

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

DIRECCIÓN GENERAL DE EDUCACIÓN SUPERIOR TECNOLÓGICA

INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE CALKINÍ

**“DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA POR CROMATOGRAFÍA DE
LÍQUIDOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA C EN PIMIENTO
MORRÓN (*Capsicum annuum*)”**

TESIS PARA TITULACIÓN INTEGRAL

INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

EGRESADA:

MARIA JOSE ESTRELLA ESTRELLA

DIRECTOR:

DR. JULIO ENRIQUE ONEY MONTALVO

CO-DIRECTOR:

DR. MIGUEL GUTIÉRREZ FIDENCIO

Calkiní, Campeche, México 2025



Educación
Secretaría de Educación Pública



INSTITUTO TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Subdirección de Planeación y Desarrollo

Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante

Calkiní, Campeche 06/03/2025
P/03/25/596

INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

CONSTANCIA DE NO INCONVENIENCIA

MODALIDAD: TESIS

C. MARIA JOSE ESTRELLA ESTRELLA 7314
PASANTE DE LA CARRERA DE
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.
PRESENTE

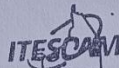
Con relación a lo establecido en el Reglamento de Estudios de Licenciatura, capítulo VII, fracción I, vigente en este Instituto, y una vez emitido el fallo favorable por el director DR. JULIO ENRIQUE ONEY MONTALVO, y el co-director DR. MIGUEL GUTIÉRREZ FIDENCIO, respectivamente, este Instituto consta de no tener inconveniencia para la realización del acto protocolario de titulación integral de su trabajo profesional titulado: **"DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA POR CROMATOGRFÍA DE LÍQUIDOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA C EN PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annuum*)"**.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Sabiduría, Fortaleza de Nuestra Cultura®

Dr. Jorge Alfonso Hau Puc.
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante.

C.c.p. Archivo



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE CALKINÍ
"DEPARTAMENTO DE ADMINISTRACIÓN
ESCOLAR Y APOYO A
ESTUDIANTES"
CLAVE: 04MSU0013P
CAL KINÍ, CAMPECHE, MÉXICO.



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal, Calkiní, Campeche,
C.P. 24900 Tel. 996-8134870,
e-mail: se_dcalkini@tecnm.mx | itescam.edu.mx



DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a mis padres Silvia del Carmen Estrella Cupul y Eduardo Estrella Caamal por darme su amor incondicional en todo momento, su apoyo de manera constante y enseñanzas, porque ellos son la motivación de mi vida y sin ustedes este logro no habría sido posible.

A mi mamá, quien fue y siempre seguirá siendo mi más grande inspiración para tener la capacidad y el esfuerzo para luchar día a día, como también por ser ejemplo de una mujer guerrera que a pesar de las momentos difíciles siempre recibí de ella el cariño, la tranquilidad, sus consejos, su apoyo y más que nada su amor, que me fue motivando para nunca rendirme y dar cada día lo mejor de mí, ninguna palabra es suficiente para poder expresar el agradecimiento. Siempre estuvo conmigo en cada paso dándome las fuerzas necesarias para poder luchar por mis sueños, siempre me lleno de orgullo para seguir adelante, en todo momento me enseñaste a no darme por vencida que para lograr mis metas siempre tengo que superar los momentos difíciles siempre creíste incluso cuando yo no creía en mí misma, estuviste presente en mis momentos de triunfos y derrotas en ningún momento me faltó de tu apoyo y amor incondicional

A mi padre, a quien le agradezco por su apoyo, amor y paciencia incondicional como también por la educación y los valores forjados, por darme en todo momento palabras de aliento para poder superar cada obstáculo que se me presentaba. Sin el sacrificio y dedicación de ustedes no habría llegado en esta de mi vida.

A mis hermanas Jhoana Estrella Estrella y Rosa Estrella Estrella, por su amor incondicional, paciencia, apoyo y por estar conmigo en todo momento, donde siempre me brindaron palabras de aliento para que siempre de lo mejor de mí en todo momento, cuando andaba mal ustedes siempre buscaron la manera de hacerse sentir segura.

A mi mascota, niña por ser parte de mi vida, llegando en el momento que más lo necesitaba, siempre me alegraba los días y me recibía con el entusiasmo y amor

sin importar los malos momentos, siempre que llegaba a casa se ponía feliz al recibirme y al final se convirtió en mi lugar seguro.

Este proyecto de tesis es el relejo del amor, cariño, dedicación , esfuerzo y paciencia de cada uno de ustedes. Siempre estaré por agradecida por ser parte fundamental de mi vida y por ayudarme en todo momento a llegar hasta aquí, este logro es de ustedes como mío.

AGRADECIMIENTOS

Con infinita gratitud a Dios por brindarme la sabiduría, la fortaleza, la guía y más que nada la paciencia necesaria para poder afrontar y lograr los retos que se presentaron a lo largo de mi carrera, en donde en todo momento me llenó de esperanza en los momentos difíciles y que con ello logré superarlos.

A mis asesores de tesis, el Dr. Julio Enrique Oney Montalvo y el Dr. Miguel Gutiérrez Fidencio, por su apoyo, observaciones, recomendaciones y sugerencias que fueron fundamentales para mejorar el enfoque de este proyecto y más que nada por hacer posible el desarrollo de este proyecto de tesis, además de su tiempo y dedicación para poder finalizarlo también me ayudaron a crecer académica y profesionalmente.

A mis amigos Emmanuel, Naylea, Maria y Jaydi a quienes fueron parte de la carrera, donde siempre estuvimos juntos en todo momento apoyándonos, gracias por ser parte de este camino de crecimiento y aprendizaje.

Agradezco al Instituto Tecnológico Superior de Calkiní por haberme brindado los conocimientos y herramientas necesarias para mi formación como Ingeniera en Industrias Alimentarias.

ÍNDICE

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTOS	5
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
CAPÍTULO I	12
1.1 INTRODUCCIÓN.....	12
1.2 ANTECEDENTES Y/O MARCO TEÓRICO	15
1.2.1 Pimiento morrón (<i>Capsicum annuum</i>).....	15
1.2.2 Metabolitos secundarios en el pimiento morrón	18
1.2.3 Vitaminas presentes en el pimiento morrón	19
1.2.4 Vitamina C (Ácido ascórbico)	21
1.2.5 Métodos de extracción de ácido ascórbico	23
1.2.6 Importancia de la validación.....	32
1.2.6.1 Validación	32
1.2.6.1.1 Selectividad.....	33
1.2.6.1.2 Linealidad.....	33
1.2.6.1.3 Límite de detección (LD)	33
1.2.6.1.4 Límite de cuantificación (LC).....	33
1.2.6.1.5 Precisión	33
1.2.6.1.6 Exactitud	34
1.3 JUSTIFICACIÓN	35
1.4 OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS	37
1.4.1 Objetivo general	37
1.4.2 Objetivos específicos	37
CAPÍTULO 2	38

2.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
2.1.1 Materiales y reactivos.....	38
2.1.2 Obtención de las muestras.....	38
2.2 Método de extracción	38
2.2.1 Extracción ultrasónica	38
2.3 Diseño experimental de Box-Behnken	39
2.4 Determinación por HPLC.....	41
2.5 Validación	42
2.5.1 Linealidad.....	42
2.5.2 Precisión.	42
2.5.3 Repetibilidad del Método.....	42
2.5.4 Exactitud con la prueba de añadido recuperado.	42
2.5.5 Límite de detección y límite de cuantificación	43
CAPÍTULO 3.	44
3.1 RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	44
3.1.1 Validación.....	45
3.1.1.1 Linealidad	45
3.1.1.2 Límite de cuantificación y límite de detección	46
3.1.1.3 Precisión	47
3.1.1.4 Exactitud	47
3.1.2 Optimización	48
CAPÍTULO 4. CONCLUSIÓN.....	54
ANEXOS	55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pimientos morrones verde, rojo y amarillo	16
Figura 2. Estructura química de la Vitamina C	21
Figura 3. Cromatograma Estándar vitamina C a una concentración de 100 µg/mL.	44
Figura 4. Curva de calibración para la determinación de la vitamina C.....	45
Figura 5. Curva 1, 2 y 3 de calibración de la vitamina C	46
Figura 6. Gráfico de Pareto estandarizado para el ácido ascórbico	50
Figura 7. Gráfico de efectos principales para el ácido ascórbico	51
Figura 8. Gráfico de superficie de respuesta para la cuantificación del ácido ascórbico en Capsicum annuum (Impactos de la relación y tiempo).....	53
Figura 9. Gráfico de superficie de respuesta para la cuantificación del ácido ascórbico en Capsicum annuum (Impactos de la relación y temperatura)	53
Figura 10. Gráfico de superficie de respuesta para la cuantificación del ácido ascórbico en Capsicum annuum (Impactos de la tiempo y temperatura)	53
Figura 11. Cromatograma Estándar vitamina C	55
Figura 12. Cromatograma Experimento 1	55
Figura 13. Cromatograma Experimento 2	56
Figura 14. Cromatograma de la muestra de jugo de naranja	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Nombres comunes internacionales.....	15
Tabla 2. Clasificación taxonómica del pimiento morrón	16
Tabla 3. Contenido de vitamina C en algunos alimentos	22
Tabla 4. Métodos de extracción del ácido ascórbico	24
Tabla 5. Métodos utilizados para la determinación de vitamina C	27
Tabla 6. Concentraciones de ácido ascórbico	30
Tabla 7. Condiciones ultrasónicas para la extracción de ácido ascórbico	39
Tabla 8. Diseño experimental para la optimización de la extracción de ácido ascórbico	41
Tabla 9 Resultados obtenidos de la curva de calibración	45
Tabla 10. Límite de cuantificación y detección de la curva 1, 2 y 3	46
Tabla 11. Diseño experimental para la extracción por ultrasonidos de ácido ascórbico	48
Tabla 12. Análisis de varianza para el ácido ascórbico.....	49

RESUMEN

Las vitaminas son uno de los metabolitos secundarios que se encuentran en los pimientos morrones (*Capsicum annum*) y que se consideran beneficiosos para la salud humana debido a sus actividades antioxidantes. Este estudio tuvo como objetivo optimizar las condiciones para extraer las vitaminas presentes en los pimientos morrones para utilizarlas en la producción de alimentos funcionales. Las condiciones óptimas para la extracción en baño de ultrasonido de ácido ascórbico, se realizó utilizando un diseño Box-Behnken de tres factores (tiempo, relación y temperatura) y tres niveles (bajo, medio y alto) bajo metodología de superficie de respuesta. La cuantificación de vitaminas se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficiencia. La variable de respuesta presentó una alta correlación de 98.35% para el ácido ascórbico.

Las condiciones óptimas para el ácido ascórbico fueron 5 minutos, 39.8 °C y una relación de 80 (v/p), con un valor previsto de 7411.69 µg/g. El valor experimental de las condiciones óptimas para la extracción ultrasónica de vitamina para el ácido ascórbico fue 7109.36 ± 197.51 µg/g. No hubo diferencias notables entre las respuestas experimentales y predichas, y los valores empíricos coincidieron estrechamente con los esperados del modelo final seleccionado. Estos hallazgos demuestran que el ultrasonido es efectivo en la extracción de vitaminas, y las condiciones óptimas pueden maximizar la utilización de estos compuestos en el pimiento morrón, los cuales pueden ser utilizados para formular alimentos funcionales, darle valor agregado a esta fruta y contribuir a prevenir enfermedades crónico-degenerativas en la población.

Palabras clave:

Ácido ascórbico, diseño Box-Behnken, metodología de superficie de respuesta.

ABSTRACT

Vitamins are one of the secondary metabolites found in bell peppers (*Capsicum annum*) that are considered beneficial to human health due to their antioxidant activities. This study aimed to optimize the conditions to extract the vitamins present in bell peppers to use them in the production of functional foods. The optimal conditions for the ultrasound bath extraction of ascorbic acid were carried out using a Box-Behnken design of three factors (time, ratio and temperature) and three levels (low, medium and high) under response surface methodology. Vitamin quantification was performed using high-efficiency liquid chromatography. The response variable presented a high correlation of 98.35 % for ascorbic acid.

The optimal conditions for ascorbic acid were 5 minutes, 39.8 °C and a ratio of 80 (v/w), with a predicted value of 7411.69 µg/g. The experimental value of the optimal conditions for ultrasonic vitamin extraction for ascorbic acid was 7109.36 ± 197.51 µg/g. There were no notable differences between the experimental and predicted responses, and the empirical values closely matched those expected from the final selected model. These findings demonstrate that ultrasound is effective in the extraction of vitamins, and optimal conditions can maximize the use of these compounds in bell pepper, which can be used to formulate functional foods, give added value to this fruit, and contribute to preventing chronic-degenerative diseases in the population.

Keywords:

Ascorbic acid, Box-Behnken design, response surface methodology

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

Los frutos del género *Capsicum* son considerados un ingrediente de uso común en la cocina sudamericana y asiática debido a los aromas y sabores únicos que caracterizan a estos frutos (Hassan *et al.*, 2019). Una de las principales características organolépticas que distinguen a esta fruta es su sabor picante y una de las razones por las que se utiliza como materia prima para la fortificación o conservación de alimentos y en formulaciones farmacéuticas (Antonio *et al.*, 2018; Naves *et al.*, 2019).

