



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución - 4.0 Internacional \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Vea una copia de esta licencia en <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>





FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Tesis

Obtención y caracterización del colorante presente en el bulbo del Yahuar piri piri (*Eleutherine bulbosa Miller Urb.*)

Para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial

Autor:

Marilyn Estefany Medina Ramirez

<https://orcid.org/0000-0001-7189-7538>

Asesor:

Ing. Mg. Juan José Salazar Díaz

<https://orcid.org/0000-0002-4803-7262>

Tarapoto, Perú

2022



FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Tesis

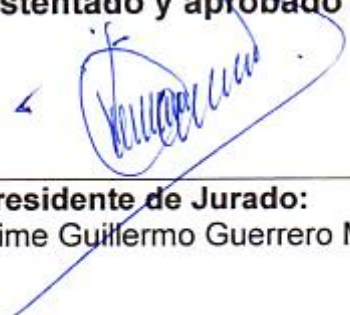
Obtención y caracterización del colorante presente en el bulbo del Yahuar piri piri (*Eleutherine bulbosa Miller Urb.*)

Para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial

Presentado por

Marilyn Estefany Medina Ramírez

Sustentado y aprobado el día 19 de agosto del 2022 por los jurados:



Presidente de Jurado:

Ing. Dr. Jaime Guillermo Guerrero Marina



Secretario de Jurado:

Ing. Dr. José Luis Pasquel Reátegui



Vocal de Jurado:

Ing. M.Sc. Epifanio Efrain Martínez Mena



Asesor:

Ing. Mg. Juan José Salazar Díaz

Tarapoto, Perú

2022



CIUDAD UNIVERSITARIA-MORALES

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Siendo las 10:00 horas, del día viernes 19 de Agosto de 2022, en la ciudad de Tarapoto, en cumplimiento a lo establecido en la Directiva N° 01-2020-UNSM, aprobada con Resolución N° 367-2020-UNSM/CU-R de fecha 29 de mayo del 2020, sobre Sustentación de Tesis de Pregrado según la Modalidad No Presencial (forma virtual), en la Facultad de Ingeniería Agroindustrial se reunieron virtualmente el Jurado de Tesis integrado por:

Presidente : Ing. Dr. JAIME GUILLERMO GUERRERO MARINA
Secretario : Ing. Dr. JOSÉ LUIS PASQUEL REÁTEGUI
Vocal : Ing. M.Sc. EPIFANIO EFRAIN MARTÍNEZ MENA
Asesor : Ing. Mg. JUAN JOSÉ SALAZAR DÍAZ

Para evaluar la tesis: “OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL COLORANTE PRESENTE EN EL BULBO DEL YAHUAR PIRI PIRI (*Eleutherine bulbosa* Miller Urb.)” presentado por la Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **MARILYN ESTEFANY MEDINA RAMÍREZ**. Los señores miembros del jurado, después de haber atendido la sustentación virtual, evaluadas las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran **Aprobado**, por **Unanimidad** con el calificativo de **Bueno**, en fe de lo cual se firmó la presente acta, siendo las **12:05** horas del mismo día, con lo que se dio por concluido el acto de sustentación.

Ing. Dr. JAIME GUILLERMO GUERRERO MARINAZ
PRESIDENTE

Ing. Dr. JOSÉ LUIS PASQUEL REÁTEGUI
SECRETARIO

Ing. M.Sc. EPIFANIO EFRAIN MARTÍNEZ MENA
VOCAL

Ing Mg. JUAN JOSÉ SALAZAR DÍAZ
ASESOR

Declaración de Autenticidad

Yo, **Marilyn Estefany Medina Ramirez**, con DNI N° 70996549, egresada de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, con la Tesis titulada: **Obtención y caracterización del colorante presente en el bulbo del Yahuar piri piri (*Eleutherine bulbosa* Miller Urb.)**.

Declaro bajo juramento:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. La redacción fue realizada respetando las citas y referencias de las fuentes bibliográficas consultadas.
3. Toda la información que contiene la tesis no ha sido auto plagiada.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido alterados ni copiados, por tanto, la información de esta investigación debe considerarse como aporte a la realidad investigada.

Por lo antes mencionado, asumo bajo responsabilidad las consecuencias que deriven de mí accionar, sometiéndome a las leyes de nuestro país y normas vigentes de la Universidad Nacional de San Martín.

Tarapoto, 20 de octubre del 2022.



Marilyn Estefany Medina Ramirez
DNI N°: 70996549



Ficha de Identificación

<p>Título del proyecto “Obtención y caracterización del colorante presente en el bulbo del Yahuar piri piri (<i>Eleutherine bulbosa</i> Miller Urb.)”</p>	<p>Área de investigación: Química de No Alimentos Línea de investigación: Gestión integral y sostenible de los recursos naturales. Sublínea de investigación: Aprovechamiento de la flora medicinal y aromática de la Región San Martín. Tipo de investigación: Básica <input checked="" type="checkbox"/>, Aplicada <input type="checkbox"/>, Desarrollo experimental <input type="checkbox"/></p>
<p>Autor: Marilyn Estefany Medina Ramirez</p>	<p>Facultad de Ingeniería Agroindustrial Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial Unidad o Laboratorio de Química de No Alimentos https://orcid.org/0000-0001-7189-7538</p>
<p>Asesor: Ing. Mg. Juan José Salazar Díaz</p>	<p>Dependencia local de soporte: Facultad de Ingeniería Agroindustrial Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial Unidad o Laboratorio de Química de No Alimentos https://orcid.org/0000-0002-4803-7262</p>

Dedicatoria

Dedico este logro a mi maravillosa familia, MAURO MEDINA, EDELMIRA RAMIREZ, RUBI MEDINA, MAYKOL MEDINA y WALTER IVAN ABAD porque ellos son la razón de mi vivir, mi motivo y motor para crecer profesionalmente.

Agradecimiento

A Dios por su amor y apoyo incondicional en el transcurso de mi vida y carrera profesional.

A mi amada familia por su apoyo incondicional y motivación, en especial a mis padres Mauro Medina Vílchez y Edelmira Ramirez Navarro quienes son motor y motivo para lograr el desarrollo del trabajo de investigación.

A mi grandiosa hermana Rubi Esmeralda Medina Ramirez por su perseverancia constante y motivación para lograr mis metas. Y hermano Elvis Maykol Medina Ramirez por su apoyo y ayuda.

A mi maravilloso esposo Walter Iván Abad Garcia por su constante apoyo, paciencia y motivación en el transcurso de la ejecución del trabajo de investigación.

Al Ing. Mg. Juan José Salazar Díaz por su asesoramiento y aporte de conocimientos.

A los ingenieros Richer Garay Montes y Rafael Segundo Vela Paredes por su apoyo técnico y aporte de conocimientos en la realización del trabajo experimental.

Al Señor Guido Saavedra por su apoyo en el laboratorio durante la ejecución del presente trabajo de investigación.

A los ingenieros Dr. Jaime Guillermo Guerrero Marina, Dr. José Luis Pasquel Reátegui y M.Sc. Epifanio Martínez Mena por su aporte en la mejora del trabajo de investigación.

Índice general

Ficha de Identificación	5
Dedicatoria	7
Agradecimiento.....	8
Índice general	9
Índice de tablas.....	11
Índice de figuras	12
RESUMEN.....	13
ABSTRACT	14
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN	15
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....	16
2.1. Antecedentes de la investigación.....	16
2.2. Fundamentos Teóricos	17
2.2.1. Yahuar Piri Piri.....	17
2.2.2. Marcha Fitoquímica preliminar.....	18
2.2.3. Cromatografía.....	18
CAPÍTULO III MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
3.1. Ámbito y condiciones de la Investigación.....	19
3.2. Sistemas de variables.....	19
3.3. Procedimientos de la investigación.....	22
3.3.1. Materiales	22
3.3.1.1. Material Botánico	22
3.3.1.2. Material de laboratorio, equipos, reactivos y disolventes para el ensayo Físicoquímico	22
3.3.2. Objetivo específico 1	24
3.3.2.1. Descripción del Proceso de la Obtención del Extracto Seco de Yahuar Piri Piri	24
3.3.2.2. Análisis Biométricos de la especie vegetal.....	25
3.3.2.3. Determinación del contenido de humedad y Cenizas.....	26

	10
3.3.2.4. Marcha preliminar de los principales fitoconstituyentes	27
3.3.2.5. Determinación de Fenoles totales	29
3.3.2.6. Determinación de Flavonoides totales.....	30
3.3.2.7. Determinación de Capacidad Antioxidante.....	31
3.3.3. Objetivo específico 2	33
3.3.3.1. Separación por Cromatografía en Capa Fina (CCF)	33
3.3.4. Objetivo específico 3	34
3.3.4.1. Determinación del Perfil Cromatográfico por UHPLC	34
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
4.1. Objetivo específico 1	35
4.1.1. Caracterización del bulbo de la especie vegetal Yahuar Piri piri (<i>Eleutherine bulbosa</i>)	35
4.1.2. Análisis del color del bulbo de la especie vegetal Yahuar Piri Piri (<i>Eleutherine bulbosa</i>)	37
4.1.3. Cálculo del Rendimiento del bulbo de Yahuar Piri Piri (<i>Eleutherine bulbosa</i>) con respecto al extracto seco.....	37
4.1.4. Determinación de humedad y cenizas totales del bulbo de la especie vegetal Yahuar Piri piri (<i>Eleutherine bulbosa</i>).....	38
4.1.5. Marcha fitoquímica del Extracto seco del Bulbo de Yahuar Piri piri (<i>Eleutherine Bulbosa</i>)	39
4.1.6. Análisis de Compuestos Fenólicos.....	41
4.1.7. Determinación de Capacidad Antioxidante.....	42
4.2. Objetivo específico 2	43
4.2.1. Cromatografía en capa fina CCF.....	43
4.3. Objetivo específico 3	44
4.3.1. Determinación del Perfil cromatográfico por UHPLC.....	44
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES.....	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
ANEXOS.....	58

Índice de tablas

Tabla 1. Preparación de curva patrón para analizar el Fenoles Totales	29
Tabla 2. Preparación de curva patrón para analizar Flavonoides Totales	30
Tabla 3. Preparación de curva patrón para analizar Capacidad Antioxidantes por ABTS32	
Tabla 4. Preparación de curva patrón para analizar Capacidad Antioxidantes por DPPH33	
Tabla 5. Composición de la gradiente de la fase móvil utilizado para el Perfil Cromatográfico	34
Tabla 6. Datos Biométricos del Bulbo Yahuar Piri Piri (<i>Eleutherine bulbosa</i> .)	36
Tabla 7. <i>Análisis de Color del Bulbo de la Especie Vegetal Yahuar Piri Piri (Eleutherine bulbosa)</i>	37
Tabla 8. Rendimiento del Bulbo Yahuar Piri Piri (<i>Eleutherine bulbosa</i>)	38
Tabla 9. Determinación de humedad y cenizas del Bulbo Yahuar Piri Piri (Eleutherine Bulbosa)	39
Tabla 10. Constituyentes químicos presentes en el Extracto del Bulbo de Yahuar Piri Piri (Eleutherine Bulbosa) según la Marcha Fitoquímica	39
Tabla 11. Resumen Cualitativo de los Constituyentes Químicos encontrados en el Extracto del Bulbo de Yahuar Piri Piri (Eleutherine Bulbosa) de la Muestra en Estudio, según la Marcha Fitoquímica	40
Tabla 12. Contenido de Fenoles Totales y Flavonoides Totales de la Especie Vegetal Eleutherine bulbosa	41
Tabla 13. Capacidad Antioxidante por los métodos ABTS y DPPH de los bulbos de Yahuar Piri Piri (<i>Eleutherine bulbosa</i>)	42

Índice de figuras

Figura 1. Yahuar Piri Piri (<i>Eleutherine bulbosa</i>)	22
Figura 2. Flujograma del Extracto Seco y los Análisis Realizados	25
Figura 3. Corrida cromatográfica en capa fina del Extracto Seco de Yahuar Piri Piri (<i>Eleutherine bulbosa</i>).....	43
Figura 4. Cromatograma LC-UV del metabolito color Amarillo con los espectros de los picos y el tiempo de retención.	45
Figura 5. Cromatograma LC-UV del metabolito color Rojo con los espectro de los picos a, b y c y el tiempo de retención.....	46
Figura 6. Cromatograma LC-UV del metabolito color Rojo con los espectro de los picos d y e y el tiempo de retención.	47

RESUMEN

La especie vegetal *Eleutherine bulbosa* Miller Urb. es una herbácea que crece en la Selva del Perú, en departamentos como Loreto, San Martín y Ucayali. Se evaluó los principios activos principales y el posible colorante predominante que posee. Las medidas biométricas del bulbo en medida horizontal, vertical y peso fueron 2.65 ± 0.37 cm, 5.76 ± 0.056 cm y 14.34 ± 4.28 g respectivamente. La determinación del color del bulbo y la muestra seca (bulbo seco y pulverizado) presentaron el código de color #762D3F y #533635 respectivamente. En los análisis del contenido de humedad y cenizas se obtuvo que fue de 48.02 ± 1.25 % base húmeda y 1.69 ± 0.06 en base seca respectivamente. El método de extracción que se usó fue por maceración con una solución de etanol al 80% durante una semana, con agitación diaria por 15 min a 400 RPM. El rendimiento de la extracción fue de 6.15 %, eso implica que de cada 100 g de muestra se obtiene 6.15 g de extracto seco. En el desarrollo de la marcha fitoquímica se encontraron principios activos como taninos, flavonoides, quinonas, catequinas y alcaloides. El contenido de Fenoles totales fue de 216.849 ± 3.96 mg GAE/g Extracto y Flavonoides totales de 14.762 ± 0.8 mg de quercetina/g de Extracto. La capacidad antioxidante por ABTS y DPPH fueron de 4.445 ± 0.324 y 1.949 ± 0.033 μ mol TE/100 g MS respectivamente. Además, se encontró un % de inhibición por ABTS de 13.9 ± 0.8 % y DPPH de 42.16 ± 0.57 %. Se utilizó cromatografía en capa fina preparativa con fase móvil Acetato de Etilo:Ácido Fórmico:Ácido Acético glacial:agua destilada (1:0.11:0.11:0.26), los metabolitos separados fueron analizados por UHPLC a una longitud de onda desde 280, 320 y 360 nm, obteniendo mejores resultados a 280 nm.

Palabras claves: *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb, Yahuar Piri Piri, Marcha Fitoquímica, Naftoquinonas y UHPLC.

ABSTRACT

Eleutherine bulbosa Miller Urb. is a herbaceous plant species that grows in the Peruvian jungle, in departments such as Loreto, San Martin and Ucayali. The main active principles and the possible predominant colorant it possesses were evaluated. The biometric measurements of the bulb in horizontal, vertical and weight were 2.65 ± 0.37 cm, 5.76 ± 0.056 cm and 14.34 ± 4.28 g, respectively. The color determination of the bulb and dry sample (dry and pulverized bulb) showed color codes #762D3F and #533635, respectively. Moisture and ash content analysis showed 48.02 ± 1.25 % on wet basis and 1.69 ± 0.06 on dry basis, respectively. The extraction method used was by maceration with an 80% ethanol solution for one week, with daily agitation for 15 min at 400 RPM. The extraction yield was 6.15 %, which means that 6.15 g of dry extract was obtained from each 100 g of sample. Active principles such as tannins, flavonoids, quinones, catechins and alkaloids were found in the performance of the phytochemical process. The content of total phenols was 216.849 ± 3.96 mg GAE/g extract and total flavonoids was 14.762 ± 0.8 mg quercetin/g extract. The antioxidant capacity for ABTS and DPPH were 4.445 ± 0.324 and 1.949 ± 0.033 μ mol TE/100 g DM respectively. In addition, a percentage of inhibition for ABTS was found to be 13.9 ± 0.8 % and DPPH was 42.16 ± 0.57 %. Preparative thin layer chromatography with mobile phase Ethyl Acetate:Formic Acid:Glacial Acetic Acid:distilled water (1:0.11:0.11:0.11:0.26) was used, the separated metabolites were analyzed by UHPLC at wavelength from 280, 320 and 360 nm, obtaining better results at 280 nm.

Keywords: *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb, Yahuar Piri Piri, Phytochemistry, Naphthoquinones and UHPLC.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN

En los últimos años ha surgido una preocupación en el campo de la seguridad alimentaria, incrementando una fuerte demanda de colorantes naturales para la formulación de los diferentes productos en diferentes industrias, desplazando así a colorantes artificiales o sintéticos, por el posible daño a la salud del consumidor. Los colorantes son aditivos agregados para mejorar el aspecto de los alimentos y otras sustancias.

