

Optimización de la extracción de vitaminas mediante ultrasonido en pimientos (*Capsicum annuum*) para la producción de alimentos funcionales

Optimization of vitamin extraction by ultrasound in Bell peppers (*Capsicum annuum*) to produce functional food

Estrella-Estrella M. J., Balan-Cen N. G., Portillo-Salgado R., Chi-Gutiérrez E. J., Lira Maas J. D., Can-Herrera L.A., Us-Camas R.Y., y Oney-Montalvo J. E.*

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Calkiní. Av. Ah Canul S/N por carretera Federal, 24900. Calkiní, Campeche, México.

*Corresponding author email: jeoney@itescam.edu.mx

RESUMEN:

Las vitaminas son metabolitos secundarios presentes en los pimientos (*Capsicum annuum*), que se consideran beneficiosos para la salud humana debido a sus actividades antioxidantes. Este estudio tuvo como objetivo optimizar las condiciones de extracción de las vitaminas presentes en los pimientos para su uso en la elaboración de alimentos funcionales. Las condiciones óptimas para la extracción mediante baño ultrasónico de ácido ascórbico, α -tocoferol y β -caroteno se determinaron mediante un diseño Box-Behnken de tres factores (tiempo, relación y temperatura) y tres niveles (bajo, medio y alto), utilizando la metodología de superficie de respuesta. La cuantificación de las vitaminas se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficiencia. Las variables de respuesta presentaron una alta correlación de 98.35% para el ácido ascórbico, 95.34% para el β -caroteno y 93.94% para el α -tocoferol. Las condiciones óptimas para el ácido ascórbico fueron 5 minutos, 39.8 °C y una relación de 80 (v/p), con un valor predicho de 7411.69 $\mu\text{g/g}$. En contraste, para el α -tocoferol fueron 45.5 minutos, 30 °C y una relación de 10.6 (v/p), con un valor esperado de 177.96 $\mu\text{g/g}$. Por otro lado, las condiciones óptimas para el β -caroteno fueron 47.6 minutos, 30 °C y una relación de 8 (v/p), con un valor predicho de 335.97 $\mu\text{g/g}$. Los valores experimentales, bajo condiciones óptimas de extracción ultrasónica, fueron de $174.89 \pm 20.31 \mu\text{g/g}$ para α -tocoferol, $339.28 \pm 19.62 \mu\text{g/g}$ para β -caroteno y $7109.36 \pm 197.51 \mu\text{g/g}$ para ácido ascórbico. No se observaron diferencias significativas entre los valores experimentales y los predichos, ya que los valores empíricos coincidieron estrechamente con los estimados por el modelo final seleccionado. Estos hallazgos demuestran que el ultrasonido es una técnica efectiva para la extracción de vitaminas y que las condiciones óptimas permiten maximizar el aprovechamiento de estos compuestos en el pimiento, los cuales pueden ser utilizados para la formulación de alimentos funcionales, aportar valor agregado a este fruto y contribuir a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas en la población.

PALABRAS CLAVE:

Ácido ascórbico, diseño Box–Behnken, metodología de superficie de respuesta, α -tocoferol, β -caroteno.

ABSTRACT:

Vitamins are one of the secondary metabolites found in bell peppers (*Capsicum annuum*) that are considered beneficial for human health due to their antioxidant activities. This study aimed to optimize conditions for extracting vitamins from bell peppers to produce functional foods. The optimum conditions for the ultrasound bath extraction of ascorbic acid, α -tocopherol, and β -carotene were determined using a three-factor (time, ratio, and temperature) and three-level (Low, medium, and high) Box-Behnken design under response surface methodology. Vitamin quantification was performed using high-efficiency liquid chromatography. Response variables presented a high correlation of 98.35% for ascorbic acid, 95.34% for β -carotene, and 93.94% for α -tocopherol. Optimal conditions for ascorbic acid were 5 minutes, 39.8 °C, and 80 ratio (v/w), with a predicted value of 7411.69 $\mu\text{g/g}$. In contrast, α -tocopherol was 45.5 minutes, 30 °C, and 10.6 ratio (v/w) with an expected value of 177.96 $\mu\text{g/g}$. On the other hand, optimal conditions for β -carotene were 47.6 minutes, 30 °C, and an eight-to-one ratio of v/w, with a predicted value of 335.97 $\mu\text{g/g}$. The experimental values for optimal conditions for the ultrasound extraction of vitamins were: α -tocopherol $174.89 \pm 20.31 \mu\text{g/g}$, β -carotene $339.28 \pm 19.62 \mu\text{g/g}$, and ascorbic acid $7109.36 \pm 197.51 \mu\text{g/g}$. There was no noticeable difference between experimental and predicted responses, with the empirical values closely matching those expected from the final selected model. These findings prove that ultrasound is effective in extracting vitamins, and that optimal

conditions can maximize the utilization of these compounds in bell peppers, enabling the formulation of functional foods, adding value to this fruit, and helping prevent chronic degenerative diseases in the population.

