2021;Rodríguez-Amaya, 1999). Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

3.3.5 Análisis por cromatografía en capa fina cuantitativa (qTLC)

Primeramente, se construyó una cámara de iluminación con las dimensiones establecidas por Wadie *et al.* (2023) con algunas variaciones: 30 cm de largo, 15 cm de ancho y 15 cm de altura (véase **Figura 10**). Se utilizó madera para la construcción de la cámara, material que es económico, de muy fácil acceso pero que resultó levemente pesada. En el centro de la parte superior de la caja, se realizó una perforación rectangular para ajustar la cámara del equipo celular inteligente utilizado

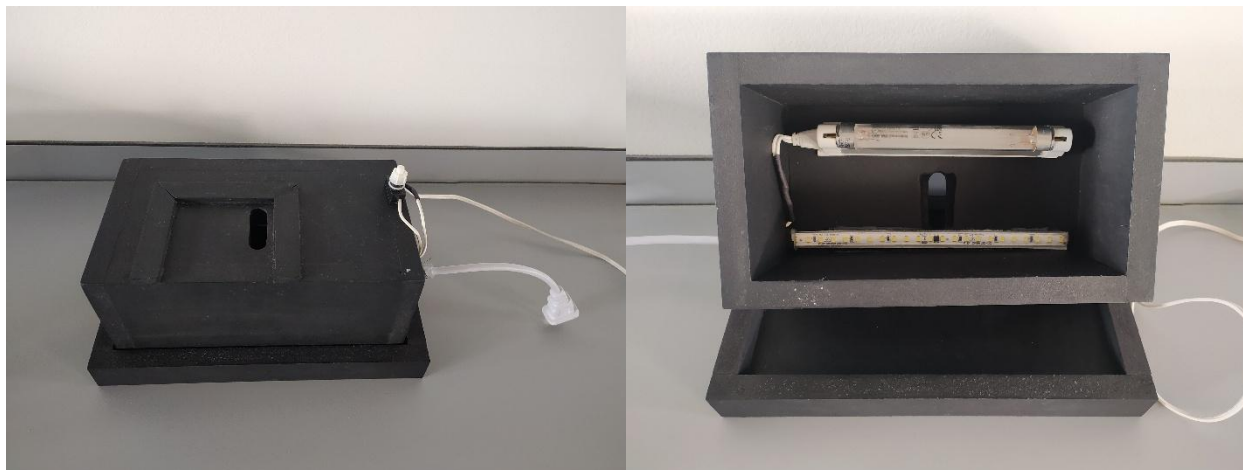
(Redmi Note 8, Xiaomi, Pekín, China). Esta cámara de iluminación se equipó con dos fuentes de luz: una lámpara UV de 254 nm (OSRAM, modelo: HNS 4W, 136 mm de longitud) y una tira de LED de luz diurna (blanco, 7W). Se utilizaron placas de TLC láminas de aluminio silica gel 60 matrix (Merck, Darmstadt, Germany) como fase estacionaria para la separación cromatográfica, con 6,5 cm x 5 cm de dimensiones. Se preparó la fase móvil según lo reportado por Hernández-Ortega *et al.*, (2012) la cual estuvo compuesta por *n*-hexano, éter etílico y acetona (relación 1:2:1 en volumen). Un total de 8 mL de fase móvil fue adicionado a un vaso de precipitados de 150 mL, el cual, se cubrió con aluminio y se dejó reposar por 5 minutos para la saturación y equilibrio de fases. Con una micropipeta BRAND de 10 μ L se aplicaron gotas de 2 μ L de los extractos orgánicos obtenidos por UAE y MSPD a una concentración de 5 mg/mL a un centímetro de la base de la placa TLC, se dejó secar para luego realizar el análisis cromatográfico en el vaso de precipitados, dejando ascender el solvente hasta una distancia de 5 cm de la base. Finalmente, se dejó secar las placas de TLC para su posterior registro y análisis de imágenes.

Para el registro y análisis de las imágenes se siguió la metodología planteada por Wadie *et al.* (2023). Previo a tomar la imagen, la placa TLC se iluminó con la tira de LED de luz diurna y la adquisición se hizo con la cámara trasera gran angular de 48 MP con apertura f/1,8 en modo pro, velocidad de obturación de 1/250 s, ISO de 100, enfoque automático y un balance de blancos diurno. Las imágenes obtenidas se analizaron en el software ImageJ versión 1.54g (NIH, Maryland, USA), allí, se abrieron como imágenes a color RGB y se analizaron con la función “Gels”. Se seleccionaron los carriles con la herramienta “Rectangle”, siguiente, al primer carril se aplica la opción “Select First Lane” y a los siguientes “Select Next Lane” y, finalmente, se selecciona “Plot Lanes” para generar las señales correspondientes a cada spot cromatográfico y

con las herramientas “Straight” y “Magic Wand” se determinaron las respectivas áreas de cada spot. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

Figura 10

Cámara de iluminación para toma de imágenes para el análisis por q-TLC



Nota: Foto tomada por el autor Camilo Camargo. Lugar: Laboratorio de Bioquímica y productos naturales.

La cuantificación de capsorrubina se realizó usando el método de estándar externo, con β -caroteno como sustancia de referencia en rango de 2,5-40 μM .

3.3.4 Determinación de figuras analíticas de mérito por HPLC-DAD y q-TLC

Los valores para las ecuaciones de cada recta ajustada se determinaron Según Miller y Miller. (2002) (véase **Ecuación 3 y 4**). A partir de la curva de calibración, se determinaron: linealidad (R^2 como indicador de linealidad) y sensibilidad del método (basado en la pendiente de la recta).

$$Y = A + BX \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde: A = ordenada de origen, B = pendiente de la recta, Y = señal analítica y X = concentración.

$$B = \frac{\sum_i (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_i (X_i - \bar{X})^2} \quad \text{Ecuación 4}$$

\bar{X} = promedio de datos, X_i = datos, \bar{y} = respuesta en cada punto, y_i = promedio de respuesta de patrones.

En ese sentido, se calcularon la incertidumbre para los residuos, la pendiente y para el intercepto de la regresión lineal, según Miller y Miller (Miller, J, Miller, 2002) (véase **Ecuaciones 5-7**).

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad \text{Ecuación 5}$$

$$S_B = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}} \quad \text{Ecuación 6}$$

$$S_A = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i X_i^2}{n \sum_i (X_i - \bar{X})^2}} \quad \text{Ecuación 7}$$

Primeramente, se calculó $S_{y/x}$ (véase **Ecuación 5**), donde, los valores \hat{y}_i son los valores de y ajustados. Análoga a la forma de la ecuación para hallar la desviación estándar, pero difiere en que se sustituye por los residuos ($y_i - \hat{y}_i$). Así pues, a partir de la incertidumbre para los residuos de la regresión lineal se hallaron para el intercepto y la pendiente. Seguidamente, el límite de detección (LOD, por sus siglas en inglés *Limit of Detection*) y el límite de cuantificación (LOQ, por sus siglas en inglés *Limit of Quantification*) se calcularon como S_A/B en valores de 3 y 10 respectivamente, S_A y B representan la desviación estándar del intercepto de la regresión lineal y la pendiente de la recta, respectivamente (véase **Ecuación 8-9**).

$$LOD = 3 \frac{S_A}{B} \quad \text{Ecuación 8}$$

$$LOQ = 10 \frac{S_A}{B} \quad \text{Ecuación 9}$$

Para la cuantificación por HPLC-DAD, se compararon la precisión de los métodos de extracción en la recuperación de capsorrubina según el procedimiento hecho por Shim *et al.* (2013), determinados como la repetibilidad y reproducibilidad de áreas cromatográficas, en donde, los valores de área del carotenoide se analizaron en intervalos de intradía (n= 3) e interdía (n=3),

por consiguiente, los valores se calcularon como porcentaje de coeficiente de variación (CV, por sus siglas en inglés *Coefficient of variation*) (véase **Ecuación 11**).

$$S = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n |X_i - \bar{X}|^2} \quad \text{Ecuación 10}$$

$$CV, \% = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde: n = número de datos; \bar{X} = promedio de los datos; X_i = datos; S = desviación estándar.

Por otro lado, para el análisis de precisión por q-TLC se determinó en intervalos de intradía (n=3), igualmente expresados como coeficiente de variación.

4. Resultados y discusión

4.1 Rendimiento de extracción

Los rendimientos de extracción para cada una de las extracciones fueron calculados usando la **Ecuación 12**, de esta manera, se relaciona la cantidad de extracto obtenido con la cantidad de materia vegetal utilizada.

$$\text{Rendimiento de extracción, \%} = \frac{g \text{ extracto}}{g \text{ materia vegetal}} * 100 \quad \text{Ecuación 12}$$

Todas las extracciones fueron realizadas por triplicado, y, se pueden observar en la **Tabla 5** y **Tabla 6**. En la primera mencionada, se observan los resultados de las extracciones realizadas por el método de ultrasonido (UAE), asimismo, en la siguiente tabla, se expone los rendimientos por el método MSPD. Aunque el rendimiento no fue el factor clave para escoger las condiciones de extracción, se evidencia diferencias y la influencia en los factores como el tipo y cantidad de solvente, tiempo de extracción.

Se nota que, al realizar la extracción por MSPD, se obtuvo un rendimiento de extracción significativamente más alto, con un rendimiento en el rango de 13-17 % (p/p), mientras que por el método UAE estuvo por debajo de 5 % (p/p), sin embargo, la extracción asistida por ultrasonido ofrece ventaja en términos de reducción de tiempo, energía y solventes en el proceso de extracción (Kumar *et al.*, 2021). Posiblemente, el aumento se deba a la desintegración del material vegetal en el momento de homogeneizar con el soporte sólido, facilitando la extracción al tener un incremento en la superficie de contacto al reducir el tamaño de partícula. Análogo a Gentili & Caretti (2011), el método de dispersión de matriz en fase sólida demostró ser adecuada para la extracción, en este caso, de carotenoides en sus formas libres y esterificadas, gracias a la disrupción mecánica de la matriz y la dispersión de sus componentes.

Tabla 5

Resultados de los rendimientos de extracción por UAE a partir del fruto de la especie vegetal *C. palmata*

Solvente	Cantidad	Tiempo de extracción	Variable evaluada	Extracto, g	p/p, % (x ± s, n= 3)	Concentración capsorrubina (µg/g) (x ± s, n= 3)
Acetona	10 mL	5 minutos	Tipo de solvente	0,034	3,35 ± 0,26	245,14 ± 31,27*
Etanol	10 mL	5 minutos	Tipo de solvente	0,047	4,77 ± 0,29	152,45 ± 7,76
Hexano	10 mL	5 minutos	Tipo de solvente	0,022	2,23 ± 0,20	208,11 ± 2,67
Acetona	5 mL	5 minutos	Cantidad de solvente	0,023	2,28 ± 0,12	132,83 ± 2,69
Acetona	7 mL	5 minutos	Cantidad de solvente	0,031	3,07 ± 0,03	267,81 ± 10,79*
Acetona	10 mL	5 minutos	Cantidad de solvente	0,031	3,07 ± 0,07	281,52 ± 22,62
Acetona	7 mL	5 minutos	Tiempo de extracción	0,026	2,58 ± 0,09	235,83 ± 14,17
Acetona	7 mL	15 minutos	Tiempo de extracción	0,027	2,70 ± 0,16	262,91 ± 25,51
Acetona	7 mL	25 minutos	Tiempo de extracción	0,030	2,99 ± 0,06	286,34 ± 2,77*

*Valores significativos (véase **Apéndice A-C**)

Nota: Elaboración propia

Tabla 6

Resultados de los rendimientos de extracción con acetona por MSPD a partir del fruto de la especie vegetal *C. palmata*.

Cantidad de solvente	Relación soporte-material	Variable evaluada	Extracto, g	p/p, % (x ± s, n= 3)	Concentración capsorrubina (µg/g) (x ± s, n= 3)
2 mL	1:3	Cantidad de solvente	0,008	16,35 ± 0,79	395,54 ± 33,20
4 mL	1:3	Cantidad de solvente	0,009	17,24 ± 0,47	356,81 ± 60,29
2 mL	1:1	Relación soporte-material	0,007	13,39 ± 0,57	381,74 ± 16,64
2 mL	1:3	Relación soporte-material	0,008	16,35 ± 0,79	395,54 ± 33,20
2 mL	1:5	Relación soporte-material	0,008	16,77 ± 0,87	424,69 ± 53,37

Nota: Elaboración propia

4.2 Evaluación de parámetros de extracción para la especie *C. palmata*.

Un análisis de varianza (ANOVA) fue aplicado para evaluar las variables de estudio en los dos métodos de extracción (UAE y MSPD), teniendo en cuenta la concentración de capsorrubina determinado para cada extracto obtenido. (véase **Apéndices A-E**).

Para el método por UAE, se determinó que el solvente “etanol” generaba menor extracción de capsorrubina, siendo este resultado estadísticamente significativo con lo encontrado con *n*-hexano y acetona ($p < 0,05$). No obstante, no se determinaron diferencias significativas entre las medias de los datos obtenidos con estos dos últimos solventes ($p > 0,05$) (véase **Apéndice A**). Sin embargo, se decidió utilizar el solvente “acetona” porque se observó una ligera tendencia a aumentar la extracción de capsorrubina y, es bien conocido que la acetona es más versátil en la extracción de metabolitos de mediana polaridad, como los carotenoides (Kim, Park, & Hwang, 2004; De Rosso & Mercadante, 2007; Mercadante *et al.*, 2017).

De igual forma, al evaluar la cantidad de solvente de extracción (5, 7 y 10 mL) se determinó que no habian diferencias significativas entre 7 mL y 10 mL (véase **Apéndice B**), sin embargo, con 5 mL de acetona su valor p fue menor a 0,05, representando significancia estadística. Por tanto, se seleccionó un volumen de 7 mL de acetona como la cantidad adecuada para la extracción del analito de interés.

Por último, en cuanto a la variable de tiempo de extracción (5, 15 y 25 min), se determinó que con un tiempo de 25 minutos se alcanzó una mayor cantidad de extracción de capsorrubina; por tanto, esta variable se ajustó a 25 minutos como el tiempo más (véase **Apéndice C**).

Para la extracción por dispersión de matriz en fase sólida (MSPD) y, con base a los resultados obtenidos por UAE, se fijó desde un principio el uso de acetona como solvente de extracción. De los resultados del análisis estadístico, se determinó que no hubo diferencias estadísticamente significativas ni con la variable de volumen (2 y 4 mL) ($p = 0,3802$) ni con la relación soporte sólido-material vegetal (1:1, 1:3 y 1:5) (véase **Apéndice D y E**). Por lo tanto, para la extracción por MSPD, se determinó usar 2 mL en cantidad de solvente y una relación 1:1 de soporte sólido-material vegetal.