El Perú es enaltecido por ser un país rico en su biodiversidad y de manera específica en su vegetación, cuenta con una riqueza en flora y fauna posibles potenciales como fuentes de colorantes naturales, que aún no ha sido explorada en su totalidad. Por ello, esta investigación se fundamenta en la exploración de la especie vegetal Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*).

El Yahuar Piri piri (*Eleutherine bulbosa*) es una planta herbácea que crece principalmente en América del Sur. En el Perú, se halla en Loreto (Contamana, Iquitos, Yurimaguas), San Martín, Ucayali (Pucallpa) y Cusco (Rengifo, 2007).

Esta planta crece hasta 50 cm de altura; hojas lanceadas ensiformes (largo 40 cm y ancho 2.5 cm); en la parte subterránea se encuentran los bulbos que son de color rojizo parecido a una cebolla roja (largo 4 cm y ancho 2.5 cm), conformados por envolturas que dan origen a las hojas. Su medio en la que crece es de 0 a 1000 msnm, en Bosque tropical húmedo y seco.

Este trabajo tuvo como objetivo general:

- Extraer y caracterizar el colorante presente en el bulbo del Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa* Miller Urb).

Para desarrollarlo se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Caracterizar el colorante presente por reacciones de coloración.
- Fraccionar el extracto etanólico del bulbo por cromatografía de capa fina.
- Comprobar y caracterizar el colorante presente por señales espectroscópicas UV por UHPLC.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

De acuerdo con Rengifo (2007) se encontró en la especie vegetal *Eleutherine bulbosa* la presencia de taninos, terpenoides, cumarinas fijas, esteroides libres, flavonoides, carotenoides, quinonas (naftoquinonas y antraquinonas), auronas y chalconas.

Según Le Minh et al. (2013), Yanti et al. (2014) y Morabandza et al. (2016) *Eleutherine bulbosa* posee algunos compuestos aromáticos y glicósidos tales como: eleutherinona, eleutherina, isoeleutherina, Eleutherol, 8(R)-4-hidroxi eleutherina, eleutona, Isoeleuthosido C, 8-O-β-D-glucosido de eleutherinol. Además, ha sido analizada como agente anticancerígeno para la co-quimioterapia (Listayana, Biomed, & Suryadinta, 2016) y se ha evaluado el efecto del extracto etanólico sobre la bacteria *Streptococcus mutans* (Costa et al., 2016).

Según Hara et al. (1997), Paramapojna et al. (2008) y Muhamad et al. (2012) la especie *Eleutherine americana* es utilizada como planta medicinal, que pertenece a la familia Iridaceae. Esta planta crece a 600-2000 msnm. La planta es originaria de América tropical, pero ahora es ampliamente cultivada en la isla de Kalimantan (Indonesia), la isla de Hainan (Sur de China) Tailandia y Sudáfrica. Sin embargo, la especie *Eleutherine bulbosa* también es utilizada en medicina popular para el tratamiento de giardiasis, amebiasis y diarrea (Couto, Moraes, Cartágenes, M. do Amaral, & Guerra, 2016).

De acuerdo con las investigaciones de Firdaus (2006) y Kuntorini et al. (2010) se hicieron hallazgos que en el bulbo de la especie *Eleutherine americana* posee compuestos bioactivos como flavonoides, naftoquinonas, antraquinonas, alcaloides, saponinas, taninos, compuestos fenólicos, glucosa, triterpenoides y esteroides. El extracto crudo de los bulbos de *E. americana* inhibe la proteasa y enzimas lipasa y se puede utilizar en la industria alimentaria como un aditivo, destinado a combatir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (Ifesan & Voravuthikunchi, 2009).

Los estudios realizados por Mahabusarakam et al. (2010) se encontró que en el extracto de los bulbos de la especie *Eleutherine americana* ha mostrado actividad antibacteriana contra *S. aureus* (ATCC25923 y ATCC27664). Además, el extracto de etanólico de los bulbos de esta especie ha mostrado actividad antibacteriana contra *Campylobacter spp.* (Sirirak & Voravuthikunchai, 2011).

Según Galingging (2009), Ifesan & Voravuthikunchi (2009) y Liu (2012) el bulbo de las especies *Eleutherine palmifolia* y *Eleutherine americana* contienen compuestos como alcaloides, glucósidos, flavonoides, fenólicos, triterpenoides / esteroides y antraquinonas.

Los Ensayos in vitro realizados del extracto de hojas y bulbos de *Eleutherine plicata* muestra actividad contra *Giardia lamblia* (Amaral et al., 2007) y amebicida contra *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar* (Nascimento et al., 2012) representan el único estudio biológicos para validar la etnofarmacológica utilizar.

Oliveira et al. (2007) en estudio biomonitorado indica una sapogenina esteroidea con periféricos propiedades analgésicas y antiedematogénica, como ingrediente activo en el extracto de bulbos de *Eleutherine plicata*. Además, el extracto liofilizado crudo de *Eleutherine plicata* ha demostrado antiedema y actividad analgésica periférica, pero no central (Baraúna & Rocha, 2006) y actividad antifúngica moderada (Menezes et al., 2009). El estudio del extracto hidroalcohólico de sus bulbos *Eleutherine plicata* ha demostrado acción anticolinesterasa (Cavalcante et al., 2009).

Se determinó en el análisis fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Zanthoxylum fagara* aplicando el método de TLC y cromatografía en columna, que los más abundantes fueron: flavonoides, ácidos fenólicos, antraquinonas y alcaloides, cuyos constituyentes tienen importancia farmacológica como antioxidantes, antibacterianos y antimutagénicos (Espino A., 2019).

El rendimiento de pigmentos en extracto bruto de achiote fue de 7.8% obtenido con hidróxido de potasio al 2% (Sánchez S., 2019).

2.2. Fundamentos Teóricos

2.2.1. Yahuar Piri Piri

El Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*) es una planta herbácea, con bulbos rojos. Hojas verticiladas, linearlanceoladas, con nervaduras longitudinales. Inflorescencia en panícula. Flores rosáceas. Compuestos presentes como sapogenina esteroideal, alcaloides, quinonas y pigmentos flavónicos (Mejía & Rengifo, 1995).

Clasificación Taxonómica:

- División: Magnoliophyta
- Clase: Liliopsida
- Subclase: Liliidae
- Orden: Liliales

- Familia: Iridiaceae
- Género: Eleutherine
- Nombre científico: *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.

2.2.2. Marcha Fitoquímica preliminar

La marcha fitoquímica preliminar es un conjunto de métodos desarrollados para el análisis preliminar de diversos constituyentes químicos, basados en la extracción por solventes con afinidad apropiada y la aplicación de pruebas de coloración (Lock O. , 1994).

Los principios activos de las plantas están comprendidos por metabolitos secundarios, que son compuestos químicos de estructura compleja, características específicas y distribución restringida, a diferencia de los metabolitos primarios (Lock O. , 1994).

El análisis químico comprende en cuatro etapas definidas (Lock O. , 1994):

- a. Recolección y clasificación botánica de la especie en estudio.
- b. Extracción, separación y purificación de constituyentes químicos.
- c. Determinación estructural.
- d. Ensayos biológicos y farmacológicos.

2.2.3. Cromatografía

La cromatografía es un conjunto de técnicas que permite la separación de mezclas de sustancias mediante la diferente capacidad de interacción de cada componente en otra sustancia. Esta metodología consiste en pasar la fase móvil (mezcla de solventes) a través de la fase estacionaria fija sólida. Cada uno de los componentes de la mezcla presenta un tiempo característico de paso por el sistema, denominado tiempo de retención. (Angurell et al., 2022).

- Cromatografía en capa fina (TCL): la fase estacionaria es en una capa delgada de un adsorbente (como gel de sílice, alúmina o celulosa) sobre un soporte plano como una placa de vidrio o lámina de aluminio o plástico. La fase móvil o eluyente arrastra a los compuestos a mayor o menor velocidad de acuerdo con la afinidad. Esta afinidad mayor o menor se presentará debido a la relación entre la polaridad de las moléculas de la mezcla y la polaridad del eluyente (Llorens, 2012).

El proceso tiene similitud con la cromatografía de papel, pero con la ventaja de su rapidez, tiene mejor efectividad en la separación y se puede emplear diversos adsorbentes. La TCL es una técnica estándar en el laboratorio de química orgánica. Por su simplicidad y velocidad, es utilizada para monitorizar reacciones químicas y analizar cualitativamente los

productos en una reacción, ya que permite conocer rápida y sencillamente los componentes de una mezcla (Angurell et al, 2022).

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Ámbito y condiciones de la Investigación

3.1.1. Contexto de la investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Investigación y de Tecnología de productos agroindustriales No Alimentos (TEPANAL) en la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la UNSM, Ciudad Universitaria-Morales, Tarapoto, Región San Martín.

3.1.2. Periodo de ejecución

El proyecto tuvo la duración de 24 meses.

3.2. Sistemas de variables

3.2.1. Variable principal

Extracto etanólico del bulbo del Yahuar piri piri (*Eleutherine bulbosa*)

DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ÍNDICE	ESCALA DE MEDICIÓN	ESCALA
Producto obtenido mediante extracción por maceración con etanol.	El extracto se obtuvo del bulbo seco, molido, macerado con etanol al 80° GL por 7 días, luego se filtró y concentró en el rotaevaporador a 40°C hasta sequedad.	Extracto Etanólico seco del bulbo del Yahuar piri piri (<i>Eleutherine bulbosa Miller Urb.</i>)	% de extracto etanólico seco sobre muestra original	Continua	Cuantitativo

3.2.2. Variables secundarias

- Caracterización del colorante por reacciones de coloración
- Fraccionamiento del extracto etanólico por cromatografía en capa fina.

- Perfil cromatográfico por HPLC y sus espectros UV de los colorantes presente.

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ÍNDICE	ESCALA DE MEDICIÓN	ESCALA
Caracterización del colorante del Extracto Etanólico del bulbo del Yahuar piri piri (<i>Eleutherine bulbosa Miller Urb.</i>) por reacciones de coloración	Identificación y determinación del metabolito colorante presente en el extracto etanólico	El metabolito secundario será estudiado mediante reacciones de coloración.	Tipo de metabolito colorante presente.	Presencia o ausencia de metabolito colorante	Nominal	Cualitativa
Fraccionamiento del Extracto etanólico del bulbo del Yahuar piri piri.	Separación del extracto seco hidroalcohólico.	El metabolito secundario colorante será estudiado por separación de Cromatografía en capa fina.	Tipo de metabolito colorante.	Fracción del metabolito colorante.	Nominal	Cualitativa
Caracterización del colorante por UHPLC del Extracto Etanólico del bulbo del Yahuar piri piri (<i>Eleutherine bulbosa Miller Urb.</i>)	Identificación y determinación del metabolito colorante por su espectro UV, obtenido por UHPLC.	La presencia del metabolito se confirmará e identificará mediante un barrido Cromatográfico por UHPLC.	Tipo de metabolito secundario colorante.	Señales de los espectros UV del metabolito.	Nominal	Cualitativa

3.3. Procedimientos de la investigación

3.3.1. Materiales

3.3.1.1. Material Botánico

Para el trabajo de investigación se empleó los bulbos de la especie Yahuar Piri piri (*Eleutherine bulbosa*), recolectados en el distrito de San Antonio de Cumbaza (datos de las coordenadas -6.407468, -76.401004), provincia de San Martín, departamento de San Martín.



Figura 1
Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*)

3.3.1.2. Material de laboratorio, equipos, reactivos y disolventes para el ensayo Físicoquímico

Material de laboratorio

- Pinzas de probetas
- Soporte de columnas
- Termómetro digital
- Matraces Erlenmeyer de 50, 100 y 250 ml
- Pipetas de 1, 2, 5 y 10 ml
- Papel de aluminio
- Gradillas de tubos de ensayo
- Tubos de ensayo de 5 y 10 ml
- Probetas de 10, 50 y 500 ml
- Soporte de columna
- Embudos
- Pinzas de probeta
- Micropipetas de 10 μ L, 250 μ L, 500 μ L, 5 ml y 10 ml
- Vasos de precipitación de 50, 100 y 1000 ml

- Piscetas
- Papel filtro Wathman número 40
- Cromatoplasmas de silicagel G60 (20 x 20 cm)
- Vernier
- Tijera
- Papel de filtración rápida

Reactivos

- Gelatina a 1% acuoso
- Cloruro férrico a 1% acuoso
- Ninhidrina
- Shinoda
- Libermann Burchard
- Borntrager
- Kedde
- Rosenheim
- Mayer
- Wagner
- Dragendorff
- Hager
- HCl concentrado
- HCl al 1%
- Na₂SO₄
- Hexano
- Tolueno
- Cloroformo
- Diclorometano
- Quercetina
- NaNO₂
- Cloruro de Aluminio
- NaOH
- Acetato de Etilo
- Etanol absoluto
- Etanol de 96°
- Metanol grado analítico
- Agua destilada
- Ácido gálico

- Na₂CO₃
- Folin Ciocalteu
- ABTS
- DPPH

Equipos

- Balanza analítica digital AND GH-200 max. 220g, procedencia Japón.
- Agitador de paleta R50CAT máx. 16x100RPM, procedencia de Alemania.
- Rotavapor Thermo scientific HP131530-33, procedencia USA.
- Estufa Memmert UN 55 FREEZONE, procedencia USA.
- Esterilizadora ED080 Cap. 80L, procedencia USA.
- Balanza digital 4200g/0.1g., procedencia Japón.
- Colorímetro triestímulo Konika Minolta CR-400, procedencia Japón.
- UHPLC Thermo scientific ultima 3000, procedencia USA.

3.3.2. Objetivo específico 1

3.3.2.1. Descripción del Proceso de la Obtención del Extracto Seco de Yahuar Piri Piri

Recolectado: se recolectaron 5 kg de la especie vegetal Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*).

Lavado: se separaron los bulbos de las hojas y se procedió a lavarlos con agua potable, posteriormente

Seleccionado: se realizó una minuciosa selección de los bulbos, eliminando los bulbos que presentaban algún defecto.

Cortado: Los bulbos fueron cortados para reducir su tamaño a 1 cm x 1cm.

Secado y triturado: se utilizó una estufa a temperatura de 40°C, esta temperatura fue usada debido a que algunos compuestos naturales tienen a degradarse a temperaturas mayores de 40°C (Seijas, 2019). Posteriormente los bulbos se trituraron hasta obtener un polvo fino.

Macerado: se maceró en una solución de alcohol a 80 °GL por 7 días a temperatura ambiente, con una relación de 1: 10 (muestra: solvente, se le colocaron en vasos de precipitación de 1 L, que fueron forrados con papel aluminio, para evitar el ingreso de la luz, debido que algunos colorantes naturales son sensibles a la luz y al calor (Lock O. , 1997). Diariamente se agitaba por 15 minutos a 400 rpm.

Concentrado: se filtró y se concentró en el rotavapor a 40°C, obteniendo un extracto concentrado que fue llevado a la estufa a 40°C hasta obtener peso no variante. Obteniéndose finalmente el extracto seco hidroalcohólico.

El flujograma de la extracción de los bulbos de la especie vegetal *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), se puede observar en la figura 2.