Keywords:

Ascorbic acid, Box–Behnken design, Response surface methodology, α -tocopherol, β -carotene.

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 los caracterizan (Hassan et al., 2019). Una de sus propiedades organolépticas más distintivas es el picor, una sensación de calor y dolor asociada a los capsaicinoides, que son una de las principales razones por las que se utilizan como materia prima para la fortificación o la conservación de alimentos y en formulaciones farmacéuticas (Antonio et al., 2018; Naves et al., 2019).

Desafortunadamente, algunas variedades de frutos del género *Capsicum* presentan bajas concentraciones de capsaicinoides, por lo que no resultan atractivas para el sector agroindustrial; el pimiento (*Capsicum annuum*) es un claro ejemplo (González-Zamora et al., 2013). A pesar de ello, estos frutos contienen otros metabolitos secundarios de interés, ya que se consideran beneficiosos para la salud humana debido a sus propiedades antioxidantes (Olatunji y Afolayan, 2020). La función de estos compuestos es neutralizar radicales libres y especies reactivas de oxígeno en la célula, lo que previene el daño celular causado por el estrés oxidativo (Zehiroglu & Ozturk Sarikaya, 2019). Un ejemplo de estos antioxidantes son las vitaminas, en especial el ácido ascórbico, el α -tocoferol y la provitamina A (Wahyuni et al., 2013).

El ácido ascórbico, una vitamina hidrosoluble, es ampliamente reconocido como uno de los antioxidantes naturales más importantes debido a su capacidad para eliminar radicales libres generados durante el estrés oxidativo (Iqbal et al., 2017). Por otro lado, el α -tocoferol es una vitamina liposoluble que presenta efectos antioxidantes, previene la formación de células cancerígenas y posee actividad antiinflamatoria (Das Gupta y Suh, 2016; Grammas et al., 2004). Mientras que la provitamina A se refiere principalmente al β -caroteno, que es convertido por enzimas oxigenasas en retinol (vitamina A) tras su consumo (Wahyuni et al., 2013). Este compuesto es indispensable para la corrección de la visión y para la inhibición del crecimiento de células cancerígenas (Zhu, 2019). Debido a lo anterior, estos compuestos son de gran interés para la producción de alimentos funcionales.

El método de extracción es crucial para obtener extractos ricos en antioxidantes que puedan utilizarse en la elaboración de alimentos funcionales (Eskicioglu et al., 2015; Putnik et al., 2018). Sin embargo, también es fundamental emplear metodologías seguras y respetuosas con el medio ambiente (Kua et al., 2018). En el caso del ácido ascórbico, las técnicas reportadas incluyen la maceración y la extracción asistida por ultrasonido (Afnani et al., 2023; Umair et al., 2021). Los carotenoides y tocoferoles se extraen simultáneamente debido a su similar solubilidad (Ulusoy et al., 2016). Estas vitaminas liposolubles se obtienen principalmente mediante métodos como Soxhlet, maceración, ultrasonido y fluidos supercríticos (Andrade-Lima et al., 2019; Saini y Keum, 2018; Ubaid et al., 2014). Entre las metodologías mencionadas, la extracción asistida por ultrasonido destaca por sus tiempos de extracción cortos, lo que permite un alto rendimiento de los compuestos de interés debido a la formación de burbujas de cavitación, que incrementan la temperatura localizada y provocan la ruptura de la pared celular (Gilvanda et al., 2021; Zhang et al., 2018).

