



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**“TIEMPO DE DECOCCION DE MANAYUPA  
“*Desmodium molliculum*” Y EL CONTENIDO DE  
POLIFENOLES”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO**

**BACHILLER: REYMUÑEZ SUAREZ, Gladys Patricia**

**LIMA – PERÚ  
2016**

## **Dedicatoria**

Agradezco a mis padres; por su confianza, por su apoyo incondicional para lograr mis metas profesionales y porque hoy se cristalizan sus sueños y anhelos.

## **Agradecimientos**

A Dios, mi protector e inspiración, a mi asesor por inculcarme el espíritu investigador y se enorme apoyo profesional.

Q.F. Barreto Yaya, Danilo

## RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto del tiempo de decocción de la droga "*Desmodium molliculum*" manayupa sobre el contenido de polifenoles en el extracto obtenido, con este fin se usó muestras de manayupa utilizadas por el programa de medicina alternativa de Essalud.

Las muestras se sometieron a diferentes tiempos de decocción 5, 10, 15,20, 25 y 30 minutos en agua destilada. Los resultados se evaluaron mediante cromatografía en capa fina sobre silicagel y mediante el contenido de flavonoides totales expresados como equivalentes de quercetina por método espectrofotométrico.

Los resultados de la cromatografía muestran cambios cualitativos que sugieren procesos hidrolíticos y el análisis espectrofotométrico sugiere cambios por procesos oxidativos que alcanzan un pico a los 15 minutos de tratamiento.

Palabras clave: *Desmodium molliculum*, decocción, polifenoles.

## ABSTRACT

In this paper the effect of time of decoction of the drug "Desmodium molliculum" manayupa on the polyphenol content in the extract obtained was evaluated for this purpose manayupa sample of alternative medicine program from Essalud were used.

The samples were subjected to different periods of decoction 5, 10, 15, 20, 25 and 30 minutes with distilled water. The results were assessed by thin layer chromatography on silica gel and by the content of total flavonoids expressed as equivalents of quercetin by spectrophotometric method.

The chromatography shows qualitative changes that suggest hydrolytic processes and the spectrophotometric analysis suggests changes by oxidative processes reach a peak within 15 minutes of treatment.

Key words: Desmodium molliculum, decoction, polyphenols.

## ÍNDICE

CARATULA.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
INDICE DE TABLAS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.....	x
INTRODUCCION.....	xi
<b>CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>12</b>
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	12
1.2 Formulación del Problema.....	12
1.2.1 Problema General.....	12
1.2.2 Problemas Específicos.....	12
1.3 Objetivos de la Investigación.....	13
1.3.1 Objetivo General.....	13
1.3.2 Objetivos Específicos.....	13
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	14
1.4.1 Hipótesis General.....	14
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	14
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	15
<b>CAPITULO II: MARCO TEORICO.....</b>	<b>16</b>
2.1 Antecedentes de la Investigación.....	16
2.1.1 Antecedentes Nacionales.....	16
2.1.2 Antecedentes Internacionales.....	19
2.2 Bases Teóricas.....	20

2.2.1 Generalidades de Manayupa “ <i>Desmodium molliculum</i> ” .....	20
2.2.2 Compuestos Polifenolicos.....	23
2.2.2.1. Aspecto Químico de los flavonoides.....	24
2.2.2.2. Flavonas.....	25
2.2.2.3. Flavanoles.....	26
2.2.2.4. Antocianidinas.....	27
2.2.2.5. Isoflavonoides.....	27
2.2.2.6. Flavonoles.....	29
2.3 Definiciones de Términos Básicos.....	30
<b>CAPITULO III: METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION.....</b>	<b>33</b>
3.1 Tipo de Investigación.....	33
3.2 Nivel de Investigación.....	33
3.3 Método de Investigación.....	33
3.4 Diseño de Investigación.....	33
3.5 Población y Muestreo de la Investigación.....	33
3.5.1 Población.....	33
3.5.2 Muestra.....	33
3.6 Variables e Indicadores.....	34
3.7 Procedimiento Técnica e instrumentos de Recolección de Datos.....	35
3.7.1 Procedimiento.....	35
3.7.2 Técnicas.....	39
3.7.3 Instrumentos.....	40
<b>CAPITULO IV: PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
4.1. Análisis e interpretación de Resultados.....	42
4.1.1 Resultados de la Cromatografía capa fina.....	42