En la **Tabla 7** se presenta las condiciones de extracción seleccionadas para los métodos evaluados (UAE y MSPD). Como se mencionó en la sección **4.1**, el mayor rendimiento ($13,39 \pm 0,57$ % p/p para las condiciones establecidas) por parte de la extracción realizada por MSPD se atribuye a la disrupción de la muestra, permitiendo una mayor accesibilidad a las interacciones entre la matriz de la muestra y el absorbente. En consecuencia, como lo dice Mansur *et al.* (2020), la extracción MSPD es un método simple y eficiente, que implica pocos pasos y se puede aplicar en condiciones ambientales, sin el uso de alta energía, presiones o altas temperaturas, además, con poco solvente orgánico, sin necesidad de un equipo y con tiempos de preparación más cortos. No obstante, como otros estudios lo mencionan (Hyötyläinen, 2009), la desventaja es que la extracción MSPD es bastante laboriosa, ya que requiere triturar el material vegetal con la matriz sólida y, además, adicionarla en una columna para su extracción.

Tabla 7

Mejores condiciones encontradas para la extracción por UAE y MSPD para la especie vegetal C. palmata

Variables de extracción						
Método de extracción	Solvente	Cantidad de solvente, mL	Tiempo, min	Relación soporte-material	Rendimiento p/p, % ($x \pm s$, n= 3)	Concentración capsorrubina ($\mu\text{g/g}$) ($x \pm s$, n= 3)
UAE	Acetona	7	25	n.a	$2,99 \pm 0,06$	$286,34 \pm 2,77$
MSPD	Acetona	2	n.a	1:1	$13,39 \pm 0,57$	$381,74 \pm 16,64$

Nota: Elaboración propia

4.3 Análisis de capsorrubina por técnicas analíticas

4.3.1 Determinación de capsorrubina por UV-Vis.

La cuantificación de capsorrubina en los extractos obtenidos se realizó mediante espectrofotometría UV-vis, aprovechando las propiedades cromóforas de los carotenoides. Para el

análisis, el analito de interés se monitoreó a dos longitudes de onda (445 nm y 510 nm), que corresponden a los máximos de absorción característicos tanto de la capsorrubina como la luteína, así pues, análogo a como lo realizaron Murillo *et al.* (2021).

Se utilizaron los coeficientes de absorción específicos ($A^{1\%}$) reportados por Murillo *et al.* (2021) (véase en **Tabla 4**) para capsorrubina y luteína en metanol, lo que permitió calcular las concentraciones a partir de la absorbancia (véase **Ecuaciones 1-2**).

Los valores observados en la **Tabla 8** permitieron confirmar la presencia y concentración relativa de capsorrubina en los extractos evaluados, con $286,34 \pm 2,8$ μg de capsorrubina por g de material fresco por parte de la extracción de UAE, y, por MSPD, $381,74 \pm 16,64$ μg de capsorrubina por g de material fresco. Estas concentraciones coinciden con el rango encontradas en la literatura (Murrillo, y otros, 2024). Además, se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones relativas de capsorrubina para ambos métodos (UAE y MSPD) por una prueba t-test, con un valor p de 0,0425. De tal manera, se evidenció que la técnica UV-vis, con ventajas como su simplicidad y bajo costo, resulta adecuada para estos análisis, afirmando la utilidad de la espectrofotometría UV-vis como herramienta rápida y eficiente para la cuantificación de pigmentos naturales en extractos vegetales.

Tabla 8

Cuantificación de capsorrubina por UV-vis.

Método de extracción	Solvente	Concentración, μg Cap/g de material fresco ($x \pm s, n= 3$)	Prueba t-test	
UAE	Acetona	$286,34 \pm 2,8$	Valor p	0,0425
MSPD	Acetona	$381,74 \pm 16,64$	Shapiro-Wilk	0,2473

*Valores significativos

Nota: Elaboración propia

4.3.2 Identificación de capsorrubina por UPLC-TQD-MS

La identificación de capsorrubina en los extractos se confirmó mediante el análisis por UPLC-XEVO-MS/MS en modo SIR (por sus siglas en inglés *Selected Ion Recording*), utilizando como referencia un patrón primario del compuesto (capsorrubina, 99,9% pureza). En la **Figura 11** se observa el cromatograma del patrón, en un tiempo de retención de 14,19 minutos, así pues, como fragmentos moleculares característicos (véase **Tabla 9**): 601,00 m/z $[M+H]^+$; 583,40 m/z $[M+H-H_2O]^+$; 473,00 $[M+H-C_8H_{15}O_1]^+$; 109,00 $[M+H-C_{32}H_{42}O_3-H_2O]^+$. De la misma forma, se realizó la corrida del extracto en las mismas condiciones (véase en **Figura 12**), donde se observó un tiempo de retención muy cercano a 14,28 minutos (esta variación mínima puede deberse al efecto de matriz, la cual no fue evaluada en este estudio). En efecto, se detectaron los mismos iones de fragmentación presentes en el extracto, por ende, se confirmó con alta confiabilidad que el carotenoide de interés se encuentra en las muestras de estudio.

Estos resultados coinciden con los reportados por Jeknic *et al.* (2012) y Feng *et al.* (2022). En el segundo artículo mencionado, realizaron una identificación confirmatoria de la capsorrubina mediante HPLC-MS/MS y su patrón de fragmentación. Los cuales, se detallan los iones como el de 601,4 m/z , el 583,4 m/z , sin embargo, el ion más interesante que confirma la identificación de capsorrubina en los extractos obtenidos en esta investigación, es el de 109,1 m/z , así pues, no hay otro carotenoide que tenga estos tres iones en su patrón de fragmentación.

Tabla 9

Análisis del estándar primario “capsorrubina” realizado por UPLC-TQD-MS/MS

N° señal Fig. 11	Compuesto	Fórmula	Masa experimental, m/z	Iones producto	Fórmula	m/z	t_R , min
1	Capsorrubina	$C_{40}H_{56}O_4$	601,00	$[M+H-H_2O]^+$ $[M+H-C_8H_{15}O_1]^+$ $[M+H-C_{32}H_{42}O_3-H_2O]^+$	$C_{40}H_{55}O_3$ $C_{32}H_{42}O_3$ C_8H_{13}	583,40 473,00 109,00	14,19

Nota: Elaboración propia

Figura 11

Cromatograma de masas SIR por UPLC-TQD-MS del patrón de capsorrubina

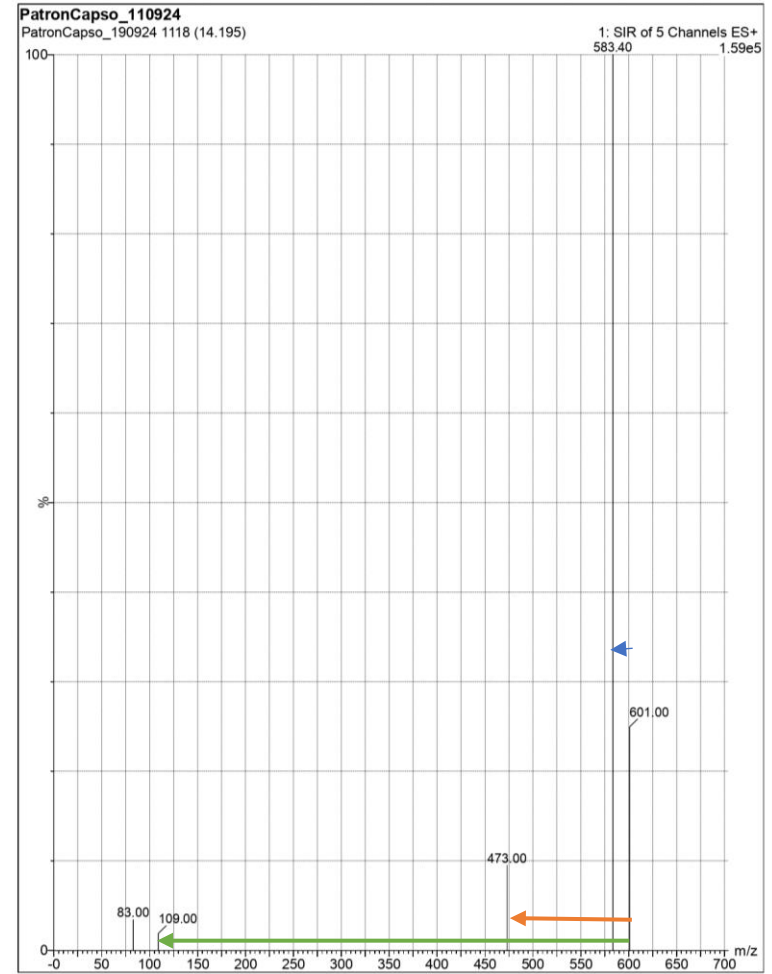
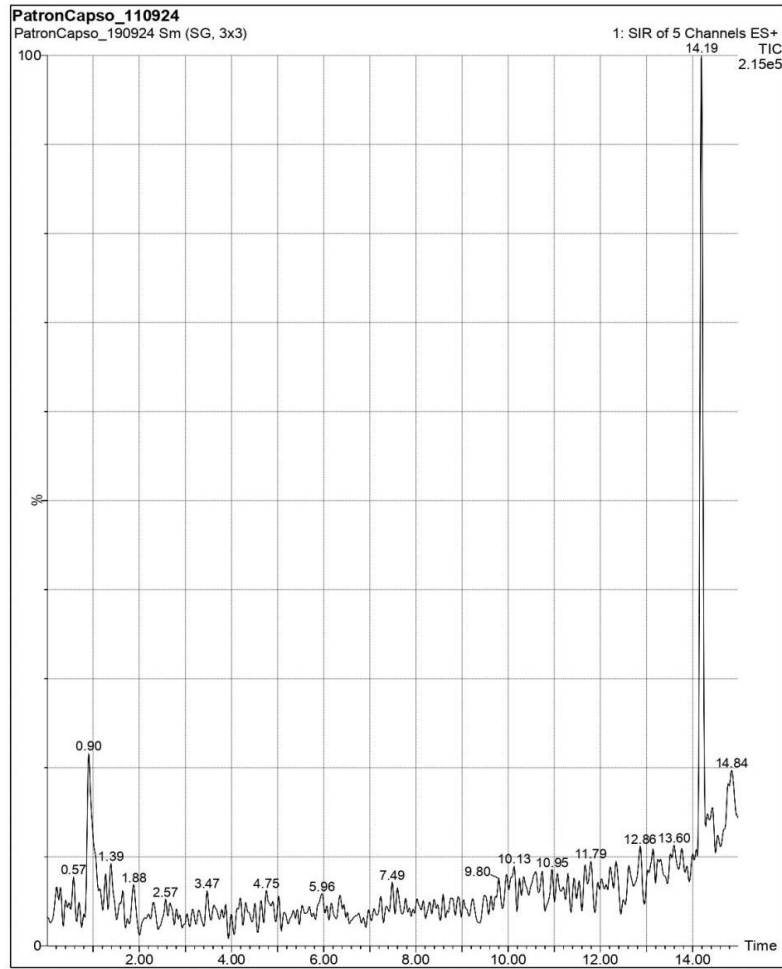


Figura 12

Cromatograma de masas SIR por UPLC-TQD-MS del extracto a partir de la C. palmata

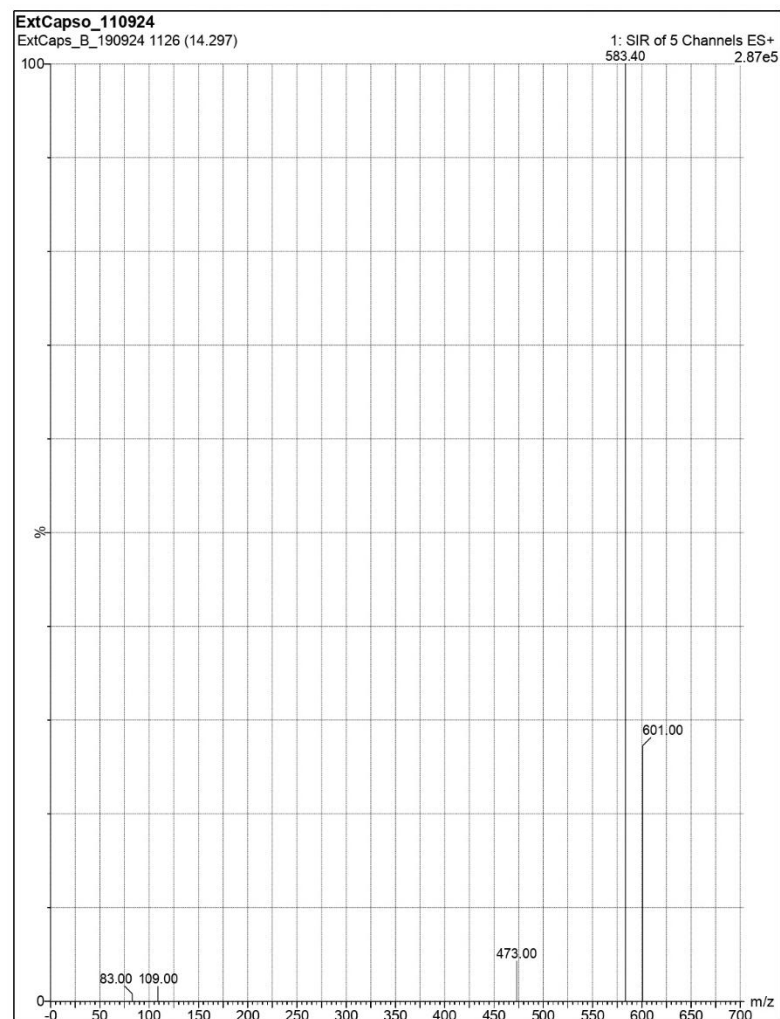
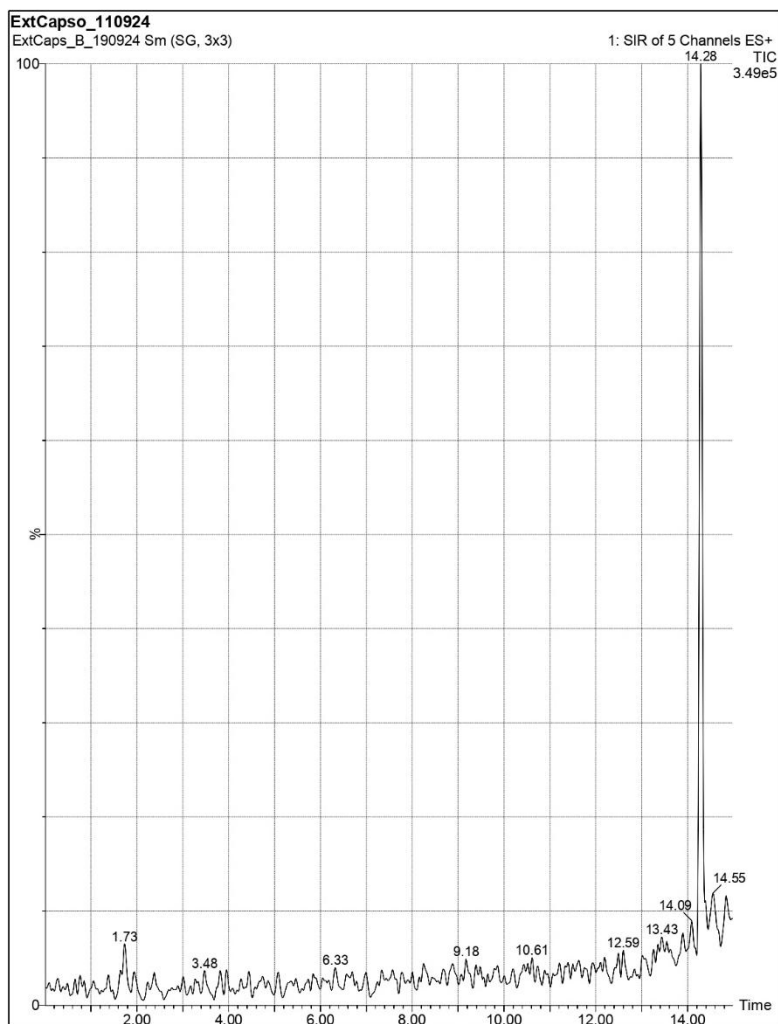
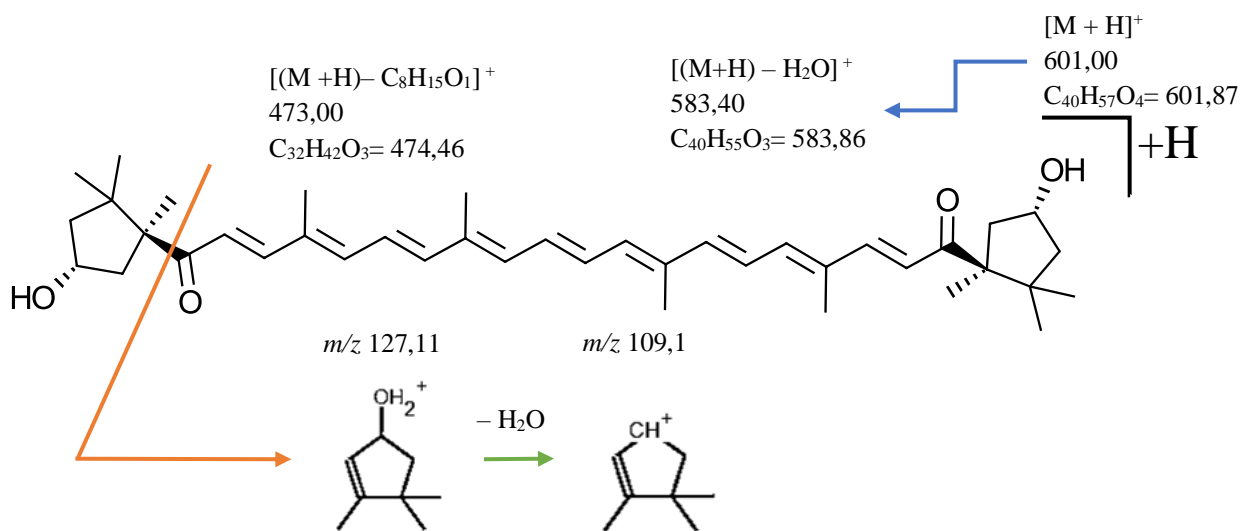


