

Desarrollo de método para la evaluación de clorofila empleando una referencia a partir de *Hibiscus rosa-sinensis*

Development of a method for chlorophyll assessment by a reference from *Hibiscus rosa-sinensis*

Vanessa MEJÍA PUENTE^{1*}, José Hipólito ISAZA MARTINEZ¹, Lizbeth Lorena LOPEZ PARRA¹

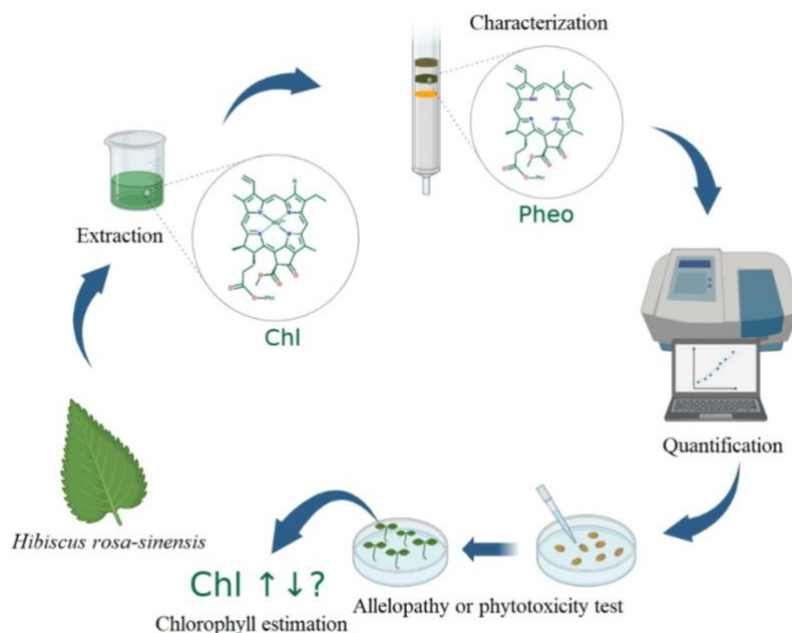
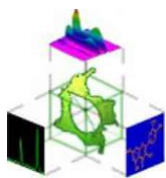
¹ Grupo de Investigación en Productos Naturales y Alimentos (GIPNA), Departamento de química, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali, Colombia. * mejia.vanessa@correounivalle.edu.co

Presentación Poster 19

ABSTRACT

Chlorophylls are essential pigments in photosynthesizing organisms, responsible for converting sunlight into chemical energy. Their general structure consists of a porphyrin ring with a magnesium metal center and a phytol chain. They have two main absorption regions, the Soret band in the blue region and the Q band in the red region. These are labile molecules that can degrade due to factors such as light, high temperatures, and pH changes, even in extraction and storage processes. The most abundant derivative of degradation is pheophytin a, which results from the loss of the metal center and presents a Soret band at 410 nm and a Q band at 666 nm ^[1-6].

In this study, a chlorophyll estimation method was developed using pheophytin a, obtained from the leaves of the *Hibiscus rosa-sinensis* plant, as a reference. For this purpose, the pigments were extracted with acetone from fresh leaves, obtaining 28,337 mg of the compound, preserved in 2-propanol. Subsequently, a calibration curve was obtained by UV-Vis spectrometry and fluorometry for this compound. This method was applied in phytotoxicity and allelopathy tests, evaluating the effect of CuSO₄ and other plant extracts on the germination and growth of *Lactuca sativa* L. var. *longifolia*. The estimation of chlorophyll allowed correlating the presence of this pigment with the physiological activity of the plants, providing information on their metabolic state and the impact of interaction with other plant species. This demonstrates the feasibility of using the leaves of *Hibiscus rosa-sinensis* as an accessible and economical alternative for the preparation of a reference for the study of chlorophyll, with applications in ecological and agricultural research.