4.1.2 Resultados Espectrofotométrico.....	46
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>40</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXO 2.....</b>	<b>51</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°1:</b>	Clasificación de Manayupa.....	18
<b>Tabla N°2:</b>	Desarrollo de la Cromatografía capa fina para muestra...	35
<b>Tabla N°3:</b>	Desarrollo de la Cromatografía capa fina en la muestra estándar de trabajo de Manayupa " <i>Desmodium molliculum</i> ".....	36
<b>Tabla N°4:</b>	Distancia recorrida por disolvente Rf.....	38
<b>Tabla N°5:</b>	Resultados de Análisis Espectrofotométrico.....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N°1:</b>	Manayupa “Desmodium molliculum”.....	19
<b>Figura N°2:</b>	Calificación de Flavonoides.....	20
<b>Figura N°3:</b>	Estructura General de los Flavonoides.....	20
<b>Figura N°4:</b>	Estructura Química de Flavonas.....	21
<b>Figura N°5:</b>	Estructura Química de Flavanoles.....	22
<b>Figura N°6:</b>	Estructura Química de Antocianidinas.....	23
<b>Figura N°7:</b>	Estructura Básica de Isoflavonoides.....	23
<b>Figura N°8:</b>	Estructura Química Daidzeina y Genisteina.....	24
<b>Figura N°9:</b>	Estructura Química de Quercitina.....	25
<b>Figura N°10:</b>	Hojas y tallos de manayupa “Desmodium molliculum”.....	30
<b>Figura N°11:</b>	Extracción metanólica con resina.....	31
<b>Figura N°12:</b>	Revelador 2-aminoethyl diphenylborinate.....	31
<b>Figura N°13:</b>	Cromatografía capa fina.....	32
<b>Figura N°14:</b>	Resultados de la Cromatografía capa fina identificación de isoflavonoides y flavonoides.....	37
<b>Figura N°15:</b>	Variación de la concentración de polifenoles en función al tiempo.....	39

## INTRODUCCIÓN

Desde hace muchos años, las drogas de origen vegetal, o las preparaciones medicamentosas obtenidas a partir de ellas, han servido como remedios curativos para el hombre y los animales. Nuestros antepasados las utilizaban bajo el criterio de la intuición y la repetición de la experiencia. Actualmente, estos criterios han sido sustituidos por constantes estudios científicos que pretenden que el producto a utilizar sea perfectamente conocido en todo sus aspectos.

La Fitoterapia o tratamiento con las plantas medicinales están siendo cada vez más aceptada en los diferentes extractos sociales. A pesar de tener una larga historia de saber popular, ha sido apreciada por los profesionales de la salud. Contienen principio activo, que podrían ser los responsables de las propiedades terapéuticas que se les atribuyen. La decocción se utiliza para preparar tisana, que precisan de una ebullición mantenida para liberar sus principios activos. Sin embargo, presenta el inconveniente de que algunos de los principios activos pueden degradarse por la acción prolongada del calor.

El daño dependerá de la temperatura que se alcance y su exposición al mismo. Por lo cual es necesario conocer el tiempo requerido de decocción. El objetivo de este trabajo de investigación, es proporcionar información útil sobre el efecto del tiempo de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en la calidad del preparado. Se demostrara si disminuye significativamente el contenido de polifenoles y por tanto la calidad del preparado al ser sometidos a los tiempos prolongados de decocción. La metodología empleada consiste en evaluar los extractos obtenidos mediante la cromatografía en capa fina y por espectroscopia Uv de barrido.

# CAPÍTULO I

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática:

En el programa de Essalud se emplea la manayupa “*Desmodium molliculum*”, que se utiliza en su programa de medicina alternativa y tradicional, por sus propiedades benéficas para la salud que ayudan como un depurativo o desintoxicante natural.

Las instrucciones para la preparación de la decocción de la droga no son muy claras, el usuario a veces no entiende bien las instrucciones de preparación o no saben que es una decocción y existe el peligro que se someta la droga a tiempos prolongados de calentamiento lo que tendría como consecuencia la alteración química de los componentes activos de la droga.

### 1.2 Formulación del Problema:

#### 1.2.1. Problema General

¿Cuál es la relación entre el tiempo de decocción de manayupa y el contenido de polifenoles?