Figura 13*Mecanismo de fragmentación de la capsorrubina***Nota:** Elaboración propia

En la **Figura 13** se presenta el esquema general de fragmentación de la capsorrubina, el ion $[M+H]^+$ en m/z 601,00 pierde una molécula de agua, generando un producto $[(M+H)-H_2O]^+$ en m/z 583,4, asimismo, el ion precursor $[M+H]^+$ decae formando $[(M+H)-C_8H_{15}O_1]^+$ con la pérdida del anillo terminal-*k* en m/z 127,11. Seguido, este anillo terminal-*k* pierde una molécula de agua, generando otro fragmento en m/z 109,1, fragmento, que como se mencionó anteriormente, no está presente en otros carotenoides excepto en la capsorrubina (Feng *et al.*, 2022).

4.3.3 Identificación y cuantificación de capsorrubina por HPLC-DAD

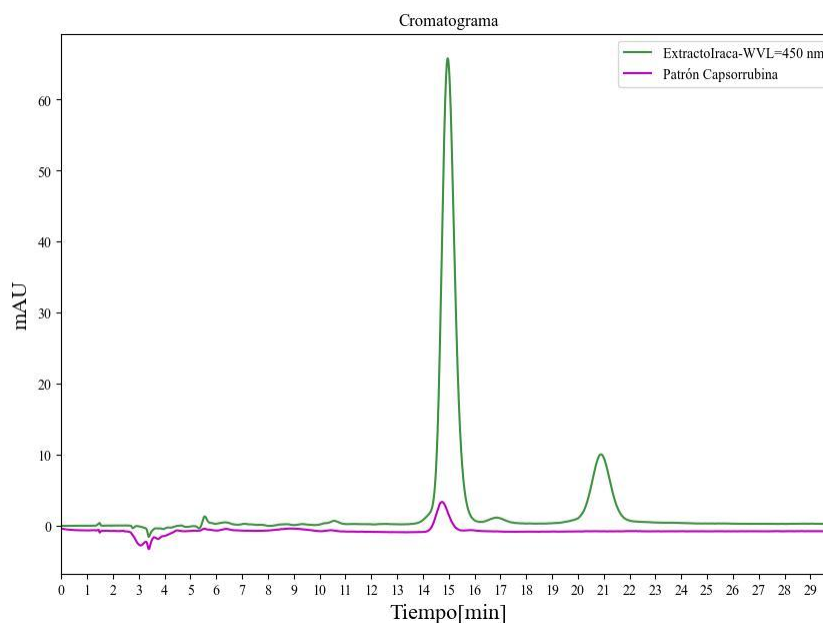
La presencia de capsorrubina en los extractos orgánicos también se analizó mediante HPLC acoplado a un detector de arreglo de diodos (DAD) por la comparación de los tiempos de retención del patrón y los cromatogramas de las muestras como se observa en la **figura 14**. En la imagen se muestra las señales superpuestas tanto de la capsorrubina en la muestra (color verde) con la del patrón estándar (color morado) a un tiempo de retención de 14,96 y 14,74 min, respectivamente (esta variación mínima puede deberse al efecto de matriz, la cual no fue evaluada en este estudio).

En este caso, la detección se llevó a cabo a 450 nm, una longitud de onda característica de absorción de carotenoides debido a su sistema conjugado de doble enlaces, otorgándole su coloración rojiza distintiva. Adicionalmente, se observó que la capsorrubina es el compuesto mayoritario en el extracto orgánico, dada la intensidad de la señal cromatográfica.

Diversos estudios en la literatura (De Azevedo-Meleiro & Rodriguez-Amaya, 2009; Murillo *et al.*, 2024; Murrillo *et al.*, 2021), han identificado capsorrubina, en diversas plantas así como en el fruto de la *C. palmata* utilizando HPLC-DAD, demostrando que es una técnica que ofrece buena resolución y la capacidad para detectar compuestos basándose en la absorción en el espectro del UV-vis.

Figura 14

Comparación de los cromatogramas por HPLC-DAD del extracto (en verde) y patrón de referencia (capsorrubina, en morado) a 450 nm



Nota: Elaboración propia

4.3.3.1 Figuras de mérito

En la **Tabla 10** se muestran los resultados para la repetibilidad y reproducibilidad del método por HPLC-DAD, para áreas cromatográficas de los extractos obtenidos por los dos métodos de extracción. En cuanto a la repetibilidad intradía, los coeficientes de variación para el método UAE están entre 7,6-9,0 %, mientras que para MSPD, oscilaron entre 1,6-2,0 %. Lo anterior indica que existe menos variabilidad cuando se utiliza MSPD como método de extracción.

Asimismo, la reproducibilidad interdía con valores de 0,80 % para UAE, en contraste a un 0,24 % para los extractos por MSPD, reafirmando la alta estabilidad de ambos métodos en el tiempo. En efecto, estos resultados son indicativos de una buena robustez del procedimiento analítico, esencial para generar unos resultados confiables.

Tabla 10

Repetibilidad y reproducibilidad en áreas cromatográficas del extracto por HPLC-DAD.

Método de extracción		Área \pm s, intradía (n=3)	CV, %	Área \pm s, interdía (n=3)	CV, %
UAE	Día 1	1274,47 \pm 97,79	7,7	1273,79 \pm 10,23	0,80
	Día 2	1283,67 \pm 115,83	9,0		
	Día 3	1263,25 \pm 96,62	7,6		
MSPD	Día 1	748,57 \pm 11,56	1,5	746,96 \pm 1,83	0,24
	Día 2	747,35 \pm 15,04	2,0		
	Día 3	744,97 \pm 12,27	1,6		

Nota: CV: Coeficiente de variación. Elaboración propia.

En general, se determinó que ambos métodos de extracción generan resultados apropiados para el análisis cuantitativo de capsorrubina, con una baja variabilidad entre éstos, destacando los resultados por MSPD con una menor dispersión en los datos tanto en el análisis intradía e interdía.

En la **Tabla 11** se detallan el límite de detección (LOD) en 2,8 μM y cuantificación (LOQ) en 9,5 μM del método HPLC-DAD para cuantificar capsorrubina. El coeficiente de determinación $R^2 = 0,994$ concluye un método lineal en el rango de concentraciones evaluadas entre 2,5-40 μM de la sustancia patrón (véase curva de calibración en **Apéndice F**), en este caso el β -caroteno.

Tabla 11

Linealidad y sensibilidad determinadas por HPLC-DAD para la sustancia patrón.

Compuesto	Fórmula	Ecuación	Rango lineal, μM	R^2	S_A	LOD, μM	LOQ μM
β -Caroteno	$\text{C}_{40}\text{H}_{56}$	$y = 60580,66x - 81,23$	2,5-40	0,994	57,61	2,8	9,5

Nota: S_A : Desviación del intercepto; LOD: Límite de detección; LOQ: Límite de cuantificación.

4.3.3.2 Cuantificación relativa de capsorrubina en los extractos

La cuantificación de capsorrubina se realizó por medio del análisis por HPLC-DAD, usando una curva de calibración externa (**Apéndice F**) de estándar de β -caroteno con una pureza $\geq 95\%$ (HPLC). Para calcular las concentraciones de capsorrubina en los extractos orgánicos (obtenidos por UAE y MSPD), se utilizó la ecuación generada mediante regresión lineal (véase **Tabla 11**). Posteriormente, se aplicó un factor de respuesta de 0,5 a cada concentración obtenida, con el objetivo de ajustar las variaciones en la respuesta espectral entre los distintos carotenoides. Este valor se basó en los coeficientes de absorción específica ($A^{1\%}$) de cada uno de ellos reportados en la literatura: Rodríguez- Amaya. (1999) determinó un valor de 2620 en etanol a 445 nm para el beta-caroteno, y Murillo *et al.* (2021) reportó un coeficiente de 1353,3 en etanol a 450 nm para la capsorrubina, lo cual permite establecer una correlación cuantitativa adecuada entre ambos carotenoides.

En la **Tabla 12** se muestra que para el método MSPD se calculó una concentración de $144,57 \pm 0,32$ μg por gramo de material fresco, en contraste, $40,17 \pm 0,71$ $\mu\text{g/g}$ por parte de la extracción por el método UAE. Esta diferencia notable sugiere que el protocolo MSPD resulta ser

más eficiente en la extracción del metabolito de interés (capsorrubina) a partir de la especie vegetal *C. palmata*. Resultados similares fueron reportados por Jung *et al* (2025) para la especie vegetal *C. annuum* (pimiento rojo) en estado de maduración rojo y crudo, cuantificando un contenido de capsorrubina de $135,79 \pm 7,90 \mu\text{g/g}$ y, además, también cuantificaron los carotenoides luego de ser salteados, observando una disminución leve para la capsorrubina en pimiento rojo con una cantidad de $118,10 \pm 2,35 \mu\text{g/g}$. En efecto, resalta las posibles aplicaciones de la capsorrubina en el desarrollo de alimentos funcionales y productos procesados de mayor valor nutricional y que promueven la salud. Por lo tanto, para nuestro estudio, la capsorrubina es un analito bioactivo de interés para el desarrollo de productos alimenticios a partir de la *C. palmata*

De la misma forma, se destacan los valores bajos de las desviaciones estándar, lo que muestra una alta precisión del método analítico, en suma, a los resultados positivos por parte del método MSPD, respalda su aplicabilidad en futuros estudios orientados a la extracción y caracterización de carotenoides a partir de especies vegetales.

Si bien, la estimación por medio del factor de respuesta puede implicar cierto grado de incertidumbre debido a los muchos factores que pueden afectar esta medición, se contempla como una opción aceptable ante la falta de un estándar puro de capsorrubina (estándar primario que, durante la investigación, debido a su inestabilidad a la luz y temperatura, se degradó). Por esta razón, no se pudo continuar el análisis con el estándar primario de capsorrubina, por tanto, fue necesario utilizar un estándar de beta-caroteno (pureza >95%, HPLC), principalmente por los costos y por su similitud con la molécula de interés.

Tabla 12

Cuantificación de capsorrubina por HPLC-DAD y estándar externo a partir del extracto obtenido por UAE y MSPD

Compuesto	μg de Capsorrubina/g de material fresco, valor \pm s (n=3)	
	Extracción por UAE	Extracción por MSPD
Capsorrubina	40,17 \pm 0,71	144,57 \pm 0,32

Nota: Elaboración propia

4.3.4 Identificación y cuantificación de capsorrubina por q-TLC

Como se observa en la **Figura 14**, se corrió el extracto de la infrutescencia (**E**: carril del extracto) y el patrón de capsorrubina (**P**: carril del patrón estándar) en la misma placa de TLC para determinar que macha o spot corresponde al carotenoide de interés, el patrón y el spot adyacente muestran un factor de retención (R_f) de 0,65. De este modo, la coincidencia del valor del factor de retención y el color característico de la capsorrubina indican la presencia de este mismo en el extracto, resultado previamente respaldado por los análisis realizados por UPLC-MS y HPLC-DAD.

Hernandez-Ortega *et al.* (2012) muestran la separación para pimientos por TLC, con un factor de retención diferente (más bajo 0,34) con *n*-hexano:éter de petróleo:acetona (1:2:1). En cambio, en esta investigación se reemplazó el éter de petróleo por éter etílico. En este caso, siendo el éter etílico más polar, favorece el ascenso de compuestos más polares como los carotenoides con oxígenos o hidroxilos (como la capsorrubina), aumentando el R_f del compuesto.

Figura 15

Placa de TLC extracto orgánico (E) vs patrón de capsorrubina (P)



Nota: Foto tomada por el autor Camilo Camargo. Lugar: Laboratorio de Bioquímica y compuestos naturales UIS.

La cromatografía en capa fina es una herramienta útil para la identificación preliminar de componentes bioactivos cuando se dispone de patrones de referencia. En esta ocasión, la separación del extracto y la concordancia con el patrón indica que la capsorubina es uno de los principales carotenoides presentes en el extracto orgánico a partir de la infrutescencia de la *C. pamlmata*.