Lamentablemente, algunas variedades de frutos del género *Capsicum* presentan bajas concentraciones de capsaicinoides, por lo que no resultan atractivos para el sector agroindustrial. El ser pimiento morrón (*Capsicum annuum*) es un claro ejemplo (González-Zamora *et al.*, 2013). A pesar de esto, estas frutas poseen otros metabolitos secundarios que pueden ser de interés porque se consideran beneficiosos para la salud humana debido a sus actividades antioxidantes (Olatunji y Afolayan, 2020). La función de estos compuestos es neutralizar los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno en la célula, lo que previene el daño celular causado por el estrés oxidativo (Zehiroglu *et al.*, 2019). Un ejemplo de estos antioxidantes son las vitaminas, siendo principalmente el ácido ascórbico (Wahyuni *et al.*, 2013).

El ácido ascórbico, una vitamina soluble en agua, es ampliamente reconocido como uno de los antioxidantes naturales más importantes debido a su capacidad para eliminar los radicales libres creados durante el estrés oxidativo (Iqbal *et al.*, 2017). Este compuesto es indispensable para corregir la visión de las personas e inhibir el crecimiento de células cancerosas (Zhu, 2019). Por lo anterior, este compuesto es de interés en la producción de alimentos funcionales.

El método de extracción es crucial para obtener un extracto rico en antioxidantes que pueda usarse para elaborar alimentos funcionales (Eskicioglu *et al.*, 2015;

Putnik *et al.*, 2018). Sin embargo, también es fundamental contar con una metodología ecológica y segura (Kua *et al.*, 2018). En el caso del ácido ascórbico, las técnicas reportadas son la maceración y la extracción asistida por ultrasonido (Afnani *et al.*, 2023; Umair *et al.*, 2021). Esta vitamina liposoluble se extrae principalmente mediante el método Soxhlet, maceración, ultrasonidos y fluidos supercríticos (Andrade Lima *et al.*, 2019; Saini y Keum, 2018; Ubaid *et al.*, 2014). De las metodologías mencionadas anteriormente que se han utilizado para la obtención de vitaminas, la extracción asistida por ultrasonidos destaca por sus cortos tiempos de extracción que permiten un alto rendimiento de los compuestos de interés debido a las burbujas de cavitación que provocan un aumento de la temperatura localizada y generan la ruptura de la pared celular (Gilvanda *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2018).

Se deben considerar diferentes condiciones para garantizar la máxima extracción ultrasónica porque las vitaminas se vuelven susceptibles a la temperatura, el tiempo de extracción y la relación soluto-disolvente (Afnani *et al.*, 2023; Umair *et al.*, 2021). Varios estudios han utilizado la metodología de superficie de respuesta para analizar adecuadamente el efecto de estas condiciones, que es una herramienta estadística para evaluar el impacto interactivo de variables independientes (Swamy *et al.*, 2014). Se ha utilizado con éxito para modelar y optimizar procesos bioquímicos y biotecnológicos relacionados con el área de alimentos (Slimani *et al.*, 2024). El diseño de Box-Behnken es uno de los más utilizados porque es más simple y eficiente que otros diseños factoriales (Martín-García *et al.*, 2020). Además, tiene beneficios adicionales, incluido el uso de bloques, el reconocimiento de la inconsistencia del modelo, la estimación de los parámetros para un modelo cuadrático y la construcción de diseños secuenciales (Ferreira *et al.*, 2007).

Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo optimizar las condiciones para la extracción de vitaminas en el pimiento morrón (*Capsicum annum*) mediante un diseño Box-Behnken. Esto se realiza utilizando solventes verdes (etanol y agua) y la técnica de extracción por ultrasonido en diferentes condiciones de temperatura, tiempo de extracción y relación soluto-solvente para garantizar la máxima extracción

de vitamina. La extracción óptima de las vitaminas presentes en el pimiento morrón (*Capsicum annum*) podría incrementar el valor agregado del fruto y permitir la producción de alimentos funcionales a partir del mismo. Las condiciones establecidas en este trabajo podrían usarse para extraer estos compuestos en matrices que presenten características estructurales similares a los frutos del género *Capsicum*.

1.2 ANTECEDENTES Y/O MARCO TEÓRICO

1.2.1 Pimiento morrón (*Capsicum annuum*)

El pimiento es originario de la zona de Bolivia y Perú, donde además de *Capsicum annuum* L. se cultivan otras cuatro especies como *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. frutescens* y *C. baccatum*. Se dio a conocer en el viejo mundo por Cristóbal Colón en su primer viaje que fue en el año de 1493. Además, para el siglo XVI, su cultivo ya estaba extendido en España. Gracias a la influencia de los portugueses, se distribuyó por Europa y en otras partes del mundo (*Agroinformación.*, n.d.).

Capsicum annuum es generalmente conocido como pimiento morrón, pimiento dulce, chile morrón, ají morrón o en algunos países como pimentón; pero en diferentes localismos es la especie más cultivada, difundida y reconocida. El origen del pimiento morrón es en el continente americano, específicamente en la zona centro y norte de Sudamérica. Es un fruto de una planta que pertenece a la familia de las solanáceas (Solanaceae) que se caracteriza por la producción de frutos de diferentes tamaños, con una textura carnosa como también una piel suave y brillante que exhibe colores radiantes.

Tabla 1. Nombres comunes internacionales

Inglés	Pimienta picante
	Pimiento verde
	Pimentón
	Paprika
	Pimiento rojo
	Pimiento dulce
Español	Chile dulce
	Pimiento
	Pimiento morrón
Francés	Tallar

	Pimentón
	Poivron
Portugués	Pimiento morrón

Fuente: (*Capsicum Annuum*, 2022)

Los pimientos morrones se muestran en distintas tonalidades como de color verde, amarillo, naranja y rojo, que corresponden a diferentes estados de maduración de un mismo cultivo. Asimismo, estos rasgos los distingue como únicos dentro del género *Capsicum*, en cambio, a diferencia de los otros miembros de su familia, carecen del compuesto químico conocido como capsaicina que es el responsable de la sensación de ardor de los pimientos picantes, por lo que, en los pimientos morrones su naturaleza es dulce y no picante, favoreciendo su uso en una amplia variedad de preparaciones gastronómicas (Pimiento Morrón Archives, s. f.).



Figura 1. Pimientos morrones verde, rojo y amarillo

Tabla 2. Clasificación taxonómica del pimiento morrón

Dominio	Eucariota
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida

Orden	Solanales
Familia	Solanáceas
Género	<i>Capsicum</i>
Especies	<i>Capsicum annuum L</i>

Fuente: (*Capsicum Annuum*, 2022)

Se trata de un ingrediente de gran versatilidad, que puede ser consumido de diferentes maneras como crudo, asado o incorporado en guisos y estofados. En el ámbito comercial, este fruto se presenta en su forma fresca, siendo recolectado en distintas etapas de madurez para poder satisfacer las preferencias del consumidor. También se encuentra disponible de manera deshidratado o en conserva, lo que permite su incorporación en una amplia variedad de preparaciones gastronómicas, adaptándose a diferentes tradiciones y enriqueciendo el perfil de sabores de los platos en los que se utiliza (Cares *et al.*, 2015).

El pimiento morrón se cultiva esencialmente como una planta herbácea de ciclo anual, aunque tiene la capacidad de rebrotar y seguir produciendo frutos en un segundo año después de su siembra o plantación.

En el cultivo anual de *Capsicum annuum*, la morfología y el crecimiento de la planta muestran variaciones notables según las condiciones ambientales y las prácticas agronómicas utilizadas. Las variedades cultivadas al aire libre suelen alcanzar alturas cercanas a los 50 CM, mientras que los híbridos diseñados para los invernaderos pueden superar los 2 metros, lo que permite maximizar su rendimiento y mejorar los sistemas de producción intensiva.

El tamaño de los frutos es diverso ya es variado entre pocos gramos hasta superar los 500 gramos. En el interior del pimiento, las semillas se encuentran ubicadas en una placenta cónica de disposición central. Estas semillas poseen una forma redondeada, ligeramente reniforme, y presentan un color amarillo pálido, con una medida que varía entre 3 y 5 CM (López *et al.*, 2014).

1.2.2 Metabolitos secundarios en el pimiento morrón

En la actualidad, en los supermercados se encuentran disponible una amplia variedad de pimientos, donde la mayoría cambian de color verde a amarillo, naranja, rojo o morado cuando están completamente maduros. Los pimientos de color verde suelen cosecharse antes de que maduren por completo, por ello, la etapa de madurez puede explicar en parte el contenido de los fitonutrientes como también el consumo de antioxidantes en la dieta (Shotorbani *et al.*, 2013).

La madurez del pimiento morrón no solo se relaciona con variaciones en los niveles de los carotenoides, sino que también se ha comprobado una alteración en la concentración de otros metabolitos bioactivos, como los tocoferoles y los fitoesteroles. Estos compuestos desempeñan un papel importante en la salud humana, exhiben cambios a medida que el fruto avanza en su ciclo de maduración, lo que sugiere que la evolución del perfil metabólico del pimiento es un proceso complejo que puede influir en su valor nutricional y funcional. Estos cambios en los metabolitos no solo afectan las propiedades sensoriales del pimiento, sino que también pueden provocar implicaciones en su capacidad antioxidante y en la alteración de diversas funciones biológicas en el organismo (Pino *et al.*, 2018).

Los pimientos morrones se caracterizan por contener cantidades elevadas de ácido ascórbico, conocido comúnmente como vitamina C. Su distintivo color rojo es el resultado de la presencia de diversos pigmentos carotenoides, entre los que destacan β -caroteno, que posee actividad provitamina A, así como carotenoides oxigenados como la capsantina, la capsorrubina y la criptocapsina. Estos últimos son compuestos exclusivos de los pimientos morrones y han demostrado una notable capacidad para neutralizar radicales libres, lo que les confiere propiedades antioxidantes significativas.

Además, estos frutos son ricos en compuestos fenólicos, en específico flavonoides como la quercetina y la luteolina, así como en capsaicinoides. Estos compuestos no solo contribuyen a las propiedades organolépticas del pimiento, sino que también

poseen diversas actividades biológicas que pueden tener un impacto positivo en la salud (Deepa *et al.*, 2006).

El consumo de los compuestos bioactivos ofrece importantes beneficios para la salud humana, gracias a sus destacadas propiedades antioxidantes, que actúan como protectores contra el daño oxidativo a nivel celular. Esta protección es de suma importancia para prevenir el desarrollo de diversas enfermedades degenerativas comunes, tales como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, las cataratas, la diabetes y el Alzheimer.

De igual manera, estos compuestos bioactivos juegan un papel crucial para la conservación de las grasas esenciales que se encuentran en las membranas celulares del cerebro, cuya integridad es esencial para asegurar un funcionamiento óptimo del sistema nervioso. Al conservar la estructura y función de estas grasas, se contribuye a mantener la salud neuronal y a prevenir disfunciones asociadas a trastornos neurológicos, reforzando así la importancia de estos metabolitos en una dieta equilibrada y saludable (Chávez-Mendoza *et al.*, 2015).

1.2.3 Vitaminas presentes en el pimiento morrón

Los pimientos morrones son una buena fuente de vitamina C, vitamina A y fibra, también poseen propiedades antioxidantes, para ayudar a proteger contra las enfermedades como las cardiovasculares y algunos tipos de cáncer.

Los pimientos morrones exhiben una diversa gama de colores que indican su grado de madurez, abarcando tonalidades que van desde el verde hasta el amarillo, naranja y rojo. Aunque todas las variantes de color aportan beneficios nutricionales, los pimientos rojos se destacan por su mayor concentración de antioxidantes y fitonutrientes, porque alcanzan una etapa de maduración más avanzado en comparación con de los colores verdes y amarillos.

Los pimientos rojos contienen naturalmente pequeñas cantidades de azúcares, lo que les da su característico perfil de sabor. Esta dulzura, junto con su textura suave, los hace más agradables al paladar, en comparación con los pimientos verdes, que

tienden a tener un sabor más amargo y menos desarrollado. Esta variabilidad en el sabor y contenido nutricional no solo enriquece la diversidad culinaria de los pimientos, sino que también permite a los consumidores elegir según sus preferencias y necesidades dietéticas.

El pimiento morrón es la única variedad de *Capsicum* que no produce capsaicina. Sin embargo, los pimientos rojos son una de las principales fuentes de vitamina A. Ya que a medida que maduran y adquieren su color rojo, su contenido de vitamina A aumenta considerablemente, al igual que los niveles de vitamina C y azúcar (*Capsicum Annuum*, 2022)

Los pimientos morrones, en particular los pimientos rojos, son conocidos por su alto contenido de vitamina C. Según los Institutos Nacionales de Salud (NIH), una porción de media taza de pimiento rojo crudo aporta 95 miligramos (mg) de vitamina C, lo que equivale al 106 % del valor diario recomendado (% VD) para adultos y niños a partir de 4 años. Además, esta misma porción proporciona 117 microgramos de equivalentes de actividad de retinol de vitamina A.