Para garantizar la máxima eficiencia en la extracción ultrasónica, es necesario considerar diferentes condiciones, ya que las vitaminas son susceptibles a factores como la temperatura, el tiempo de extracción y la relación soluto-solvente (Afnani et al., 2023; Umair et al., 2021). Diversos estudios han utilizado la metodología de superficie de respuesta para analizar adecuadamente el efecto de estas variables, siendo esta una herramienta estadística que permite evaluar el impacto interactivo entre las variables independientes (Swamy et al., 2014). Esta metodología ha sido empleada con éxito para modelar y optimizar procesos bioquímicos y biotecnológicos en el ámbito de los alimentos (Slimani et al., 2024). El diseño Box-Behnken es uno de los más utilizados debido a que es más simple y

eficiente que otros diseños factoriales (Martín-García et al., 2020). Además, presenta ventajas adicionales, como el uso de bloques, la detección de inconsistencias en el modelo, la estimación de parámetros de modelos cuadráticos y la construcción de diseños secuenciales (Ferreira et al., 2007).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue optimizar las condiciones de extracción de vitaminas en pimiento (*Capsicum annuum*) mediante un diseño Box-Behnken. Para ello, se emplearon solventes verdes (etanol y agua) y la técnica de extracción asistida por ultrasonido bajo diferentes condiciones de temperatura, tiempo de extracción y relación soluto-solvente, con el fin de garantizar la máxima extracción de vitaminas. La extracción óptima de las vitaminas presentes en el pimiento podría incrementar el valor agregado de este fruto y permitir la elaboración de alimentos funcionales. Asimismo, las condiciones establecidas en este trabajo podrían aplicarse a la extracción de estos compuestos en matrices con características estructurales similares a las de los frutos del género *Capsicum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de la muestra

Los pimientos (*Capsicum annuum*) fueron recolectados en la comunidad de Calkiní, Campeche, México. Se utilizó agua destilada para limpiar los pimientos y eliminar cualquier contaminante. Posteriormente, los pimientos se secaron en una estufa de convección a 45 °C durante 72 h. Después, se molieron en un molino eléctrico de granos y se tamizaron en un tamiz #40, con un tamaño de partícula de 0.45 mm. Finalmente, los polvos obtenidos se almacenaron en bolsas de polietileno a 4 °C y se protegieron de la luz hasta su análisis.

Extracción ultrasónica

De acuerdo con Umair et al. (2021), la extracción asistida por ultrasonido se realizó con algunas modificaciones. Se utilizó un baño ultrasónico (Creworks, USA) con capacidad de 3 L, potencia de 120 W y frecuencia de 40 kHz. El baño ultrasónico cuenta con un termostato que permite controlar la temperatura entre 20 y 80 °C. Las condiciones evaluadas para el ácido ascórbico, el α -tocoferol y el β -caroteno se describen a continuación.

Condiciones para α -tocoferol y β -caroteno

Las condiciones de extracción para α -tocoferol y β -caroteno fueron de 20 a 60 minutos, 30 a 70 °C y una relación solvente-muestra (v/p, mL/g) de 4 (1 mL / 0.25 g) a 12 (3 mL / 0.25 g). El solvente utilizado para la extracción fue el etanol anhidro. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos, y el sobrenadante se filtró y se colocó en un vial para su análisis posterior mediante cromatografía líquida.

Condiciones para ácido ascórbico

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

Diseño experimental Box-Behnken

El diseño Box-Behnken se utilizó para determinar las condiciones óptimas de extracción asistida por ultrasonido de α -tocoferol y β -caroteno en pimiento. Se emplearon tres variables independientes, cada una con tres niveles, lo que generó quince combinaciones experimentales con tres puntos centrales (Tabla 1). Las variables independientes utilizadas fueron la relación (de 4 a 12 v/p), el tiempo de sonicación (de 20 a 60 minutos) y la temperatura (de 30 a 70 °C).

Tabla 1. Condiciones ultrasónicas para la extracción de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico.

α-tocoferol y β-caroteno			
Variables independientes	Niveles de factores		
	-1	0	+1
Relación (v/w, mL/g)	4	8	12
Tiempo (minutes)	20	40	60
Temperatura (°C)	30	50	70
Ácido ascórbico			
Independent variables	Niveles de factores		
	-1	0	+1
Relación (v/w, mL/g)	40	60	80
Tiempo (minutes)	5	22.5	40
Temperatura (°C)	20	45	70

Asimismo, se aplicó un diseño Box-Behnken para el ácido ascórbico, evaluando como variables independientes 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). La relación entre las variables independientes y los valores de respuesta se modeló mediante un modelo de superficie de respuesta polinomial de segundo orden. Cada variable de respuesta se ajustó mediante la siguiente ecuación de regresión.