4.3.4.1 Figuras de mérito

En la **Tabla 13** se presentan las figuras de mérito del método q-TLC, se determinó un límite de detección (LOD) de 2,9 μM y un límite de cuantificación (LOQ) de 9,6 μM . Se presentó un comportamiento lineal en el rango de 2,5 a 40 μM , con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,984. Se aplicó un volumen fijo de 2 μL sobre las placas de TLC, tanto para los extractos orgánicos como para la sustancia de referencia (beta-caroteno).

Tabla 13

Linealidad y sensibilidad determinadas por q-TLC para la sustancia patrón.

Especie	Fórmula	Ecuación	Rango lineal, μM β- caroteno	R ²	S _A	LOD, μM	LOQ, μM
β-Caroteno	C ₄₀ H ₅₆	$y = 312845x + 1431,2$	2,5-40	0,984	301,17	2,9	9,6

Nota: S_A: Desviación del intercepto; LOD: Límite de detección; LOQ: Límite de cuantificación

4.3.4.2 Cuantificación de capsorrubina por q-TLC

Diversos estudios (Harmon *et al.*, 2024; Gad *et al.*, 2025) utilizan q-TLC para la identificación y cuantificación de fármacos, destacando el desarrollo de aplicaciones de cromatografía en capa fina acoplada con la captura y el análisis de imágenes a través de teléfonos inteligentes. Por otra parte, no solo es utilizado en la industria farmacéutica, Cui *et al.* (2024) cuantifica saponinas a partir del té en muestras de plantas de camelia, evidenciando la especificidad del método en matrices complejas, pero hasta el momento, no hay reportes de cuantificación de carotenoides por este método.

La cuantificación de capsorrubina mediante el método q-TLC, implementando análisis de imagen con el software ImageJ, permitió calcular de manera semicuantitativa el contenido de este metabolito de interés en los extractos obtenidos por los métodos de extracción UAE y MSPD.

La captura de la imagen fue tomada en condiciones estandarizadas dentro de una cámara de iluminación diseñada específicamente para esta investigación, utilizando el Redmi Note 8 como teléfono inteligente y luz blanca como fuente. De esta manera, mediante la curva de calibración (véase **Apéndice G**) se cuantificó la capsorrubina de manera aproximada presente en los extractos orgánicos como equivalentes de beta-caroteno por gramo de material fresco (**Tabla 14**). Los resultados muestran una mayor concentración del carotenoide en los extractos obtenidos por MSPD con $357,89 \pm 63,14$ μg de capsorrubina por gramo de material fresco, en comparación a los $98,79 \pm 10,54$ μg/g mediante UAE.

Los valores obtenidos son coherentes con los observados en la cuantificación previa por HPLC-DAD, manteniendo la tendencia de una mayor concentración y rendimiento de extracción por parte del método MSPD. No obstante, este sistema basado en el análisis de imagen es de tipo indirecto, dependiendo de factores como la homogeneidad de la iluminación y la resolución de la imagen. Así pues, representa una herramienta útil, de bajo costo y accesible en la identificación de compuestos bioactivos.

Tabla 14

Cuantificación de capsorrubina como equivalentes de beta-caroteno por q-TLC y estándar externo a partir del extracto obtenido por UAE y MSPD

Compuesto	µg de equivalentes de beta-caroteno/g de material fresco, valor ± s (n=3)	
	Extracción por UAE	Extracción por MSPD
Capsorrubina	98,79 ± 10,54	357,55 ± 63,16

Nota: Elaboración propia

La capsorrubina es un analito de interés dado a su potencial bioactivo y, las concentraciones detectadas (por UV-Vis, HPLC-DAD y q-TLC) de capsorrubina evidencian que está presente en las infrutescencias de la *C. palmata*. Primeramente, las concentraciones elevadas de la cuantificación relativa de capsorrubina por UV-Vis (véase **Tabla 8**) se debe a que posiblemente no este cuantificando en específico el analito de interés, sino que, otros carotenoides rojos que absorben fotones a la longitud de onda cercana a la establecida (445 nm), como zeaxantina que su longitud de onda máxima medida en etanol es de 450 nm, violaxantina igualmente en etanol a 440 nm o anteraxantina en etanol a 446 nm (Rodríguez- Amaya, 1999). Por otro lado, la cuantificación por HPLC-DAD (véase **Tabla 12**) brinda valores que están acordes en la literatura (Jung *et al.*,

2025), debido a la separación cromatográfica y el análisis espectral simultáneo, además, permitió una cuantificación directa al utilizar un estándar de referencia (beta-caroteno). Finalmente, para *q*-TLC (véase **Tabla 14**), presentó valores de concentración de capsorrubina ligeramente elevados para los extractos orgánicos obtenidos por UAE, sin embargo, la concentración para los extractos orgánicos obtenidos por MSPD es demasiado alta, dicha diferencia obtenida por este método posiblemente se deba al hecho de que el beta-caroteno y la capsorrubina tienen diferentes colores y polaridades, lo que puede generar diferencias en la intensidad visual (densitometría) y migración, por tanto, se decidió expresar en equivalentes de beta-caroteno, siendo una cuantificación aproximada debido a la falta de estándar primario de capsorrubina. Con base a los resultados obtenidos, se recomienda *q*-TLC en entornos donde no haya presupuesto para un equipo más robusto como lo es el HPLC-DAD, con matrices más simples para su cuantificación. Por último, se recomienda para futuros estudios investigar más en la cuantificación de compuestos en matrices complejas como lo son los extractos orgánicos

Debido a sus propiedades antioxidantes y colorantes, la capsorrubina es un compuesto prometedor para el desarrollo y la formulación de alimentos funcionales a base de la infrutescencia de la palma de iraca (como se mencionó en la sección **4.3.3.2**), aportando beneficios para la salud como un aprovechamiento sostenible a partir de esta infrutescencia vegetal, que hasta el momento, es considerado como residuo orgánico.

5. Conclusiones

La evaluación comparativa de los métodos de extracción UAE y MSPD demostraron que ambos son eficaces en el aislamiento de la capsorrubina a partir de la infrutescencia de la especie vegetal *C. palmata*; sin embargo, MSPD presentó una mayor eficiencia en la extracción, reflejada en un mayor rendimiento del metabolito de interés, lo que lo posiciona como una alternativa prometedora para la extracción de carotenoides objetivo.

Los extractos obtenidos mediante los métodos UAE y MSPD mostraron una diferencia significativa en su rendimiento de extracción. MSPD logró extraer cantidades superiores de capsorrubina, lo que sugiere una mayor eficacia en la disrupción de la matriz vegetal y una mejor transferencia de masa del compuesto objetivo hacia el solvente de extracción.

La capsorrubina fue identificada exitosamente en los extractos por medio de técnicas cromatográficas UPLC-MS, HPLC-DAD y TLC/análisis de imagen, evidenciando una coincidencia en tiempos de retención y iones moleculares con el patrón de referencia. Además, la cuantificación confirmó la mayor concentración en los extractos por MSPD, validando la utilidad de métodos alternativos como *q*-TLC para estudios de análisis semicuantitativos para entornos con recursos limitados.

Referencias bibliográficas

- Allwood, J. W., & Goodacre, R. (2010). An introduction to liquid chromatography–mass spectrometry instrumentation applied in plant metabolomic analyses. *Phytochemical Analysis*, 21, 33-47. doi:10.1002/pca.1187
- Anderson, D. J. (1999). High-Performance Liquid Chromatography in clinical analysis. *Analytical Chemistry*, 71, 314R-327R. doi:10.1021/a1999904m
- Barker, S. A. (2007). Matrix Solid-Phase Dispersion (MSPD). *Journal of biochemical and biophysical methods*, 70, 151-162. doi:10.1016/j.jbbm.2006.06.005
- Barker, S. A., Long, A. R., & Short, C. R. (1989). Isolation Of Drug Residues From Tissues By Solid Phase Dispersion. *Journal of chromatography*, 475, 353-361. doi:https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)89689-8
- Bennett, B. C., Alarcón, R., & Cerón, C. (1992). The ethnobotany of *Carludovica palmata* Ruiz & Pavón (Cyclanthaceae) in Amazonian Ecuador. *Journal of Economic Botanic*, 46(3): 233-240. doi:https://doi.org/10.1007/BF02866622
- Bulugahapitiya, V. (2013). *Plants Based Natural Products Extraction, Isolation and Phytochemical Screening Methods*. Ruhuna.
- Caceres, M., Hidalgo, W., Stashenko, E., Torres, R., & Ortiz, C. (2020). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Anti-Biofilm and Anti-Quorum Sensing Activities against Pathogenic Bacteria. *Antibiotics*, 9(4): 147. doi:https://doi.org/10.3390/antibiotics9040147
- Cardenas, F. P., Alcázar, S. C., Coutinho, J. P., Teixeira, H., Forster, T., & Meireles, M. A. (2015). Pressurized liquid extraction and low-pressure solvent extraction of carotenoids from

- pressed palm fiber: Experimental and economical evaluation. *Food and Bioproducts Processing*, 94: 90-100. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.01.006>
- Carreño, A. M. (1993). La industria femenina de los sombreros, 24% de las exportaciones en 1858. *Revista credencial historia.BOGOTÁ*, edición 43.
- Cholnoky, L., & Szabolcs, J. (1957). The structure of capsanthin and capsorubin. *Naturwissenschaften*, 44, 513-514.
- Claramount V, R. M., Farrán, M. d., López, C., Pérez, M., & Santa María, D. (2013). *Química bioorgánica y productos naturales*. UNED.
- ColombiaArtesanias de Colombia, M. d. (agosto de 2022). *Artesaniasdecolombia.com.co*.
Obtenido de https://artesaniasdecolombia.com.co/Documentos/Contenido/40671_empalme_jd_v2_15072022_todo_m6.pdf
- Conrado Iglesias, L. E. (1999). *El cultivo de palma de iraca en el municipio de Usiacurí y otras regiones*. Barranquilla: Editorial Mejoras.
- Cui, C., Wu, Y., Guo, X., Hong, Z., Xiao, J., Wan, X., . . . Hou, R. (2024). Accurate and rapid quantification of tea saponins using a thin-layer chromatography (TLC) method based on hemolysis and machine vision. *LWT- Food Science and Technology*, 199(116139). doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116139>
- De Aguiar, A. C., Vigano, J., da Silva, A. G., Baiao, A. L., Dupas, M., & Martínez, J. (2022). Supercritical fluids and fluid mixtures to obtain high-value compounds from Capsicum peppers. *Food chemistry: X*, 13. doi:[10.1016/j.fochx.2022.100228](https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100228)

- De Azevedo-Meleiro, C., & Rodriguez-Amaya, D. (2009). Qualitative and quantitative differences in the carotenoid composition of yellow and red peppers determined by HPLC-DAD-MS. *Journal of Separation Science*, 32(21), 3652-3658. doi:10.1002/jssc.200900311
- De Rosso, V., & Mercadante, A. (2007). Identification and Quantification of Carotenoids, By HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 55, 5062-5072. doi:10.1021/jf0705421
- Feng, X., Yu, Q., Li, B., & Kan, J. (2022). Comparative analysis of carotenoids and metabolite characteristics in discolored red pepper and normal red pepper based on non-targeted metabolomics. *LWT-Food Science and Technology*, 153, 112398. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112398
- Fernández-Ronco, M. P., Gracia, I., De Lucas, A., Rodríguez, & F., J. (2012). Extraction Of Capsicum Annum Oleoresin By Maceration And Ultrasound-Assisted Extraction: Influence Of Parameters And Process Modeling. *Journal of Food Process Engineering*. doi:10.1111/j.1745-4530.2012.00702.x
- Fhionnlaioich, N. M., Ibsen, S., Serrano, L. A., Taylor, A., Qi, R., & Guldin, S. (2018). *Journal of Chemical Education*, 95(12), 2191-2196. doi:10.1021/acs.jchemed.8b00144
- Fratila, R. M., & Velders, A. H. (2011). Small-Volume Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 4: 22-249. doi:https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061010-114024
- Frederico, D., Constantino, M. G., & Donate, P. M. (2009). Total Synthesis of (3S, 5R, 3'S, 5'R)-Capsorubin. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 20, No. 5, 888-894, 2009. doi:https://doi.org/10.1590/s0103-50532009000500013

- Gad, A. G., Kelani, K. M., Mahmoud, A. M., & Arafa, R. M. (2025). TLC- smartphone for ofloxacin and dexamethasone determination in pharmaceutical formulation and rabbit aqueous humor. *Journal of Chromatography B*, 1254(124485). doi:<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2025.124485>
- Galviz-Quezada, A., Ochoa, A., Arias, M., Ochoa, S., & Osorio-Tobon, J. F. (2023). Obtaining phenolic compounds from iraca waste(*Carludovica palmata*, Ruiz and Pav.) through ultrasound-assisted extraction. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(6), 4965-4976. doi:10.1007/s13399-021-01490-1
- Gentili, A., & Caretti, F. (2011). Evaluation of a method based on liquid chromatography–diode array detector–tandem mass spectrometry for a rapid and comprehensive characterization of the fat-soluble vitamin and carotenoid profile of selected plant foods. *Journal of Chromatography A*, 1218(5), 684-692. doi:10.1016/j.chroma.2010.12.001
- Gerster, H. (1997). The Potential Role of Lycopene for Human Health. *Journal of the American College of Nutrition*, 16(2), 109-126. doi:10.1080/07315724.1997.10718661
- Gross, J. H. (2004). *Mass Spectrometry*. Berlin: Springer. doi:<https://doi.org/10.1007/978-3-319-54398-7>
- Harmon, C. L., Butts, S., Sowers, M. E., Bethea, E., & Jenkins, D. (2024). Quantification of Metronidazole in Tablets: Combining Thin-Layer Chromatography in the GPHF-Minilab™ with Image Processing Using Open-Source ImageJ Software. *Analytica*, 5(4), 538-551. doi:<https://doi.org/10.3390/analytica5040036>
- Hernández-Ortega, M., Ortiz-Moreno, A., Hernández-Navarro, M., Chamorro-Cevallos, G., Dorantes-Alvarez, L., & Necoechea-Mondragon, H. (2012). Antioxidant, antinociceptive,