La forma de vitamina A que se encuentra en los pimientos naranjas y rojos es el β -caroteno, un carotenoide que el organismo convierte en la forma activa de vitamina A, esencial para diversas funciones fisiológicas. Este β -caroteno es también el responsable de los vibrantes colores naranja y rojo que caracterizan a estos pimientos, resaltando su valor nutricional y su importancia en la dieta.

Los pimientos también son una buena fuente de:

- Vitamina B6: Esta vitamina desempeña un papel fundamental en el apoyo al sistema nervioso central, además de estar involucrada en procesos metabólicos que facilitan la conversión de los nutrientes en energía utilizable por el organismo.
- Folato (vitamina B9): El folato es esencial para la conversión de carbohidratos en energía y es esencial para el crecimiento y desarrollo celular. Su presencia es importante durante las etapas de proliferación celular, como en el

embarazo y la niñez, donde contribuye al desarrollo saludable de tejidos y órganos.

- Vitamina E: Esta vitamina actúa como un potente antioxidante que respalda el sistema inmunológico y ayuda a mantener la salud de los vasos sanguíneos. Su capacidad para proteger las células del daño oxidativo es importante para prevenir enfermedades cardiovasculares y otros trastornos relacionados con la inflamación (Sissons, B., 2023)

1.2.4 Vitamina C (Ácido ascórbico)

La vitamina C es una vitamina hidrosoluble que se conoce ampliamente por sus diversas aplicaciones y beneficios, tanto en su administración sistémica como en su uso tópico. Desde un punto de vista químico, el ácido ascórbico es una lactona derivada del ácido gulónico, cuya biosíntesis se lleva a cabo a partir de la glucosa mediante una serie de reacciones enzimáticas específicas.

En términos bioquímicos, el ácido L-ascórbico se presenta como un sólido cristalino de tonalidad blanca, inodora y muy soluble en agua, aunque su solubilidad es limitada en la mayoría de los disolventes orgánicos. Su estructura molecular esta presentada por la fórmula química $C_6H_8O_6$, lo que le confiere propiedades oxido reducción (redox) que son esenciales para su función biológica, actuando como un agente antioxidante clave en numerosos procesos fisiológicos (Valdés, F, 2006).

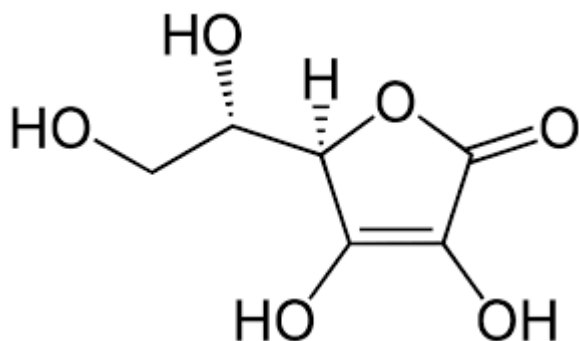


Figura 2. Estructura química de la Vitamina C

Desde su descubrimiento, la vitamina C ha revelado una creciente variedad de funciones biológicas. Su denominación como ácido ascórbico o vitamina C es importante para el funcionamiento celular y relacionadas con su función esencial en la síntesis de colágeno en los tejidos conectivos.

La vitamina C, también conocida como ácido ascórbico es un nutriente esencial que juega un papel fundamental en muchos procesos biológicos. Es indispensable para la biosíntesis de vasos sanguíneos, cartílagos, músculos y colágeno óseo, siendo este último una proteína estructural clave para la integridad del tejido conjuntivo. Además, la vitamina C tiene un efecto protector en la oxidación celular y es capaz de poder reducir los radicales libres que son producidos durante los procesos metabólicos (Huamani *et al.*, 2018).

Dado que el organismo humano no puede sintetizar esta vitamina por sí mismo, es necesario obtenerla a través de la alimentación. Se encuentra presente en una amplia variedad de fuentes vegetales, entre las que destacan los cítricos, bayas, papas, tomates, pimientos, coles de Bruselas, repollo, brócoli y espinacas, contribuyendo así a una dieta equilibrada y al mantenimiento de la homeostasis fisiológica (Okiei *et al.*, 2009).

Las principales fuentes de vitamina C son:

Tabla 3. Contenido de vitamina C en algunos alimentos

Contenido de vitamina C en algunos alimentos (mg / 100 g de alimento)	
Guayabas	300
Grosellas negras	200
Pimiento verde	100
Berros	60
Fresas	60
Col cruda	55
Melón	50
Jugo de limón	50

Naranjas	50
Toronja	40

Fuente: Okiei *et al.*, 2009.

Por ser una vitamina soluble en agua apenas se acumula en el organismo, por lo que es importante un aporte diario. Es muy sensible a la luz, a la temperatura y al oxígeno del aire (Clínica Universidad de Navarra, 2025).

1.2.5 Métodos de extracción de ácido ascórbico

Se han desarrollado varios métodos analíticos para la cuantificación del ácido ascórbico en distintas matrices, incluyendo técnicas como la espectrofotometría, la quimioluminiscencia, la voltamperometría, los ensayos enzimáticos y el análisis amperométrico. Sin embargo, cada una de estas metodologías puede presentar limitaciones en términos de sensibilidad, selectividad, estabilidad analítica o complejidad en la preparación de las muestras, lo que puede afectar la precisión y reproducibilidad de los resultados.

En la actualidad, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la electroforesis capilar se han establecido como las técnicas de referencia para la determinación del ácido ascórbico en diversas muestras. Estas metodologías, junto con diferentes sistemas de detección, incluyendo el uso de sonicación, ofrecen una mayor precisión, resolución y eficiencia analítica, permitiendo la identificación y cuantificación del compuesto con un alto grado de fiabilidad (Nojavan *et al.*, 2008).

La extracción de vitamina C en frutas debe considerar una serie de criterios fundamentales que garantizan la calidad, precisión y eficiencia del proceso. Estos incluyen:

- La especialidad y el detalle de la información analítica necesaria que determinan el nivel de sensibilidad y exactitud necesarias en el análisis.
- Las características intrínsecas de la matriz alimentaria, las cuales pueden intervenir en la liberación y recuperación del compuesto objetivo.

- La forma en que la vitamina C se encuentra presente ya sea de manera natural o como aditivo, considerando que en algunos casos puede estar asociada a otros constituyentes alimentarios, como carbohidratos o proteínas, lo que complica su liberación.
- La presencia y concentración relativa de sustancias que pueden interferir en el análisis, lo que puede afectar tanto la especificidad como la selectividad del método.
- La estabilidad del ácido ascórbico frente a condiciones extremas de temperatura y pH, factores que pueden provocar su degradación durante el proceso de extracción.
- La naturaleza lábil de la vitamina C, que exige condiciones controladas para minimizar su pérdida o alteración.

Es crucial que estos factores sean evaluados y optimizados para poder garantizar que el analito sea separado de manera eficiente de la matriz alimentaria, sin comprometer su integridad, calidad ni rendimiento (Bleydis *et al.*, 2022).

La Tabla 4 representa un resumen de los métodos de extracción empleados para la extracción del ácido ascórbico de diversas especies vegetales, incluyendo variedades de chile, frutas y vegetales. En la columna “Matriz” se identifican estas especies, mientras que la columna “Método de extracción” describe las técnicas específicas utilizadas como la maceración, centrifugación, liofilización y el uso de soluciones ácidas. Además, cada método está respaldado por referencias bibliográficas, proporcionando un soporte científico que permite validar los procedimientos y consultar estudios relevantes.

Tabla 4. Métodos de extracción del ácido ascórbico

Matriz	Método de extracción	Referencia
Chile habanero (<i>C. chinense</i>)	Maceración a 30 °C con un buffer por 30 minutos	Flávia <i>et al.</i> , 2013
Pimiento morrón (<i>C. annum</i>)	Maceración con ácido meta fosfórico y centrifugación	Topuz <i>et al.</i> , 2007

Pimiento morrón (<i>C. annuum</i>)	Maceración con ácido meta fosfórico y centrifugación	Deepa <i>et al.</i> , 2007
Chile habanero (<i>C. chinense</i>)	Maceración con ácido meta fosfórico al 3 %	Bae <i>et al.</i> 2014
Pimiento morrón (<i>C. annuum</i>)	Maceración con ácido metafosfórico al 4 %	Garcia, S., 2015
Uchuva (<i>Physalis peruviana L.</i>)	Maceración y posterior liofilización, además de la extracción con una solución tampón de acetato de sodio, filtración e inyección. Extracción con Agua-Ácido sulfúrico y con Ácido fosfórico 0,05 N.	Gutiérrez <i>et al.</i> , 2007
Brócoli (<i>Brassica oleracea var.</i> <i>Itálica</i>)	Extracción con ácido metafosfórico y el reactivo de complexación compuesto por cuproína y alcohol isoamílico.	Marques <i>et al.</i> , 2004
Polvo de tomate liofilizado	La extracción se realizó por homogeneización con una solución de ácido tricloroacético al 6 %	Sérino <i>et al.</i> , 2019
Fruto tropical Cocana (<i>Solanum</i>)	Maceración con solución de metanol/Agua (8:20) 50 ml	Aristizábal-Sandoval., 2021
	Extracción con solución ácida, con 3 mL de solución ácida de H ₂ SO ₄ 5 mM	Aristizábal-Sandoval., 2021

Araza (<i>Eugenia Stipitata</i>)	Maceración donde las fracciones se extrajeron de acuerdo con la solubilidad en agua, metanol y 50% metanol.	Aristizábal-Sandoval., 2021
Pitaya (<i>Hylocereus. Triangularis</i>)	Maceración con 25 mL de etanol al 80 % y centrifugación durante 25 minutos.	Aristizábal-Sandoval., 2021
Tejocote (<i>Crataegus mexicana</i>)	Maceración con 25 mL de etanol al 95 % v/v, después de 24 h se ajusta el volumen a 25 ml en etanol al 80 % v/v y centrifugación,	Aristizábal-Sandoval., 2021
Mango (<i>Mangúífera</i>)	Extracción estática y dinámica, se emplea un cosolvente polar (20 % etanol), a una temperatura de 40 °C.	Aristizábal-Sandoval., 2021
Gulupa (<i>Passiflora pinnatistipula</i>)	Maceración con ácido-etanol a diferentes temperatura de extracción (40-80 °C), tiempo (60-120 min) y relación solido-liquido (1:15-1:30).	Aristizábal-Sandoval., 2021
Guanábana (<i>Annona muricata</i>)	Se extrajo el jugo mediante una maceración manual con un mortero de porcelana	Aristizábal-Sandoval., 2021

Manzana Fuji (<i>Malus domestica</i>)	Se emplea una solución acuosa de ácido metafosfórico (5 % P/P) con ditiotritol (0,1 % P/P) en sonicador por 15 minutos	Aristizábal-Sandoval., 2021
-Piña (<i>Ananas comosus</i>) -Guayaba (<i>Psidium</i>) -Guanábana (<i>Annona muricata</i>)	Maceración con una solución metanol/agua (50:50 v/v) y centrifugación.	Aristizábal-Sandoval., 2021
Tubérculos y raíces andinos oca (<i>Oxalis tuberosa</i>)	Maceración con ácido meta-fosfórico (0,3 M) y ácido acético (1,4 M)	Aristizábal-Sandoval., 2021
Guayaba Roja (<i>Psidium guajava</i> L.)	Extracción solido-liquido con ácido sulfúrico o ácido fosfórico y centrifugación	Bleydis <i>et al.</i> , 2022
	Extracción en agua	Bleydis <i>et al.</i> , 2022
	Criogenización	Bleydis <i>et al.</i> , 2022

La Tabla 5 ofrece un análisis de diversos métodos analíticos empleados para la determinación de vitamina C. Cada método se detalla a través de las condiciones y referencias bibliográficas, proporcionando así una visión integral que facilita la comprensión de estos métodos en investigaciones científicas.