#### 1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es el efecto de 5 min de decocción de manayupa “*Desmodium molliculum*” en el contenido de polifenoles?

- ¿Cuál es el efecto de 10 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles?
- ¿Cuál es el efecto de 15 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles?
- ¿Cuál es el efecto de 20 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles?
- ¿Cuál es el efecto de 25 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles?
- ¿Cuál es el efecto de 30 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles?

### **1.3 Objetivos de la Investigación:**

#### 1.3.1 Objetivo General

Determinar la relación entre el tiempo de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" y el contenido de polifenoles.

#### 1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto de 5 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles.

- Determinar el efecto de 10 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles.
- Determinar el efecto de 15 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles.
- Determinar el efecto de 20 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles.
- Determinar el efecto de 25 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles.
- Determinar el efecto de 30 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" en el contenido de polifenoles.

#### **1.4 Hipótesis de la Investigación:**

##### 1.4.1 Hipótesis General

El tiempo prolongado de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" disminuye significativamente el contenido de polifenoles.

##### 1.4.2 Hipótesis Secundarias.

- A los 5 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" disminuye el contenido de polifenoles.

- A los 10 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" disminuye el contenido de polifenoles.
- A los 15 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" disminuye el contenido de polifenoles.
- A los 20 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" disminuye el contenido de polifenoles.
- A los 25 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" disminuye el contenido de polifenoles.
- A los 30 min de decocción de manayupa "*Desmodium molliculum*" disminuye el contenido de polifenoles.

### **1.5 Justificación e Importancia de la Investigación**

La manayupa "*Desmodium molliculum*" es un recurso natural que contiene metabolitos activos como los polifenoles, que según la bibliografía nacional e internacional son responsables de las propiedades terapéuticas que se le atribuyen, por esta razón es conveniente y recomendable para su uso, al realizar un tratamiento de purificación sanguínea a través de productos naturales, como un método preventivo y económico para ayudar a combatir cualquier afección que ya se padezca, aunque también lo son de intoxicación y reacciones adversas que pueden aparecer si se emplea en dosis inadecuadas.

La finalidad de este trabajo es conocer si hay diferencia entre el extracto obtenido en el tiempo indicado por el médico y los que se obtienen luego de tiempos prolongados de decocción, lo que podría redundar en cambios que pueden afectar la eficacia o incluso la seguridad del preparado lo cual a su vez puede afectar la salud de los usuarios.

En cuanto a su efectividad y calidad se beneficiaran en gran parte la población por falta de ingreso económico con finalidad de brindar más apoyo a los usuarios que no puede adquirir los fármacos sintéticos empleados en un centro de salud.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de la Investigación:

##### 2.1.1. Antecedentes Nacionales:

La investigación realizada por Chang, Artemio, Klinar, Silvia (2009). En su trabajo de investigación “**SCREENING FITOQUIMICO DE GENTEIANELLA ALBOROSEA, DESMODIUM SP.Y TIQUILA PARONYCHIOIDES**”, se demostró que las hojas y tallos de manayupa (*Desmodium* sp) que se expenden en la ciudad de lima, contienen: grupos fenólicos libres, taninos, triterpenoides y/o esteroides, flavonoides y leucoantocianidinas.<sup>7</sup>

La investigación realizada por Acaro Chuquicaña, Ernesto (2013). “**EFFECTO ANTICONCEPTIVO Y POSTCOITAL DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Desmodium molliculum* (HBK).DC MANAYUPA EN RATAS HEMBRAS HOLTZMANN**”, Se demostró que el extracto etanolico de las hojas de *Desmodium molliculum* administrado por vía oral evidencio efecto anticonceptivo y poscoital en ratas hembras holtzmann. El efecto anticonceptivo y poscoital de *Desmodium molliculum* probablemente se deba principalmente a la acción de los flavonoides con actividad estrógeno y no estrogenicas a nivel uterino.<sup>8</sup>

La investigación realizada por Lozano R. Nancy, Bonilla R., Pablo (2001). **“EVALUACION FITOQUIMICA Y ACTIVIDAD BIOLOGICA DE *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (MANAYUPA)**, se demostró que las partes aéreas de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) DC procedentes de los departamentos de Huánuco, Junín y Cajamarca fueron caracterizadas a partir de los extractos metanólico revelando la presencia de; aminoácidos, compuestos fenólicos, taninos, catequicos, esteroides y/o triterpenoides; flavonoides y leucoantocianidinas.<sup>9</sup>