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

Donde Y_i es la variable de respuesta, correspondiente a la concentración de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico; $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ son los coeficientes que representan la regresión del modelo, mientras que x_i y x_j son las variables codificadas que afectan la respuesta.

El coeficiente R^2 se utilizó para evaluar la precisión del modelo matemático. La superposición de gráficos de contorno y de superficies de respuesta tridimensionales se realizó con el software STATGRAPHICS Centurion XIX (Statgraphics Technologies Inc., The Plains, Virginia, USA). Las superficies de respuesta de todas las variables se consideraron para seleccionar las condiciones óptimas de extracción.

Determinación por HPLC

Para la determinación de ácido ascórbico, α -tocoferol y β -caroteno, se utilizó un sistema de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, USA). El equipo estaba equipado con un automuestreador con un loop de inyección de 20 μ L, un detector de arreglo de diodos, un desgasificador de membrana y un compartimento de columna con regulador de temperatura. La columna utilizada fue una Grace Alltima HP C18-HL con tamaño de partícula de 5 μ m, longitud de 250 mm y diámetro interno de 4.6 mm.

Condiciones para α -tocoferol y β -caroteno

El análisis por HPLC de α -tocoferol y β -caroteno se realizó simultáneamente mediante la metodología propuesta por Marinova y Ribarova (2007). La fase móvil A consistió en acetonitrilo:metanol (95:5), mientras que la fase móvil B consistió en acetonitrilo:acetato de etilo (50:50). El flujo de la fase móvil fue de 1.2 mL/min, iniciando con 20% de B hasta el minuto 5, incrementándose gradualmente hasta 100% de B a los 35 minutos y posteriormente disminuyendo hasta regresar a 20% de B a los 40 minutos. La temperatura de la columna se mantuvo constante en 35 °C. La detección se realizó a 290 nm para α -tocoferol y a 450 nm para β -caroteno.

Condiciones para ácido ascórbico

La elución del ácido ascórbico se realizó bajo las condiciones reportadas por Klimczak y Gliszczynska-Wiglo (2015), con algunas modificaciones. Como fase móvil A se empleó agua con ácido fórmico al 0.2%, y como fase

móvil B, metanol, utilizando un sistema de gradiente que inicia con 100% de la fase móvil A hasta el minuto 5; posteriormente, la proporción cambia a 80% A y 20% B, manteniéndose hasta el minuto 10, donde las proporciones regresan nuevamente a 100% de la fase móvil A. El flujo de la fase móvil se mantuvo constante en 0.8 mL/min, la temperatura de la columna fue de 25 °C y la detección se realizó a 244 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los parámetros de extracción sobre α -tocoferol y β -caroteno

La Tabla 2 muestra las concentraciones de α -tocoferol y β -caroteno obtenidas tras la extracción asistida por ultrasonido. Los valores de concentración de α -tocoferol oscilaron entre 127.21 y 170.91 $\mu\text{g/g}$ en las 15 combinaciones experimentales. El experimento 6 (relación 12 v/p, 30 °C y 40 min de tiempo de extracción) produjo la mayor cantidad de α -tocoferol, mientras que el experimento 1 (relación 4 v/p, 50 °C y 20 min de tiempo de extracción) presentó la menor concentración.

Por otro lado, los valores de concentración de β -caroteno variaron entre 232.37 y 322.30 $\mu\text{g/g}$ en las 15 combinaciones. El valor más alto de β -caroteno se reportó en el experimento 10 (relación 12 v/p, 30 °C y 60 min de tiempo de extracción), mientras que el más bajo se obtuvo en el experimento 2 (relación 4 v/p, 50 °C y 20 min de tiempo de extracción). Las variables de respuesta presentaron una alta correlación de 95.34 % para β -caroteno y 93.94 % para α -tocoferol.

La Tabla 2 también muestra las concentraciones de ácido ascórbico obtenidas tras la extracción ultrasónica. Los valores oscilaron entre 4582.87 y 7425.08 $\mu\text{g/g}$ en las 15 combinaciones. En el experimento 2 (relación 80 v/p, 45 °C y 5 min de tiempo de extracción) se obtuvo la mayor concentración de ácido ascórbico. Por el contrario, el valor más bajo se cuantificó en el experimento 7 (relación 40 v/p, 70 °C y 22.5 min de tiempo de extracción). Las variables de respuesta presentaron una alta correlación de 98.35 %.

Table 2. Diseño experimental para la extracción ultrasónica de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico.