Tabla 5. Métodos utilizados para la determinación de vitamina C

Método	Condiciones	Referencia
Volumetría de oxido-reducción	Se utiliza como agente valorante una solución de 2,6-diclorofenolindofenol, previamente estandarizada.	Zago <i>et al.</i> , 2010

Yodométrico	Se realiza una titulación de la mezcla de almidón y Vit C con Lugol. Se lee la absorbancia a 521 nm.	Campos, C., 2021
Potenciométrica	Se basa en su determinación mediante la reacción catalizada por el ascorbato oxidasa.	Skrovankova <i>et al.</i> , 2015
Voltamperometría	Método electro analítico que mide la intensidad de corriente frente al potencial aplicado sobre el analito para que ocurra una reacción redox la cual produce un flujo de corriente eléctrica.	Huamani & Paucar, 2018
Colorimétrico de Mohr	La absorbancia se mide a 540 nm.	Bleydis <i>et al.</i> , 2022
Enzimático	Utiliza una enzima peroxidasa que cataliza la hidroperoxidación de la p-fenilendiamina (PPDA) a través de una forma semiquinoide reversible a un producto de condensación coloreado.	Fang, Z., 2017
Espectrofotométrico	Mide los valores de absorbancia a 450 nm	Skrovankova <i>et al.</i> , 2015
	-Se basa en la reacción de condensación entre Vit C y o-fenilendiamina (OPDA)	Skrovankova <i>et al.</i> , 2015
Fluorométrico	-Se basa en la medida de la fluorescencia a una longitud de onda a 430 nm.	Bleydis <i>et al.</i> , 2022

Electroforesis capilar	Utiliza capilares de sílice fundida junto con altos campos eléctricos (1-30 kv).	Fang, Z.,2017
Espectroscópicos (espectrofotométricos)	Pueden ser directos ya que el AA presenta un máximo de absorción a 260 nm, o bien con indirectos basados en la reacción del AA con 4-metoxi2-nitro anilina, y el producto obtenido tiene un máximo de absorción a 570 nm	Fang, Z., 2017
Polarografía	Se mide la corriente que circula en la celda en función del potencial del electrodo de trabajo, ya que esta corriente suele ser proporcional a la concentración del analito.	Fang, Z., 2017
Cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC)	Para realizar la separación, se utilizan columnas cortas llenas de partículas más pequeñas (sub-2 μ m).	Klimczak, I., y Gliszczyńska- Świgło, A., 2015
Cromatografía líquida de alto rendimiento (HLCP)	Se absorbe fuertemente a la longitud de onda de 244 o 265 nm.	Skrovankova <i>et al.</i> , 2015

La Tabla 6 presenta información sobre las concentraciones de ácido ascórbico (vitamina C) en diferentes especies vegetales, lo que muestra la variabilidad en el contenido de este nutriente esencial en diferentes alimentos. Cada entrada incluye el nombre científico de la especie, la concentración específica de ácido ascórbico expresada en mg por cada 100 g de muestra, así como la referencia correspondiente de los estudios que respaldan los datos.

Además, la tabla incluye varios tipos de *Capsicum annum* (pimientos morrones), donde se observa una notable variación en los niveles de vitamina C según el color del pimiento, lo que sugiere que los pimientos de diferentes etapas de madurez o variedades pueden contener diferentes niveles de nutrientes.

Tabla 6. Concentraciones de ácido ascórbico

Especie	Concentración	Referencia
<i>Casimiroa edulis</i> L. (Chalarina)	30.442 mg/100 g	Amador <i>et al.</i> , 2019
<i>Physalis peruviana</i> L. (Uchuva)	0,332 mg / 100 g	Gutiérrez <i>et al.</i> , 2007
<i>Capsicum annum</i> (pimiento morrón amarillo)	125.80 mg/100g	Arzube <i>et al.</i> , 2022
<i>Capsicum annum</i> (pimiento morrón rojo)	166.10 mg/100g	Arzube <i>et al.</i> , 2022
<i>Physalis peruviana</i> L. (Aguaymanto)	28.55 mg/100 g	Zelana, C., 2007
<i>Mangúífera</i> (Mango - cáscara)	48.38 mg/100 g	Aristizábal, A., 2021
<i>Eugenia Stipitata</i> (Araza)	Verde amarillento: 31.78 mg/100 g	Aristizábal, A., 2021
	Amarillento: 33.70 mg/100 g	Aristizábal, A., 2021
<i>Irvingia gabonensis</i> (Mango africano)	33.03 mg/100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Musa sapientum</i> (Plátano)	15.00 mg/100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Phaseolus vulgaris</i> (frijol verde)	43.35 mg/100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009

<i>Zea mays</i> (Maíz amarillo)	14.20 mg/ 100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Theobroma cacao</i> L. (cacao)	6.10 mg/ 100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Cucumis sativus</i> (Pepino)	6.99 mg/ 100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Allium sativum</i> (Ajo)	38.68 mg /100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Cucumis melo</i> (Melón)	20.06 mg / 100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	182.34 mg / 100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Capsicum frutescens</i> (Chile tabasco)	125.59 mg / 100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Persea americana</i> (Pera de aguacate)	30.00 mg / 100 g	Okiei <i>et al.</i> , 2009
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	101.886 mg / 100 g	Garcia <i>et al.</i> , 2017
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	16.52 mg / 100 g	Nerdy, N., 2018
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón amarillo)	159.61 mg / 100 g	Nerdy, N., 2018
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón naranja)	121.38 mg /100 g	Nerdy, N., 2018
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón rojo)	81.19 mg / 100 g	Nerdy, N., 2018
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	82.700 mg / 100 g	Garcia <i>et al.</i> , 2017

<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	102.212 mg / 100 g	Garcia <i>et al.</i> , 2017
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	125.954 mg / 100 g	Garcia <i>et al.</i> , 2017
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	150.296 mg / 100 g	Garcia <i>et al.</i> , 2017
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	158.447 mg / 100 g	Garcia <i>et al.</i> , 2017
<i>Capsicum annuum</i> (Pimiento morrón verde)	174.269 mg / 100 g	Garcia <i>et al.</i> , 2017

1.2.6 Importancia de la validación

En los laboratorios destinados al control de calidad, así como en las instituciones especializadas en análisis químicos, resulta esencial contar con métodos analíticos altamente confiables y reproducibles. Dichos métodos son indispensables para garantizar que tanto las materias primas como los productos terminados cumplan rigurosamente con las normativas legales vigentes y los estándares técnicos establecidos, ya sea a nivel nacional o internacionalmente (Clavijo, D., 2002)

Diferentes organismos como la FDA (Food and Drug Administration, FDA por sus siglas en inglés) y EPA (Environmental Protection Agency, EPA por sus siglas en inglés) recomiendan que los métodos analíticos sean sometidos a estudio o validación, con el propósito de garantizar que los datos obtenidos a través de ellos sean confiables y adecuados para el propósito previsto (Sierra *et al.*, 2010).

1.2.6.1 Validación

La validación es un proceso que busca demostrar, a través de evidencia experimental documentada, que un método analítico es adecuado para cumplir con el propósito para el cual fue diseñado (Feldsine *et al.*, 2002). Los parámetros que se evalúan durante la validación de un método son los siguientes:

- Selectividad.

- Linealidad.
- Límite de detección.
- Límite de cuantificación.
- Precisión.
- Exactitud.
- Robustez.

1.2.6.1.1 Selectividad

La selectividad es el parámetro que evalúa la capacidad de un método para identificar y cuantificar de manera precisa un analito específico, incluso en presencia de una o múltiples sustancias que puedan actuar como interferencias (Feldsine *et al.*, 2002).

1.2.6.1.2 Linealidad

La linealidad se refiere a la capacidad del método para generar resultados de prueba que son directamente proporcionales a la concentración del analito presente en la muestra analizada (Feldsine *et al.*, 2002).

1.2.6.1.3 Límite de detección (LD)

Este parámetro se refiere a la concentración más baja del analito en una muestra que puede ser detectada, aunque no necesariamente cuantificada, según las condiciones establecidas por el método (Feldsine *et al.*, 2002).

1.2.6.1.4 Límite de cuantificación (LC)

Es la concentración mínima del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión, repetibilidad y veracidad, conforme a las condiciones establecidas por el método (Feldsine *et al.*, 2002).

1.2.6.1.5 Precisión

La precisión es el grado de concordancia entre resultados obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto o de objetos similares, bajo condiciones específicas.

La precisión de un método de ensayo se expresa cuantitativamente como imprecisión a través del cálculo de la desviación estándar de una serie de resultados (Feldsine *et al.*, 2002).

1.2.6.1.6 Exactitud

La exactitud se refiere a la proximidad del resultado de una medición con respecto al valor de referencia aceptado. Cuando se aplica a un conjunto de resultados de prueba, el término exactitud implica una combinación de componentes aleatorios y un componente de error sistemático o sesgo (Feldsine *et al.*, 2002).

1.3 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad contar con métodos analíticos validados es de gran importancia para la determinación precisa y confiable de los diferentes nutrientes presentes en los alimentos, donde esta necesidad surge del aumento de demanda de estándares de calidad de la industria alimentaria, con el objetivo de garantizar tanto la seguridad como el valor nutricional de los productos que son consumidos. La validación de estos métodos contribuye a la confiabilidad de los resultados obtenidos, lo cual es crucial para respaldar las afirmaciones nutricionales y con ello asegurar que los productos alimenticios cumplan con las expectativas de los consumidores.

Una parte fundamental al desarrollar métodos analíticos confiables en la industria alimentaria es el método de extracción. Este proceso es esencial, ya que impacta directamente en la eficiencia y efectividad para la recuperación de los compuestos de interés. La optimización del método de extracción debe de realizarse con cuidado para asegurar que los rendimientos sean los más altos posibles, en donde a su vez garantiza la representatividad de los nutrientes y otros tipos de analitos que están presentes en las matrices alimentarias. Además, una extracción óptima no solo mejora la cantidad del analito recuperado, sino que también minimiza la posibilidad de interferencias y la degradación de los compuestos, por lo cual resulta análisis más precisos y confiables. Por ello, el desarrollo de métodos de extracción que están bien fundamentados y validados es importante para la integridad de los análisis nutricionales y de calidad para la industria alimentaria.

Debido a lo anteriormente mencionado, surge el presente trabajo de investigación, que busca desarrollar una metodología mediante cromatografía de líquidos para la determinación de ácido ascórbico en Pimiento Morrón (*Capsicum annuum*). Esta investigación no solamente propone abordar las cuestiones planteadas, sino que también proporciona un enfoque sistemático donde permita la implementar técnicas analíticas efectivas en el ámbito de estudio. La finalidad de desarrollar esta metodología es contribuir al avance del conocimiento para el área, donde se asegura que los procedimientos realizados sean replicables al igual que los

resultados obtenidos sean validados y confiables, además es importante mencionar que con esta investigación se pretende establecer las bases para futuras investigaciones y aplicaciones prácticas, donde se promueva así un enfoque más sólido y científico en el análisis de los elementos en cuestión.

1.4 OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS

1.4.1 Objetivo general

Desarrollar de una metodología por cromatografía de líquidos para la determinación de ácido ascórbico en Pimiento Morrón (*Capsicum annuum*).

1.4.2 Objetivos específicos

1. Determinar las condiciones cromatográficas para el análisis de ácido ascórbico por CLAE.
2. Implementar y optimizar la metodología de extracción por ultrasonido del ácido ascórbico en Pimiento Morrón (*Capsicum annuum*).
3. Evaluar la linealidad, exactitud, precisión y el límite de detección y cuantificación del método establecido.

CAPÍTULO 2

2.1 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.1 Materiales y reactivos

Los reactivos empleados para el desarrollo experimental fueron Metanol grado HPLC (Pureza $\geq 99.9\%$), Ácido fórmico grado reactivo (Pureza $\geq 99\%$), agua grado HPLC y el estándar del ácido ascórbico marca Sigma Aldrich® grado HPLC (Pureza $\geq 99.9\%$).

2.1.2 Obtención de las muestras

Los pimientos morrones (*Capsicum annuum*) analizados fueron recolectados en la comunidad de Calkiní, Campeche, México. Para garantizar la eliminación de posibles contaminantes superficiales, se llevó a cabo un proceso de lavado con agua destilada. Posteriormente, los pimientos morrones fueron cortados en mitades y fraccionados nuevamente para distribuirlos en bandejas de aluminio, después fue sometida a un proceso de deshidratación en un horno de convección a una temperatura controlada de 45 °C durante un periodo de 72 horas.

Tras completar el secado, se procedió a triturar, empleando un molino eléctrico de granos hasta reducir el tamaño de las partículas. Luego, se realizó un proceso de tamizado utilizando un tamiz # 40, obteniendo un tamaño de partícula uniforme de 0.45 mm. Finalmente, los polvos obtenidos fueron envasados en bolsas de polietileno, almacenados a una temperatura de 4 °C y protegidos de la exposición a la luz hasta su posterior análisis.

2.2 Método de extracción

2.2.1 Extracción ultrasónica

Según Umair *et al*, (2021), la extracción asistida por ultrasonido se realizó con algunas modificaciones. Se utilizó un baño de ultrasonido (Creworks, EE. UU.) de 3 L de capacidad con una energía ultrasónica de 120 W y una frecuencia de 40 kHz. El baño ultrasónico cuenta con un termostato que permite controlar la temperatura

de 20 a 80 °C. Las condiciones evaluadas para ácido ascórbico se muestran a continuación:

Las condiciones para la extracción asistida por ultrasonido del ácido ascórbico fueron de 5 a 40 minutos, temperaturas de 20 a 70 °C y una relación disolvente-muestra (v/p, mL/g) de 40 (4 mL / 0.1 g) a 80 (8 mL / 0.1 g). En este caso, el disolvente utilizado para la extracción fue agua destilada con ácido acético a una concentración de 0.2 %. Las muestras se centrifugaron a 4500 rpm por 20 minutos y el sobrenadante se filtró y se colocó en un vial para su análisis mediante cromatografía líquida.

2.3 Diseño experimental de Box-Behnken

El diseño Box-Behnken también se aplicó a la optimización de la extracción de ácido ascórbico (Tabla 7), las tres variables independientes evaluadas fueron la relación (de 40 a 80 v/p), el tiempo de sonicación (de 5 a 40 minutos) y la temperatura (de 20 a 70° C).