En la investigación realizada por Acero Carrión, Bertha, Millones Sánchez Emanuel (2012). **“ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Desmodium molliculum* EN EL MODELO MURINO DE ASMA”**, se demostró que en un modelo murino de asma, según los valores de IgE e infiltrado peribronquial y perivascular en el pulmón y el extracto etanolico de *Desmodium molliculum* tiene un efecto en la inflamación alérgica, efecto similar al obtenido con dexametasona.<sup>10</sup>

En la investigación realizada por Carrillo G., Aicardi, Alzadora J., Alvares, Carrillo R., Delfino (2015).” **EFFECTO DIURETICO DEL EXTRACTO DE *Desmodium molliculum* (MANAYUPA) EN RATAS ALBINAS”**, se demostró que el extracto metanólico de *Desmodium molliculum* a l dosis de 400mg/Kg. Ejerce un efecto diurético superior en la primera hora y similar en el promedio total, al de la furosemida; además, el efecto diurético no fue dosis dependiente. <sup>11</sup>

### 2.1.2. Antecedentes Internacionales:

La investigación realizada por Gutiérrez, Dora, Mendoza Sandra (2008).”**PROXIMATE COMPOSITION MINERAL CONTENT, AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF 14 MEXICAN WEEDS USED AS FODDER**”, se demostró que el alto contenido de componentes fenólicos y la buena eliminación de radicales libres, *Desmodium molliculum*, estas especies naturales representan una fuente de agentes antioxidantes.<sup>12</sup>

La investigación realizada por Marcel Koffi Konan, Mamyrbekova-Bekro (2012).” **Quantification of total phenols and flavonoids of *Desmodium adscendens* (Sw) DC. (Papillionaceae and projection of their antioxidant capacity**, se demostró que la planta medicinal de Costa de Marfil, *Desmodium adscendens* posee flavonoides en sus extractos acetato de etilo y n-butanol por TLC. Se determinó la calidad y se hizo la proyección de la capacidad antioxidante por el método de espectrometría DPPH.<sup>13</sup>

La investigación realizada por Hernandez Garcia (2005). En su trabajo de investigación “**EFFECTOS DEL PROCEDIMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**”, se demostró que la cocción causa una disminución significativamente en el contenido de polifenoles de las muestras, mostrando una susceptibilidad a los procesos térmicos, dicha susceptibilidad no solo refiere a efectos de la temperatura, sino que puede deberse además a un aumento en su reactividad frente a otros compuestos<sup>17</sup>.

La investigación realizada por Young Beod (2014). En su trabajo de investigación **“THE EFFECTIVE PREPARATION OF FLAVONOIDS FROM SCUTELLARIA BAICALENSIS BY DAIAION HP-20 RESIN”**, se demostró que el método de absorción de resina es más eficiente que el método de absorción con etanol para la extracción de alto fraccionamiento en flavonoides de *S. Baicalensis*.<sup>18</sup>

La investigación realizada por Catalino (2012). En su trabajo de investigación **“CUANTIFICACION DE FLAVONOIDES EN EL EXTRACTO METANOLICO DE *Glycine max*”**, se demostró la presencia de estos componentes presentes en el extracto de la semilla de *Glycine max*, el cual mostro la presencia de flavonoides. Se cuantificaron por espectrofotometría UV-Vis a 258nm., determinando el contenido de isoflavonas como daidzeina y genisteina.<sup>20</sup>

## 2.2 Bases Teóricas

### 2.2.1 Generalidades de Manayupa **“*Desmodium molliculum*”**

#### – Descripción

La manayupa se le conoce popularmente como “pata de perro”, “pega pega”, en diferentes regiones del Perú. Hierba pequeña de la familia de las leguminosas de flores; rosadas, lilas o moradas, hojas; pequeñas, redondeadas, verde oscuro brillante, algo rugosas.