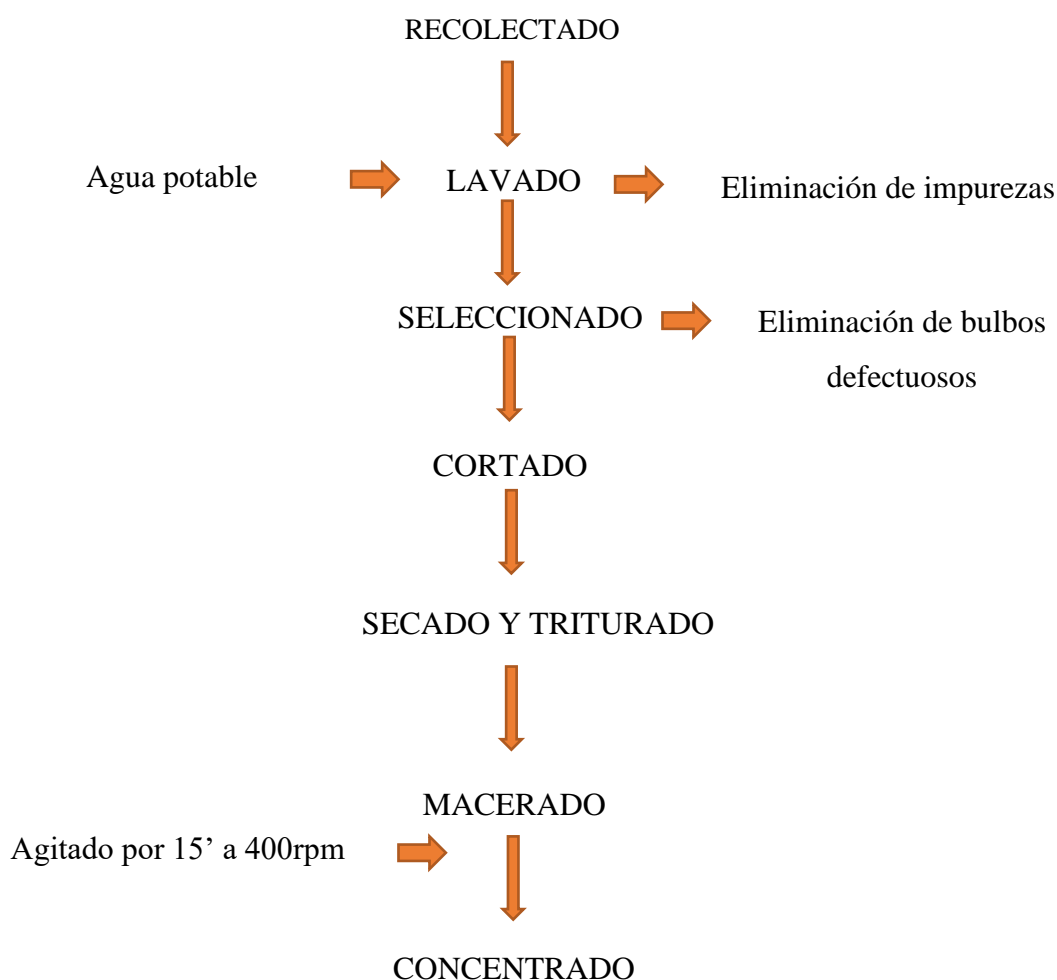


Figura 2
Flujograma del Extracto Seco y los Análisis Realizados

3.3.2.2. Análisis Biométricos de la especie vegetal

3.3.2.2.1. Medida horizontal y vertical

La medida horizontal y vertical de los bulbos de Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*), fueron realizadas con vernier de 200 x 0.02 mm.

3.3.2.2.2. Peso

Para determinar el peso de los bulbos de Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*), fueron pesadas 300 unidades en balanza analítica, los frutos también se usaron para analizar la medida horizontal y vertical.

3.3.2.2.3. Color

La determinación del color del bulbo fresco y muestra seca (bulbo seco y triturado) se realizó usando un colorímetro triestímulo (Chromameter tipo CR-400, Minolta Sensing Osaka, Japón), con iluminante D64, ángulo de visión de 10° y una celda de medida con una abertura de 30 mm, usando los parámetros de color CIELab: L* (Luminosidad), desde negro (0) hasta blanco (100); a* (Componente Verde-Rojo), desde verde (-) hasta rojo (+); y b* (Componente azul-amarillo), desde azul (-) hasta amarillo (+). El color se expresó como ΔE^* (diferencia de color):

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

ΔL^* , Δa^* y Δb^* : diferenciales entre los parámetros de color de la muestra y de color del blanco estándar.

3.3.2.2.4. Análisis de rendimiento

El rendimiento se obtuvo mediante la relación del Extracto seco hidroalcohólico y la muestra seca que fue macerada.

El cálculo del rendimiento se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento \%} = \frac{\text{Peso de Extracto seco}}{\text{Peso de muestra seca}} \times 100$$

3.3.2.3. Determinación del contenido de humedad y Cenizas

3.3.2.3.1. Determinación del Contenido de humedad

La cuantificación de la humedad del bulbo Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*), fue realizada con la metodología de la AOAC (2012), usando la estufa a 105°C hasta tener peso que no varíe. Cantidad de agua libre presente en un alimento, y se expresó en porcentaje (%).

La estufa fue precalentada a 105°C. Previamente las placas Petri fueron lavadas y secadas en la estufa durante 1 horas, luego fueron enfriadas en un desecador y pesadas. Se pesó 2 g de muestra y colocó en la placa Petri, luego fue llevada a la estufa a 105°C por 2 horas o hasta peso que no varíe. La placa se retiró de la estufa y colocó en la campana desecadora por 5 min, posteriormente anotó los pesos.

3.3.2.3.2. Determinación del Contenido de Cenizas

Este análisis se realizó con la metodología de la AOAC (2012). El crisol limpio fue colocado en una estufa a 105 °C por 1 hora, posteriormente el crisol fue colocado en la campana desecadora hasta que enfríe y pesarlo, usando pinzas y/o guantes en la manipulación. Se pesó 2 g de muestra en el crisol pesado. El crisol fue llevado con la muestra al horno mufla por 3 h o hasta eliminar el carbón. Luego se colocó el crisol en un desecador para enfriar, mínimo por 30 min, y luego se procedió a pesar.

3.3.2.4. **Marcha preliminar de los principales fitoconstituyentes**

Se pesó 5 g de muestra seca solubilizándolo en metanol; luego se identificó los metabolitos secundarios según reacciones de coloración y/o precipitación (Lock O. , 1994), fraccionando y realizando las pruebas; que se describen:

Fracción "A"

a. Taninos:

Reacción con FeCl_3 : Unas gotas de FeCl_3 al 11% sobre el extracto alcohólico; darán coloraciones azul, verde o negra con compuestos fenólicos y taninos.

Reacción de Gelatina - NaCl. – Se preparó una solución de NaCl al 5% con gelatina al 1% y se agregó unas gotas al extracto, si presenta algún precipitado significa la existencia de taninos.

b. Flavonoides:

Reacción de Shinoda: En el extracto alcohólico incoloro o amarillo se le agrega un pedazo pequeño de magnesio y tres gotas de HCl Concentrado, según la coloración indica la presencia de: Flavonas y flavonoles (Amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta), flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul) isoflavonas (amarillo), isoflavononas, chalconas y auronas (no coloración).

Fracción "B"

a. Esteroides:

Reacción de Libermann Burchard: Adicionar a la muestra algunas gotas de Ác. Acético y 3ml de una solución de Anhídrido Acético con H_2SO_4 concentrado (50:1). Si aparece color azul, verde o naranja implica que la reacción es positiva.

b. Quinonas:

Reacción de Bomtrager: Adicionar a la muestra algunas gotas de benceno, agitando suavemente con 5ml de NaOH al 5% acuoso. La presencia del compuesto se verifica si en la fase acuosa se torna color rojo.

Fracción "C"

a. Cardenólidos:

Reacción de Kedde: Se elaboró una mezcla, en igual volumen, de ácido 3,5 - dinitrobenzoico al 2% en metanol con KOH al 5.7% en agua, se agrega a la muestra 2 gotas de la mezcla. La presencia de glucósidos cardiacos da una coloración púrpura o violáceo, indicará.

b. Esteroides:

Reacción de Libermann Burchard: Idem Fracción "B".

c. Alcaloides:

Reacción de Dragendorff (Yoduro de bismuto y potasio): da con los alcaloides en solución débilmente acidulada, precipitados de rotor rojo a naranja.

Reacción de Hager: la solución acuosa saturada de ácido pícrico produce con los alcaloides picratos cristalinos de color amarillo. Se debe observar al microscopio.

Reacción de Mayer (yoduro de mercurio y potasio): da con casi todas las soluciones de alcaloides, precipitados de calor blanco o crema.

Reacciones de Wagner (yodo - yoduro de potasio): es muy sensible y da con los alcaloides, precipitados de color marrón.

Fracción "D"

a. Flavonoides: Reacción de Shinoda: Idem fracción "A"

b. Leucoantocianidinas

Reacción de Rosenheim: A 1ml de muestra, agregar una mezcla de HCl al 2N con 1 propanol; agitar y hervir por 15-30 min. La reacción da positivo al observar el color rojo para leucoantocianidinas y marrón para catequinas.

c. Esteroides: Reacción de Libermann Burchard: Idem fracción "B"

d. Alcaloides: Reacción de Mayer: Idem fracción "C". Reacción de Dragendorff: Idem fracción "C"

Fracción "E"

- a. Flavonoides: Reacción de Shinoda: Idem fracción "A"
- b. Leucoantocianidinas: Reacción de Rosenheim: Idem fracción "0"

3.3.2.5. Determinación de Fenoles totales

Determinación de la Curva Patrón: Preparación de reactivos

- Solución Stock (ST) de ácido gálico (1g/Litro): Pesar 25 mg de ác. gálico, aforar en una fiola de 25 ml con agua destilada.
- Solución patrón de ác. gálico (0.1 mg/ml): De la solución ST preparada, medir 2.5 ml y diluir en una fiola de 25 ml con agua destilada.
- Solución de Carbonato de sodio al 20%p: Pesar 5 g de Na_2CO_3 y aforar en una fiola de 25 ml, previamente disolver en 15 ml de agua destilada y disolver bien el reactivo.
- Solución de Folin Ciocalteu 1 N: A 12.5 ml del reactivo diluir a 25 ml en una fiola con agua destilada. Proteger de la luz y guardar en refrigeración.

Preparar diferentes concentraciones del patrón, volumen total de 2 ml. Según indica la tabla 1:

Tabla 1

Preparación de curva patrón para analizar el Fenoles Totales

Reactivos	0	1	2	3	4	5
Ácido gálico (0.1 mg/ml)(μL)	0	20	40	60	80	100
Folin Ciocalteu (1N)(μL)	250	250	250	250	250	250
Carbonato de sodio 20% (μL)	1250	1250	1250	1250	1250	1250
Agua destilada (μL)	500	480	460	440	420	400
Conc. De Ác. Gálico ($\mu\text{g/ml}$)	0	1	2	3	4	5

Se dejó reposar los tubos por 2 h, protegidos de la luz, luego se pasó a leer cada uno de los tubos a 760 nm. Determina la recta $Y = bx + c$ y $R^2 \pm 1$

Determinación de los fenoles en la muestra:

- 2 mg de extracto seco, diluir en 50 ml de agua destilada, disolver y mezclar bien.
- Se mide 0.50 ml de la disolución preparada, se agrega 0.75 ml de folin ciocalteu, reposar por 5 min.
- Luego agregar 0.75 ml de Na_2CO_3 al 20%, agitar bien dejar en reposo por 90 min a temperatura ambiente.

- Hace la lectura a una absorbancia de 760 nm, realizar el análisis por triplicado.

El contenido de fenoles totales se debe expresar en mg de ácido gálico/g de extracto.

3.3.2.6. Determinación de Flavonoides totales

Determinación de la curva patrón: Preparación de reactivos

- Solución Stock (ST) de Quercetina (1g/Litro): Pesar 25 mg de Quercetina, aforar en una fiola de 25 ml con agua destilada.
- Solución patrón de Quercetina (0.1 mg/ml): De la solución ST preparada, medir 2.5 ml y diluir en una fiola de 25 ml con agua destilada.
- Solución de Nitrito de Sodio 5%p: Pesar 2.5 g de NaNO_2 y aforar en una fiola de 50 ml, previamente disolver en 30 ml de agua destilada y disolver bien el reactivo.
- Solución de Cloruro de Aluminio al 10%p: Pesar 2.5 g de cloruro de aluminio y diluir a 25 ml en una fiola con agua destilada.
- Solución de Hidróxido de sodio 1M: Pesar 1 g de NaOH, disolver con agua destilada y enrasar a 25 ml en una fiola.

Preparar diferentes concentraciones del patrón, volumen total de 2.5 ml, según indica la tabla 2:

Tabla 2

Preparación de curva patrón para analizar Flavonoides Totales

Reactivos	0	1	2	3	4	5
Quercetina (0.1 mg/ml)(μL)	0	20	40	60	80	100
Agua destilada (μL)	1250	1250	1250	1250	1250	1250
Nitrito de sodio al 5% (μL)	150	150	150	150	150	150
REPOSO POR 6 MINUTOS						
Cloruro de aluminio al 10%(μL)	150	150	150	150	150	150
REPOSO POR 5 MINUTOS						
Hidróxido de sodio 1M (μL)	500	500	500	500	500	500
Agua destilada (μL)	450	430	410	390	370	350
Con. de Quercetina ($\mu\text{g/ml}$)	0	0.8	1.6	2.4	3.2	4

Se dejó reposar los tubos por 5min, luego se pasó a leer cada uno de los tubos a 510 nm, antes de los 30 minutos. Determinar la recta $Y = bx + c$ y $R^2 \pm 1$

Determinación de flavonoides en la muestra:

- Pesar 7.5 mg de extracto hidroalcohólico seco y disolver añadiendo agua destilada a 25 ml en una fiola, mezclar bien.

- Medir 0.5 ml de la solución anterior y agregar 1 ml de agua destilada y 150 μ L de nitrito de sodio al 5%, reposar 5 min.
- Añadir 150 μ L de AlCl_3 al 10%, reposar 6 min.
- Luego 0.5 ml de NaOH a 1M, se mezcló bien y se completa con 200 μ L de agua destilada.
- Hacer la lectura a una absorbancia de 510 nm inmediatamente antes de los 30 min.

El contenido de flavonoides se expresó como mg de quercetina/g de extracto hidroalcohólico.

3.3.2.7. Determinación de la Capacidad Antioxidante

3.3.2.7.1. ABTS

Este análisis se realizó de acuerdo con la metodología de Socorro et al., (2007).

Preparación de Soluciones:

- Solución de metanol al 50%: En un matraz aforado de 1 L, agregar 500 ml de alcohol metílico; completar el volumen a 1000 ml con agua destilada, homogeneizar y transferir a un vial de vidrio debidamente rotulado. Conservar a temperatura ambiente por tiempo indefinido.
- Solución de acetona al 70%: En un matraz aforado de 1 L, agregar 700 ml de acetona; completar el volumen a 1000 ml con agua destilada, homogeneizar y transferir a un vial de vidrio debidamente rotulado. Conservar a temperatura ambiente por tiempo indefinido.
- Solución madre ABTS 7 mM: Disolver 192 mg de ABTS en agua destilada y llevar a volumen a 50 ml en un matraz aforado con agua destilada, homogeneizar y transferir a un frasco de vidrio color ámbar debidamente rotulado. Almacenar en refrigeración hasta por un mes.
- Solución de persulfato de potasio 140 mM: Disolver 378,4 mg de persulfato de potasio en agua destilada y llevar a volumen a 10 ml en un matraz aforado con agua destilada, homogeneizar y transferir a un frasco de vidrio color ámbar debidamente rotulado. Almacenar a temperatura ambiente hasta por un mes.
- Preparación del radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$: El radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$ se prepara haciendo reaccionar 5 ml de solución madre de ABTS con 88 L de solución de persulfato de potasio. Mantenga la mezcla en la oscuridad a temperatura ambiente durante 16 horas. Luego, diluir 1 ml de esta mezcla en alcohol etílico hasta

obtener una absorbancia de $0,70 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ a 734 nm . Preparar y utilizar únicamente el día del análisis.

- Solución estándar de trolox 2 mM: Disolver 25 mg de trolox en alcohol etílico y llevar a volumen a 50 ml en un matraz aforado con alcohol etílico, homogeneizar y transferir a un vial de vidrio color ámbar debidamente rotulado. Preparar y utilizar únicamente el día del análisis.

Curva estándar de Trolox

Preparación de soluciones: A partir de la solución estándar de trolox ($2000 \mu\text{M}$), preparar, en matraces volumétricos de 10 ml, soluciones que varían en concentración de $100 \mu\text{M}$ a $1.500 \mu\text{M}$, de acuerdo con la tabla:

Tabla 3

Preparación de curva patrón para analizar Capacidad Antioxidantes por ABTS

Solución Patrón de Trolox (ml)	Alcohol etílico (ml)	Concentración final (μM)
0.5	9.5	100
2.5	7.5	500
5.0	5.0	1000
7.5	2.5	1500
10	0	2000

En ambiente oscuro, transferir una alícuota de $30 \mu\text{L}$ de cada dilución de extracto a tubos de ensayo con $3,0 \text{ ml}$ de radical ABTS^+ y homogeneizar en agitador de tubos. Tome la lectura (734 nm) después de 6 minutos de mezclar y use alcohol etílico, como blanco, para calibrar el espectrofotómetro. A partir de las absorbancias obtenidas de las diferentes diluciones de los extractos, grafique la absorbancia en el eje Y y la dilución (mg/L) en el eje X. Luego, determine la ecuación de la línea recta. El patrón de referencia fue el Trolox, y se expresó en $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g MS}$.

3.3.2.7.2. DPPH

Este análisis se realizó según la metodología de Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995).

Preparación de Soluciones:

- Solución de DPPH: Pesar 0.00985 g de DPPH y diluir en 50 ml de etanol (La solución es estable por 2 días en nevera y frasco ámbar).
- Prueba de la solución: Cuando la dilución del reactivo se torne blanco (3.5 ml de etanol + $300 \mu\text{L}$), leer enseguida a 515 nm . La absorbancia debe ser 0.8 . Si el resultado es menor, agregar DPPH y si es mayor, diluir con etanol.