Tabla 7. Condiciones ultrasónicas para la extracción de ácido ascórbico

Ácido ascórbico			
Independiente	Niveles de factores		
Variables	-1	0	+1
Relación (v/p, mL/g)	40	60	80
Tiempo (minutos)	5	22.5	40
Temperatura (°C)	20	45	70

La relación entre las variables independientes y los valores de respuesta se representó utilizando un modelo de superficie de respuesta polinomial de segundo orden.

Relacione cada variable de respuesta con la ecuación de regresión que aparece a continuación:

$$Y_i = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_{ii}^2 + \sum_{i \neq j=1}^3 \beta_{ij} x_i x_j$$

Donde Y_i representa la variable de respuesta, específicamente la concentración de Ácido ascórbico, mientras que β_0 , β_i , β_{ii} , y β_{ij} corresponden a los coeficientes que representan la regresión del modelo. Las variables codificadas x_i y x_j representan los factores que influyen en la respuesta.

Se utilizó el coeficiente R^2 para determinar la precisión del modelo matemático. Se realizaron superposiciones de gráficos de contorno y gráficos de superficie de respuesta tridimensionales utilizando STATGRAPHICS Centurion XIX (Statgraphics Technologies Inc., The Plains, Virginia, USA). Se consideraron las superficies de respuesta de todas las variables para seleccionar las condiciones de extracción óptimas.

La Tabla 8 representa el diseño experimental basado en el diseño de Box-Behnken que se utilizó para optimizar el efecto de tres variables sobre la extracción de ácido ascórbico. Estas variables son:

1. Relación (v/p, mL/g): Cantidad de solvente en relación con la masa del sólido.
2. Tiempo de extracción (minutos): Duración del proceso de extracción.
3. Temperatura de extracción (°C): Temperatura a la que se realiza la extracción.

Cada fila de la tabla corresponde a un ensayo experimental, donde se combinan diferentes valores de las variables para observar su impacto en la respuesta (la concentración de ácido ascórbico extraído).

Tabla 8. Diseño experimental para la optimización de la extracción de ácido ascórbico

Relación (v/p, mL/g)	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)
4 (-1)	5 (-1)	45 °C (0)
8 (1)	5 (-1)	45 °C (0)
4 (-1)	40 (1)	45 °C (0)
8 (1)	40 (1)	45 °C (0)
4 (-1)	22 (0)	20 °C (-1)
8 (1)	22 (0)	20 °C (-1)
4 (-1)	22 (0)	70 °C (1)
8 (0)	22 (0)	70 °C (1)
6 (0)	5 (-1)	20 °C (-1)
6 (0)	40 (1)	20 °C (-1)
6 (0)	5 (-1)	70 °C (1)
6 (0)	40 (1)	70 °C (1)
6 (0)	22 (0)	45 °C (0)
6 (0)	22 (0)	45 °C (0)
6 (0)	22 (0)	45 °C (0)

2.4 Determinación por HPLC

Para la determinación de ácido ascórbico se utilizó un sistema de cromatografía líquida Ultimate 3000 HPLC (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.). Estaba equipado con un muestreador automático con un bucle de inyección de 20 µL, detector de matriz de diodos, desgasificador de membrana y compartimiento de columna con regulador de temperatura. La columna utilizada fue de una columna de HPLC Grace Alltima HP C18-HL con un tamaño de partícula de 5 µm, una longitud de 250 mm y un diámetro interno de 4,6 mm.

La elución del ácido ascórbico se realizó utilizando las condiciones reportadas por Klimczak & Gliszczynska-wiglo (2015), con algunas modificaciones. Como fase móvil A se utilizó agua con ácido fórmico a una concentración de 0.2 %, y como fase

móvil B, metanol, utilizando un sistema gradiente que inicia con 100 % de fase móvil A hasta 5 minutos, en el que la proporción de A cambia a 80 % y B a 20 %, estas proporciones se mantienen hasta los 10 minutos en los que las proporciones cambian nuevamente a 100 % de fase móvil A. El flujo de la fase móvil se mantuvo constante a una velocidad de 0.8 mL/min, la temperatura de la columna fue de 25 °C y la longitud de onda a la que se realizó la absorbancia fue de 244 nm.

2.5 Validación

Se realizó la validación del método de extracción y del método cromatográfico siguiendo los lineamientos de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists).

2.5.1 Linealidad

Se prepararon 3 curvas de calibración de 6 niveles (concentraciones de 20, 100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL) a partir de una solución madre de 1000 µg/mL, para posteriormente ser inyectadas las 3 curvas en un mismo día al CLAE, a partir de los resultados que se obtuvieron se determinó las variaciones (DER) intradía. Esto se repitió durante 3 días diferentes con la finalidad de obtener las variaciones (DER) interdía.

2.5.2 Precisión.

2.5.3 Repetibilidad del Método

Se fortificó el pimienta morrón a tres concentraciones diferentes (20, 200 y 4000 ppm) a partir de una solución madre de 1000 ppm que contenía la vitamina C (ácido ascórbico), posteriormente se prosiguió a realizar el proceso de extracción de la muestra, y se inyectó al cromatógrafo de líquidos. Se calculó la DER intradía e interdía y se determinó el porcentaje de desviación con respecto a la media para cada ensayo.

2.5.4 Exactitud con la prueba de añadido recuperado.

Se fortificaron 3 muestras de pimienta morrón a 3 concentraciones diferentes (20, 60 y 100 ppm) a partir de una solución madre de 1000 µg/mL que contenía la vitamina C (ácido ascórbico). Se integró el área de los puntos de la curva de

calibración, y se comparó con las muestras fortificadas, tomando como 100% el área del estándar y se calculó el porcentaje de recuperación del pimienta fortificado.

2.5.5 Límite de detección y límite de cuantificación

El límite de detección y cuantificación se evaluó preparando 3 curvas de calibración de 6 niveles (5, 7, 10, 12, 15, y 17 µg/mL) a 3 días diferentes. Con estos datos se determinó el valor medio de la señal ruido por extrapolación, así como la desviación estándar de esta señal, esto con la finalidad de poder determinar el límite de detección y cuantificación teóricos, basándonos en las siguientes ecuaciones:

Ecuación para el límite de detección (LD)

$$LD = \frac{3S_0}{m}$$

Ecuación para el límite de cuantificación (LC)

$$LC = \frac{10S_0}{m}$$

Donde:

S_0 = La desviación estándar de x con respecto y.

m = La pendiente de la curva de calibrado.

CAPÍTULO 3.

3.1 RESULTADOS Y DISCUSIONES

El cromatograma que se muestra en la Figura 3 corresponde a un análisis realizado mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) para determinar la presencia de la vitamina C (ácido ascórbico). En el eje X (tiempo en minutos) representa el tiempo que tarda un compuesto en salir de la columna cromatográfica y ser detectado. En este caso, se observa un pico principal alrededor del minuto 5, lo que indica que la vitamina C ha sido separada y detectada en este momento. Por otro lado, el eje Y (mUA – micro Unidades de Absorbancia) muestra la intensidad de la señal de detección del analito. El pico que se define alrededor del minuto 5 sugiere una alta concentración de ácido ascórbico.

En el cromatograma, se puede ver un pico de forma simétrica y definido, lo que demuestra una separación cromatográfica eficiente y la ausencia de interferencias de otros compuestos que pudieran coeluir con la vitamina C. La estrechez y resolución del pico indican una alta eficiencia en la separación de la columna cromatográfica, lo que garantiza una detección precisa del analito.

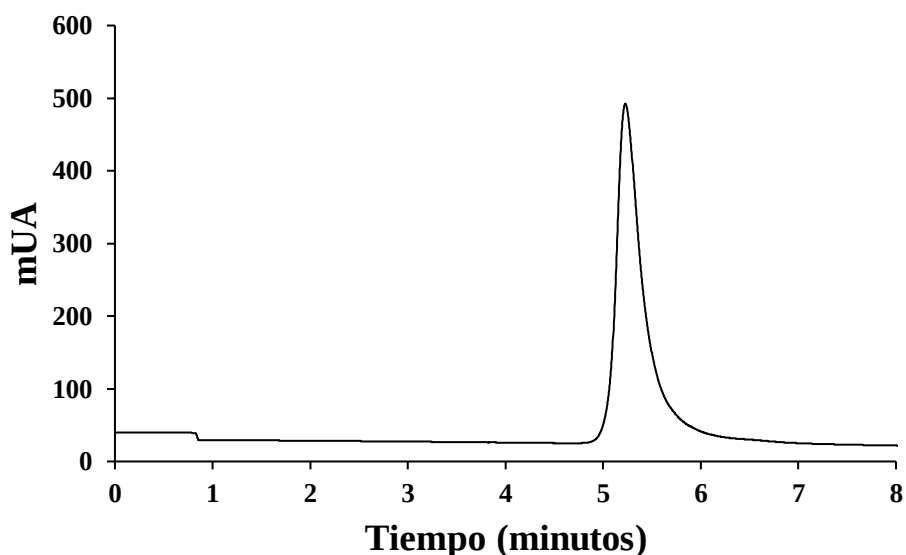


Figura 3. Cromatograma Estándar vitamina C a una concentración de 100 µg/mL.

3.1.1 Validación

3.1.1.1 Linealidad

La linealidad del método se determinó por la inyección de 6 niveles (concentraciones de 20, 100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL). La linealidad se estableció por medio de un modelo lineal de primer orden ($y = mx + b$) por suma de cuadrados, para expresar la ecuación de la recta, así como el coeficiente de correlación (R^2). En la figura 4 se observa que las 3 curvas se encuentran en un mismo rango y en la tabla 9 se puede observar que el promedio de las 3 curvas del coeficiente de correlación es > 0.99 . Por lo cual se deduce que el método es lineal para la determinación del ácido ascórbico

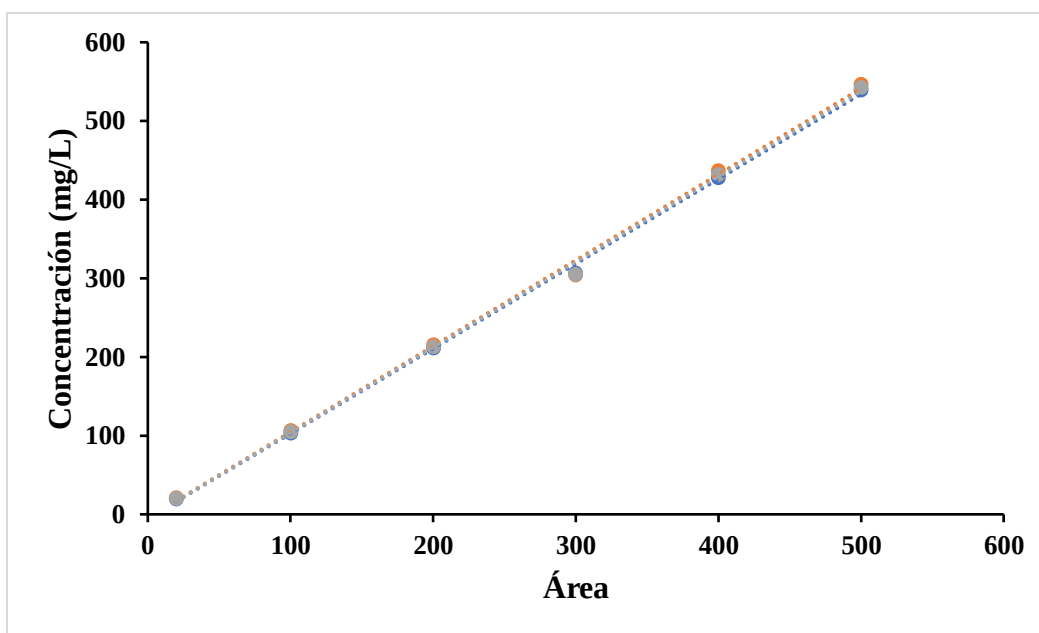


Figura 4. Curva de calibración para la determinación de la vitamina C

Tabla 9. Resultados obtenidos de la curva de calibración

PROMEDIO	
Pendiente	1.0850 ± 0.0065
Intercepto	-4.8694 ± 0.2646
R2	0.9985 ± 0.0006

3.1.1.2 Límite de cuantificación y límite de detección

En la Figura 5 se puede observar que las tres curvas de calibración se encuentran en el mismo rango, los puntos de datos se ajustan a una línea recta punteada que representan en cada ecuación de regresión lineal. La figura indica que la relación entre el área y la concentración es proporcional y confiable.

En la Tabla 10 se observa un análisis comparativo entre las tres curvas, en donde la curva 1 tiene el valor más alto de límite de cuantificación con un valor de 8.09113, lo que puede indicar que esta curva ofrece una mayor eficacia en la mediación, aunque no fue por mucha la diferencia con la curva 3. En cuanto al límite de detección, la curva 1 también es superior, aunque con una menor diferencia entre las otras dos curvas. En general la curva 1 no solo es más eficaz en el límite de cuantificación, sino que también tiene un rendimiento aceptable en la detección, mientras que la curva 2 muestra los valores bajos.