Experimento	Relación	Tiempo	Temperatura	α -tocoferol ($\mu\text{g/g}$)	β -caroteno ($\mu\text{g/g}$)	Ácido ascórbico ($\mu\text{g/g}$)
1	-1	-1	0	127.21	292.44	5472.73
2	1	-1	0	160.13	232.37	7425.08
3	-1	1	0	134.89	286.13	5182.54
4	1	1	0	166.43	300.14	7180.99
5	-1	0	-1	152.59	316.76	5662.36
6	1	0	-1	170.86	298.17	6931.16
7	-1	0	1	150.05	321.64	4582.87
8	1	0	1	169.86	281.92	6434.56
9	0	-1	-1	165.25	309.39	6889.87
10	0	1	-1	170.91	322.30	6645.15
11	0	-1	1	160.09	314.95	6346.09
12	0	1	1	156.23	310.48	5418.92
13	0	0	0	164.81	321.17	6386.85
14	0	0	0	166.01	324.64	6458.16
15	0	0	0	164.05	321.36	6349.49

Optimización de los parámetros para la extracción de α -tocoferol y β -caroteno

La Figura 1 muestra las superficies de respuesta para la cuantificación de α -tocoferol en pimiento (*Capsicum annuum*), evaluando el efecto del tiempo, la temperatura y la relación entre ambos. Las superficies de respuesta de la interacción relación-tiempo (Figura 1a) permiten observar una extracción máxima de α -tocoferol, la cual se alcanza a altas relaciones masa-solvente y a una temperatura de extracción intermedia. Por otro lado, las superficies de respuesta de la interacción relación-temperatura (Figura 1b) también muestran un máximo a altas relaciones masa-solvente, pero a bajas temperaturas. Mientras tanto, las superficies de respuesta de la interacción tiempo-temperatura (Figura 1c) corresponden a un punto de silla, en el que no es posible definir un máximo ni un mínimo.

Autores como Sabliov et al. (2009) han reportado que el α -tocoferol se degrada cuando se somete a altas temperaturas durante periodos prolongados, lo que explica la tendencia observada de una mayor concentración de esta vitamina a bajas temperaturas. En cuanto al tiempo de extracción, el intervalo de -0.6 (28 minutos) a 0.6 (52 minutos) mostró valores elevados de extracción, ya que tiempos prolongados tienden a degradar los tocoferoles por degradación térmica, mientras que tiempos cortos de sonicación no logran una extracción completa de los analitos presentes en la matriz (Rotondo et al., 2021). Asimismo, Ofori-Boateng y Lee (2014) reportaron el efecto de la relación, indicando un incremento en la concentración de α -tocoferol a medida que aumenta la relación muestra-solvente.

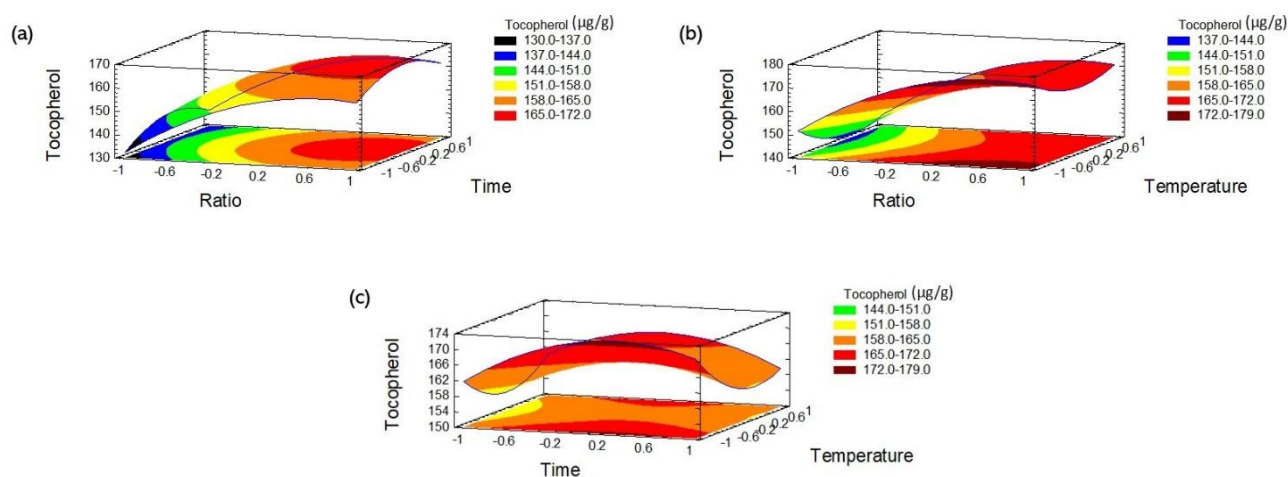


Figura 1. Superficies de respuesta para la cuantificación de α -tocoferol en *Capsicum annuum*. (a) Efecto de la relación y el tiempo, (b) relación y temperatura, (c) tiempo y temperatura.