**Tabla N°1**  
Clasificación de la manayupa

---

<b>Taxonomía</b>	
Reino	Plantae
División	Angiospermas
Clase	Dicotiledoneas
Orden	Leguminoseae
Familia	Fabaceae
Especie	Mollicum (HBK) D.C
Tribu	Desmodieae
Genero	<i>Desmodium</i>

---

**Fuente:** <http://www.botanicalonline.com/col/manapuya1.htm#clasificacion>

- Hábitat y distribución  
Es una especie endémica del Perú que crece entre 1000-3200msnm, común de los campos abiertos, abonados, pastizales y también de las áreas de cultivo. También se le encuentra en Bolivia y Ecuador.<sup>14</sup>
  
- Ubicación en el Perú  
En el Perú se le encuentra en Cuzco se encuentra a 3300-3600 y Apurímac 3200-3800msnm.
  
- Bioagricultura  
Se propaga vegetativamente por estacas, pues la producción de semillas es baja y difícil de germinación.

– Composición Química

Ácido gálico, cinámico, almidón, aminoácidos, carotenoides, cumarinas, esteroides, fenoles, flavonoides, fructosa, glucosa, gomas, grasa, mucilagos, resinas, rivotlavina, taninos, tiamina, triterpenoides, vitamina E y K.

– Usos Medicinales

Antimicrobiano, Anticonceptivo, Desintoxicante, Acción depurativa, fundamentalmente sobre el sistema renal. Es un excelente diurético y desinflamante de las vías urinarias. También es desinflamante de la mucosa, sobre todo del tracto gastrointestinal. Los esteroides y ácidos orgánicos encontrados le confieren su efecto antiinflamatorio, por ello se suele utilizar en procesos de gastritis agudas y crónicas. Además, ayuda a corregir el estreñimiento por su leve acción catártica. Es antialérgica y se usa en intoxicación por fármacos.

## Figura N°1

### Manayupa “*Desmodium molliculum*”



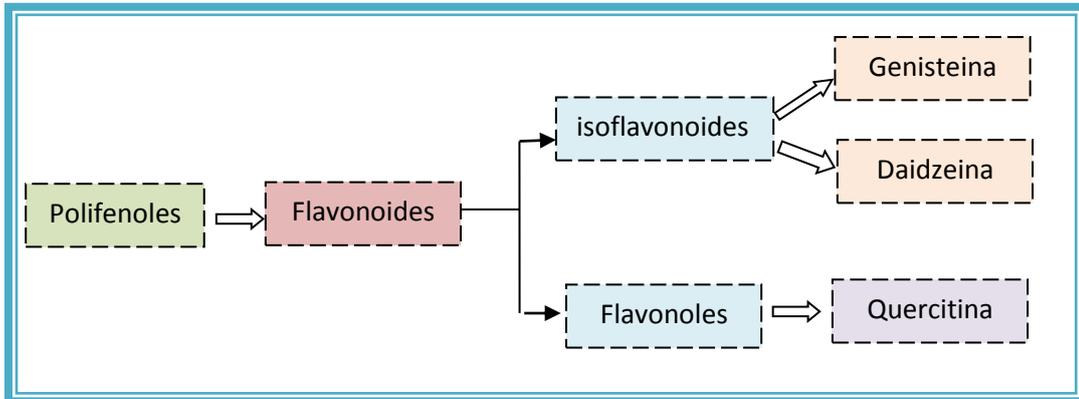
Fuente: Elaboración Propia

#### 2.2.2 Compuestos Polifenoles

Los compuestos polifenoles son compuestos químicos de origen natural que se encuentran en las plantas y animales, principalmente como derivados de funciones metabólicas. Consisten en uno o más anillos aromáticos que portan uno o más grupos hidroxilos, incluyendo sus derivados funcionales. Estos anillos pueden estar unidos directamente entre sí, o pueden estar unidos por medio de cadenas alifáticas abiertas.<sup>19</sup>

**Figura N°2**

Clasificación de los Flavonoides



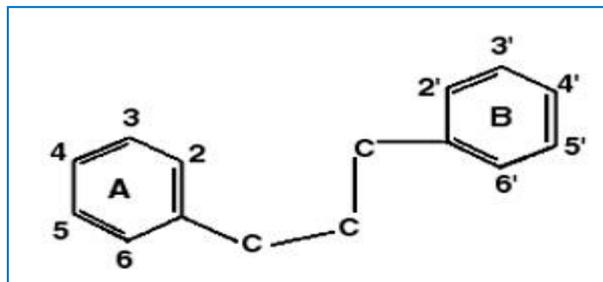
**Fuente:** Elaboración Propia

### 2.2.2.1. Aspecto Químico de los flavonoides

Los flavonoides tienen una estructura química muy definida como se muestra en la figura N°3. Puede observarse que de manera general son moléculas que tienen dos anillos bencénicos (o aromáticos, para los químicos orgánicos) unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono.