- and anti-inflammatory effects of carotenoids extracted from dried pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1-10. doi:10.1155/2012/524019
- Hirayama, O., Nakamura, K., & Hamada, S. K. (1994). Singlet Oxygen Quenching Ability of Naturally Occurring Carotenoids. *Lipids*, Vol 29, N°2 : 149-150. doi:https://doi.org/10.1007/bf02537155
- Hirschberg, J., Cohen, M., Harker, M., Lotan, T., Mann, V., & Pecker, I. (1997). Molecular genetics of the carotenoid biosynthesis pathway in plants and algae. *Pure & Appl. Chem*, 69(10), 2151-2158. doi:doi.org/10.1351/pac199769102151
- Hoyos Sánchez, R. A., Chicaíza, D., & Zambrano, J. C. (2020). in vitro multiplication of Iraca palm(*Carludovica palmata* Ruíz & Pavón). *Revista Facultad nacional de agronomía*, 73(1): 9039-9046. doi:https://doi.org/10.15446/rfnam.v73n1.80139
- Huang, P., Yu, Q., Feng, X., Ma, C., & Kan, J. (2022). Optimization of accelerated solvent extraction of paprika oleoresin and its effect on capsaicinoid and carotenoid composition . *Journal of Food Composition and Analysis*, 110, 104589. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104589
- Hyötyläinen, T. (2009). Critical evaluation of sample pretreatment techniques. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394(3), 743-758. doi:10.1007/s00216-009-2772-2
- institucional, D. (2021). *Manual de gestión integrado* . Bucaramanga: UIS.
- Jarén-Galan, M., Nienaber, U., & Schwartz, S. J. (1999). Paprika (*Capsicum annuum*) oleoresin extraction with supercritical carbon dioxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3558-3564. doi:10.1021/jf9900985
- Jeknic, Z., Morré, J., Jeknic, S., Jevremović, S., Subotic, A., & Chen , T. (s.f.). Cloning and Functional Characterization of a Gene for Capsanthin-Capsorubin Synthase from Tiger

- Lily (*Lilium lancifolium* Thunb. 'Splendens'). *Plant And cell Physiology*, 53(11), 1899-1912. doi:10.1093/pcp/pcs128
- Jin, G., Liu, Y., Xue, S., Meng, Y., Yan, J., Yang, F., . . . Liang, X. (2019). Determination of Three Carotenoids in Microalgae by Matrix Solid-Phase Dispersion Extraction and High-Performance Liquid Chromatography. *Chromatographia*, 82, 1593-1601. doi:https://doi.org/10.1007/s10337-019-03795-w
- Jung, Y.-J., Ahn, S.-M., Lee, H., Seo, M.-J., Kim, J. K., & Kim, D.-O. (2025). Quantification of carotenoids in Korean fruits and vegetables using reverse-phase HPLC. *Food Science and Biotechnology*(112773). doi:10.1007/s10068-025-01861-8
- Kim, s., Park, J., & Hwang, I. K. (2004). Composition of Main Carotenoids in Korean Red Pepper (*Capsicum annuum*, L.) and Changes of Pigment Stability During the Drying and Storage Process. *Food Chemistry and Toxicology*, 69(1), 39-44.
- Kimura, M., & Rodriguez-Amaya, D. B. (2002). A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. *Food Chemistry*, 78, 389-398. doi:10.1016/S0308-8146(02)00203-0
- Krzyzanowska, J., Czubacka, A., & Oleszek, W. (2010). Dietary Phytochemicals and Human Health. En M. T. Giardi, G. Rea, & B. Berra, *Bio-Farms for Nutraceuticals* (págs. 74-76). United States: Springer.
- Kumar Jha, A., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119: 579-591. doi:https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review.

Ultrasonics-Sonochemistry, 70, 105325.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>

Lloyd, P. J., & Van Wyk, J. (2012). Introduction to extraction in food processing. En N. Lebovka, E. Voroviev, & F. Chemat, *Enhancing Extraction Processes in the Food Industry* (págs. 1-24). Boca Raton: CRC Press.

Luykx, D. M., Peters, R. J., Van Ruth, S. M., & Bouwmeester, H. (2008). A Review of Analytical Methods for the Identification and Characterization of Nano Delivery Systems in Food. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56: 8231-8247. doi:<https://doi.org/10.1021/jf8013926>

Maeda, H., Nishino, A., & Maoka, T. (2021). Biological Activities of Paprika carotenoids, Capsanthin and Capsorubin. En N. Misawa, *Carotenoids: -Biosynthetic and biofunctional Approaches* (págs. 285-293). Ishikawa, Japan: Springer Singapore.

Maeda, H., Saito, S., Nakamura, N., & Maoka, T. (2013). Paprika Pigments Attenuate Obesity-Induced Inflammation in 3T3-L1 Adipocytes. *International Scholarly Research Notices*, 2013, 1-9. doi:<https://doi.org/10.1155/2013/763758>

Mangels, A. R., Holden, J. M., Beecher, G. R., Forman, M. R., & Lanza, E. (1993). Carotenoid content of fruits and vegetables: An evaluation of analytic data. *Journal of the American Dietetic Association*, 93(3), 284-296. doi:[https://doi.org/10.1016/0002-8223\(93\)91553-3](https://doi.org/10.1016/0002-8223(93)91553-3)

Mansur, A., Kim, K., Kim, D.-B., Yoo, M., Jang, H., Kim, D.-O., & Nam, T. (2020). Matrix solid-phase dispersion extraction method for HPLC determination of flavonoids from buckwheat sprouts. *LWT*, 133, 110121. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110121>

- Maoka, T., Goto, Y., Isobe, K., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., & Mochida, K. (2001). Antioxidative activity of capsorubin and related compounds from paprika. *J. Oleo Sci*, 50: 663-665. doi:<https://doi.org/10.5650/jos.50.663>
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistr*, 3: S253- S260. doi:[https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(96\)00034-X](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(96)00034-X)
- Mercadante, A., Rodrigues, D., Petry, F., & Barros, L. R. (2017). Carotenoid esters in foods - A review and practical directions on analysis and occurrence. *Food Research International*, 99, 830-850. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.018>
- Miller, J., & Miller, J. C. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Madris: Prentice Hall.
- Molnar, J., Gyemant, N., Mucsi, I., Molar, A., Szabo, M., Körtvélyesi, T., . . . Toth, G. (2004). Modulation of Multidrug Resistance and Apoptosis of cancer cells by selected carotenoids. *in vivo*, 18: 237-244.
- Murakami, A., Nakashima, M., Koshiha, T., & Maoka, T. .. (2000). Modifying effects of carotenoids on superoxide and nitric oxide generation from stimulated leukocytes. *Cancer Letters*, 149: 115-123. doi:[https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(99\)00351-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(99)00351-1)
- Murillo, E., Nagy, V., Menchaca, D., Deli, J., & Agócs, A. (2024). Changes in the Carotenoids of *Zamia dressleri* Leaves during Development. *MDPI*, 13(9), 1251. doi:[10.3390/plants13091251](https://doi.org/10.3390/plants13091251)
- Murrillo, E., Deli, J., Nagy, V., Molinar-Toribio, E., Sándor, V., Marton, K., & Agócs, A. (2021). Carotenoid profile of two capsorubin-rich tropical plants. *Journal of foof composition and analysis*, 97, 103798. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103798>

- Novakova, L., Svoboda, P., & Pavlik, j. (2017). Ultra-high performance liquid chromatography. *Liquid Chromatography*, 29, 719-769.
- Passos, M., & Saraiva, L. (2019). Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. *Measurement*, 135, 896-904. doi:<https://doi.org/10.1016/j.measurement.2018.12.045>
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2014). *Introduction to spectroscopy*. Stamford: Cengage Learning.
- Pomin, V. H. (2014). NMR Chemical Shifts in Structural Biology of Glycosaminoglycans. *Analytical chemistry*, Vol. 86, 65-94. doi:10.1021/ac401791h
- Putzbach, K., Krucker, M., Albert, K., Geusak, M. A., Tang, G., & Dolnikowski, G. (2005). Structure Determination of Partially Deuterated Carotenoids from Intrinsically Labeled Vegetables by HPLC-MS and ¹H NMR. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 671-677. doi:10.1021/jf0487506
- Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, Vol. 55, 207-216. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>.
- Rasul, M. (2018). Extraction, Isolation and Characterization of Natural Products from Medicinal Plants. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*, 2(6), 1-6.
- Rodriguez- Amaya, D. B. (1999). *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington, DC: ILSI Press.
- Rodriguez-Concepción, M. (2014). *Plant Isoprenoids: a general overview*. New York: Springer.
- sanitario, C. t. (2008). *Manual de manejo de residuos peligrosos en la facultad de salud*. Bucaramanga: UIS.

- Schindelin, J., Rueden, C., Hiner, M., & Eliceiri, K. (2015). The ImageJ Ecosystem: An Open Platform for BiomedicalImage Analysis. *Molecular Reproduction & Development*, 82(7-8), 518-529. doi:<https://doi.org/10.1002/mrd.22489>
- Schmidt, B. M., & Klaser Cheng, D. (Edits.). (2017). *Ethnobotany: A Phytochemical perspective*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Schneider, C., Rasband, W., & Eliceiri, K. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*(9), 671-675. doi:<https://doi-org.bibliotecavirtual.uis.edu.co/10.1038/nmeth.2089>
- Shim, Y.-S., Kim, K.-J., & Seo, D. (2013). Simultaneous Determination of Free Capsorubin and Capsanthin in Red Pepper Powder Using u-HPLC. *Journal of AOAC International*, 96(2), 341-345. doi:10.5740/jaoacint.12-179
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2017). *Principles of instrumental analysis* (7a ed.). Cengage learning.
- Sowers, M., Ambrose, R., Bethea, E., & Harmon, C. (2022). Quantitative thin layer chromatography for the determination of medroxyprogesterone acetate using a smartphone and open-source image analysis. *Journal of Chromatography A*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462942>
- Swartz, M. E. (2005). UPLC: An introduction an review. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 28(7-8), 1253-1263. doi:10.1081/JLC-200053046
- Tariq, L., Bhat , B. A., Hamdani, S. S., & Mir, R. A. (2021). Phytochemistry, pharmacology and toxicity of medicinal plants. En A. Tariq, & R. H. Khalid, *Medicinal and Aromatic Plants* (págs. 217-240). Springer.

- Tetali, S. D. (2019). Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. *Planta*, Vol. 249(1), 1-8. doi:<https://doi.org/10.1007/s00425-018-3056-x>
- Tissue, B. M. (2012). En *Characterization of Materials*. Jhon Wiley & Sons, Inc. doi:<https://doi.org/10.1002/0471266965.com059.pub2>.
- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 71, 100-109. doi:<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>.
- Tuberquia, M. A., & Muñoz, D. (1999). Estudio preliminar para el manejo sostenible de *Carludovica palmata* como materia prima de la producción de papel artesanal en cabo corrientes, chocó, colombia. *Actual Biol* 21, Vol. 21(71), 87-96. doi:<https://doi.org/10.17533/udea.acbi.329737>
- Wadie, M., Abdel-Moety, E. M., Rezk, M. R., & Marzouk, H. M. (2023). A novel smartphone HPTLC assaying versus traditional densitometric method for simultaneous quantification of alfuzosin and solifenacin in their dosage forms as well as monitoring content uniformity and drug residues on the manufacturing equipment. *RSC Advances*, 13(17), 11642-11651. doi:10.1039/d3ra01211e
- Wang, G., Tang, W., & Bidigare, R. R. (2005). Terpenoids As Therapeutic Drugs and Pharmaceutical Agents. En A. L. Lixin Zhang, *Natural Products. Drug Discovery and Therapeutic medicine* (págs. 197-227). New Jersey: Totowa, Humana Press. doi:https://doi.org/10.1007/978-1-59259-976-9_9
- Weissenberg, M., Schaeffler, I., Menagem, E., Barzilai, M., & Levy, A. (1997). Isocratic non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of capsanthin and capsorubin in red peppers (*Capsicum annum* L.), paprika and oleoresin.

Journal of Chromatography A, 757(1-2), 89-95. doi:[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(96\)00665-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(96)00665-6)

Apéndices

Apéndice A. Análisis estadístico prueba tipo de solvente para extracción por ultrasonido

Tabla A 1.

Pruebas preliminares para la extracción de carotenoides con diferentes solventes por medio de extracción por ultrasonido.

Prueba de extracción por solventes				
Tipo de solvente	Replicas	Muestra vegetal	Extracto	Rendimiento %
Acetona	1-1	1,0022 g	0,0306 g	3,0533
	1-2	1,0080 g	0,0351 g	3,4821
	1-3	1,0050 g	0,0354 g	3,5224
n-Hexano	2-1	1,0023 g	0,0200 g	1,9954
	2-2	1,0042 g	0,0237 g	2,3601
	2-3	1,0051 g	0,0234 g	2,3281
Etanol	3-1	1,0006 g	0,0505 g	5,0470
	3-2	1,0015 g	0,0481 g	4,8028
	3-3	1,0037 g	0,0447 g	4,4535

Nota: Elaboración propia

Tabla A 2.*Absorbancia de los extractos saponificados.*

Tipo de solvente	Replicas	Abs445nm	Abs510nm
Acetona	1-1	0,7866	0,9521
		0,7865	0,9520
		0,7864	0,9520
	1-2	0,6659	0,7696
		0,6654	0,7695
		0,6662	0,7701
	1-3	0,6490	0,7879
		0,6388	0,7735
		0,6308	0,7650
n-Hexano	2-1	0,5816	0,7016
		0,5818	0,7012
		0,5805	0,7002
	2-2	0,5998	0,7171
		0,5996	0,7164
		0,5992	0,7161
	2-3	0,5771	0,7002
		0,5795	0,6998
		0,5775	0,6998
Etanol	3-1	0,4895	0,5468
		0,4894	0,5465
		0,4884	0,5456
	3-2	0,4515	0,4977
		0,4512	0,4974
		0,4507	0,4967
	3-3	0,4617	0,5093
		0,4612	0,5082
		0,4603	0,5074

Nota: Elaboración propia

Tabla A 3.

Concentraciones totales de carotenoides amarillos y rojos por separado determinados fotométricamente.

Tipo de solvente	Replica	[] Final Lut (mg/100mL)	[] Final Cap (mg/100mL)
Acetona	1-1	1,1830	9,3944
	1-2	1,1965	7,5857
	1-3	0,9548	7,6524
n-Hexano	2-1	0,8886	6,9165
	2-2	0,9512	7,0680
	2-3	0,8681	6,9068
Etanol	3-1	0,9818	5,3783
	3-2	0,9412	4,8936
	3-3	0,9615	5,0022

Nota: Elaboración propia

Tabla A 4.

Concentraciones de capsorrubina en extractos saponificados de las 3 réplicas con 3 diferentes solventes. Los cuales, los datos fueron transformados por logaritmo en base 10.

	Acetona	n-hexano	Etanol
Replica 1	0,973	0,840	0,731
Replica 2	0,880	0,849	0,690
Replica 3	0,884	0,839	0,699

Nota: Elaboración propia

Tabla A 5.

Análisis estadístico ANOVA para tipo de solvente en extracción por ultrasonido.