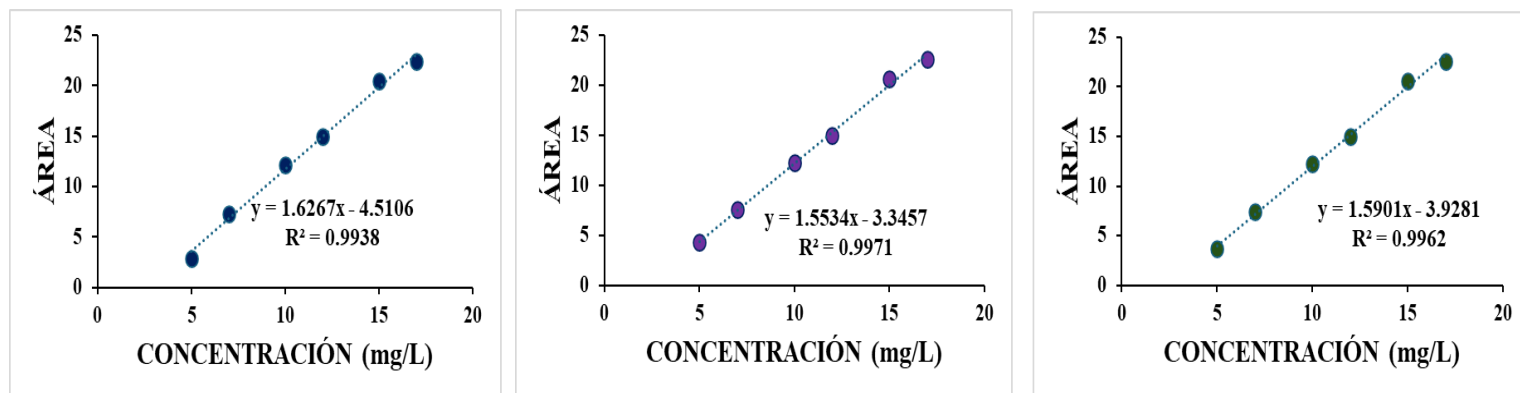


Figura 5. Curva 1, 2 y 3 de calibración de la vitamina C

Tabla 10. Límite de cuantificación y detección de la curva 1, 2 y 3

Límite	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
Cuantificación	8.09	7.09	7.59	7.59 ± 0.49
Detección	5.58	4.47	5.02	5.02 ± 0.55

3.1.1.3 Precisión

En la tabla 11 se puede observar los tres tipos de concentraciones (20 , 60 y 100 µg/mL) que se analizaron con sus coeficientes de variación (CV), ya que un CV más bajo es el que indica una mayor precisión del método lo que significa que hay menos variabilidad entre mediciones. Se observa que en la primera concentración el CV es 5.57, lo que se indica una mayor variabilidad mientras que en la tercera concentración el CV es aún menor que el de la segunda concentración ya que tiene su CV es 1.37, lo que sugiere que la precisión es óptima cuando las concentraciones son altas.

Tabla 11. Resultados obtenidos del análisis de precisión

Concentración	CV
20	5.57
60	2.21
100	1.37
Promedio	3.05 ± 2.22

3.1.1.4 Exactitud

En cuanto a la exactitud en la tabla 12 se reflejan los valores de porcentaje de recuperación que se obtuvieron en las tres concentraciones de vitamina C, un porcentaje cercano al 100% indica una buena exactitud. Se observa que a 20 y 100 ppm de concentración tienen un porcentaje de recuperación similar ya que es poca la diferencia y esto indica una ligera subestimación. Mientras que a 100 de concentración su porcentaje de recuperación es de 98.98 lo que significa que es un porcentaje muy cercano al 100% lo que indica una alta exactitud.

Tabla 12. Resultados obtenidos del análisis de precisión

Concentración	% de recuperación
20	94.67

60	98.98
100	94.11
Promedio	95.92 ± 2.66

3.1.2 Optimización

La Tabla 13 muestra el ácido ascórbico obtenido después de la extracción por ultrasonido. Los valores oscilaron entre 4582.87 y 7425.08 µg/g en las 15 combinaciones.

En el experimento 2 (relación v/p 80, 45 °C y 5 minutos de tiempo de extracción), se obtuvo la mayor concentración de ácido ascórbico. Por otro lado, el valor más bajo se cuantificó en el experimento 7 (relación v/p 40, 70 °C y 22.5 minutos de tiempo de extracción). Las variables de respuesta presentaron una alta correlación de 98.35 %.

Tabla 13. Diseño experimental para la extracción por ultrasonidos de ácido ascórbico

Experimento	Relación	Tiempo	Temperatura	Ácido ascórbico (µg/g)
1	-1	-1	0	5472.73
2	1	-1	0	7425.08
3	-1	1	0	5182.54
4	1	1	0	7180.99
5	-1	0	-1	5662.36
6	1	0	-1	6931.16
7	-1	0	1	4582.87
8	1	0	1	6434.56
9	0	-1	-1	6889.87
10	0	1	-1	6645.15
11	0	-1	1	6346.09
12	0	1	1	5418.92

13	0	0	0	6386.85
14	0	0	0	6458.16
15	0	0	0	6349.49

Tabla 14. Análisis de varianza para el ácido ascórbico

Análisis de varianza para el ácido ascórbico					
Fuente	Suma de cuadrados	Df	Cuadrado medio	F-Relación	P-Valor
A: Relación	6.25039E6	1	6.25039E6	211.46	0.0000
B: Tiempo	363877.	1	363877.	12.31	0.0171
C: Temperatura	1.39955E6	1	1.39955E6	47.35	0.0010
AA	235502.	1	235502.	7.97	0.0370
AB	531.302	1	531.302	0.02	0.8986
AC	84940.2	1	84940.2	2.87	0.1508
BB	106355.	1	106355.	3.60	0.1163
BC	116435.	1	116435.	3.94	0.1039
CC	217809.	1	217809.	7.37	0.0420
Total error	147792.	5	29558.5		
Total (corr.)	8.94153E6	14			

R- cuadrado = 98.3471 por ciento

R- cuadrado (ajustado por Df) = 95.3719 por ciento

Prensa = 2.28085E6

R- cuadrado (previsto) = 74.4915 por ciento

Error estándar de estimación = 171.926

Error absoluto medio = 84.6068

Estadística de Durbin-Watson = 2.52589 (P=0.6668)

Autocorrelación residual de rezago 1 = -0.384868

La Figura 6 presenta un gráfico de Pareto, en donde se muestran los valores de los efectos estandarizados, ordenados de mayor a menor magnitud. En este gráfico se traza una línea de referencia que permite identificar cuáles efectos son estadísticamente significativos.

En este gráfico, se identifican efectos positivos (rojo) y negativos (azul), en cual se destacan que A:Relación es la variable más influyente, con un efecto positivo significativo, lo que sugiere que una mayor relación puede favorecer la estabilidad del ácido ascórbico. Por otro lado, las variables C:Temperatura y B:Tiempo presentan efectos negativos significativos, lo que indican que a temperaturas más altas y mayor tiempo de exposición aceleran su degradación. Además, las variables AA y CC reflejan que la relación y la temperatura tienen efectos que no son completamente lineales. En total, estas cinco variables resultaron significativas al superar la línea de referencia establecida en 2.28.

Sin embargo, las variables BC, BB, AC y AB no mostraron efectos estadísticamente relevantes. Estos resultados indican que, para conservar el ácido ascórbico, es crucial optimizar la A:Relación, reducir C:Temperatura y minimizar B:Tiempo de exposición.

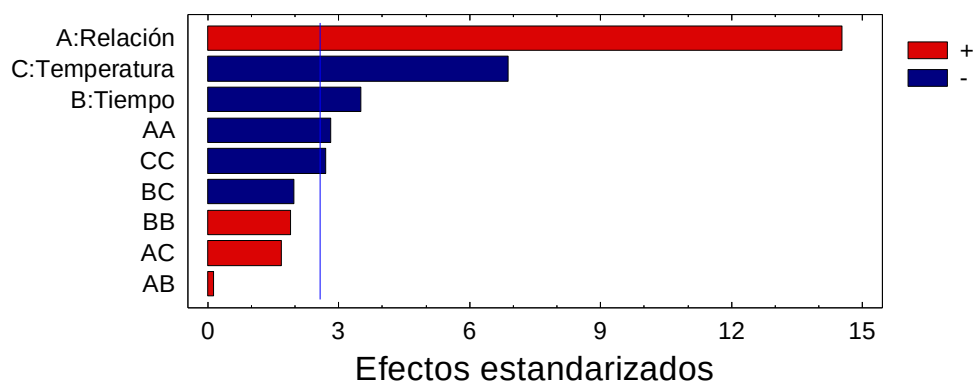


Figura 6. Gráfico de Pareto estandarizado para el ácido ascórbico

El gráfico de efectos principales para el ácido ascórbico (Figura 7) muestra como las variables relación, tiempo y temperatura influyen en su concentración. En el eje Y se representa la cantidad de ácido ascórbico, mientras que en el eje X se encuentran los valores normalizados de cada factor que oscilan entre -1 y 1.

Se observa que la relación tiene un impacto positivo significativo en la concentración de ácido ascórbico, lo que requiere que aumentar esta variable mejora su estabilidad. En contraste, el tiempo muestra una tendencia a la baja en su punto medio, indicando que a medida que avanza el tiempo, la concentración disminuye, lo cual es consistente con la declaración del ácido ascórbico a lo largo del tiempo. Por otro lado, en la temperatura se observa que tiene un efecto negativo, evidenciando por la disminución de la concentración cuando la temperatura aumenta, lo que confirma es la sensibilidad del ácido ascórbico al calor. En términos generales este análisis indica que, para maximizar la conservación de las ascórbico, es importante optimizar la relación entre los compuestos minimizar la exposición al tiempo y reducir la temperatura.

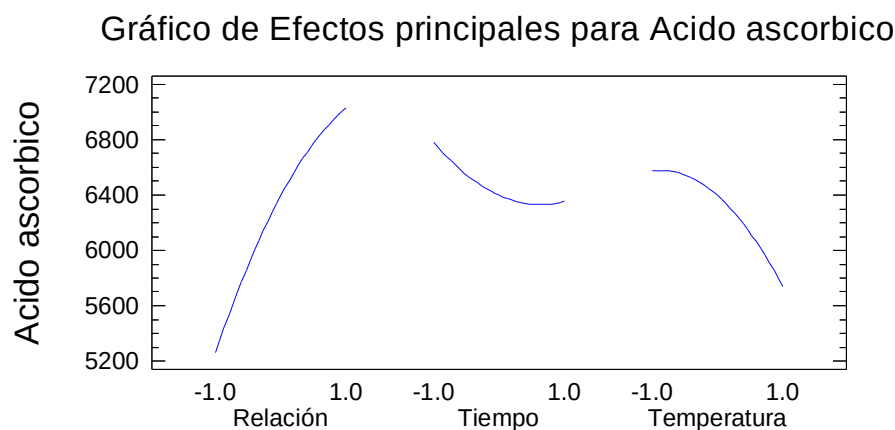


Figura 7. Gráfico de efectos principales para el ácido ascórbico

Las Figuras 8, 9 y 10 representan los gráficos de superficie de respuesta para la cuantificación de ácido ascórbico en *Capsicum annuum* evaluando el efecto de relación, tiempo y temperatura.

En el gráfico de superficie de respuesta de interacción relación y tiempo (Figura 8) es posible ver una extracción máxima de una relación alta (80 v/w) y tiempos bajos (5 minutos). Por otro lado, el gráfico de superficie de respuesta de interacción relación-temperatura (Figura 9) tiene una alta concentración de ácido ascórbico en una relación alta (80 v/p) y baja temperatura (20 °C). Finalmente, el gráfico de superficie de respuesta de interacción tiempo-temperatura (Figura 10) muestra una tendencia de mayor extracción de ácido ascórbico a bajas temperaturas y tiempos de extracción cortos.

Este comportamiento se debe a que el ácido ascórbico comienza a degradarse a altas temperaturas, recomendándose temperaturas de extracción menores a 60 °C porque, a temperaturas superiores a este valor, se acelera el proceso de degradación de esta molécula (Peter *et al.*, 2014). En el caso de la relación, se ha observado que este factor afectó la extracción de ácido ascórbico en matrices alimentarias como *Hibiscus sabdariffa*. Un efecto similar ocurre con el chile dulce porque el rendimiento de la extracción aumenta a medida que aumenta la cantidad de solvente; puede deberse a que la alta concentración de ácido ascórbico satura el disolvente (Peter *et al.*, 2014). El efecto del tiempo de sonicación puede deberse a la exposición prolongada a la sonicación provocando la degradación de compuestos bioactivos, siendo necesarios en algunos casos tiempos cortos para lograr la máxima extracción de los compuestos de interés (Cruz-Cansino *et al.*, 2023).