- Trolox: pesar 0.0050g = 5 mg y agregar etanol en un matraz de 10 ml (2000 μ l concentración de Trolox) - Solución Estándar

Tabla 4

Preparación de curva patrón para analizar Capacidad Antioxidantes por DPPH

Punto	Conc. Trolox (mg/ml)	Conc. Trolox (μ mol/L)	Vol. de Trolox (μ L)	Vol. Met-OH (μ L)	Masa Trolox (μ mol)	Masa Trolox (mg)	Etanol	DPPH
1	0.050	200	50	450	0.100	0.025	3 ml	300 μ L
2	0.040	160	40	460	0.080	0.020	3 ml	300 μ L
3	0.030	120	30	470	0.060	0.015	3 ml	300 μ L
4	0.020	80	20	480	0.040	0.010	3 ml	300 μ L
5	0.010	40	10	490	0.020	0.005	3 ml	300 μ L
6	0.005	20	5	495	0.010	0.003	3 ml	300 μ L
(Blanco)	0.000	0	0	500	0.000	0.000	3 ml	300 μ L

Para el presente análisis se elaboró una solución del radical DPPH con etanol y fueron leídas a 515 nm en el espectrofotómetro, comprobando el valor de absorbancia de 0.800 ± 0.02 . Después de corroborar en radical DPPH, 500 μ L de los extractos se agregaron a tubos de ensayo, se adicionó 300 μ L de la solución del radical DPPH y 3 ml de etanol, se agitó y reposó en oscuridad por 45 min, luego se analizó a 515 nm. El Trolox fue el patrón de referencia, y se expresó como μ mol TE/100 g MS.

3.3.3. Objetivo específico 2

3.3.3.1. Separación por Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Preparación de las Placas para Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Se disolvió 5 g de silicagel G60 con 10 ml de agua destilada. La mezcla homogenizada se esparció sobre las placas de vidrio de 20 x 20 cm uniformemente y se activaron en estufa a 100°C por 30 min. Con una micropipeta se añadió la muestra en el centro a 3 mm de la base de la cromatoplaça, se dejó secar al ambiente, luego se introdujo en la campana cromatográfica con la solución de separación que fue preparada con Acetato de Etilo:Ácido Fórmico:Ácido Acético glacial:agua destilada a una concentración de 1:0.11:0.11:0.26 respectivamente. Posteriormente se raspó el sólido de acuerdo con los colores separados, luego se extrajo con la misma solución de separación usada y se colocó a la estufa a 40°C hasta obtener el peso constante. Este extracto fue disuelto con metanol y almacenado en frascos ámbar de 100 ml a 8°C.

3.3.4. Objetivo específico 3

3.3.4.1. Determinación del Perfil Cromatográfico por UHPLC

Los análisis cromatográficos se realizaron en un UHPLC Dionex Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific, San José, CA, USA, utilizando una columna empacada C8 (Longitud 100 mm x 2.1 mm y porosidad 1.9 μm), datos de cromatografía de Chromeleon TM 6.8 Sistema -CDS- Software, equipado con XRS Auto-Sampler y Detector de matriz de diodos/ultravioleta. La fase móvil consta de agua ultrapura con 0.1% de Ác. Fórmico (%B) y acetonitrilo (ACN) con 0.1% de Ác. Fórmico (%D) como se describe en la Tabla 5 y con un flujo de 0.2 ml/min. La temperatura de la columna fue de 30°C y los espectros fueron registrados a 280 nm, 320 nm y 360 nm, obteniendo una mejor separación a 280 nm.

Tabla 5

Composición de la gradiente de la fase móvil utilizado para el Perfil Cromatográfico

Tiempo	%B	%D
0.00	95.00	5.00
5.00	95.00	5.00
10.00	90.00	10.00
20.00	85.00	15.00
25.00	70.00	30.00
30.00	50.00	50.00
35.00	30.00	70.00
40.00	30.00	70.00
50.00	80.00	20.00
55.00	95.00	5.00
60.00	95.00	5.00

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN


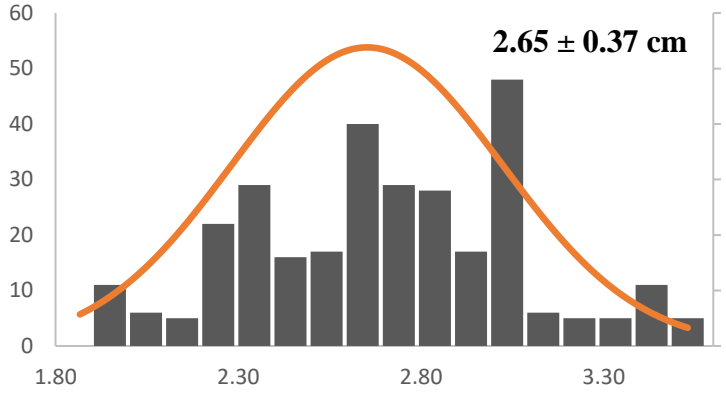

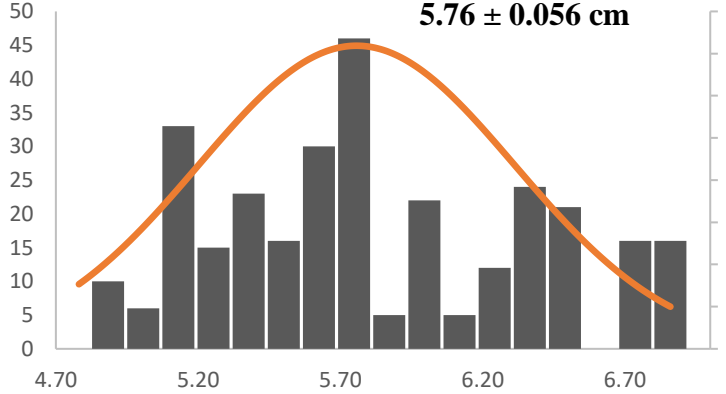

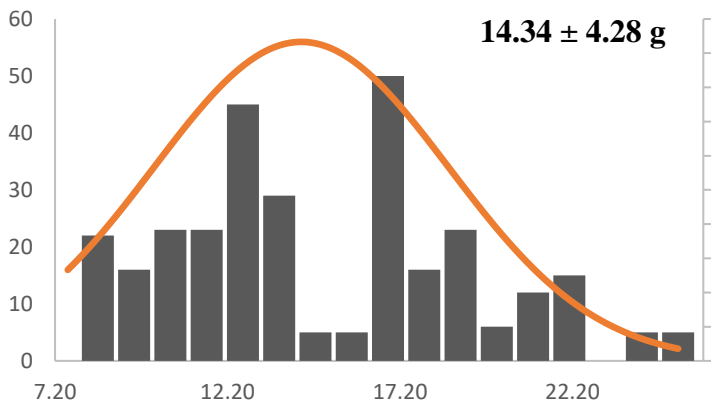
4.1. Objetivo específico 1

4.1.1. Caracterización del bulbo de la especie vegetal Yahuar Piri piri (*Eleutherine bulbosa*)

En la Tabla 6 se muestran los resultados de las características de medida horizontal, medida vertical y peso de bulbos enteros de Yahuar Piri piri (*Eleutherine bulbosa*). Para ejecución del análisis, se recolectaron 300 muestras en el Distrito de San Antonio de Cumbaza. De acuerdo con la muestra, obtuvimos que el rango mínimo y máximo de la medida horizontal fue de 1.85 y 3.53 cm respectivamente, obteniendo un promedio con desviación estándar de 2.65 ± 0.37 cm. Con respecto a la medida vertical el rango mínimo y máximo fue de 4.76 y 6.86 respectivamente, obteniendo un promedio con desviación estándar de 5.76 ± 0.056 cm. A lo que respecta del análisis del peso, el rango mínimo y máximo fue de 7.39 y 25.27 g respectivamente, dando como resultado un promedio con desviación estándar de 14.34 ± 4.28 g. La variación en el rango del peso es debido a la cantidad de capas superpuestas que ha tenido el bulbo.

Cabe indicar que existe poca información sobre lo referentes a las características biométricas del bulbo de la especie vegetal (*Eleutherine bulbosa*) nuestra investigación es pionera en reportar estos resultados.

Tabla 6*Datos Biométricos del Bulbo Yahuar Piri Piri (Eleutherine bulbosa)*Promedio \pm desvío estadístico (n=300) número de repeticiones utilizadas

Datos Biométricos	
<p>Medida horizontal</p> 	 <p>2.65 \pm 0.37 cm</p>
<p>Medida vertical</p> 	 <p>5.76 \pm 0.056 cm</p>
<p>Peso</p> 	 <p>14.34 \pm 4.28 g</p>

4.1.2. Análisis del color del bulbo de la especie vegetal Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*)



De acuerdo con Moreno (2010), en los alimentos, el color influye de manera particular, el color se relaciona con diversas familias de pigmentos, como clorofilas, flavonoides, carotenoides y del grupo de los polifenoles, las antocianinas, que dan coloración verde, roja-amarilla, y azul-violeta, respectivamente.

La Tabla 7 se muestra el análisis del color de Bulbo y de la muestra seca (bulbo seco y triturado) de la especie vegetal *Eleutherine bulbosa*. En el desarrollo del análisis, se tomaron las medidas de 300 bulbos, que posteriormente fueron secos y triturados, de donde se volvió a analizar el color de la muestra seca.

Tabla 7

Análisis de Color del Bulbo de la Especie Vegetal Yahuar Piri Piri (Eleutherine bulbosa)

Promedio \pm desvío padrón (n = 300).

Material	L*	a*	b*	Código de color	Color	ΔE
Muestra fresca (bulbo)	29.63 \pm 3.14	33.64 \pm 3.71	5.26 \pm 1.04	#762D3F		21.06
Muestra seca y triturada (bulbo en polvo)	25.79 \pm 4.38	12.94 \pm 1.64	5.92 \pm 0.76	#533635		

Las especies del género *Eleutherine* presentan bulbos de color rojo o rojo vino con capas superpuestas como escamas similares a la de una cebolla (Revilla, 2001; Revilla, 2002b; Lorenzi & Matos, 2002; Baraúna & Rocha, 2006).

De acuerdo a los resultados del análisis de color, se observa un cambio en la tonalidad e intensidad del color en la muestra seca triturada (bulbo en polvo), verificando la variación debido al proceso que ha sufrido, por lo tanto, se determina que la muestra fresca (bulbo) tiene un color rojo vino, además esta tonalidad generalmente tiene las antocianinas, flavonoides que se encuentran distribuidas en diferentes especies vegetales (Hills, 2004).

4.1.3. Cálculo del Rendimiento del bulbo de Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*) con respecto al extracto seco.

El análisis del rendimiento del extracto es muy importante para tener material de estudio suficiente para desarrollar los análisis propuestos de la especie vegetal (Ramírez, 2008). La Tabla 9 muestra los resultados referentes al rendimiento de la obtención de extracto seco mediante el método de extracción por maceración durante 7 días con una solución

hidroalcohólica de 80°Gl con una relación de 1:10 (muestra:solvente) y agitación diaria de 15 min a 400 rpm, donde el rendimiento fue de 6.15 %, eso implica que de cada 100 g de muestra (bulbo de Yahuar Piri Piri seco), se obtuvo 6.15 g de extracto seco.

Tabla 8
Rendimiento del Bulbo Yahuar Piri Piri (Eleutherine bulbosa)

Muestra	Peso de bulbo (g)	Peso de extracto seco (g)	Rendimiento (%)
M1	77.00	4.6782	6.08
M2	76.70	4.7743	6.22
M3	76.55	4.7284	6.18
M4	77.00	4.6744	6.03
M5	76.86	4.8215	6.27
M6	76.65	4.6506	6.07
M7	76.70	4.6845	6.11
M8	76.70	4.7534	6.20
Promedio			6.15 ± 0.084

De acuerdo a Mawarda *et al* (2020) obtuvo 12% de rendimiento de la especie vegetal *Eleutherine americana*, utilizando el método de extracción por maceración con etanol de 96%, en una relación de 1:10 (muestra:solvente), la muestra fue previamente seca; en este mismo estudio se analizó el método de maceración con baño ultrasónico se incrementó el rendimiento total hasta 17.5% (baño ultrasónico de 20 min). Sin embargo, Purnamasari & Bahtiar (2017), el valor de extracción del metanol a partir de polvos secos de bulbos de *Eleutherine bulbosa* fue calculada como %p/p, obteniéndose 3.77% de rendimiento. De acuerdo a Bahtiar & Yessi (2018), el valor extractivo en etanol de polvo seco de bulbos de *Eleutherine bulbosa* se calculó como rendimiento% p / p y se encontró que era del 3.77%, observando que nuestra muestra posee mayor rendimiento de acuerdo a lo reportado, pero menor con respecto a la especie vegetal *Eleutherine americana*.

Costa da Rocha (2014) obtuvo que el rendimiento de extracto etanólico de *Eleutherine plicata* fue de 8.65%. Se puede apreciar que lo obtenido en la especie *Eleutherine bulbosa* fue de 6.15% que se encuentra en el rango de la especie *E. plicata* y *americana*, las diferencias obtenidas pueden ser debido a la granulometría.

4.1.4. Determinación de humedad y cenizas totales del bulbo de la especie vegetal Yahuar Piri piri (*Eleutherine bulbosa*)

Los análisis del contenido de humedad y cenizas son ensayos muy importantes y usados en el procesamiento y análisis de los alimentos. La ceniza es el resultado de la incineración a 550 °C de una muestra orgánica, su cuantificación permite determinar los micro y macrominerales en los alimentos (Ramírez, 2008).

En la Tabla 8, se muestra los resultados de humedad y cenizas del bulbo. Al determinar humedad y ceniza, se necesitó separar las capas superpuestas de manera individual. El % de humedad promedio que se obtuvo fue de 48.02 ± 1.25 , y el % de cenizas fue 1.69 ± 0.06 en base seca (Anexo 7 y 8).

Tabla 9

Determinación de humedad y cenizas del Bulbo Yahuar Piri Piri (Eleutherine Bulbosa)

Promedio \pm desvío padrón (n = 6). *Base seca

Parámetros químicos	Material vegetal
Humedad (%)	48.02 ± 1.25
Cenizas* (%)	1.69 ± 0.06

4.1.5. Marcha fitoquímica del Extracto seco del Bulbo de Yahuar Piri piri (*Eleutherine Bulbosa*)

La marcha fitoquímica tiene una gran relevancia permitiendo conocer los principios activos presentes en los vegetales, de esta forma determinar sus estructuras y procurar su síntesis (Lock O. , 1994). En los análisis del Extracto hidroalcohólico del Bulbo de Yahuar Piri Piri (*Eleutherine Bulbosa*), se evidenció la presencia de taninos, flavonoides, quinonas, catequinas y alcaloides como se muestra en la tabla 10 y en la tabla 11 podemos ver el resumen de los constituyentes químicos presentes.