**Figura N°3**

Estructura General de los Flavonoides



**Fuente:** <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>

Los flavonoides se encuentran mayoritariamente como glucósidos, pero también pueden aparecer en forma libre (también llamados agliconas flavonoides).

Dentro de cada familia existe una gran variedad de compuestos, que se diferencian entre sí por el número y la posición de los grupos hidroxilos, y por los distintos grupos funcionales que pueden presentar (metilos, azúcares, ácidos orgánicos).

Los principales subgrupos de compuestos flavonoides son:

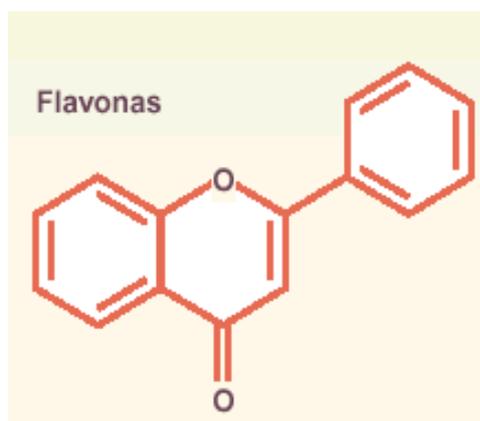
Flavonas, flavanoles, isoflavonoides, antocianidinas y flavonoles.<sup>19</sup>

#### 2.2.2.2. Flavonas

Poseen un grupo ceto en el carbono C4 y una insaturación entre los carbonos C2 y C3. Son los flavonoides menos abundantes en los alimentos.

#### Figura N°4

Estructura Química de Flavonas



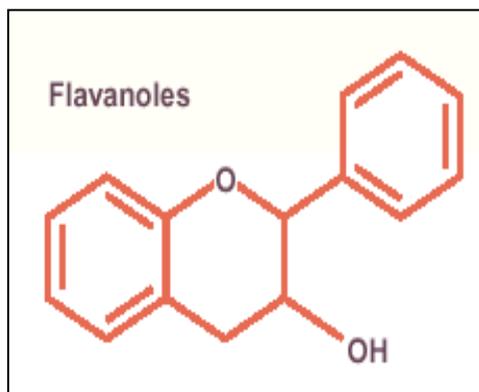
**Fuente:** <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-actividad-biologica-los-flavonoides-i-13054406>.

### 2.2.2.3. Flavanoles:

Poseen el anillo C saturado y un grupo hidroxilo en el carbono C3. Pueden aparecer como monómeros o como polímeros con distintos grados de polimerización. A diferencia de otros grupos de flavonoides, sus combinaciones de tipo heterosídico (entre el grupo reductor del azúcar y un grupo tiol) son poco habituales. Los flavanoles más representativos en los alimentos son de tipo flavan-3-ol, y estos pueden aparecer como monómeros (catequinas), como dímeros condensados entre sí y como oligómeros (procianidinas), o bien pueden aparecer como polímeros (proantocianidinas o taninos condensados). Epicatequina y catequina son los compuestos mayoritarios en frutas.

**Figura N°5**

Estructura Química de Flavanoles



**Fuente:** <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-actividad-biologica-los-flavonoides-i-13054406>

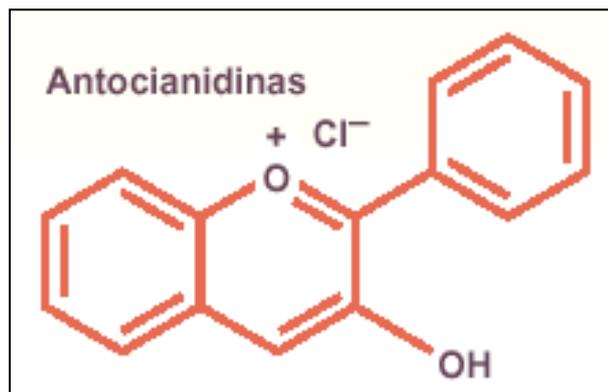
#### 2.2.2.4. Antocianidinas:

Son compuestos hidrosolubles, y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Se encuentran principalmente como heterósidos con los tres anillos de su estructura conjugados.