Por otro lado, la Figura 2 muestra las superficies de respuesta para la cuantificación de β -caroteno en pimiento (*Capsicum annuum*), evaluando el efecto del tiempo, la temperatura y la relación entre ambos. En la superficie de respuesta de la interacción relación-tiempo (Figura 2a) se observa una extracción máxima. En este caso, las superficies de respuesta de las interacciones relación-temperatura (Figura 2b) y tiempo-temperatura (Figura 2c) corresponden a puntos de silla, en los que no es posible definir un máximo ni un mínimo.

Se ha demostrado que el tiempo y la temperatura afectan la eficiencia de extracción de carotenoides, lo cual se atribuye a una combinación de efectos térmicos y de cavitación (Umair et al., 2021). Esto se debe a que la intensidad de la cavitación disminuye bajo ciertas condiciones de tiempo y temperatura, lo que afecta el rendimiento final de la extracción de carotenoides (Umair et al., 2021). Por otro lado, la optimización de la relación soluto/solvente es un parámetro clave en el proceso de extracción, ya que, al trabajar con volúmenes bajos de solvente y grandes cantidades de soluto, este puede saturarse, lo que se traduce en una interacción incompleta entre el solvente y el soluto (Dey y Rathod, 2013).

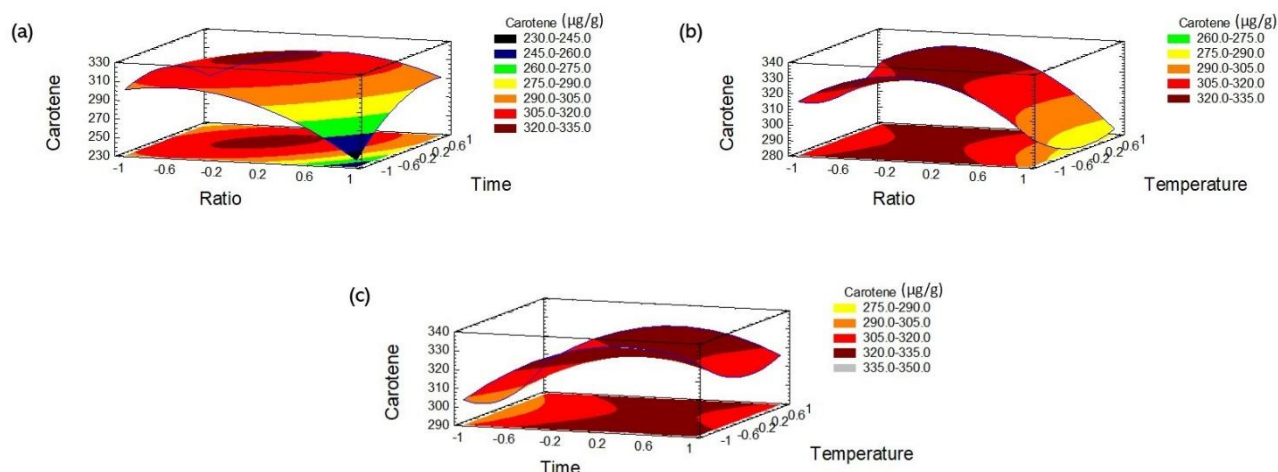


Figura 2. Superficies de respuesta para la cuantificación de β -caroteno en *Capsicum annuum*. (a) Efecto de la relación y el tiempo, (b) relación y temperatura, (c) tiempo y temperatura.