Tabla ANOVA	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado medio	F	Valor P
Tratamiento (entre columnas)	0,06574	2	0,03287	F = 30,30	P=0,0007
Residuos (Dentro de columnas)	0,006509	6	0,001085		
Total	0,07224	8			

Nota: Elaboración propia

Tabla A 6.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para tipo de solvente en extracción por ultrasonido.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey	Diferencia de medias	95,00% intervalo de confianza	¿Significancia?	Valor P	
n-hexano vs. acetona	-0,0694	-0,1519 a 0,01311	No	0,0921	B-A
etanol vs. acetona	-0,2057	-0,2883 a -0,1232	Si	0,0006	C-A
etanol vs. n-hexano	-0,1363	-0,2189 a -0,05383	Si	0,0055	C-B

Nota: Elaboración propia

Tabla A 7.*Verificación de normalidad de residuos.*

Nombre de prueba	Estadístico	Valor P	¿Pasa la prueba de normalidad (alfa=0,05)?
Shapiro-Wilk (W)	0,9053	0,2844	Si

Resumen de datos

Número de tratamientos (columnas) 3

Número de valores (total) 9

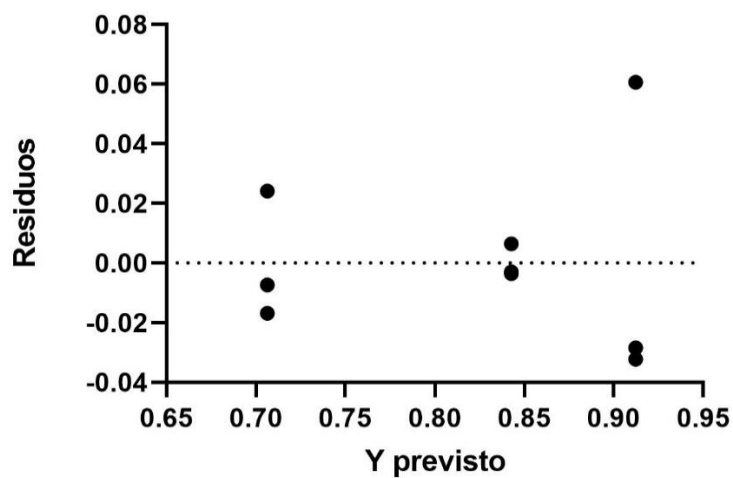
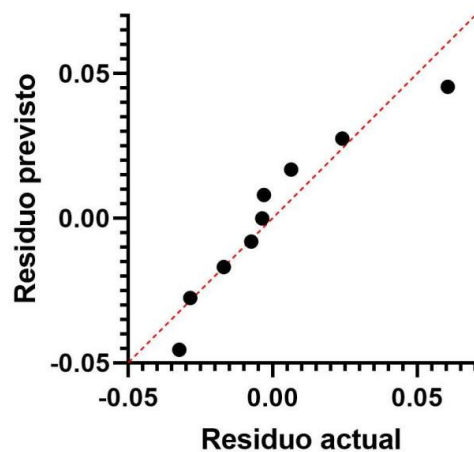
Nota: Elaboración propia**Figura A 1.***Gráfico de residuos para el análisis estadístico por tipo de solvente en extracción por ultrasonido.***Nota:** Elaboración propia

Figura A 2.

Gráfico de probabilidad normal (Q-Q plot) para el análisis estadístico por tipo de solvente en extracción por ultrasonido.



Nota: Elaboración propia

Tabla A 8.

Verificación de homogeneidad de varianzas.

Prueba	F	Valor P	¿Es significativamente diferente?
Brown-Forsythe	0,6204 (2, 6)	0,5690	No

Nota: Elaboración propia

Apéndice B. Análisis estadístico prueba cantidad de solvente para extracción por ultrasonido

Tabla B 1.

Pruebas preliminares para la extracción de carotenoides con diferente cantidad de solvente.

Acetona como solvente, por medio de extracción por ultrasonido.

Prueba de extracción por cantidad de solvente				
Cantidad de solvente	Replicas	Muestra vegetal	Extracto	Rendimiento %
5 mL	5-1	1,0022 g	0,0240 g	2,3947
	5-2	1,0080 g	0,0230 g	2,2817
	5-3	1,0030 g	0,0216 g	2,1535
7 mL	7-1	1,0000 g	0,0308 g	3,0800
	7-2	1,0060 g	0,0312 g	3,1014
	7-3	1,0025 g	0,0304 g	3,0324
10 mL	10-1	1,0010 g	0,0316 g	3,1568
	10-2	1,0008 g	0,0305 g	3,0476
	10-3	1,0010 g	0,0301 g	3,0070

Nota: Elaboración propia

Tabla B 2.*Absorbancia de los extractos saponificados.*

Cantidad de solvente	Replicas	Abs445nm	Abs510nm
5 mL	5-1	0,8318	0,9206
		0,8274	0,9175
		0,8344	0,9185
	5-2	0,8156	0,9098
		0,8144	0,9085
		0,8141	0,9082
		0,8096	0,8837
		0,8094	0,8834
		0,8091	0,8833
7 mL	7-1	0,1464	0,1733
		0,1461	0,1732
		0,1463	0,1733
	7-2	0,1522	0,1851
		0,1517	0,1847
		0,1517	0,1847
		0,1483	0,1765
		0,1485	0,1764
		0,1483	0,1765
10 mL	10-1	0,1842	0,2068
		0,1855	0,2082
		0,1867	0,2096
	10-2	0,1587	0,1795
		0,1591	0,1796
		0,1583	0,1786
		0,1692	0,1851
		0,169	0,1849
		0,1692	0,1851

Nota: Elaboración propia

Tabla B 3.

Concentraciones totales de carotenoides amarillos y rojos por separado determinados fotométricamente.

Cantidad de solvente	Replica	[] Final Lut (mg/100mL)	[] Final Cap (mg/100mL)
5 mL	5-1	0,8599	4,5217
	5-2	0,8208	4,4735
	5-3	0,8676	4,3458
7 mL	7-1	1,2018	8,5436
	7-2	1,1151	9,1207
	7-3	1,999	8,7023
10 mL	10-1	1,8334	10,2501
	10-2	1,5397	8,8256
	10-3	1,8019	9,1025

Nota: Elaboración propia

Tabla B 4.

Concentraciones de capsorrubina en extractos saponificados de las 3 réplicas con 3 diferentes cantidades de solvente, se escogió acetona como mejor solvente de extracción. Los cuales, los datos fueron transformados por logaritmo en base 10.

	5 mL	7 mL	10 mL
Replica 1	0,655	0,932	1,011
Replica 2	0,651	0,960	0,946
Replica 3	0,638	0,940	0,959

Nota: Elaboración propia

Tabla B 5.

Análisis estadístico ANOVA para cantidad de solvente en extracción por ultrasonido.

Tabla ANOVA	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado medio	F	Valor P
Tratamiento (entre columnas)	0,1932	2	0,0966	F = 197,0	P<0,0001
Residuos (Dentro de columnas)	0,0029	6	0,0005		
Total	0,1961	8			

Nota: Elaboración propia

Tabla B 6.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para cantidad de solvente en extracción por ultrasonido.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey	Diferencia de medias	95,00% intervalo de confianza	¿Significancia?	Valor P	
7 mL vs. 5 mL	0,2958	0,2403 a 0,3512	Si	<0,0001	B-A
10 mL vs. 5 mL	0,3239	0,2684 a 0,3793	Si	<0,0001	C-A
10 mL vs. 7 mL	0,0281	-0,0274 a 0,0836	No	0,3333	C-B

Nota: Elaboración propia

Tabla B 7.

Verificación de normalidad de residuos.

Nombre de prueba	Estadístico	Valor P	¿Pasa la prueba de normalidad (alfa=0,05)?
Shapiro-Wilk (W)	0,9440	0,6247	Si

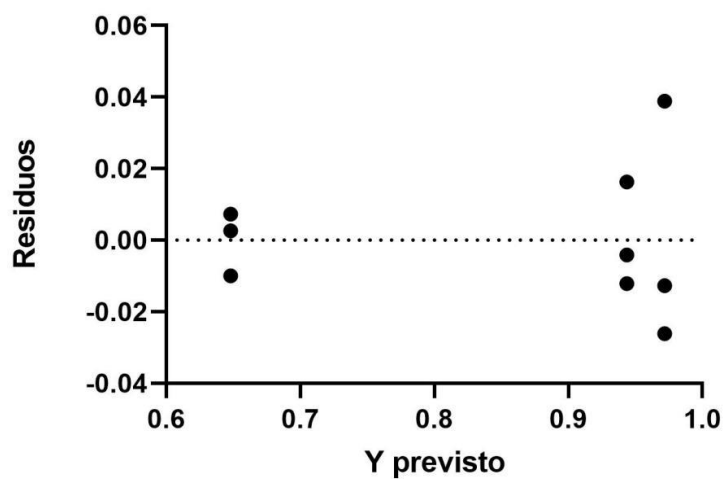
Resumen de datos

Número de tratamientos (columnas)	3
Número de valores (total)	9

Nota: Elaboración propia

Figura B 1.

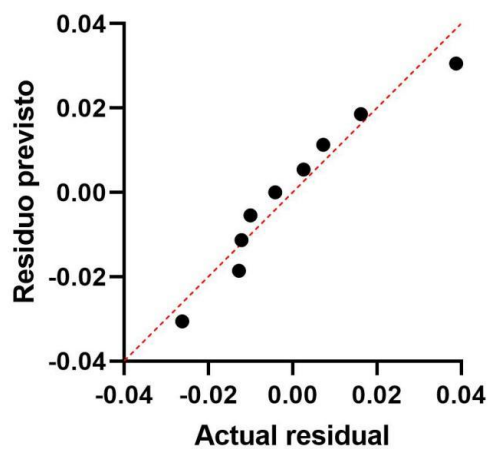
Gráfico de residuos para el análisis estadístico por cantidad de solvente en extracción por ultrasonido.



Nota: Elaboración propia

Figura B 2.

Gráfico de probabilidad normal (Q-Q plot) para el análisis estadístico por cantidad de solvente en extracción por ultrasonido.



Nota: Elaboración propia

Tabla B 8.

Verificación de homogeneidad de varianzas.

Prueba	F	Valor P	¿Es significativamente diferente?
Brown-Forsythe	0,7241 (2, 6)	0,5228	No

Nota: Elaboración propia

Apéndice C. Análisis estadístico prueba tiempo de extracción por ultrasonido

Tabla C 1.

Pruebas preliminares para la extracción de carotenoides con diferente tiempo de extracción con acetona como solvente por medio de extracción por ultrasonido.

Prueba de extracción por tiempo de extracción				
Tiempo	Replicas	Muestra vegetal	Extracto	Rendimiento %
5 min	5-1	1,0087 g	0,0266 g	2,6371
	5-2	1,0038 g	0,0248 g	2,4706
	5-3	1,0042 g	0,0264 g	2,6290
15 min	15-1	1,0012 g	0,0252 g	2,5170
	15-2	1,0002 g	0,0275 g	2,7495
	15-3	1,0006 g	0,0283 g	2,8283
25 min	25-1	1,0052 g	0,0306 g	3,0442
	25-2	1,0029 g	0,0293 g	2,9215
	25-3	1,0027 g	0,0301 g	3,0019

Nota: Elaboración propia

Tabla C 2.*Absorbancia de los extractos saponificados.*

Tiempo	Replicas	Abs445nm	Abs510nm	
5 min	5-1	0,7570	0,8603	
		0,7592	0,8621	
		0,7564	0,8599	
	5-2	0,6659	0,7696	
		0,6654	0,7695	
		0,6662	0,7701	
		0,6490	0,7879	
		5-3	0,6388	0,7735
			0,6308	0,765
15 min	15-1	0,6689	0,8097	
		0,6832	0,8256	
		0,6848	0,8272	
	15-2	0,7079	0,8566	
		0,7113	0,8608	
		0,7132	0,8621	
	15-3	0,814	0,9837	
		0,8133	0,9834	
		0,8141	0,98941	
		25-1	0,8574	0,9654
			0,8576	0,9664
		25 min	25-1	0,8584
0,8782	0,9824			
0,8774	0,982			
25-2	0,8778		0,9822	
	0,8594		0,9668	
	25-3		0,8598	0,9664
0,8598			0,9664	

Nota: Elaboración propia

Tabla C 3.

Concentraciones totales de carotenoides amarillos y rojos por separado determinados fotométricamente.

Tiempo	Replica	[] Final Lut (mg/100mL)	[] Final Cap (mg/100mL)
5 min	1-1	1,4418	8,4785
	1-2	1,1965	7,5857
	1-3	0,9548	7,6524
15 min	2-1	1,0268	8,0994
	2-2	1,0722	8,4844
	2-3	1,2218	9,7247
25 min	3-1	1,6691	9,5322
	3-2	1,7527	9,6702
	3-3	1,6916	9,5173

Nota: Elaboración propia

Tabla C 4.

Concentraciones de capsorrubina en extractos saponificados de las 3 réplicas con 3 diferentes tiempos de extracción, se escogió acetona como mejor solvente de extracción, y, 7 mL como cantidad de solvente. Los cuales, los datos fueron transformados por logaritmo en base 10.

	5 min	15 min	25 min
Replica 1	0,928	0,908	0,979
Replica 2	0,880	0,929	0,985
Replica 3	0,884	0,988	0,979

Nota: Elaboración propia

Tabla C 5.

Análisis estadístico ANOVA para tiempo de extracción por ultrasonido.

Tabla ANOVA	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado medio	F	Valor P
Tratamiento (entre columnas)	0,0105	2	0,0052	F = 6,462	P=0,0319
Residuos (Dentro de columnas)	0,0048	6	0,0008		
Total	0,0154	8			

Nota: Elaboración propia

Tabla C 6.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para tiempo de extracción por ultrasonido.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey	Diferencia de medias	95,00% intervalo de confianza	¿Significancia?	Valor P	
15 min vs. 5 min	0,0442	-0,0271 a 0,1157	No	0,2185	B-A
25 min vs. 5 min	0,0836	0,0122 a 0,1551	Si	0,0266	C-A
25 min vs. 15 min	0,0394	-0,0320 a 0,1109	No	0,2830	C-B

Nota: Elaboración propia

Tabla C 7.

Verificación de normalidad de residuos.

Nombre de prueba	Estadístico	Valor P	¿Pasa la prueba de normalidad (alfa=0,05)?
Shapiro-Wilk (W)	0,9208	0,3992	Si

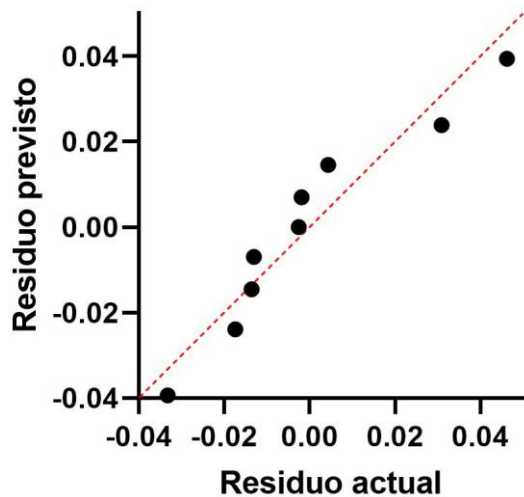
Resumen de datos

Número de tratamientos (columnas)	3
Número de valores (total)	9

Nota: Elaboración propia

Figura C 1.