La glucosilación ocurre principalmente en la posición 3 en las posiciones 5 y 7 del anillo A. También es posible la glucosilación de las posiciones 3', 4' y 5' del anillo B, aunque esta glucosilación aparece con menos frecuencia.

**Figura N°6**

Estructura Química de Antocianidinas



**Fuente:**<http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-actividad-biologica-los-flavonoides-i--13054406>

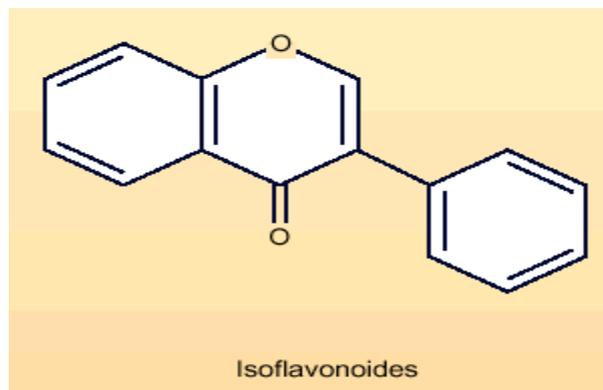
#### 2.2.2.5. Isoflavonoides

Los isoflavonoides poseen un anillo bencénico lateral en posición C3. Su estructura recuerda a la de los estrógenos.

Los isoflavonoides poseen grupos hidroxilos en los carbonos C7 y C4 al igual que sucede en la estructura molecular de la hormona estriol (uno de los tres estrógenos mayoritarios junto al estradiol y la estrona).<sup>18</sup>

### Figura N°7

Estructura Básica de los isoflavonoides



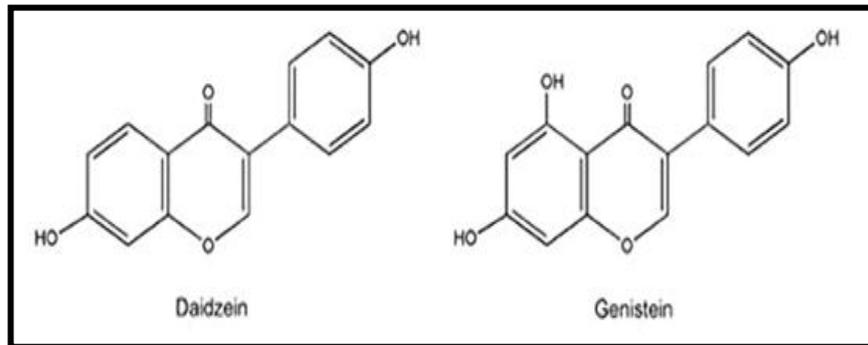
**Fuente:** <http://www.elsevier.es/en-revista-offarm-4-articulo-flavonoides-13028951>

En realidad, las isoflavonoides se pueden unir a receptores de estrógenos, y por ello se clasifican como fitoestrogenos. Se pueden presentar como agliconas, o a menudo conjugadas con glucosa, pero son termosensibles y pueden hidrolizarse durante su procesamiento industrial y durante su conservación.

Existen 230 tipos de isoflavonoides, 2 de ellas, las más importantes daidzeina (4´7-dihidroxisoflavona), genisteína (4´5,7-trihidroxisoflavona).

**Figura N°8**

Estructuras Químicas de Daidzeina y Genisteina



**Fuente:** <http://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/soy-isoflavones>

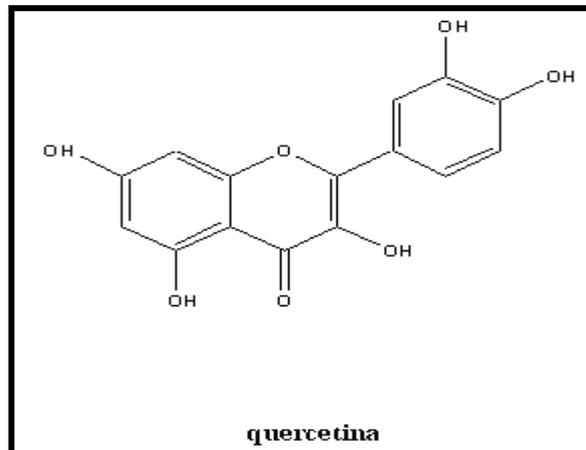
#### 2.2.2.6. Flavonoles

Se caracterizan por poseer un grupo ceto en el carbono C4, y una insaturación entre los carbonos C2 y C3. Poseen además un grupo hidroxilo adicional en el carbono C3. Representan el grupo más ubicuo de polifenoles presente en los alimentos.