Tabla 10

Constituyentes químicos presentes en el Extracto del Bulbo de Yahuar Piri Piri (Eleutherine Bulbosa) según la Marcha Fitoquímica

- (-) : Ausencia del metabolito
 (+) : Presencia del metabolito con menor intensidad de color
 (++) : Presencia del metabolito con intensidad media de color
 (+++) : Presencia del metabolito con mayor intensidad de color
 R1 : Repetición N° 1 de la Muestra de San Antonio de Cumbaza
 R2 : Repetición N° 2 de la Muestra de San Antonio de Cumbaza
 R3 : Repetición N° 3 de la Muestra de San Antonio de Cumbaza

Fracción de los extractos	Metabolito secundario	Prueba Análisis	Color y/o Precipitación	Resultados		
				R1	R2	R3
A	Taninos	FeCl ₃	Verde oscuro	+++	+++	+++
		Gelatina	Precipitado	+++	+++	+++
	Flavonoides	Shinoda	Amarillo	+++	+++	+++
B	Esteroides	Liebermman	Verde o azulverdoso	-	-	-
		Burchard	Rojo en fase acuosa	+++	++	++
	Quinonas	Borntreger	Púrpura o vialácea	-	-	-
C	Esteroides	Liebermman	Verde o azulverdoso	-	-	-
		Burchard	Naranja	++	++	++
	Alcaloides	Dragendorff	Blanco o crema	-	-	-
		Mayer				

D	Flavonoides	Wagner	Marrón	-	-	-
		Shinoda	Amarillo	+++	+++	+++
	Catequinas	Rosenhein	Marrón	++	++	++
		Libermman	Verde o azulverdoso	-	-	-
	Esteroides	Burchard	Blanco o crema	-	-	-
		Mayer	Rojo o naranja	++	++	++
E	Alcaloides	Dragendorff	Amarillo	+++	+++	+++
		Shinoda	Marrón	++	++	++
	Flavonoides	Rosenheim				

Tabla 11

Resumen Cualitativo de los Constituyentes Químicos encontrados en el Extracto del Bulbo de Yahuar Piri Piri (Eleutherine Bulbosa) de la Muestra en Estudio, según la Marcha Fitoquímica

- (+) : Presencia del metabolito con menor intensidad de color
 (++) : Presencia del metabolito con intensidad media de color
 (+++) : Presencia del metabolito con mayor intensidad de color
 R1 : Repetición N° 1 de la Muestra de San Antonio de Cumbaza
 R2 : Repetición N° 2 de la Muestra de San Antonio de Cumbaza
 R3 : Repetición N° 3 de la Muestra de San Antonio de Cumbaza

Metabolito secundario	Prueba Análisis	Color y/o Precipitación	Resultados		
			R1	R2	R3
Taninos	FeCl3	Verde oscuro	+++	+++	+++
	Gelatina	Precipitado	+++	+++	+++
Flavonoides	Shinoda	Amarillo	+++	+++	+++
Quinonas	Borntrager	Rojo en fase acuosa	+++	++	++
Alcaloides	Dragendorff	Naranja	++	++	++
Catequinas	Rosenhein	Marrón	++	++	++

Según Alvarado (2019), determinó en la marcha fitoquímica que realizó a la especie vegetal *Eleutherine bulbosa* contiene la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, taninos y flavonoides. Además, Cuevas *et al* (2009), reportó hallazgos de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos relacionado con propiedades biológicas. Al analizar la marcha fitoquímica en el extracto etanólico de *Eletuherine americana* ha indicado que contiene metabolitos secundarios como flavonoides, naftoquinonas, antraquinonas, alcaloides, saponinas, taninos, triterpenoides y esteroides (Kuntorini & Laurentius, Structural development and bioactive content of red bulb plant (*Eleutherine americana*), 2010). De acuerdo con Mierza *et al* (2011), el extracto de la especie vegetal *Eleutherine palmifolia* contiene flavonoides, alcaloides, saponinas y taninos, y se atribuye a estos metabolitos sus propiedades antibacteriales. Se identificaron diferentes posibles principios activos en el Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*) como compuestos fenólicos, alcaloides, taninos y flavonoides (Rengifo, 2007).

4.1.6. Análisis de Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos, como los flavonoides, presentan una amplia ubicuidad en la naturaleza, además aportan al buen funcionamiento en las plantas y, en el hombre, son usados para tratar desordenes cardiovasculares y prevenir cánceres (García, 2007).

Los resultados del contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales de la especie vegetal *Eleutherine bulbosa* se muestran en la Tabla 16 (Anexo 9, 10, 11 y 12).

Tabla 12

Contenido de Fenoles Totales y Flavonoides Totales de la Especie Vegetal Eleutherine bulbosa
Promedio \pm desvío padrón (n = 6).

Material vegetal	Fenoles Totales (mg GAE/g Extracto hidroalcohólico)	Flavonoide Totales (mg quercetina/ g de Extracto hidroalcohólico)
<i>Eleutherine bulbosa</i>	216.849 \pm 3.96	14.762 \pm 0.8

El contenido de Fenoles y Flavonoides totales que contiene la especie vegetal *Eleutherine bulbosa* es 216.849 \pm 3.96 mg GAE/g Extracto hidroalcohólico y 14.762 \pm 0.8 mg quercetina/g de Extracto hidroalcohólico respectivamente. Lo que se puede apreciar es que nuestra especie estudiada contiene gran cantidad de compuestos fenólicos, donde se destaca los flavonoides. De acuerdo con la marcha fitoquímica realizada, por coloración se pudo apreciar que los flavonoides que contiene nuestra especie son flavonas y flavonoles. Los flavonoides, son los compuestos fenólicos más estudiados, debido a su numerosa distribución y actividad antioxidante elevada, siendo los flavonoles el subgrupo más investigado (Rengifo, 2007).

De acuerdo con la investigación de Kurnya et al. (2019) cuantificaron la extracción de fenoles totales con el método de extracción asistido por microondas basado en ácido láctico y sacarosa de *Eleutherine bulbosa*, obteniendo 28.73 mg GAE/g de muestra. Y Astaty et al. (2019) cuantificaron la extracción de fenoles totales utilizando el método de extracción asistido por microondas basado en ácido cítrico y glucosa de *Eleutherine bulbosa*, obteniendo 21.92 mg GAE/g de muestra. De acuerdo a la investigación de Shi et al. (2018) analizaron los fenoles totales en bulbos, hojas y flores, encontrando que la mayor concentración se encuentra en las flores (329.45 \pm 4.48 mg GAE/100g de peso seco), además reportaron flavonoides totales, utilizando como estándar la catequina, una concentración en hojas de 365.20 \pm 4.58 mg CE/100 g de peso seco, en los bulbos de 448.24 \pm 5.89 mg CE/100g de peso seco y en flores 1088.33 \pm 32.64 mg CE/100g de peso seco, determinando que el contenido total de flavonoides en las flores es 2.5 veces más que en los bulbos. Así mismo, Akram et al. (2020) realizaron la extracción asistida por calor de compuestos fenólicos del bulbo obteniendo fenoles totales 80.52 \pm 1.30 mg GAE/g

muestra y Flavonoides totales 32.01 ± 0.49 mg RE/g muestra, el análisis de Flavonoides Totales se realizó con el estándar de rutina.

Además, Chávez y Ordoñez (2013) realizaron determinaron fenoles totales en cacao (*Theobroma cacao*) obteniendo 6.394 ± 0.095 g EAG/100 g de muestra en grano entero y 5.689 ± 0.153 g EAG/100 g de muestra grano molido y en grano tostado 5.081 ± 0.287 g EAG/100 g de muestra, concluyendo que los fenoles se ven afectados durante el proceso de transformación que sufren para obtener el licor de cacao.

En la comparación de nuestros resultados, podemos determinar que los resultados de Fenoles totales del bulbo tienen un menor valor con respecto a lo reportado en las hojas del Yuhua Piri Piri, y que los flavonoides es menor con lo reportado.

4.1.7. Determinación de Capacidad Antioxidante

Los antioxidantes son moléculas que tienen la capacidad de impedir la oxidación de otras moléculas, en su mayoría causada por los radicales libres, reduciendo y protegiendo el sistema biológico de las reacciones que causa la oxidación (Oresajo et al., 2012).

Los resultados del análisis de Capacidad Antioxidante por el método ABTS y DPPH se visualizan en la Tabla 17 (Anexo 13, 14, 15 y 16).

Tabla 13

Capacidad Antioxidante por los métodos ABTS y DPPH de los bulbos de Yuhua Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*)

Promedio \pm desvío padrón (n = 6).

Material vegetal	ABTS ($\mu\text{mol TE}/100$ g MS)	DPPH ($\mu\text{mol TE}/100$ g MS)
<i>Eleutherine bulbosa</i>	4.445 ± 0.324	1.949 ± 0.033
% de Inhibición	13.9 ± 0.8	42.16 ± 0.57

Según Akram et al. (2020) reportaron la capacidad antioxidante con el método de ABTS y DPPH 75.23 ± 5.36 y 74.86 ± 1.32 % respectivamente de la especie *Eleutherine bulbosa*.

De acuerdo con Del Castillo et al. (2019) encontraron que la capacidad antioxidante de la pulpa de Ungurahui (*Oenocarpus bataua*) en ABTS fue 4106.57 ± 457.47 $\mu\text{mol TE}/100$ g MS y en DPPH fue de 210.57 ± 53.31 $\mu\text{mol TE}/100$ g MS, así mismo de la pulpa de Cinamillo (*Oenocarpus mapora*) en ABTS fue 13552.61 ± 224.78 $\mu\text{mol TE}/100$ g MS y en DPPH 1949.88 ± 224.78 $\mu\text{mol TE}/100$ g MS.

Ifesan y Voravuthikunchai (2009) demostraron que el extracto etanólico de los bulbos de la especie vegetal *Eleutherine americana* se puede utilizar como aditivo en la carne de cerdo; que indica un efecto antibacteriano leve y significativa actividad antioxidante. El gran contenido de compuestos fenólicos que presenta nuestra especie puede estar relacionada con su alto poder antioxidante.

4.2. Objetivo específico 2

4.2.1. Cromatografía en capa fina CCF

El Sistema de solventes óptimo para la separación de la muestra estudiada *Eleutherine bulbosa* fue Acetato de Etilo: Ác. Fórmico: Ác. Acético glacial:agua destilada, en las proporciones de 1:0.11:0.11:0.26 respectivamente. En la Cromatografía en capa fina del extracto seco de Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*) se logró obtener dos metabolitos separados, uno color Amarillo y otro color Rojo, donde se obtuvo en mayor proporción al metabolito amarillo, en la Figura 3 se aprecia la corrida cromatográfica.

En la figura 3 se puede observar la corrida cromatográfica del metabolito color Amarillo y Rojo extraídos del Extracto Seco Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*).



Figura 3
Corrida cromatográfica en capa fina del Extracto Seco de Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*).

Según Alvarado (2019), observó que el extracto hidroalcohólico de *Eleutherine bulbosa* presenta alta solubilidad en etanol y agua, también soluble en metanol, dando a conocer su afinidad por solventes polares, presentando baja solubilidad en cloroformo e insoluble en éter de petróleo.

Da Silva et al. (2015) realizaron corridas cromatográficas en capa fina del extracto etanólico del bulbo de la especie vegetal *Eleutherine plicata* y de sus fracciones, detectando zonas de color amarillo con factor de retención (Rf) 0.25, 0.31 y 0.44 presentes en extracto etanólico, fracciones de hexano y cloroformo respectivamente, y área de color rosa (rojo) con Rf 0.5 en fracción de hexano y Rf 0.62 en fracción de cloroformo. Después de agregar KOH al 10% en metanol que es un reactivo para detectar quinonas, se encontró la presencia de naftoquinonas con Rfs 0.25, 0.31 y 0.44.

4.3. Objetivo específico 3

4.3.1. Determinación del Perfil cromatográfico por UHPLC

En las figuras 4 y 5 se puede observar los cromatogramas LC-UV del metabolito color Amarillo y Rojo extraídos del Extracto Seco Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*). Podemos apreciar diferentes picos y tiempos de retención (Anexo 17 y 18).

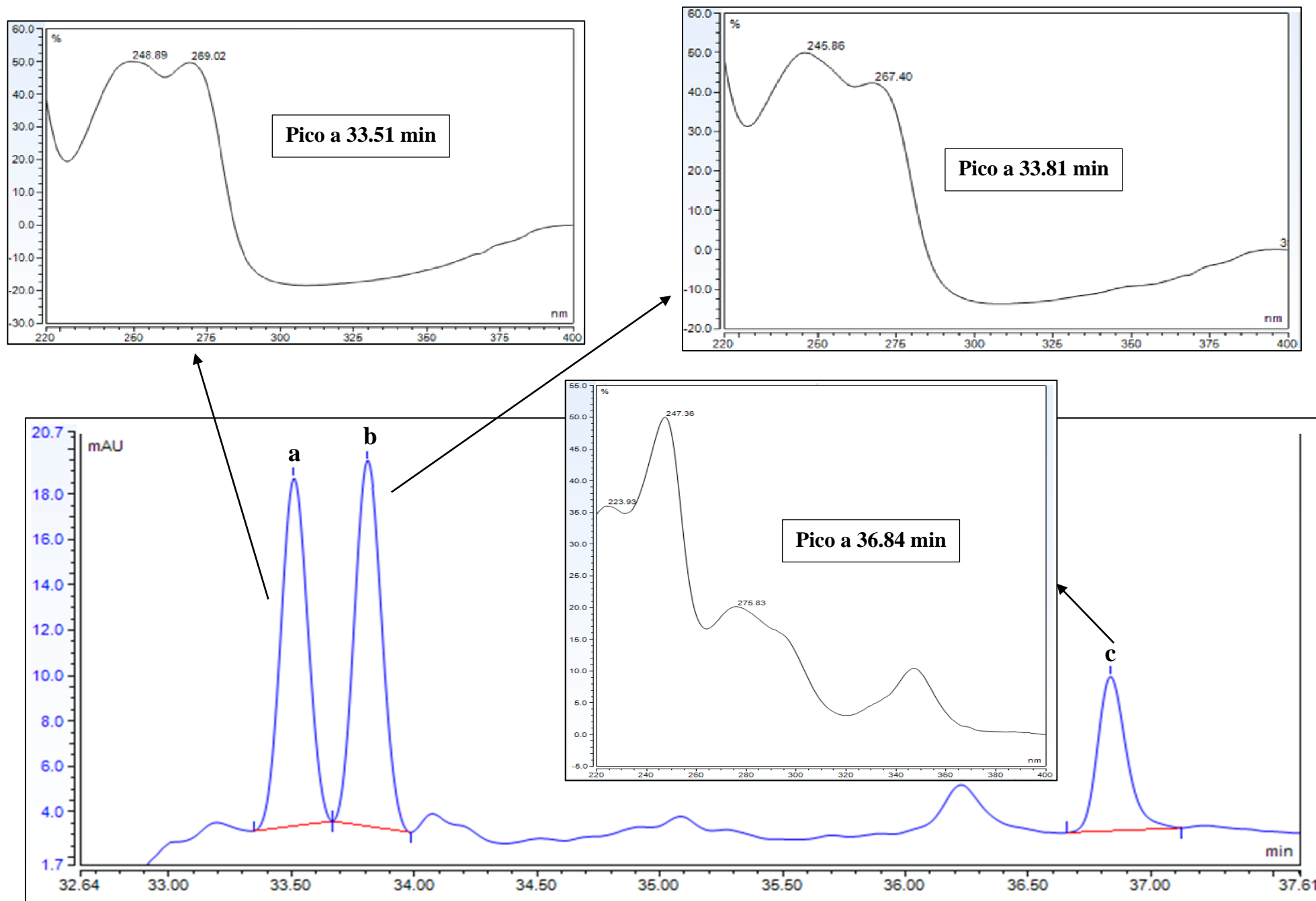


Figura 4
Cromatograma LC-UV del metabolito color Amarillo con los espectros de los picos y el tiempo de retención.

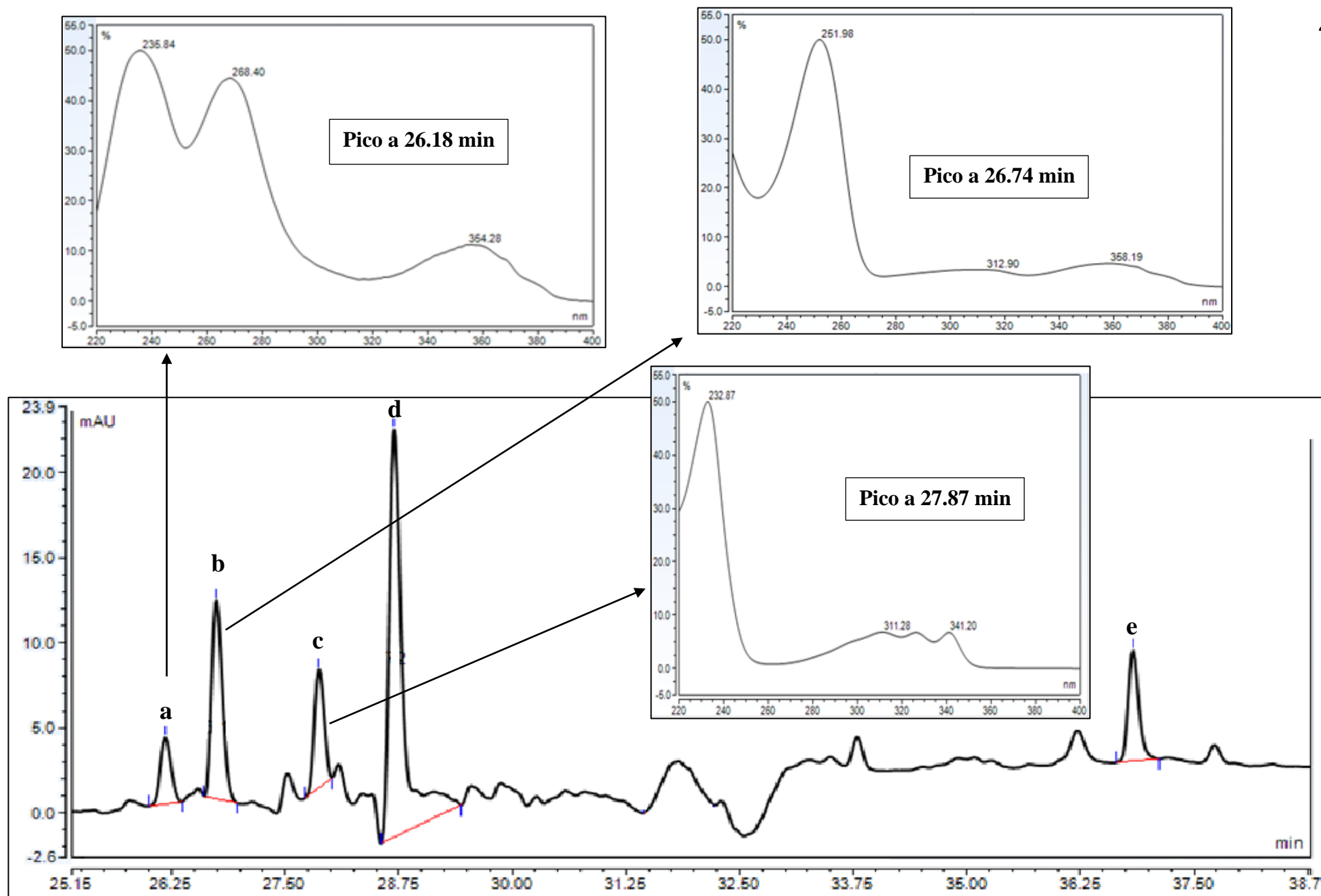


Figura 5
Cromatograma LC-UV del metabolito color Rojo con los espectro de los picos a, b y c y el tiempo de retención.