Optimización de los parámetros para la extracción de ácido ascórbico

La Figura 3 muestra las superficies de respuesta para la cuantificación de ácido ascórbico en *Capsicum annuum*, evaluando el efecto del tiempo, la temperatura y la relación entre ambos. En la superficie de respuesta de la interacción relación-tiempo (Figura 3a), se observa una extracción máxima a una relación alta (80 v/p) y tiempos cortos (5 minutos). Por otro lado, la superficie de respuesta de la interacción relación-temperatura (Figura 3b) presenta una alta concentración de ácido ascórbico a una relación elevada (80 v/p) y baja temperatura (20 °C). Finalmente, la superficie de respuesta de la interacción tiempo-temperatura (Figura 3c) muestra una tendencia a una 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 temperaturas elevadas, por lo que se recomienda trabajar a bajas temperaturas, ya que por encima de 60 °C se acelera su degradación (Peter et al., 2014). En cuanto a la relación, se ha observado que este factor influye en la extracción de ácido ascórbico de matrices alimentarias, como la de *Hibiscus sabdariffa*. Un efecto similar ocurre en el pimiento, donde el rendimiento de extracción aumenta a medida que aumenta la cantidad de solvente; esto puede deberse a que altas concentraciones de ácido ascórbico pueden saturar el solvente (Peter et al., 2014). El efecto del tiempo de sonicación puede atribuirse a que una exposición prolongada al ultrasonido provoca la degradación de compuestos bioactivos, por lo que, en algunos casos, es necesario emplear tiempos cortos para lograr la máxima extracción de los compuestos de interés (Cruz-Cansino et al., 2023).

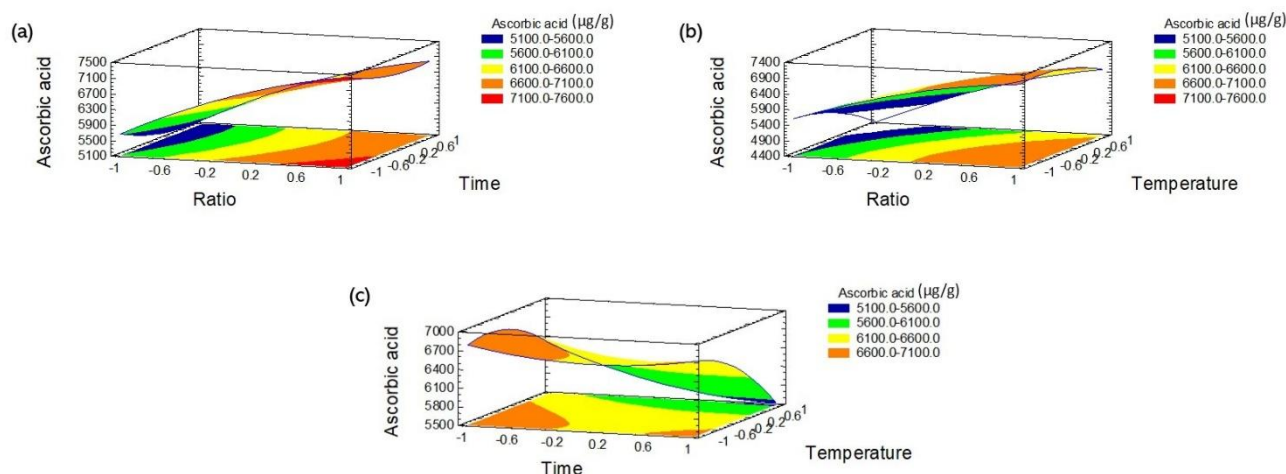


Figura 3. Superficies de respuesta para la cuantificación de ácido ascórbico en *Capsicum annuum*. (a) Efecto de la relación y el tiempo, (b) efecto de la relación y la temperatura, (c) efecto del tiempo y la temperatura.

Evaluación experimental de las condiciones óptimas

La Tabla 3 muestra las condiciones óptimas para la obtención de vitaminas en el pimiento. Las condiciones de extracción para α -tocoferol y β -caroteno coinciden en la temperatura (30 °C), y en ambos compuestos se requieren tiempos entre 40 y 50 minutos. La relación para el α -tocoferol fue de 10.6, mientras que para el β -caroteno fue de 8.04. Por otro lado, el ácido ascórbico presentó su mayor extracción a una relación de 80, un tiempo de 5 minutos y una temperatura de 39.8 °C.

No se observaron diferencias significativas entre las respuestas experimentales y las predichas, ya que los valores empíricos coincidieron estrechamente con los estimados por el modelo final seleccionado. Por lo tanto, se puede inferir que los factores de extracción optimizados mediante la metodología de superficie de respuesta permiten predecir con confianza el rendimiento de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico en extractos de pimiento.

Tabla 3. Condición óptima para la extracción ultrasónica de vitaminas y comparación entre los valores predichos y los experimentales.