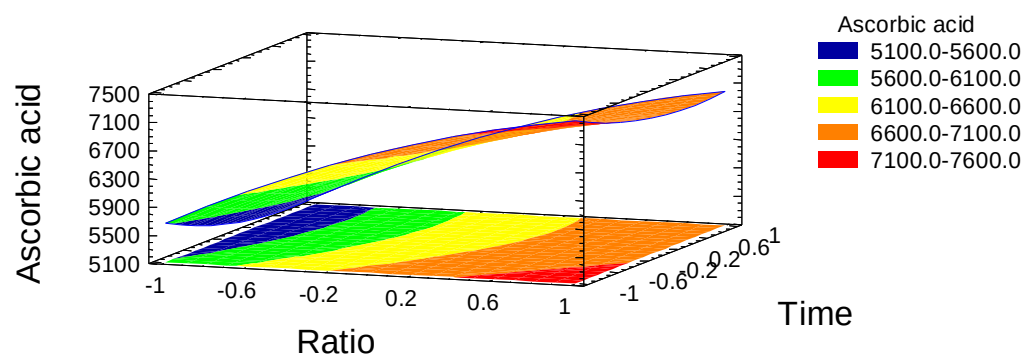


Figura 8. Gráfico de superficie de respuesta para la cuantificación del ácido ascórbico en *Capsicum annuum* (Impactos de la relación y tiempo)

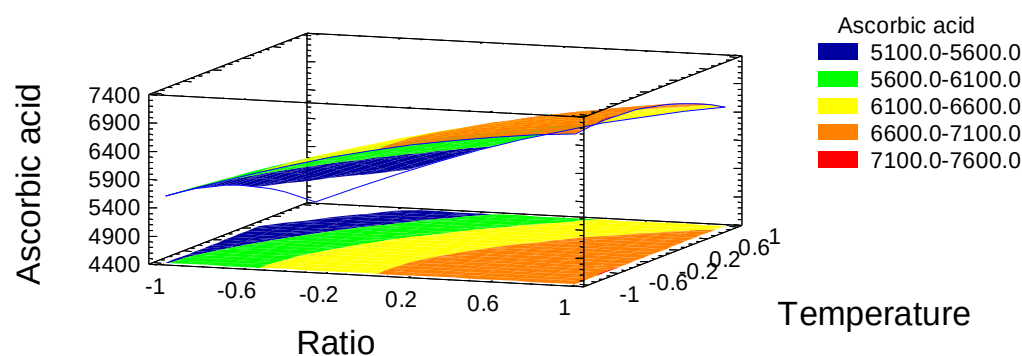


Figura 9. Gráfico de superficie de respuesta para la cuantificación del ácido ascórbico en *Capsicum annuum* (Impactos de la relación y temperatura)

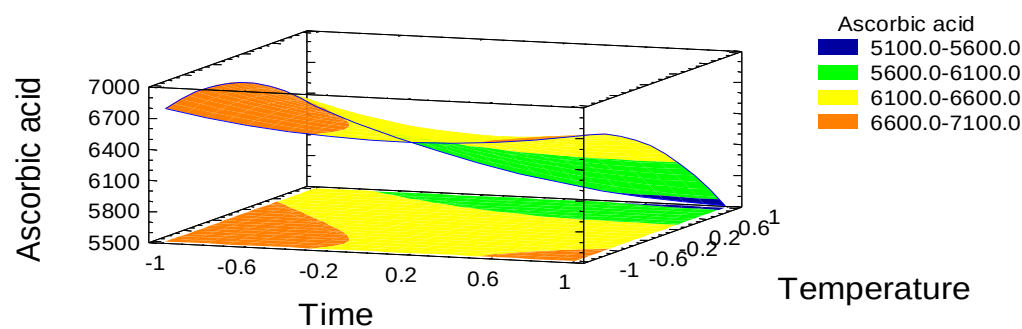


Figura 10. Gráfico de superficie de respuesta para la cuantificación del ácido ascórbico en *Capsicum annuum* (Impactos de la tiempo y temperatura)

CAPÍTULO 4. CONCLUSIÓN

La investigación muestra que la extracción asistida por ultrasonido podría ser una herramienta para extraer el ácido ascórbico (vitamina C) del pimiento morrón (*Capsicum annuum*). Las condiciones óptimas para la extracción del ácido ascórbico fueron una relación de volumen/peso (v/p) de 80, un tiempo de extracción de 5 minutos y una temperatura de extracción de 39.8 °C, con un valor predicho de 7411.69 µg/g de ácido ascórbico. La evaluación experimental de las condiciones óptimas previamente descritas dio valor de 7109.36 ± 197.51 µg/g de ácido ascórbico. Estas condiciones óptimas podrían aprovecharse para obtener extractos de pimientos morrones ricos en ácido ascórbico, los cuales podrían usarse para formular nuevos alimentos funcionales que contribuyan a prevenir enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, la anemia y las enfermedades cardiovasculares.

ANEXOS

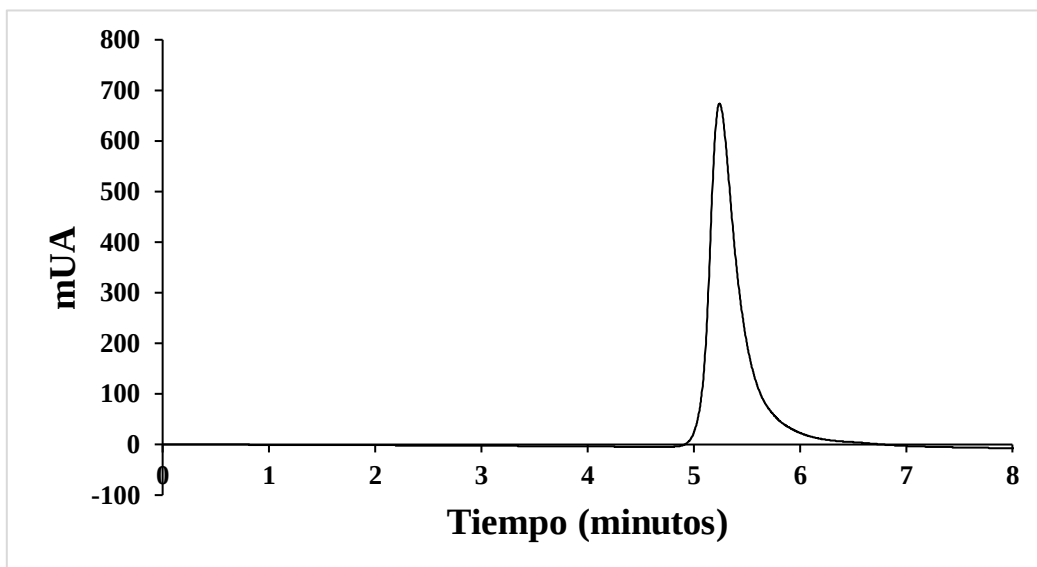


Figura 11. Cromatograma Estándar vitamina C

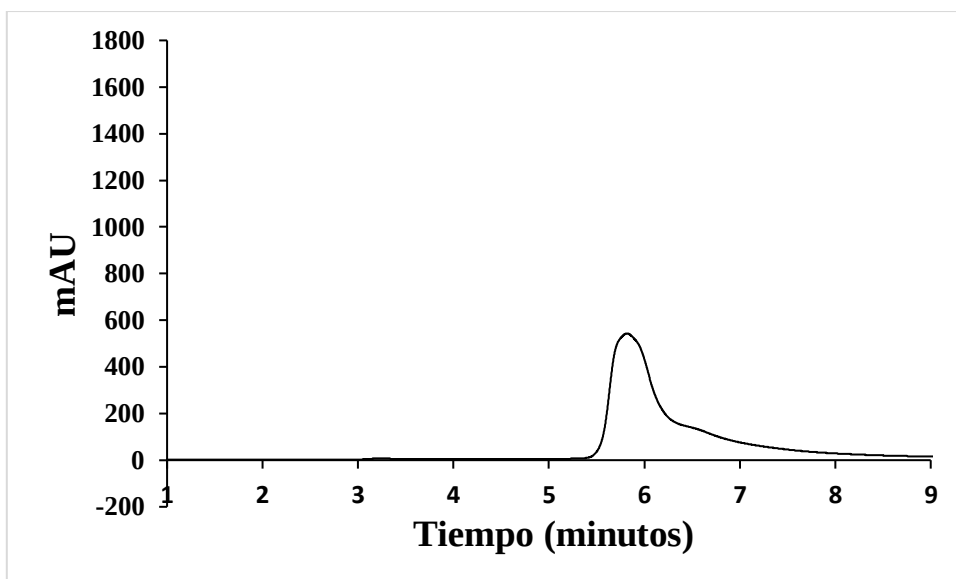


Figura 12. Cromatograma Experimento 1

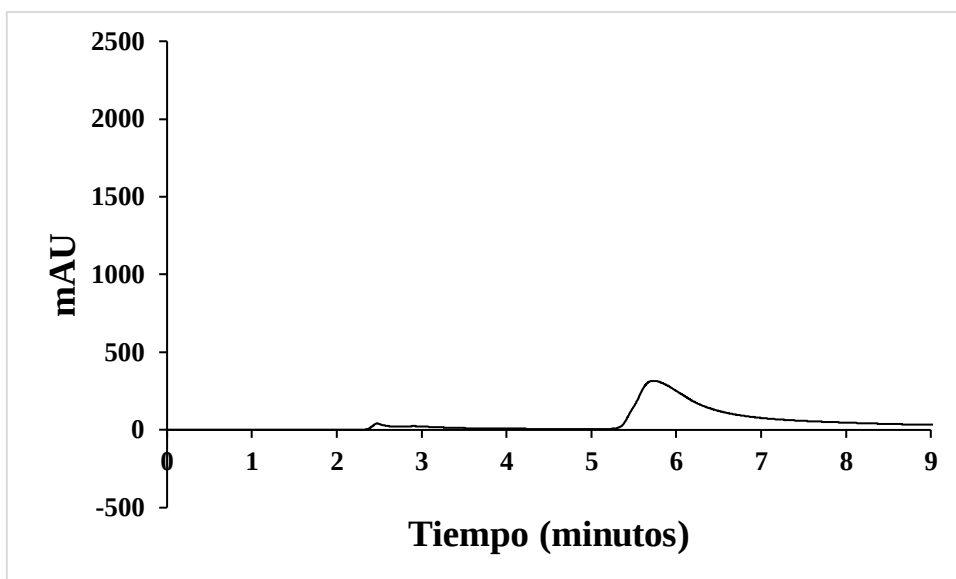


Figura 13. Cromatograma Experimento 2

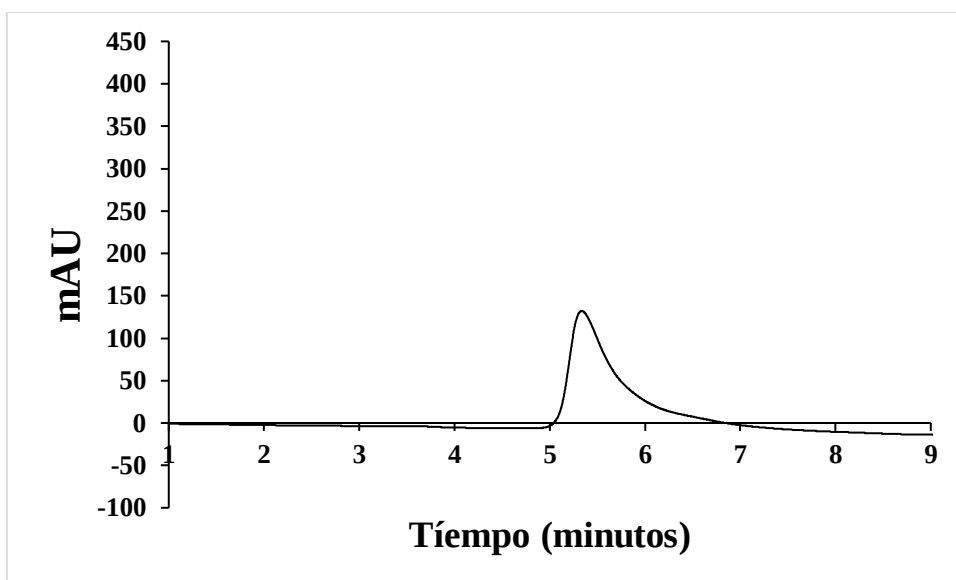


Figura 14. Cromatograma de la muestra de jugo de naranja

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afnani F., Yanti J. H., Pratiwi W. S. W. 2023. Determination of vitamin C content in bell pepper (*Capsicum annuum* L.) with different protic polar solvent by uv-vis spectroscopy. Jurnal Kimia Riset, 8(2): 116–123.

Agroinformación- EL CULTIVO DEL PIMIENTO. 1ª parte. (n.d).
<https://www.infoagro.com/hortalizas/pimiento.htm>

Amador Fernández, S. I. (2019). Efecto de goma tragacanto, cloruro de magnesio y tiempo de ultrasonido en la protección de vitamina C en pulpa de chalarina (*Casimiroa edulis* L.).

Andrade-Lima M., Kestekoglou I., Charalampopoulos D., Chatzifragkou A. 2019. Supercritical fluid extraction of carotenoids from vegetable waste matrices. Molecules, 24(3): 466.

Antonio A. S., Wiedemann L. S. M., Veiga Junior V. F. 2018. The genus: *Capsicum*: a phytochemical review of bioactive secondary metabolites. RSC Advances, 8(45): 25767–25784.

Aristizábal Sandoval, A. E. (2021). Revisión sistemática de métodos de extracción y cuantificación de ácido ascórbico para su aplicación en frutos arazá (*Eugenia Stipitata* Mc Vaugh) y Cocona (*Solanum Sessiliflorum* Dunal).