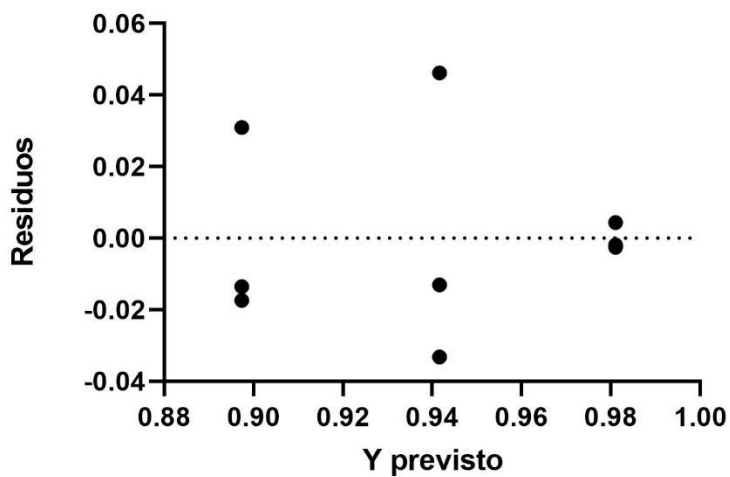
Gráfico de residuos para el análisis estadístico sobre tiempo de extracción por ultrasonido.



Nota: Elaboración propia

Figura C 2.

Gráfico de probabilidad normal (Q-Q plot) para el análisis estadístico sobre tiempo de extracción por ultrasonido.



Nota: Elaboración propia

Tabla C 8.

Verificación de homogeneidad de varianzas.

Prueba	F	Valor P	¿Es significativamente diferente?
Brown-Forsythe	0,8656 (2, 6)	0,4674	No

Nota: Elaboración propia

Apéndice D. Análisis estadístico prueba cantidad de solvente por extracción MSPD

Tabla D 1.

Pruebas preliminares para la extracción de carotenoides con diferente cantidad de solvente, acetona como solvente de extracción por medio de MSPD.

Prueba de extracción por cantidad de solvente				
Cantidad de solvente	Replicas	Muestra vegetal	Extracto	Rendimiento %
2 mL	2-1	0,0503 g	0,0079 g	15,7058
	2-2	0,0509 g	0,0082 g	16,1100
	2-3	0,0499 g	0,0086 g	17,2345
4 mL	4-1	0,0503 g	0,0084 g	16,6998
	4-2	0,0506 g	0,0089 g	17,5889
	4-3	0,0505 g	0,0088 g	17,4257

Nota: Elaboración propia

Tabla D 2.*Absorbancia de los extractos saponificados.*

Cantidad de solvente	Replicas	Abs445nm	Abs510nm
2 mL	2-1	0,2177	0,2544
		0,2282	0,2672
		0,2198	0,2564
	2-2	0,2554	0,2968
		0,2522	0,2976
		0,2544	0,3008
	2-3	0,2180	0,2522
		0,2138	0,2488
		0,2164	0,2522
4 mL	4-1	0,1892	0,2174
		0,2048	0,2414
		0,2126	0,2472
	4-2	0,1708	0,1986
		0,1818	0,2147
		0,1772	0,2082
	4-3	0,2372	0,2844
		0,2353	0,2792
		0,2492	0,3002

Nota: Elaboración propia**Tabla D 3.***Concentraciones totales de carotenoides amarillos y rojos por separado determinados fotométricamente.*

Acetona	Replica	[] Final Lut (mg/100mL)	[] Final Cap (mg/100mL)
2 mL	2-1	0,0959	0,6391
	2-2	0,1077	0,7355
	2-3	0,0953	0,6187
4 mL	4-1	0,0887	0,5799
	4-2	0,0753	0,5106
	4-3	0,0949	0,7101

Nota: Elaboración propia

Tabla D 4.

Concentraciones de capsorrubina en extractos saponificados de las 2 réplicas con 2 diferentes cantidades de solvente de extracción, se escogió acetona como mejor solvente de extracción. Los cuales, los datos fueron transformados por logaritmo en base 10.

	2 mL	4 mL
Replica 1	-0,194	-0,237
Replica 2	-0,133	-0,292
Replica 3	-0,209	-0,149

Nota: Elaboración propia

Tabla D 5.

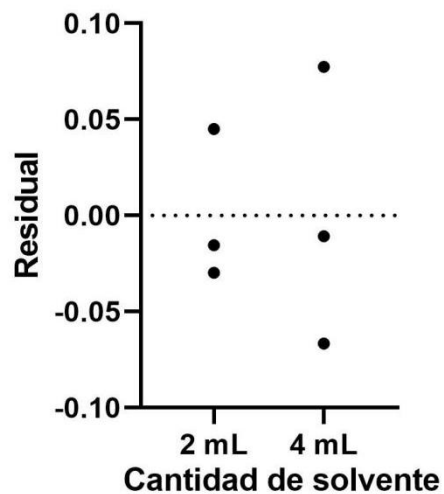
Análisis estadístico t-test para cantidad de solvente de extracción por MSPD.

Prueba t-test	
Valor P	0,3802
Significancia	No
Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)	
Valor P	0,7176
¿Pasa la prueba de normalidad (alfa=0,05)?	si

Nota: Elaboración propia

Figura D 1.

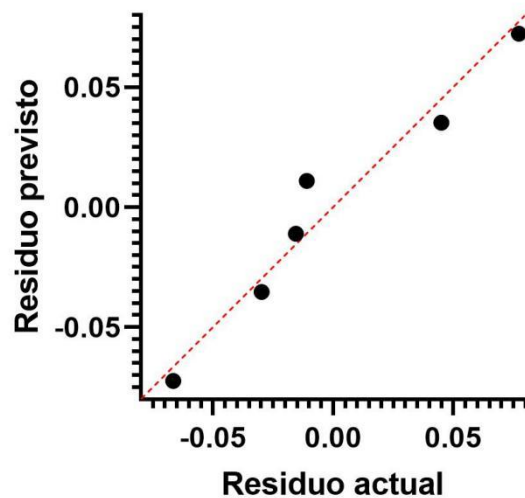
Gráfico de residuos para el análisis estadístico por cantidad de solvente en extracción por MSPD.



Nota: Elaboración propia

Figura D 2.

Gráfico de probabilidad normal (*Q-Q plot*) para el análisis estadístico para cantidad de solvente en extracción por MSPD.



Nota: Elaboración propia

Apéndice E. Análisis estadístico prueba relación soporte sólido-materia vegetal por extracción MSPD

Tabla E 1.

Pruebas preliminares para la extracción de carotenoides con diferente relación soporte sólido-materia vegetal con acetona como solvente por medio de extracción por MSPD.

Prueba de extracción por relación soporte sólido-materia vegetal				
Relación soporte-materia	Replicas	Muestra vegetal	Extracto	Rendimiento %
1:1	1:1-1	0,0502 g	0,0064 g	12,7490
	1:1-2	0,0499 g	0,0069 g	13,8277
	1:1-3	0,0500 g	0,0068 g	13,6000
1:3	1:3-1	0,0503 g	0,0079 g	15,7058
	1:3-2	0,0509 g	0,0082 g	16,1100
	1:3-3	0,0499 g	0,0086 g	17,2345
1:5	1:5-1	0,0500 g	0,0088 g	17,6000
	1:5-2	0,0499 g	0,0084 g	16,8337
	1:5-3	0,0504 g	0,0080 g	15,8730

Nota: Elaboración propia

Tabla E 2.*Absorbancia de los extractos saponificados.*

Relación soporte-materia	Replicas	Abs445nm	Abs510nm		
1:1	1:1-1	0,218	0,250		
		0,238	0,270		
		0,229	0,265		
	1:1-2	1:1-2	0,206	0,239	
			0,221	0,258	
			0,203	0,238	
		1:1-3	1:1-3	0,220	0,260
				0,224	0,267
				0,232	0,275
1:3	1:3-1	0,217	0,254		
		0,228	0,267		
		0,219	0,257		
	1:3-2	1:3-2	0,255	0,296	
			0,252	0,297	
			0,254	0,300	
		1:3-3	1:3-3	0,218	0,252
				0,213	0,248
				0,216	0,252
1:5	1:5-1	0,206	0,244		
		0,213	0,253		
		0,214	0,253		
	1:5-2	1:5-2	0,247	0,291	
			0,242	0,286	
			0,237	0,285	
		1:5-3	1:5-3	0,257	0,305
				0,285	0,341
				0,275	0,328

Nota: Elaboración propia

Tabla E 3.

Concentraciones totales de carotenoides amarillos y rojos por separado determinados fotométricamente.

Relación soporte-materia	Replica	[] Final Lut (mg/100mL)	[] Final Cap (mg/100mL)
	1:1-1	0,1061	0,6454
1:1	1:1-2	0,0916	0,6046
	1:1-3	0,0926	0,6601
	1:3-1	0,0959	0,6391
1:3	1:3-2	0,1077	0,7355
	1:3-3	0,0953	0,6187
	1:5-1	0,0866	0,6174
1:5	1:5-2	0,0989	0,7093
	1:5-3	0,1096	0,8016

Nota: Elaboración propia

Tabla E 4.

Concentraciones de capsorrubina en extractos saponificados de las 3 réplicas con 3 diferentes relaciones de soporte sólido-materia vegetal, acetona como solvente de extracción. Los cuales, los datos fueron transformados por logaritmo en base 10.

	1:1	1:3	1:5
Replica 1	-0,190	-0,194	-0,209
Replica 2	-0,219	-0,133	-0,149
Replica 3	-0,180	-0,209	-0,096

Nota: Elaboración propia

Tabla E 5.

Análisis estadístico ANOVA para relación soporte sólido-materia vegetal por MSPD.

Tabla ANOVA	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado medio	F	Valor P
Tratamiento (entre columnas)	0,0030	2	0,0015	F = 0,881	P=0,4616
Residuos (Dentro de columnas)	0,0104	6	0,0017		
Total	0,0134	8			

Nota: Elaboración propia.

Tabla E 6.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para relación soporte sólido-materia vegetal en extracción por MSPD.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey	Diferencia de medias	95,00% intervalo de confianza	¿Significancia?	Valor P
1:3 vs. 1:1	0,0175	-0,0867 a 0,1219	No	0,8662 B-A
1:5 vs. 1:1	0,0448	-0,0595 a 0,1492	No	0,4368 C-A
1:5 vs. 1:3	0,0272	-0,0771 a 0,1316	No	0,7161 C-B

Nota: Elaboración propia

Tabla E 7.

Verificación de normalidad de residuos.

Nombre de prueba	Estadístico	Valor P	¿Pasa la prueba de normalidad (alfa=0,05)?
Shapiro-Wilk (W)	0,9749	0,9332	Si

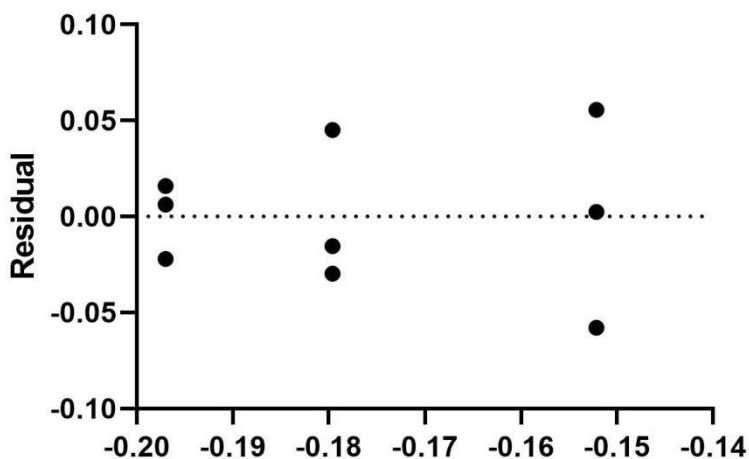
Resumen de datos

Número de tratamientos (columnas)	3
Número de valores (total)	9

Nota: Elaboración propia

Figura E 1.

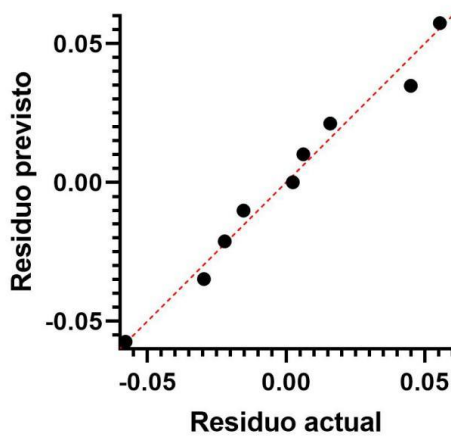
Gráfico de residuos del análisis estadístico para la relación soporte sólido-materia vegetal en extracción por MSPD.



Nota: Elaboración propia

Figura E 2.

Gráfico de probabilidad normal (Q-Q plot) del análisis estadístico para la relación soporte sólido-materia vegetal en extracción por MSPD.



Nota: Elaboración propia

Tabla E 8.

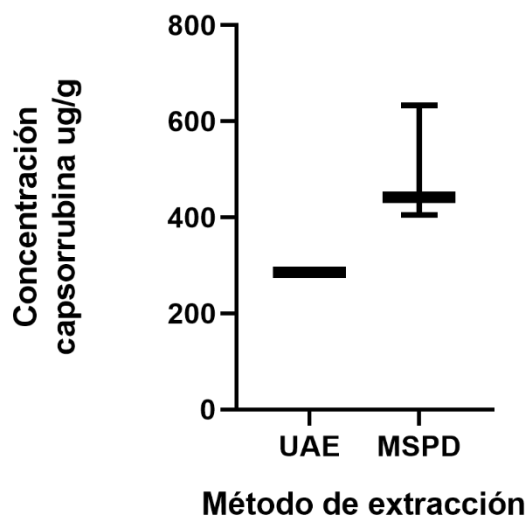
Verificación de homogeneidad de varianzas.

Prueba	F	Valor P	¿Es significativamente diferente?
Brown-Forsythe	0,6123 (2, 6)	0,5728	No

Nota: Elaboración propia

Figura E 9

Imagen de cajas y bigotes para prueba estadística t-test entre concentraciones relativas de capsorrubina de extractos obtenidos por UAE y MSPD con los parámetros ya establecidos calculadas por UV-Vis.



Nota: Elaboración propia

Apéndice F. Curva de calibración a partir de β -caroteno para cuantificación por HPLC

Tabla 1 F.

Áreas de las señales de capsorrubina a 450 nm por HPLC-DAD y concentración de capsorrubina determinados para los extractos orgánicos obtenidos por MSPD

5mg/mL extracto-MSPD	Día 1	Día 2	Día 3	Cuantificación de capsorrubina $\mu\text{g,g}$		
				Día 1	Día 2	Día 3
REP 1	735,439	731,034	730,879	142,562	141,793	141,766
REP 2	753,098	750,350	750,742	145,645	145,165	145,233
REP3	757,190	760,683	753,293	146,359	146,969	145,679
PROMEDIO	748,576	747,356	744,971	144,855	144,642	144,226
s	11,56	15,05	12,27	2,02	2,63	2,14

Nota: Elaboración propia.

Tabla 2 F.