Vitamina	Relación (mL/g)	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)	Valor teórico (µg/g)	Valor experimental (µg/g)
α -tocoferol	10.6	45.5	30	177.96	174.89 ± 20.31
β -caroteno	8.04	47.6	30	335.97	339.28 ± 19.62
Ácido ascórbico	80	5	39.75	7411.69	7109.36 ± 197.51

CONCLUSIÓN

La investigación demuestra que la extracción asistida por ultrasonido puede ser una herramienta eficaz para obtener estas vitaminas a partir del pimiento (*Capsicum annuum*), considerando las condiciones de extracción que inciden en la recuperación de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico. Las condiciones óptimas para el ácido ascórbico

fueron una relación de 80 (v/p), un tiempo de 5 minutos y una temperatura de 39.8 °C, con un valor predicho de 7411.69 µg/g y un valor experimental de 7109.36 ± 197.51 µg/g. Para el β-caroteno, las condiciones óptimas fueron una relación de 8.04 (v/p), un tiempo de 47.6 minutos y una temperatura de 30 °C, con un valor predicho de 335.97 µg/g y un valor experimental de 339.28 ± 19.62 µg/g. En el caso del α-tocoferol, las condiciones óptimas fueron una relación de 10.6 (v/p), un tiempo de 45.5 minutos y una temperatura de 30 °C, con un valor esperado de 177.96 µg/g y un valor experimental de 174.89 ± 20.31 µg/g. Estas condiciones óptimas pueden emplearse para obtener extractos de pimiento ricos en vitaminas, que pueden incorporarse en la formulación de nuevos alimentos funcionales que contribuyan a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, la anemia y las enfermedades cardiovasculares.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- 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.
- 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.
- Das Gupta, S., & Suh, N. (2016). Tocopherols in cancer: An update. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(6), 1354–1363.
- Dey, S., & Rathod, V. K. (2013). Ultrasound assisted extraction of β-carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 271–276.
- 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.
- 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.
- 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.
- Grammas, P., Hamdheydari, L., Benaksas, E. J., Mou, S., Pye, Q. N., Wechter, W. J., Floyd, R. A., Stewart, C., & Hensley, K. (2004). Anti-inflammatory effects of tocopherol metabolites. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319(3), 1047–1052.
- 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.

- Iqbal, S., Inam, A., Inam, A., Ashfaq, F., & Sahay, S. (2017). Potassium and wastewater interaction in the regulation of photosynthetic capacity, ascorbic acid and capsaicin in chilli (*Capsicum annuum* L.) plant. *Agricultural Water Management*, 184(1), 201–210.
- Klimeczak, I., & Gliszczynska-Wiglo, A. (2015). Comparison of UPLC and HPLC methods for determination of vitamin C. *Food Chemistry*, 175(1), 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.
- Marinova, D., & Ribarova, F. (2007). HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(5), 370–374.
- 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.
- Naves, E. R., de Ávila Silva, L., Sulpice, R., Araújo, W. L., Nunes-Nesi, A., Peres, L. E. P., & Zsögön, A. (2019). Capsaicinoids: Pungency beyond *Capsicum*. *Trends in Plant Science*, 24(2), 109–120.
- Ofori-Boateng, C., & Lee, K. T. (2014). Ultrasonic-assisted extraction of α -tocopherol antioxidants from the fronds of *Elaeis guineensis* Jacq.: Optimization, kinetics, and thermodynamic studies. *Food Analytical Methods*, 7(2), 257–267.
- 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.
- 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.
- Rotondo, A., Torre, G. L., Gervasi, T., Di Matteo, G., Spano, M., Ingallina, C., & Salvo, A. (2021). A fast and efficient ultrasound-assisted extraction of tocopherols in cow milk followed by HPLC determination. *Molecules*, 26(15), 1–12.
- Sabliov, C. M., Fronczek, C., Astete, C. E., Khachatryan, M., Khachatryan, L., & Leonardi, C. (2009). Effects of temperature and UV light on degradation of α -tocopherol in free and dissolved form. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(9), 895–902.
- Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry*, 240(1), 90–103.
- 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.
- 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.

- Ulusoy, H. İ., Acidereli, H., & Tutar, U. (2016). Optimization of extraction parameters for fat soluble vitamins and major element analysis in *Polygonum cognatum* Meissn plant (Madimak). *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 4(1), 165–178.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.