Arzube, A. V. M., Ramos, G. N. V., & Villa, L. D. P. (2022). Evaluación del contenido de ácido ascórbico en pimiento rojo y amarillo (*Capsicum annuum*) en Ecuador. *Revista Universidad de Guayaquil*, 134(1), 1-11.

Bae, H., Jayaprakasha, G. K., Crosby, K., Yoo, K. S., Leskovar, D. I., Jifon, J., & Patil, B. S. (2014). Ascorbic acid, capsaicinoid, and flavonoid aglycone concentrations as a function of fruit maturity stage in greenhouse-grown peppers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(2), 195 – 202. DOI: 10.1016/j.jfca.2013.11.009

Bleydis, E., Tamara, G., Directora, E., & Alarcón. (2022). *Parámetros y condiciones para la extracción y cuantificación de Vitamina C por espectrofotometría UV-VIS en guayaba roja (Psidium guajava)*.
<https://repository.unad.edu.co/jspui/bitstream/10596/54498/1/Betamarag.pdf>

Campos Mangas, C. (2021). Métodos analíticos para la determinación de vitamina C.

Capsicum annum. (2022). En CABI Compendium.
<https://doi.org/10.1079/cabicompendium.15784>

Cares, I. E. F., Damián, M. T. M., Pérez, J. E. R., Álvarez, O. C., León, M. T. B. C., Guadarrama, S. V., & Ramírez, S. P. R. (2015). Capacidad antioxidante en variedades de pimiento morron (Capsicum annum L.). *Interciencia*, 40(10), 696-703.

Chávez-Mendoza, C., Sanchez, E., Muñoz-Marquez, E., Sida-Arreola, J., & Flores-Cordova, M. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in different grafted varieties of bell pepper. *Antioxidants*, 4(2), 427–446.
<https://doi.org/10.3390/antiox4020427>

Clavijo, D. A. *Fundamentos de química analítica: Equilibrio iónico y análisis químico*, 1ª ed.; Universidad nacional de Colombia. Bogotá, Colombia: 2002; pp 111.

Clínica Universidad de Navarra. (2025). <https://www.cun.es>.
<https://www.cun.es/chequeos-salud/vida-sana/nutricion/vitamina-c-acido-ascorbico>

Cruz-Cansino N. del S., Cariño-Cortés R., Cruz R. N., Sandoval-Gallegos E. M., Sumaya-Martínez M. T., Ramírez-Moreno E., Fernández-Martínez E. 2023. Ultrasound with controlled temperature as an emerging technology for extraction of antioxidant compounds from by-products of mango (Mangifera indica L. var Ataulfo) juice. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 35(2): 162–169.

Deepa, N., Kaur, C., Singh, B. y Kapoor, HC (2006). Actividad antioxidante en algunas variedades de pimiento rojo dulce. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (6-7), 572-578.

Deepaa, N., Charanjit, K., Binoy G., Balraj, S., Kapoor, H.C. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. LWT - Food Science and Technology. 40. 121 – 129. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.016>

Eskicioglu V., Kamiloglu S., Nilufer-Erdil, D. 2015. Antioxidant dietary fibres: Potential functional food ingredients from plant processing by-products. Czech Journal of Food Sciences, 33(6): 487–499.

Fang, Z. (2017). Métodos analíticos para la determinación de vitamina C en alimentos.

Feldsine, P., Abeyta, C., & Andrews, W. H. (2002). AOAC International methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. *Journal of AOAC international*, 85(5), 1187-1200.

Ferreira S. C., Bruns R. E., Ferreira H. S., Matos G. D., David J. M., Brandão G. C., Dos Santos W. N. L. 2007. Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica chimica acta*, 597(2): 179-186.

Flávia, A., Teodorol, P., Alves R.B., Ribeiror, L. B., ReisII, K., ReifschneiderII, F.J., Fonsecall, M.J., Da Silva J., Agostini, T. (2013). Vitamin C content in Habanero pepper accessions (*Capsicum chinense*). 31. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362013000100009>

Garcia, C., Romero, H., Ayala, H., Lapo, B., Lam, A., & Moreno, A. (2017). Cuantificación de ácido ascórbico en pimientos comercializados en la zona 7 del Ecuador aplicando voltamperometría. *Cumbres*, 3(2), 71-83.

Garcia, S. N. J. (2015). Producción de compuestos bioactivos en pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) con diferentes factores inductores de metabolitos secundarios en condiciones protegidas.

Gilvanda L., Gisele A. Candice C. M., Jamile N. C., Caldas C., Silva I. M. D. J., Walter N. L. Fabio, S. 2021. Multivariate optimization of an ultrasound-assisted extraction method of bioactive phenolic compounds in malagueta peppers (*Capsicum frutescens*). Food Analytical Methods 14(1): 2607-2616.

González-Zamora A., Sierra-Campos E., Luna-Ortega J. G., Pérez-Morales R., Ortiz J.C.R., García-Hernández J.L. 2013. Characterization of different capsicum varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high-performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. Molecules, 18(11): 13471–13486.

Gutiérrez, T. M., Hoyos, O. L., & Páez, M. I. (2007). Determinación del contenido de Ácido Ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana* L.), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 5(1), 70-79.

Hassan N. M., Yusof N. A., Yahaya A. F., Rozali N. N. M. Othman R. 2019. Carotenoids of capsicum fruits: Pigment profile and health-promoting functional attributes. Antioxidants 8(10): 1–25.

Huamani Mora, D. J., & Paucar Capia, P. E. (2018). Determinación del contenido de ácido ascórbico y capacidad antioxidante del fruto liofilizado de pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*) y pitahaya roja (*Hylocereus undatus*).

Iqbal S., Inam A., Inam A., Ashfaq F., Sahay, S. 2017. Potassium and waste water interaction in the regulation of photosynthetic capacity, ascorbic acid and capsaicin in chilli (*Capsicum annuum* L.) plant. Agricultural Water Management 184(1): 201–210.

Klimczak, I., y Gliszczynska-Świgło, A. (2015). Comparación de los métodos UPLC y HPLC para la determinación de vitamina C. *Química alimentaria* , 175 , 100-105.

Kua Y. L., Gan S., Morris A., Ng, H. K. 2018. Optimization of simultaneous carotenes and vitamin E (tocols) extraction from crude palm olein using response surface methodology. *Chemical Engineering Communications* 205(5): 596–609.

López Hernández, G. Y., Flores Verástegui, M. I., Martínez Vázquez, D. G. D. C., & Rodríguez Gutiérrez, L. I. A. (2014). EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL PIMIENTO MORRÓN DESHIDRATADO POR TRES DIFERENTES MÉTODOS Y EMPACADOS EN DOS DIFERENTES ENVASES.

Marques, R. B., Von Atzingen, M. C., & Pinto e Silva, M. M. (2004). ANÁLISIS SENSORIAL Y ÁCIDO ASCÓRBICO DE HORTALIZAS EN FRESCO Y ULTRACONGELADAS SENSORY EVALUATION AND ASCORBIC ACID OF FROZEN AND FRESH VEGETABLES ANÁLISE SENSORIAL E ÁCIDO ASCÓRBICO DE HORTALIZAS EN FRESCO E ULTRACONXELADAS. *CYTA-Journal of Food*, 4(4), 240-245.

Martín-García B., Pimentel-Moral S., Gómez-Caravaca A. M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A. 2020. Box-Behnken experimental design for a green extraction method of phenolic compounds from olive leaves. *Industrial Crops and Products* 154(1): 112741.

Nerdy, N. (2018). Determination of Vitamin C in Various Colours of Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) by Titration Method. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(1), 164. <https://doi.org/10.20961/alchemy.14.1.15738.164-178>

Nojavan, S., Khalilian, F., Kiaie, F. M., Rahimi, A., Arabanian, A., & Chalavi, S. (2008). Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(4), 300–305. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.11.007>

Okiei, W., Ogunlesi, M., Azeez, L., Obakachi, V., Osunsanmi, M., y Nkenchor, G. (2009). Determinación voltamperométrica y titrimétrica de los niveles de ácido ascórbico en muestras de frutas tropicales. *International Journal of Electrochemical Science* , 4 (2), 276-287.

Olatunji T. L., Afolayan A. J. 2020. Comparison of nutritional, antioxidant vitamins and capsaicin contents in *Capsicum annuum* and *C. frutescens*. *International Journal of Vegetable Science* 26(2): 190–207.

Peter E., Mashoto K. O., Rumisha S. F., Malebo H. M., Shija A., Oriyo, N. 2014. Iron and Ascorbic Acid Content in *Hibiscus sabdariffa* Calyces in Tanzania : Modeling and Optimization of Extraction Conditions. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering* 4(2): 27–35.

Pino, M. T., Pabón, C., & Zamora, O. 2018 Metabolitos secundarios del pimiento y su valorización en la industria de alimentos saludables e ingredientes. *Pimientos para la industria de alimentos e ingredientes*, 97.

Pimiento Morrón Archives. (s. f.). Miller Chemical (Espanol). <https://www.millerchemical.com/es/cultivos-y-soluciones/pimiento-morrón/>

Putnik P., Lorenzo J. M., Barba F. J., Roohinejad S., Jambrak A. R., Granato D., Montesano D., Kovačević D. B. 2018. Novel food processing and extraction technologies of high-added value compounds from plant materials. *Foods* 7(7): 1–16.

Saini R. K., Keum Y. S. 2018. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry* 240(1): 90–103.

Sérino, S., Costagliola, G., & Gomez, L. (2019). Material vegetal de tomate liofilizado: Validación de un método de extracción confiable para el análisis de vitamina C. *Journal of Food Composition and Analysis* , 81 , 37-45.

Sierra, I. A.; Pérez, Q. D.; Gómez, R. S.; Morante, Z. S. *Análisis instrumental*, 1ª ed.; Netbiblo. España: 2010; pp 3.

Sissons, B. (2023, agosto 22). Everything to know about bell peppers. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/bell-peppers>

Shotorbani, N. Y., Jamei, R., & Heidari, R. (2013). Antioxidant activities of two sweet pepper *Capsicum annuum* L. varieties phenolic extracts and the effects of thermal treatment. *Avicenna journal of phytomedicine*, 3(1), 25.

Skrovankova, S., Mlcek, J., Sochor, J., Baron, M., Kynicky, J., & Jurikova, T. (2015). Determinación de ácido ascórbico mediante técnicas electroquímicas y otros métodos. *Revista internacional de ciencia electroquímica*, 10 (3), 2421-2431.

Slimani C., Rais C., Mansouri F., Rais S., Benjelloun M., Ullah R., Iqbal Z., Goh K. W., Lee L. H., Bouyahya A., Lazraq A. 2024. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenols from *Crocus sativus* by-products using sunflower oil as a sustainable solvent alternative. *Food Chemistry: X* 23(1): 101579.

Swamy G. J., Sangamithra A., Chandrasekar V. 2014. Response surface modeling and process optimization of aqueous extraction of natural pigments from *Beta vulgaris* using Box-Behnken design of experiments. *Dyes and Pigments* 111(1): 64–74.

Topuz, A., Ozdemir, F. (2007). Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 596 – 602. Ubaid A.,

Jabeen R., Haq N., Khan M., Rizwan S., Jamil N., Riaz M., Mandokhel F., Behlil F., Imtiaz R., Arshad S. 2014. Extraction and estimation of alpha-tocopherol from commercially available vegetable cooking oils by HPLC. *Academic Journal of Nutrition* 3(1): 1–5.

Umair M., Jabbar S., Nasiru M. M., Lu Z., Zhang J., Abid M., Murtaza M. A., Kieliszek M., Zhao, L. 2021. Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from carrot pomace and their optimization through response surface methodology. *Molecules* 26(22): 6763.

Valdés, F. (2006). Vitamina C. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 97(9), 557-568. [https://doi.org/10.1016/s0001-7310\(06\)73466-4](https://doi.org/10.1016/s0001-7310(06)73466-4)

Wahyuni Y., Ballester A. R., Sudarmonowati E., Bino R. J., Bovy A. G. 2013. Secondary metabolites of Capsicum species and their importance in the human diet. *Journal of Natural Products* 76(4): 783–793.

Zago, K. I., García, M. Y., Di Bernardo, M. L., Vit, P., Luna, J. R., & Gualtieri, M. (2010). Determinación del contenido de vitamina C en miel de abejas venezolanas por volumetría de óxido-reducción. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 41(1), 25-30.

Zehiroglu C., Ozturk Sarikaya S. B. 2019. The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and technology* (56): 4757-4774.

Zelada, C. R. E. (2007). Determinación de compuestos bioactivos del aguaymanto (*Physalis peruviana*, Linnaeus, 1753) y de su conserva en almíbar maximizando la retención de ácido ascórbico. *Revista ECIPeru*, 4(1), 5-5.

Zhang Y., Zhou W. E., Yan J. Q., Liu M., Zhou Y., Shen X., Ma Y. L., Feng X. S., Yang J., Li G. H. 2018. A review of the extraction and determination methods of thirteen essential vitamins to the human body: An update from 2010. *Molecules* 23(6): 1–25.

Zhu G. 2019. Vitamin A and its Derivatives- Retinoic Acid and Retinoid Pharmacology. *American Journal of Biomedical Science & Research* 3(2): 162–177.