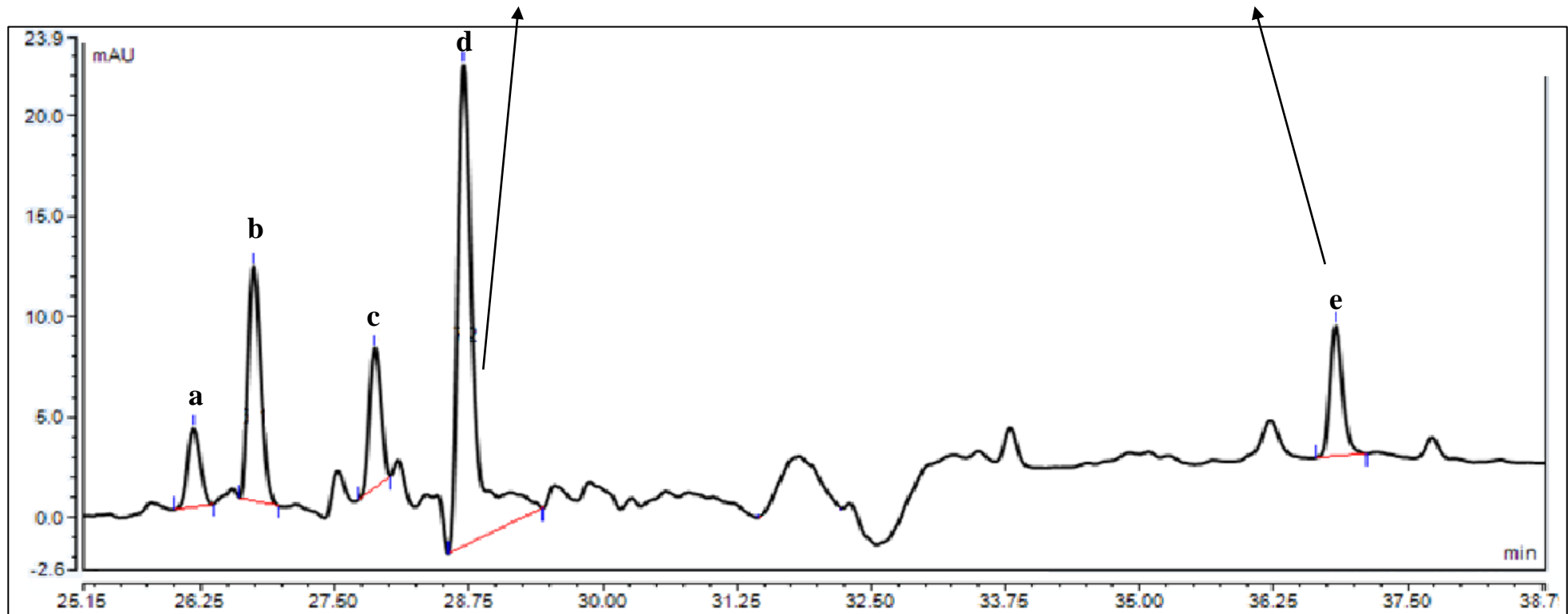
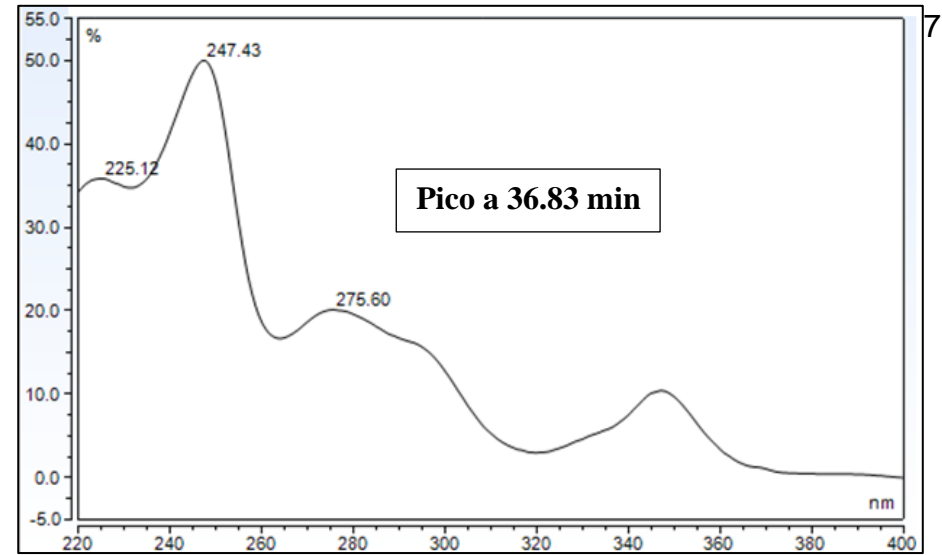
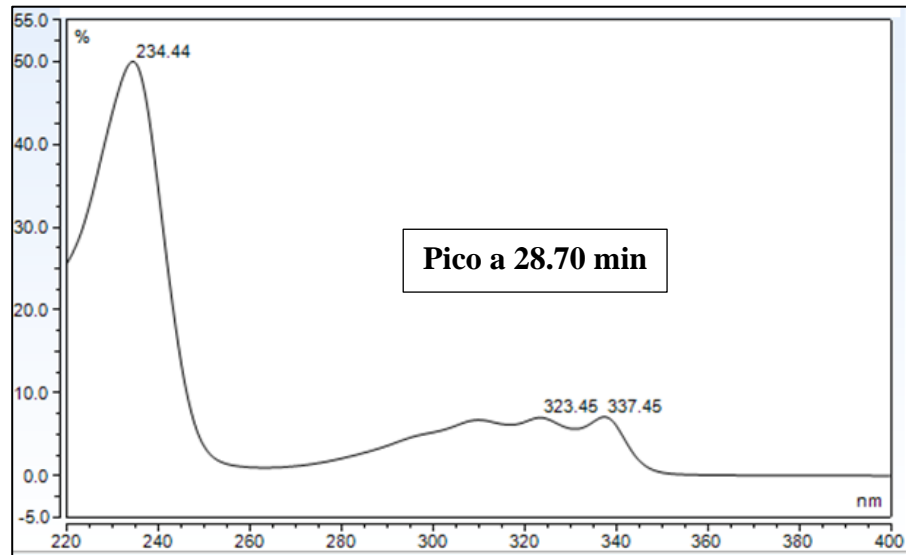


Figura 6
Cromatograma LC-UV del metabolito color Rojo con los espectro de los picos d y e y el tiempo de retención.

Según Borges *et al* (2020) afirma que la banda de color amarillo son naftoquinonas de las especies de Eleutherine, llegando a aislarse 1,4-naftoquinonas: Eleuterina, Eleutherinona e Isoeleuterine. Costa da Rocha (2014) obtuvo espectros de 1,4-naftoquinonas de la especie Eleutherine; Eleutherine y Eleuterinone en la especie vegetal *Eleutherine plicata*, al realizar la comparación con los resultados, se observan que los picos a y b del metabolito amarillo, tienen los mismos espectros. De acuerdo a Da Silva (2008), los metabolitos Isoeleuterol e Isoeleutherina de la especie *Eleutherine plicata* determinó que estos dos constituyentes químicos derivados de naftoquinonas son los responsables del color característico del bulbo de la especie, y realizó una compilación de estructuras de los principales constituyentes de algunas especies de Eleutherine, concluyendo que *Eleutherine bulbosa*, *Eleutherine plicata* y *Eleutherine americana* tienen metabolitos en común como Eleutherina/Isoeleuterina, Eleuterol/Isoeleuterol, y Eleuterinona.

De acuerdo con Da Silva et al. (2015), realizaron el perfil cromatográfico LC-DAD del extracto etanólico y fracción de cloroformo del bulbo de la especie vegetal *Eleutherine plicata* a 250 nm, encontrando dos picos de alta intensidad en ambos. Se realizó comparaciones con los estándares de Isoeleutherol e Isoeleutherine en las mismas condiciones, obteniéndose que la Isoeleutherine se correlaciona con el espectro UV del pico uno del extracto etanólico y fracción de cloroformo, así mismo el Isoeleutherol muestra correlación con el espectro del pico dos en el extracto etanólico y fracción de cloroformo.

Costa da Rocha (2014) ha tenido resultados similares a los espectros de los picos b, c, d y e del metabolito rojo, determinando que pertenecen al grupo de las antiocianinas; además confirmó que existen glucósidos y flavonoides con grupos de gluconas con gran afinidad polar.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los constituyentes químicos presentes en el metabolito color amarillo podrían pertenecer a las naftoquinonas del grupo Isoeleutherol e Isoeleutherine de la especie *Eleutherine* y aquellos constituyentes presentes en el metabolito rojo podrían pertenecer al grupo de las antiocianinas, es necesario que para comprobar esta hipótesis sería necesario contar con un patrón de estos compuestos químicos, y realizar adicional a esta comparación un análisis de Espectrometría de masa.

CONCLUSIONES

Al concluir el desarrollo de la investigación, concluimos que:

1. Los análisis biométricos del bulbo de la especie vegetal estudiada Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*) concluimos con promedios de medida horizontal, medida vertical y peso de 2.65 ± 0.37 cm, 5.76 ± 0.056 cm y 14.34 ± 4.28 g respectivamente. A lo que respecta con el análisis de color el bulbo y la muestra seca presentaron el código de color #762D3F y #533635 respectivamente.
2. El contenido de humedad y cenizas del bulbo de Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*) que se obtuvo es de 48.02 ± 1.25 % base húmeda y 1.69 ± 0.06 en base seca respectivamente.
3. El rendimiento del Bulbo de Yahuar Piri Piri con respecto a extracto hidroalcohólico seco es de 6.15 %, eso implica que de cada 100 g de muestra se obtiene 6.15 g de extracto seco.
4. Los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar Piri Piri) identificados son taninos, flavonoides, quinonas, catequinas y alcaloides.
5. Los Fenoles y Flavonoides totales que contiene la especie vegetal *Eleutherine bulbosa* es 216.849 ± 3.96 mgGAE/g Extracto hidroalcohólico y 14.762 ± 0.8 mg de quercetina/ g de Extracto hidroalcohólico respectivamente.
6. La capacidad Antioxidante ABTS y DPPH que contienen la especie vegetal *Eleutherine bulbosa* es de 4.445 ± 0.324 y 1.949 ± 0.033 $\mu\text{mol TE}/100$ g MS. Además, se encontró un % de inhibición por ABTS de 13.9 ± 0.8 % y DPPH de 42.16 ± 0.57 %.
7. El colorante que contiene nuestra especie vegetal *Eleutherine bulbosa* (Yahuar Piri Piri) podría estar dentro del grupo naftoquinonas y Antocianinas.

RECOMENDACIONES

Al culminar la investigación se hace las siguientes recomendaciones:

1. Realizar un periódico mantenimiento a los equipos de investigación y verificar la fecha de vencimiento de los solventes y reactivos de los laboratorios.
2. Realizar estudio y aislar los principales metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la especie vegetal *Eleutherine bulbosa* (Yahuar Piri Piri) para analizar el mecanismo de acción y potencial inhibidor.
3. Realizar la comparación de los principales constituyentes con estándares de naftoquinonas como Isoeleutherol e Isoeleutherine.
4. Realizar un análisis de espectrometría de masa para poder identificar los diferentes principios activos que contiene el Yahuar Piri Piri (*Eleutherine bulbosa*) en su totalidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akram, A., Mohd., N., Saad, N., Hafiza, N., & Asmas, N. A. (2020). Heat assisted extraction of phenolic compounds from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) bulb and its bioactive profiles using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112064>
- Alvarado, V. R. (2019). Efecto Analgésico del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. (Yahuar Piri Piri) en ratones. Lima, Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega.
- Amaral, F., Ribeiro, M., Barbosa-Filho, J., Reis, A., Nascimento, F., & Macêdo, R. (2006). Plants and chemical constituents with giardicidal activity. *Bras. Farmacogn.*
- Angurell, I., Casamitjana, N., Caubet, A., Dinarés, I., Llor, N., Munoz-Torrero, D., . . . Velasco, D. (15 de Mayo de 2022). *Operaciones Básicas en el Laboratorio de Química*. Obtenido de <https://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/index1.html#>
- AOAC. (2012). AOAC international methods committee guidelines for validation of microbiological methods for food and environmental surfaces. AOAC Official Methods of Analysis.
- Astati, S., Ardana, M., & Admad, I. (2019). Ekstraksi Polifenol Total dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* [Mill.] Urb.) Menggunakan Metode Citric Acid-Glucose based Microwave Assisted Extraction. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, (págs. 139-142). Samarinda. doi:<https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.379>
- Bahtiar, A., & Yessi, D. C. (2018). Dayak Onions (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) Bulbs Extracts Reduces Blood Pressure of Hypoestrogen Model Rats by Controlling Lipids Profile. Central Sulawesi, Indonesia: *Int. J. Morphol.*
- Baraúna, R., & Rocha, J. (2006). Avaliação fitoquímica e farmacológica do extrato aquoso de *Eleutherine plicata*. Belém,, Brasil: XVII Seminário de Iniciação Científica – UFPA.
- Borges, E., Costa da Rocha, N., Silva, A., Vieira, D., Ferreira, A., De Oliveira, M., . . . Fani, M. (2020). Estudos botânicos, atividade antimicrobiana e citotoxicidade de *Eleutherine bulbosa*(Mill.) Urb. *Research, Society and Development*, 11. doi:<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9992>

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 25 - 30. doi:[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cavalcante, P., Cunha, N., Moreira, L., Paula, A., Costa, S., Cavalcanti, E., . . . Alencar, J. (2009). Atividade Anticolinesterásica de Eleuterol isolado de *Eleutherine plicata* Herb. . Fortaleza, Brasil: 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
- Chávez, R., & Ordoñez, E. (2013). Polifenoles Totales, Antocianinas y Capacidad Antioxidante (DPPH y ABTS) durante el procesamiento del licor y polvo de cacao. *Revista ECIPerú*, Volumen 10, N° 01. doi:<https://doi.org/10.33017/RevECIPeru2013.0006/>
- Cook, E. M. (1963). *Farmacología práctica de Remington. Décima edición*. México: Editorial ETEHA.
- Costa da Rocha, N. (2014). Estudos de Citotoxicidade e Genotoxicidade de *Eleutherine plicata* Herb. Belém, Pará: Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Pará.
- Costa, I. S., Mejía, E. D., & Alvarado, O. S. (2016). Efecto antibacteriano en vitrio de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668.
- Couto, C. L., Moraes, D. F., Cartágenes, M. d., M. do Amaral, F. M., & Guerra, R. N. (2016). *Eleutherine bulbous* (Mill.) Urb.: A review study. *Journal of Medicinal Plants Research*, 286-297. doi:10.5897/JMPR2016.6106
- Cuevas, E., Escamilla, C., & Guevara, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Lima, Perú.
- Da Silva, L. (2008). Isoeleuterol e Isoeleuterina: Potenciais marcadores químicos da tintura de *Eleutherine plicata* Hrb (Iridaceae) e atividades microbiológica e antioxidante. Belém - Pará: Ciências Farmacêuticas Universidade Federal do Pará.
- Da Silva, L., Palazzo, J., & Ramos, W. (2015). *Eleutherine plicata* - Quinonnes and Antioxidant Activity. En V. Rao, & L. Rao, *Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health* (págs. 323 - 338). IntechOpen. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/59865>
- Del Castillo, S., & Pinedo, V. (2019). *Bromatología de las pulpas integrales de Oenocarpus bataua (Ungurahui) y Oenocarpus mapora (Cinamillo): caracterización, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y minerales*. Iquitos, Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