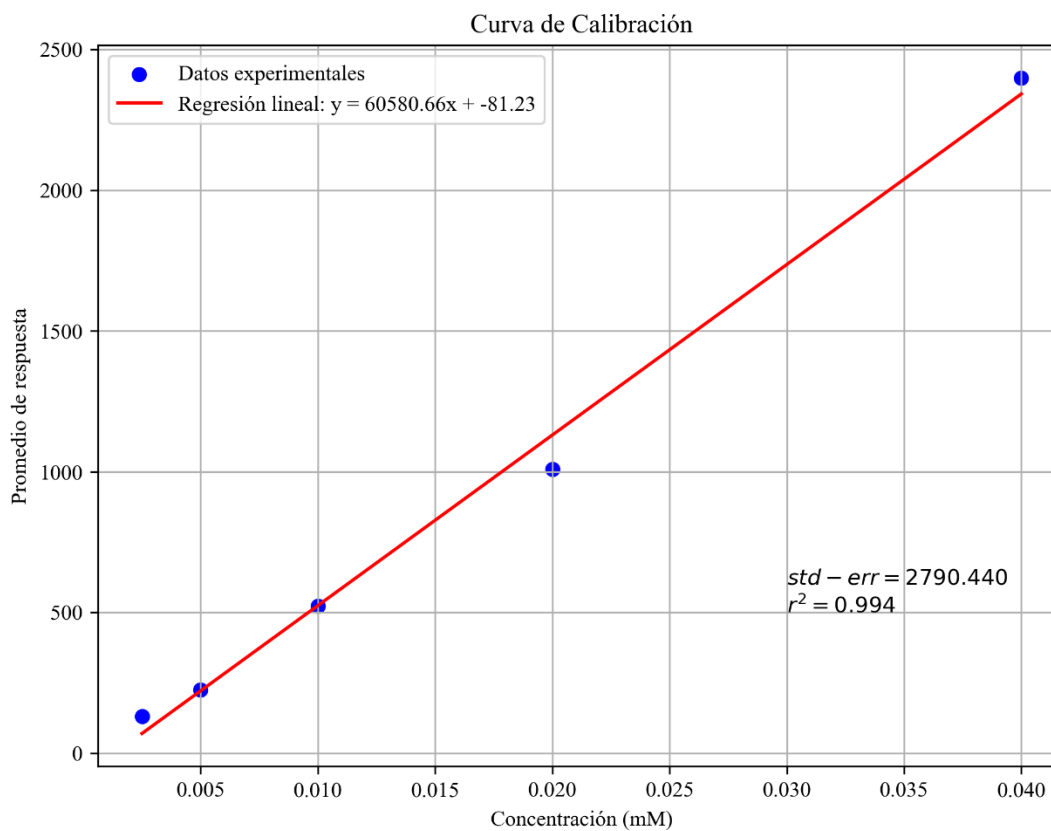
Áreas de las señales de capsorrubina a 450 nm por HPLC-DAD y concentración de capsorrubina determinados para los extractos orgánicos obtenidos por UAE

5mg/mL extracto-UAE	Día 1	Día 2	Día 3	Cuantificación de capsorrubina $\mu\text{g,g}$		
				Día 1	Día 2	Día 3
REP 1	1297,452	1290,212	1295,170	41,636	39,736	40,969
REP 2	1358,717	1396,091	1339,869	43,486	42,804	42,299
REP3	1167,230	1164,707	1154,702	37,703	36,100	36,788
PROMEDIO	1274,466	1283,670	1263,247	40,941	39,547	40,019
s	97,79	115,83	96,62	2,95	3,36	2,88

Nota: Elaboración propia.

Figura 1 F.

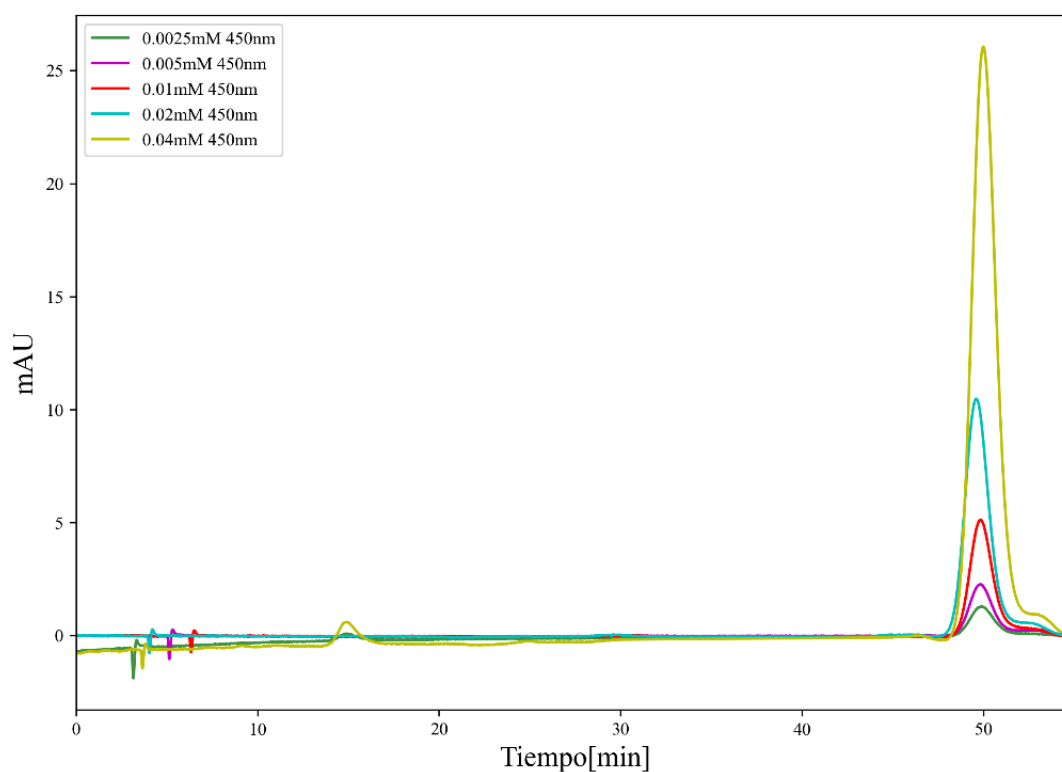
Curva de calibración del β -caroteno para cuantificación por HPLC-DAD.



Nota: Elaboración propia

Tabla 3 F.*Datos curva de calibración por HPLC-DAD.*

mM	Área	Y ajustado
0,0025	132,122	70,2215
0,005	226,100	221,674
0,01	522,773	524,579
0,02	1009,270	1130,389
0,04	2398,579	2342,009
$S_{y,x}$	85,097	
S_B	2790,440	
S_A	57,611	

Nota: Elaboración propia**Figura 2 F.***Cromatograma HPLC-DAD curva de calibración a partir del estándar de β -caroteno.***Nota:** Elaboración propia

Apéndice G. Curva de calibración a partir de β -caroteno para cuantificación por q-TLC.

Tabla 1 G.

Áreas de las señales de capsorrubina por q-TLC y concentración de capsorrubina determinados como equivalentes de beta-caroteno para los extractos orgánicos obtenidos por MSPD y UAE

5mg/mL extracto	MSPD	UAE	Cuantificación de capsorrubina $\mu\text{g/g}$	
			MSPD	UAE
REP 1	8931,986	12049,229	430,779	110,939
REP 2	8249,501	10612,007	323,591	92,058
REP3	8933,329	10493,401	319,285	93,369
PROMEDIO	8704,939	11051,0	357,885	98,789
s	394,42	866,05	63,16	10,54

Figura 1 G.

Curva de calibración del β -caroteno para cuantificación por q-TLC.

Nota: Elaboración propia.

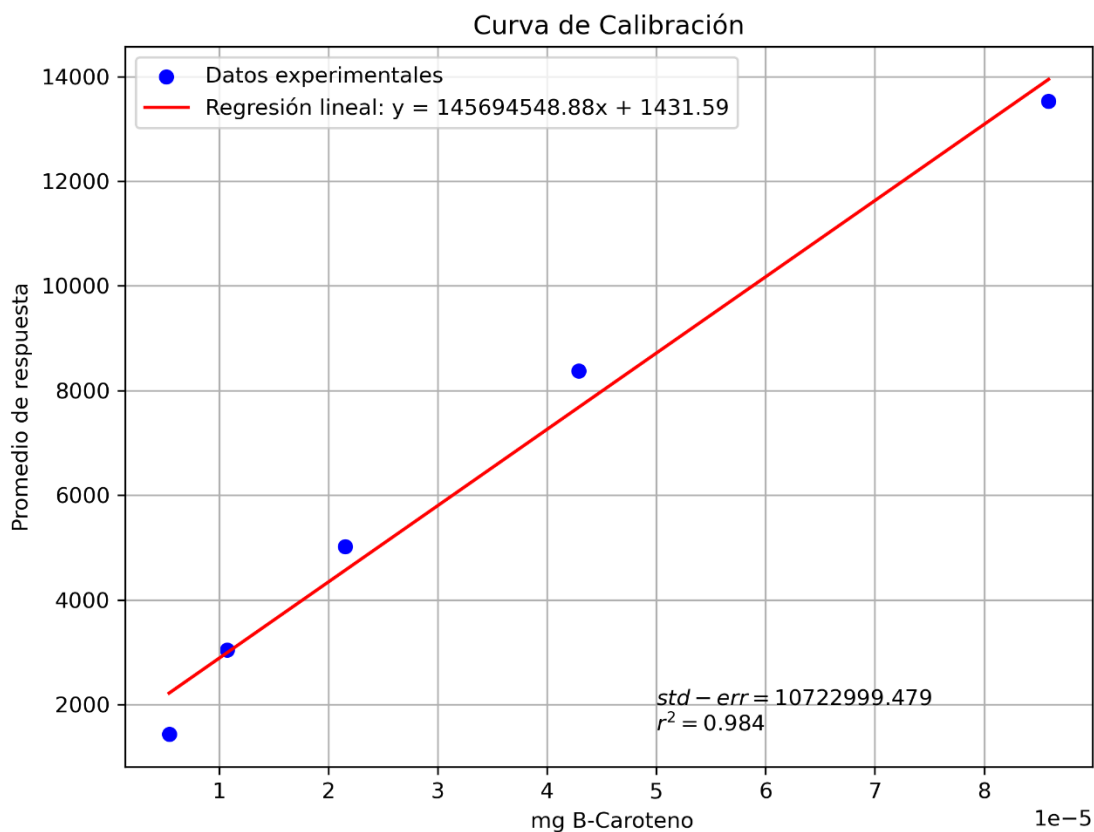


Tabla 1 G.*Datos curva de calibración por q-TLC.*

mM β -caroteno	Área	Y ajustado
0,0025	1434,603	2213,312
0,005	3044,883	2995,425
0,01	5016,352	4559,650
0,02	8376,618	7688,100
0,04	13529,078	13945
$S_{y,x}$	698,679	
S_B	14587,519	
S_A	301,171	

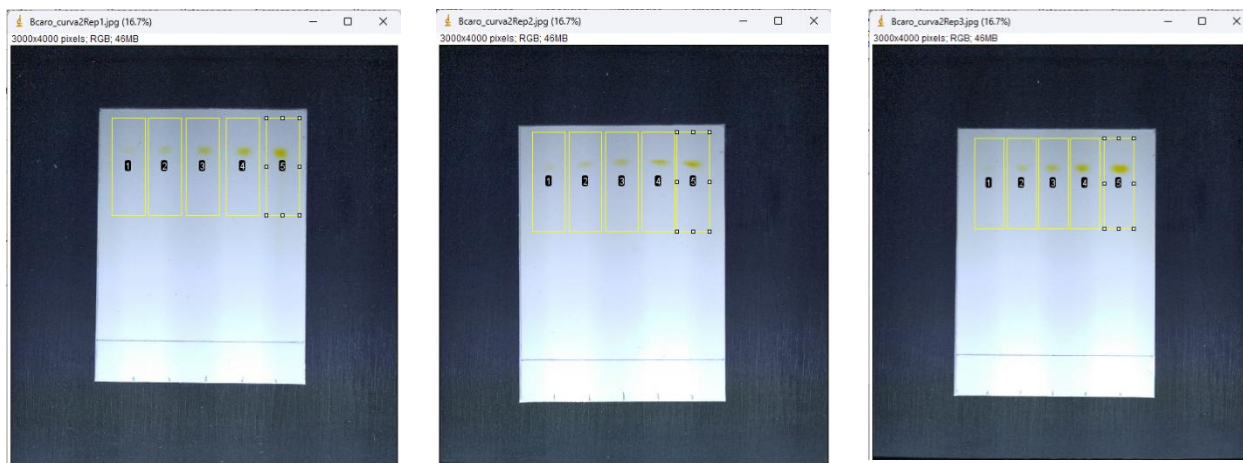
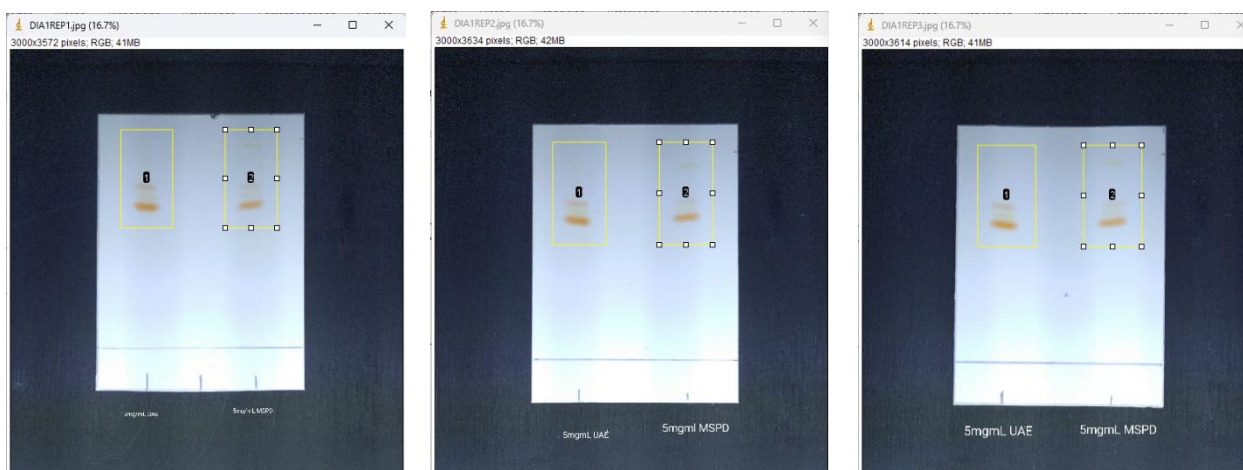
Nota: Elaboración propia**Figura 2 G.***Análisis de imagen del patrón de β -caroteno por TLC e ImageJ***Nota:** Imágenes tomadas por el autor y analizadas por el software ImageJ.

Figura 3 G.

Análisis de imagen de los extractos por UAE y MSPD.



Nota: Imágenes tomadas por el autor y analizadas por el software ImageJ.