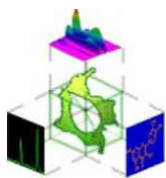
Key words:

Chlorophyll, pheophytin a, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Lactuca Sativa* L.var. *longifolia*, phytotoxicity, allelopathy.

RESUMEN

Las clorofilas son pigmentos esenciales en organismos fotosintetizadores, responsables de la conversión de luz solar en energía química. Su estructura general en plantas consiste en un anillo porfirínico con un centro metálico de magnesio y una cadena de fitol. Presentan dos regiones principales de absorción, la banda Soret, en la región del azul y la banda Q, en la región del rojo. Estas son moléculas lábiles que pueden degradarse debido a factores como la luz, altas temperaturas y cambios de pH, incluso en procesos de extracción y almacenamiento. El derivado más abundante de su degradación es la feofitina a, que resulta de la pérdida del centro metálico y presenta una banda Soret a 410 nm y una banda Q a 666 nm. ^[1-6]

En este estudio, se desarrolló un método de estimación de clorofila empleando como referencia la feofitina a, obtenida de las hojas de la planta *Hibiscus rosa-sinensis*. Para ello, se realizó una extracción de los pigmentos con acetona a partir de hojas frescas, obteniendo 28.337 mg del compuesto, conservado en 2-propanol. Posteriormente se obtuvo una curva de calibración por espectrometría UV-Vis y fluorometría para este compuesto. Este método se aplicó en ensayos de fitotoxicidad y alelopatía, evaluando el efecto de CuSO₄ y otros



extractos vegetales sobre la germinación y el crecimiento de *Lactuca sativa* L. var. *longifolia*. La estimación de clorofila permitió correlacionar la presencia de este pigmento con la actividad fisiológica de las plantas, brindando información sobre su estado metabólico y el impacto de la interacción con otras especies vegetales. Demostrando la viabilidad de emplear las hojas de *Hibiscus rosa-sinensis* como una alternativa accesible y económica para la preparación de una referencia para el estudio de clorofila, con aplicaciones en investigaciones ecológicas y agrícolas.

Palabras clave:

Clorofila, Feofitina a, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Lactuca sativa* L. var. *longifolia*., fitotoxicidad, alelopatía.

Agradecimientos/Acknowledgements

A el Grupo de Investigación de Productos Naturales y Alimentos (GIPNA) y a la Universidad del Valle.

Referencias/References

- [1] PETROVIC, S., *et al.* (2012). The Identification of Chlorophyll and Its Derivatives in the Pigment Mixtures: Hplc-Chromatography, Visible and Mass Spectroscopy Studies. *Savremene tehnologije* **1**: 16-24. [URL](#)
- [2] LEFEBVRE, T., *et al.* (2020). Evaluation of the Extraction and Stability of Chlorophyll-Rich Extracts by Supercritical Fluid Chromatography. *Anal Bioanal Chem* **412**(26): 7263-7273. [\[DOI\]](#)
- [3] TANIGUCHI, M. y LINDSEY, J. S. (2021). Absorption and Fluorescence Spectral Database of Chlorophylls and Analogues. *Photochem Photobiol* **97**(1): 136-165. [\[DOI\]](#)
- [4] DAS, A., *et al.* Chlorophyll and Chlorophyll Catabolite Analysis by Hplc. In: GUO, Y. (ed.). *Plant Senescence: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer New York, (2018). p. 223-235. [\[DOI\]](#)
- [5] VAN BREEMEN, R. B., *et al.* (1991). Identification of Chlorophyll Derivatives by Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **39**(8): 1452-1456. [\[DOI\]](#)
- [6] PETROVIC, S., *et al.* (2014). Chlorophyll a and Chlorophyllide a inside Liposomes Made of Saturated and Unsaturated Lipids: A Possible Impact of the Lipids Microenvironment. *Acta Periodica Technologica* **10.2298/apt1445215p(45)**: 215-227. [\[DOI\]](#)