- Espino A., E. M. (2019). Evaluación fitoquímica y perfil cromatográfico de las hojas de la Shapilloja (*Zanthoxylum fagara*). Tarapoto, Perú: Universidad Nacional de San Martín.
- Firdaus, R. (2006). Efek antimitosis ekstrak bawang dayak (*Eleutherina americana* L. Merr) terhadap sel telur bulu babi (*Tripneustes gratilla* Linn.). Bandung, Indonesia: Instituto de Tecnología de Bandung.
- Galingging, R. (2009). Dayak onion (*Eleutherine palmifolia*) as a multifunctional medicinal plants. Indonesia.
- García, M. A. (2007). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. México: Universidad Autónoma de Querétaro. Obtenido de chrome-extension://ohfgljdgelakfkefopgkcohadegdpjf/https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf
- Haerani, A., Chaerunisa, A., & Subarnas, A. (2019). Antioxidant Activities of *Muntingia calabura*, *Syzygium cumini*, *Ocimum basilicum*, and *Eleutherine bulbosa* using DPPH Method. *Indonesian Journal of Pharmaceutics*, 50-54. doi:https://doi.org/10.24198/idjp.v1i2.21531
- Hara, H., Maruyama, N., Yamashita, S., Hayashi, Y., Lee, K., & Bastow, K. (1997). Elecanacin, a novel new naphthoquinon from the bulb of *Eleutherine americana*. *Bulletin Journal Chemical Pharmaceutical (NCBI)*.
- Hills, P. (2004). *Appreciating Wine - The Flavour of Wine Explained*. HarperCollins Publishers. Obtenido de <https://books.google.com.pe/books?id=z1wtcJdV8AsC&pg=PA67&dq=antocianinas&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiw-LvOwuL3AhVytJUCHYk3B8UQ6AF6BAgHEAI#v=onepage&q=antocianinas&f=false>
- Ifesan, B., & Voravuthikunchi, S. (2009). Effect of *Eleutherine americana* Merr. extract on enzymatic activity and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* in broth and cooked pork. *Foodborne Pathog.*
- Kuntorini, E., & Laurentius, H. (2010). Structural development and bioactive content of red bulb plant (*Eleutherine americana*). Kalimantan, Indonesia.
- Kuntorini, E., & Nugroho, L. (2010). Structural development and bioactive content of red bulb plant (*Eleutherine americana*); a traditional medicines for local Kalimantan people. *Biodiversitas*.

- Kurnya, K., Hajrah, H., & Ahmad, I. (17 de Octubre de 2019). Ekstraksi Polifenol Total dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*[Mill.] Urb.) menggunakan Metode Lactic Acid-Sucrose based Microwave Assisted Extraction. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, (págs. 118-121). Samarinda. doi:<https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.374>
- Le Minh, H., Thanh, H., & Kiem, P. (2013). Chemical Constituents of the Rhizome of *Eleutherine bulbosa* and their inhibitory effect on the pro-inflammatory cytokines production in lipopolysaccharides-Stimulated bone Marrow-derived dendritic cells. *Bulletin of Korean Chemical Society*.
- Listayana, A., Biomed, M., & Suryadinta, E. (2016). Uji aktivitas antikanker kombinasi ekstrak benalu belimbing (*Macrosolen cochinchinensis*) dan bawang sabrang (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) Pada sel kanker serviks (Sel Hela). Malang, Indonesia.
- Liu, X. (2012). Chemical constituents of *Eleutherine americana*. *Chinese Trad Herb Drugs*.
- Llorens, J. (2012). Cromatografía en capa fina. España: Universidad Politécnica de Valencia. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10251/16990>
- Lock, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos Naturales*. Lima: Fondo Editorial.
- Lock, O. (1997). *Colorantes Naturales*. Lima, Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Lorenzi, H., & Matos, F. (2002). *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Brasil: Nova Odessa: Plantarum.
- Mahabusarakam, W., Hemtasin, C., Chakthong, S., Voravuthikunchai, S., & Olawumi, I. (s.f.). Naphthoquinones, Anthraquinones and Naphthalene Derivatives from the Bulbs of *Eleutherine Americana*. 2010. *Planta Medicinal*.
- Mawarda, A., Salsul, E., & Sastyarina, Y. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) terhadap Rendemen Ekstrak dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*.
- Mejía, K., & Rengifo, E. (1995). *Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana*. Lima, Perú: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Obtenido de <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/I017.pdf>

- Menezes, T., Alves, A., Vieira, J., Menezes, S., Alves, B., & Mendonça, L. (2009). valiação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. ev. Odontol UNESP.
- Mierza, V., Suryanto, D., Nasution, M., Hutahaean, S., Ilyas, S., Rahayu, S., & Berliani, K. (2011). creening test phytochemicals and antibacterial effects of ethanol extracts of onion bulbs sabrang (*Eleutherine palmifolia* Merr.). North Sumatra, Indonesia: Proceedings of the National Biology Seminar: Enhancing the Role of Biology in Creating National Achievement with Global Reach.
- Mintowati, E., & Dewi, M. M. (2016). Anatomical structure and antioxidant activity of red bulb plant (*Eleutherine americana*) on different plant age. *Biodiversitas*, 229-233. doi:10.13057/biodiv/d170123
- Morabandza, C., Okiemy-Akieli, M., Okiemy, E., Andzi-Barhé, T., & Ongoka, P. (2016). Total phenols, total flavonoids content; antioxidant and antifungal activities of ethanolic and aqueous extracts of *Eleutherine bulbosa* (Iridaceae) . *Word Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- Moreno, M. V. (2010). La importancia del color en los alimentos. *Revista alimentaria Legalimentaria*. Obtenido de chrome-extension://ohfgljldgelakfkefopgkclcohadegdpjf/https://www.revistaalimentaria.es/fotos_noticias/PDF4752.pdf
- Muhamad, I., Siti, K., & Rika, H. (2012). Recent Studies on Phytochemicals and Pharmacological Effects of *Eleutherine americana* Merr. International Seminar of Natural Product Medicines.
- Nascimento, M., Vieira, J., Malheiros, L., Júnior, J., Rodrigues, L., & Barbosa, W. (2012). Characterisation of isoeleutherine in aqueous extract of *Eleutherine plicata* Herb., iridaceae, active against entamoeba hystolitica/ entamoeba dispar in-vitro. *Journal Pharmaceutical Sci*.
- Oliveira, N. A., Pinto, M., Silva, I., Moraes, S., & Gomes, M. (2007). O uso de *Eleutherine plicata* no tratamento de doenças gastrointestinais na Amazônia paraense. Caxambu, Brasil: VIII Congresso de Ecologia do Brasil. Obtenido de <http://sebecologia.org.br/viiiiceb/pdf/633.pdf>
- Oresajo, C., Pillai, S., Manco, M., Yatkayer, M., & Mcdaniel, D. (2012). Antioxidants and the skin : Understanding formulation and efficacy. 252-259.

- Paramapojna, S., Ganzerab, M., Gritsanapana, W., & Stuppnerb, H. (2008). Analysis of naphthoquinone derivatives in the Asian medicinal plant *Eleutherine americana* by RP-HPLC and LC-MS. *J. Journal Phamaceutical Biomedical*.
- Purnamasari, A., & Bahtiar, A. (2017). Effect of Dayak Onion (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) on Uterine wall and Lipid Profiles of Ovariectomized Rat. *Journal of Biological Sciences*.
- Ramírez, G. (2008). Expresión Analítica de los Componentes de los alimentos. Universidad de Antioquía. Obtenido de http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Notas_de_Expresion_analitica_de_los_componentes_de_los_alimentos_2008.pdf
- Randerath, K. (1980). Cromatografía en capa fina. *Primera Edición*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Rengifo, S. (2007). Las Ramas Floridas del Bosque. Iquitos, Perú: INIA. Obtenido de <http://www.iiap.org.pe/cdpublicaciones2011/documentos/pdf/libros/6.pdf>
- Revilla, J. (2001). Plantas da Amazônia: oportunidades econômicas e sustentáveis. Manaus, Brasil: SEBRAE-AM/INPA.
- Revilla, J. (2002b). Apontamentos para a cosmética amazônica. Manaus, Brasil: SEBRAEAM/ INPA.
- Sánchez S., S. (2019). Extracción de bixina de tres variedades de achiote (*Bixa orellana* L.) utilizando tres solventes. Tarapoto, Perú: Universidad Nacional de San Martín.
- Seijas, N. (2019). Efecto de la temperatura y tiempo en la estabilidad fisicoquímica del extracto seco de *Beta vulgaris* L. Trujillo, Perú. Obtenido de <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/2521>
- Shi, P., Du, W., Wang, Y., Teng, X., Chen, X., & Ye, L. (2018). Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of bulbs, leaves, and flowers made from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. *Food Science & Nutrition*, 148-154. doi:<https://doi.org/10.1002/fsn3.834>
- Sirirak, T., & Voravuthikunchai, S. (2011). *Eleutherine americana*: A candidate for the control of *Campylobacter* species.
- Socorro, M., Elesbao, R., Sousa, E., Maia, S., Goes, C., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (Julio de 2007). Metodología científica: Determinación de Actividad

Antioxidante total en frutos por captura de Radicales Libres ABTS.+ Fortaleza, Brasil.

Socorro, M., Elesbao, R., Sousa, E., Maia, S., Goes, C., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (Julio de 2007). Metodología Científica: Determinación de la Actividad Antioxidante Total en Frutos por Captura del Radical Libre DPPH. Fortaleza, Brasil.

Universidad de Barcelona. (1999). Operaciones básicas en el Laboratorio de Química. *Universidad de Barcelona*. Obtenido de http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/cromatografia_tipus.html

Yanti, F., & Rosidah, E. (2014). Effects of Inhibition Cell Cycle and Apoptosis of Sabrang Onion Extract (*Eleutherine bulbosa* Mill.Urb.). *On Breast Cancer Cells*, 2-3.

ANEXOS

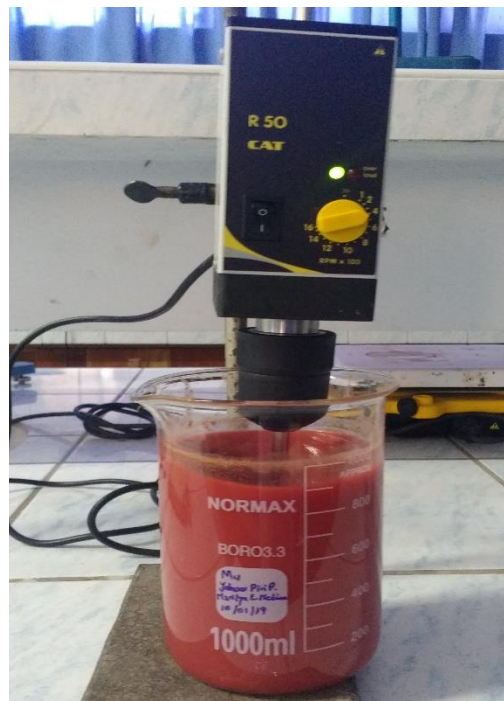
Anexo 1

Pesado del Bulbo de Yahuar Piri Piri (Eleutherine bulbosa)



Anexo 2

Proceso de Maceración y agitación a 400 rpm por 15 min



Anexo 3
Eliminación del solvente por Rotavapor a 40°C



Anexo 4
Marcha Fitoquímica preliminar



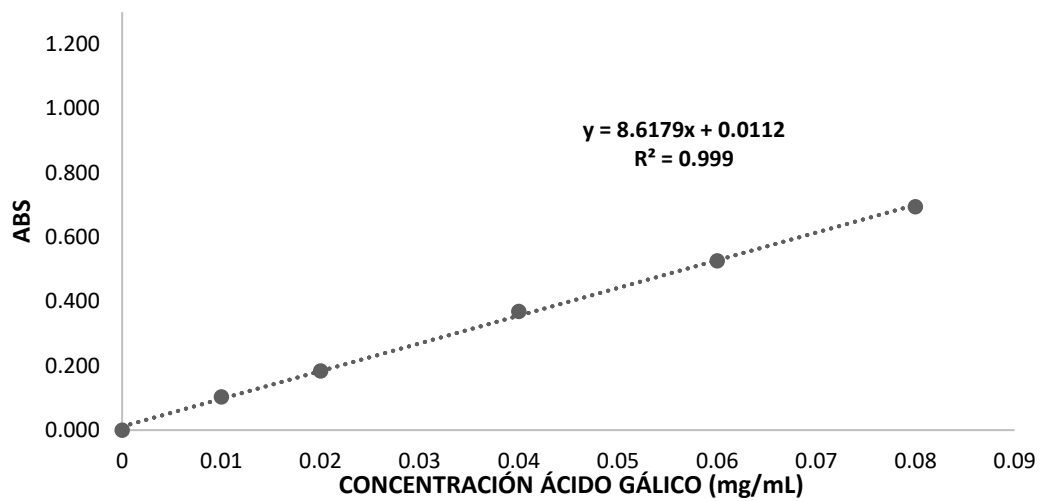
Anexo 5
Datos para Determinación de Humedad

Peso de placas	Peso de muestra húmedad	Peso de muestra + peso de placa	Peso de muestra seca	Humedad
39.7897	2.0698	40.8618	1.0721	48.20
38.4025	2.0524	39.4676	1.0651	48.10
38.6742	2.0363	39.6874	1.0132	50.24
34.1913	2.0266	35.2837	1.0924	46.10
38.8544	2.0338	39.9062	1.0518	48.28
39.0587	2.0228	40.1269	1.0682	47.19
Promedio				48.02
Desvio E.				1.25

Anexo 6
Datos para determinación de cenizas

Crisol	Muestra	Muestra seca	Crisol + ceniza	Ceniza	% Ceniza en base seca
20.3651	2.156	1.12	20.3837	0.0186	1.66
21.538	2.0228	1.05	21.5565	0.0185	1.76
21.8024	2.044	1.06	21.82	0.0176	1.66
Promedio					1.69
Desvio					0.06

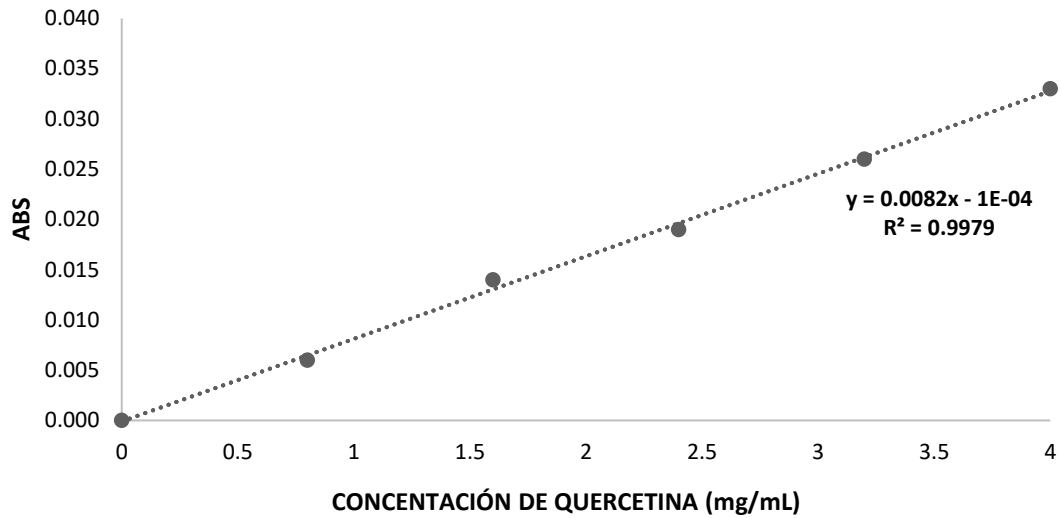
Anexo 7 Curva Patrón de Fenoles Totales



Anexo 8 Datos para Determinación de Fenoles Totales

Código	Peso amostra (Extracto) (g)	Peso amostra (Extracto) (mg)	Materia seca (mg)	Volumen Acertado (mL)	Alicota no tubo (mL)	lectura del equipo Abs.760 nm	concentração FT mgGAE/mL	concentração FT mgGAE	concentração FT mgGAE/mg Extracto	concentração FT mgGAE/g Extracto	concentração FT mgGAE/100g extracto	concentração FT gGAE/100g extracto	MEDIA FT mgGAE/g Extracto	DESVIO PADRON
	a	b = a*1000	c = a* % Mat. seca	d	e	f	g = @	h = g*d	i = h / c	j = i * 1000	k = j * 100	L = k/1000		
PIRI-01	0.0020	2.00	2.00	50.00	0.200	0.087	0.009	0.440	0.220	219.891	21,989.116	21.989		
PIRI-02	0.0020	2.00	2.00	50.00	0.200	0.102	0.009	0.431	0.216	215.544	21,554.354	21.554	216.849	3.957
PIRI-03	0.002	2.00	2.00	50.00	0.200	0.101	0.009	0.427	0.213	213.364	21,336.414	21.336		
PIRI-04	0.002	2.00	2.00	50.00	0.200	0.105	0.009	0.444	0.222	222.082	22,208.177	22.208		
PIRI-05	0.002	2.00	2.00	50.00	0.200	0.101	0.009	0.427	0.213	213.364	21,336.414	21.336		
PIRI-06	0.002	2.00	2.00	50.00	0.200	0.091	0.008	0.383	0.192	191.570	19,157.005	19.157		

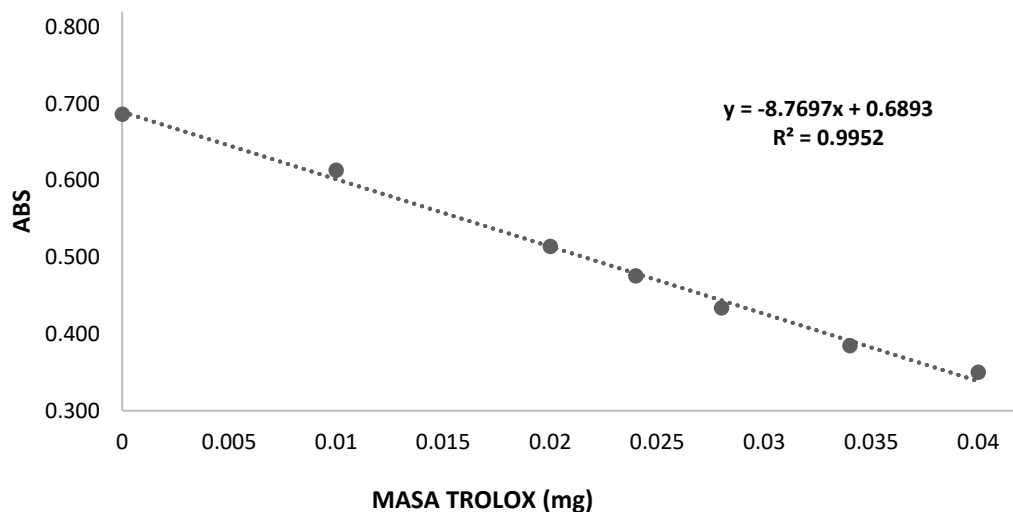
Anexo 9 Curva Patrón de Flavonoides Totales



Anexo 50 Datos para Determinación de Flavonoides Totales

Código	Peso amostra (Extracto)	Peso amostra (Extracto)	Materia seca	Volumen Acertado	Alicota no tubo	leitura no Equipamento	concentração FT		concentração FT	concentração FT	concentração FT	concentração FT	concentração FT	MEDIA FT	DESUDIO PADRON
	(g)	(mg)	(mg)	(mL)	(mL)	Abs.510 nm	mgGAE/mL	FACTOR DE DILUSIÓN	mgGAE	mgGAE/mg Extracto	mgGAE/g Extracto	mgGAE/100g extracto	mgGAE/100g extracto	mgGAE/g Extracto	
	a	b = a*1000	c = a* % Mat. seca	d	e	f	g = @	2.000	h = g*d	i = h/c	j = i* 1000	k = j* 100	L = k/1000		
PIRI-01	0.0075	7.50	7.50	25.00	0.200	0.027	0.002	0.004	0.104	0.014	13.890	1,389.010	1.389		
PIRI-02	0.0075	7.50	7.50	25.00	0.200	0.029	0.002	0.005	0.113	0.015	15.052	1,505.245	1.505	1,476.186 0.801	
PIRI-03	0.0075	7.50	7.50	25.00	0.200	0.028	0.002	0.004	0.109	0.014	14.471	1,447.128	1.447		
PIRI-04	0.0075	7.50	7.50	25.00	0.200	0.027	0.002	0.004	0.104	0.014	13.890	1,389.010	1.389		
PIRI-05	0.0075	7.50	7.50	25.00	0.200	0.030	0.002	0.005	0.117	0.016	15.634	1,563.363	1.563		
PIRI-06	0.0075	7.50	7.50	25.00	0.200	0.030	0.002	0.005	0.117	0.016	15.634	1,563.363	1.563		

Anexo 11 Curva Patrón de ABTS



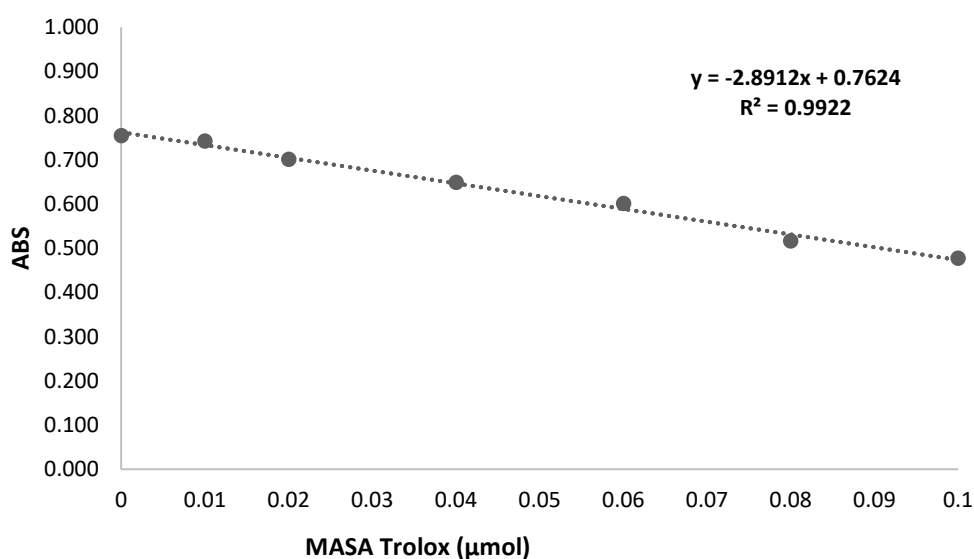
Anexo 62

Datos para la determinación de Actividad Antioxidante ABTS

Código	Peso amostra (g) = (mL)	Volumen Acertado (mL)	Alícuota no tubo (mL)	Leitura do Controle Abs.734 nm	leitura da Amostra Abs.734 nm	% de Inibição Abs.734 nm	Capacidade Antioxidante μmol TE	Capacidade Antioxidante μmol TE/g Extracto Piri Piri	MEDIA TEAC μmol TE/g Extracto Piri Piri	DS
	a	c	d	e	f	g	h = @			
PIRI 1	1.0000	10.00	0.020	0.710	0.616	13.239	0.008	4.179		
PIRI 2	1.0000	10.00	0.020	0.710	0.605	14.789	0.010	4.806		
PIRI 3	1.0000	10.00	0.020	0.710	0.613	13.662	0.009	4.350	4.445	0.324

Anexo 73

Curva Patrón de DPPH



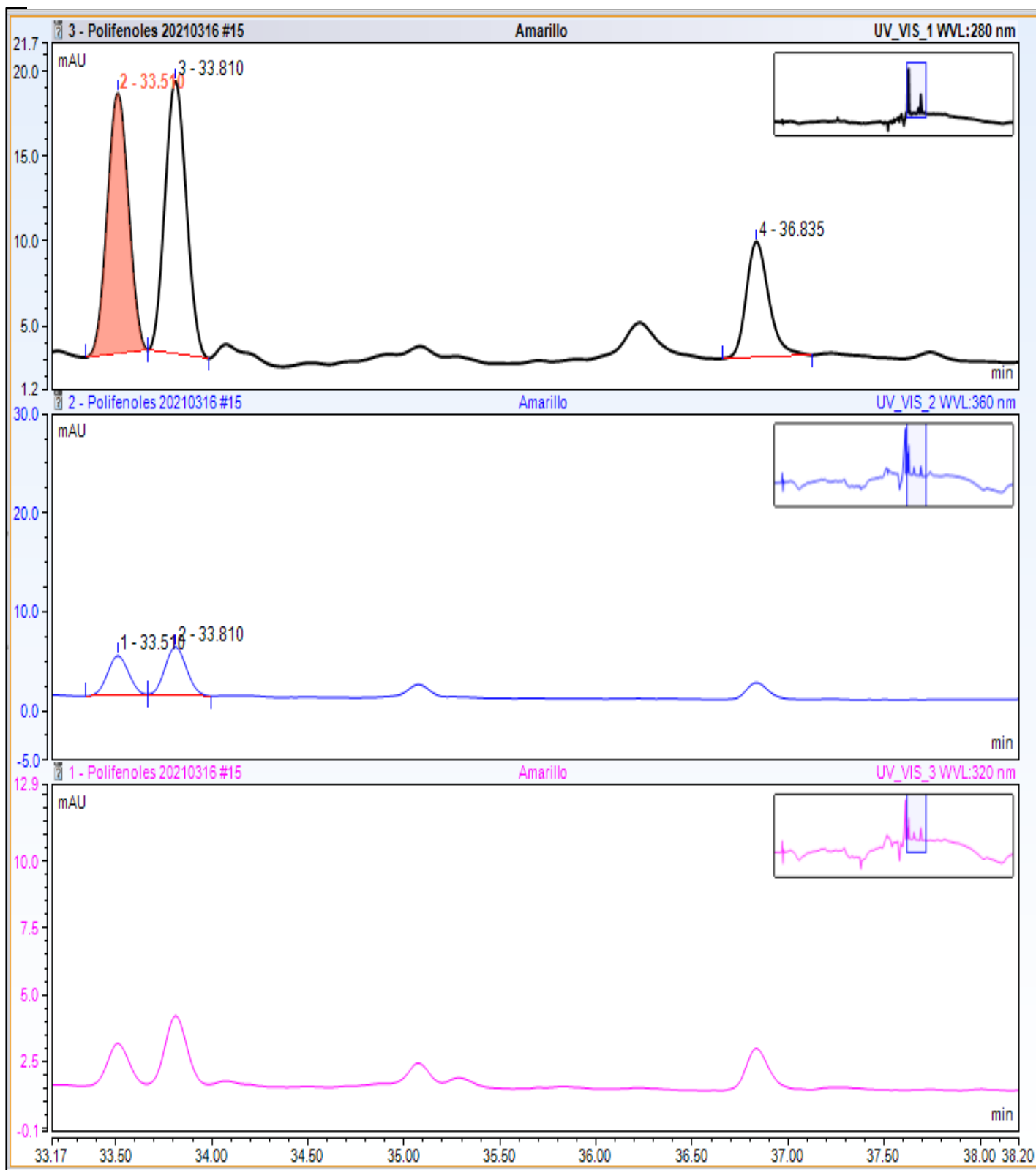
Anexo 84

Datos para la determinación de Actividad Antioxidante DPPH

Código	Peso amostra (g)	Volumen Acertado (mL)	Alícuota no tubo (mL)	Leitura do Controle Abs.515 nm	leitura da Amostra Abs.515 nm	% de Inibição Abs.515 nm	Capacidade Antioxidante μmol TE	Capacidade Antioxidante μmol TE/g Extracto Piri Piri	MEDIA TEAC μmol TE/g Extracto Piri Piri	DS
	a	c	d	e	f	g	h = @	j = i / b		
PIRI 1	1.0000	10.00	0.500	0.831	0.477	42.599	0.099	1.974		
PIRI 2	1.0000	10.00	0.500	0.831	0.479	42.359	0.098	1.960		
PIRI 3	1.0000	10.00	0.500	0.831	0.486	41.516	0.096	1.912	1.949	0.033

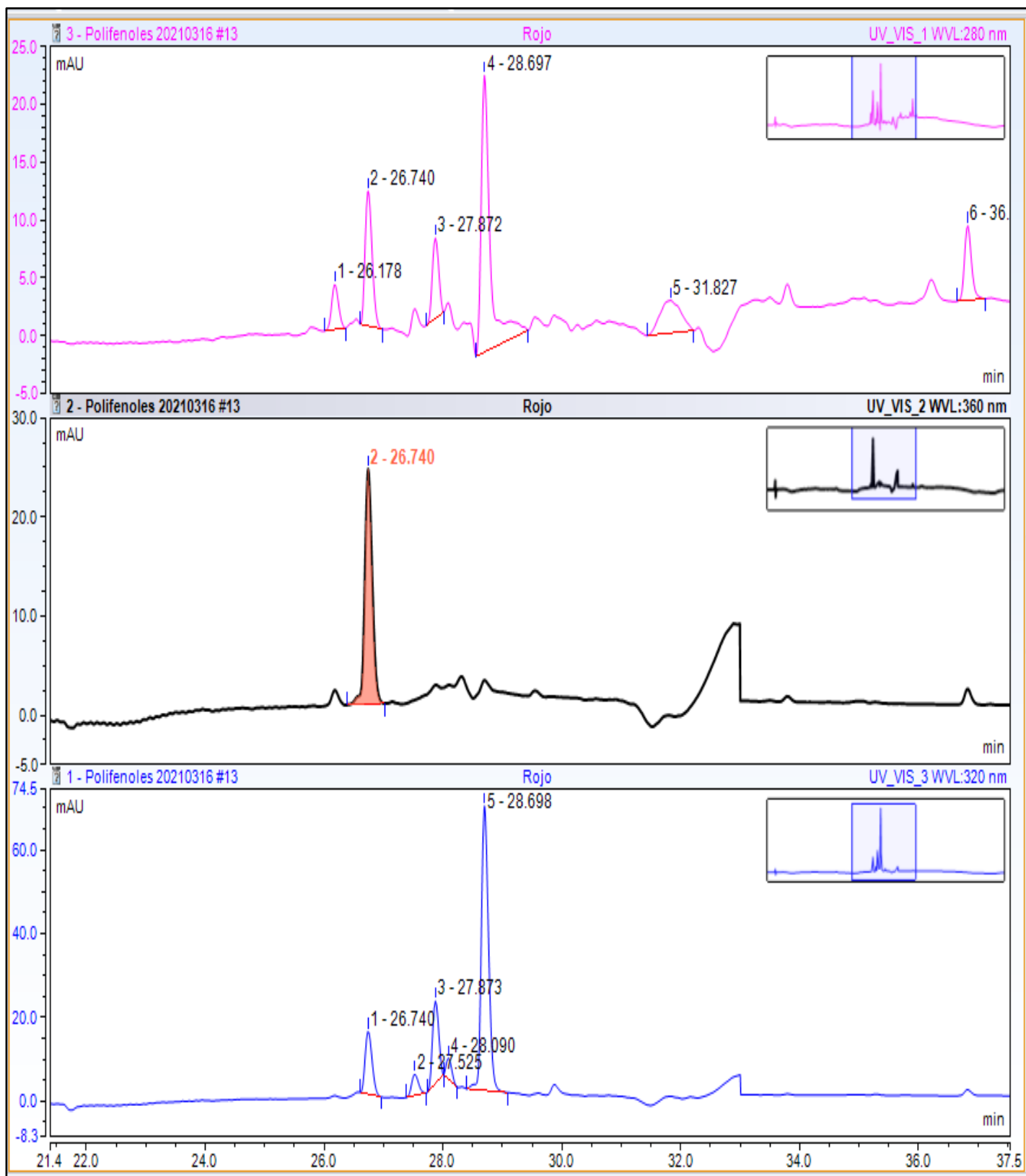
Anexo 95

Cromatograma LC-UV del metabolito color Amarillo obtenida a 280, 320 y 360 nm



Anexo 16

Cromatograma LC-UV del metabolito color Rojo obtenida a 280, 320 y 360 nm



Obtención y caracterización del colorante presente en el bulbo del Yahuar piri piri (Eleutherine bulbosa Miller Urb.)

por V3:marilyn Estefany Medina Ramirez

Fecha de entrega: 26-oct-2022 10:22a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1935979091

Nombre del archivo: REDACCION_DE_TESIS,_Revision_final_y_firma.docx (3.67M)

Total de palabras: 12363

Total de caracteres: 68084

Obtención y caracterización del colorante presente en el bulbo del Yahuar piri piri (Eleutherine bulbosa Miller Urb.)

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%	23%	2%	7%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	3%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	3%
3	Submitted to Universidad Nacional de San Martín Trabajo del estudiante	2%
4	repositorio.unsm.edu.pe Fuente de Internet	2%
5	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	2%
6	revistas.unsm.edu.pe Fuente de Internet	2%
7	docplayer.es Fuente de Internet	1%
8	repositorio.untrm.edu.pe Fuente de Internet	1%