La quercitina es el compuesto más representativo. Las principales fuente de flavonoles son las verduras y las frutas. La biosíntesis de flavonoles es un proceso fotosintético. Por ellos estos compuestos se localizan principalmente en el tejido externo y aéreo de la planta. La distribución y la concentración de los flavonoles puede ser distinta incluso en frutas procedentes de la misma planta; esto se debe a que la localización de los frutos condiciona la exposición al sol.

## Figura N°9

### Estructura Química de la Quercetina



**Fuente:** [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-40042009000100011](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042009000100011).

### 2.3. Definiciones de Términos Básicos

- **Polifenoles:** son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas que tienen al menos un anillo aromático al que están unidos uno o más grupos hidroxilo.
- **Flavonoides:** son fitoquímicos polifenólicos derivados del metabolismo secundario de las plantas, juegan un papel importante en diversos procesos biológicos.
- **Isoflavonas:** son una clase de flavonoides encontrados en las leguminosas. Están implicados en los mecanismos de defensa de la planta ante el herbivorismo.
- **Decocción:** llamada también cocimiento, este procedimiento consiste en llevar a la mezcla de droga a la temperatura de ebullición del agua, manteniendo esta temperatura durante un periodo variable.

- **Droga:** es la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica.
- **Principio Activo:** sustancia que se encuentran en las distintas partes de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistema del cuerpo humano y animal.
- **Cromatografía:** es el método utilizado principalmente para la separación de componentes de una sustancia, en el cual los componentes son distribuidos en dos fases una estacionaria y otra móvil.
- **Cromatografía capa fina:** es una técnica rápida y sencilla que tiene como fin separar mezclas de sustancias y poder identificar o determinar cuantitativamente los componentes individuales de una sustancia.
- **Fase estacionaria:** es una de las dos fases que forma un sistema cromatográfico o puede ser un sólido, un gel o un líquido. Si es un líquido, puede estar distribuido en un sólido el cual puede o no contribuir al proceso de separación.
- **Fase móvil:** es el fluido que se filtra a través o a lo largo del lecho estacionario, en una dirección definida.
- **Factor de retardo:** es el cociente entre la distancia recorrida por el centro de la marcha y la distancia de corrida simultáneamente.
- **Depuración o desintoxicante:** es el proceso mediante el cual el organismo elimina las toxinas exógenas o endógenas, que alteran el equilibrio funcional del individuo alterando el estado de salud.

- **Ebullición:** se asocia al cambio de fase de un fluido. El cambio de estado de vapor a partir de un líquido es posible en todo el intervalo de temperatura limitado entre el punto triple y el crítico de la sustancia.
- **Espectrofotometría:** es un método cuantitativo de análisis químico que utilizan la luz para medir la concentración de las sustancias químicas. Se conocen como métodos espectrofotométricos y según sea la radiación utilizada como espectrofotometría de absorción visible, ultravioleta e infrarroja.

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.1. Tipo de Investigación**

Tipo de investigación Aplicada

#### **3.2. Nivel de investigación**

Nivel de investigación es correlacional

#### **3.3. Método de investigación**

Deductivo

Laboratorio

#### **3.4. Diseño de investigación**

Experimentales

Nos basaremos en la presencia y concentración de grupos polifenólicos en las muestras antes y después del cocimiento en diferentes tiempos.

#### **3.5. Población y Muestreo de la Investigación**

##### **3.5.1. Población**

Sobres de manayupa utilizados en el programa de medicina alternativa y tradicional de Essalud, del local de Villa el Salvador.

##### **3.5.2. Muestra**

03 sobres de contenido 100g./3.53oz N° Lote MAN-150201 de Manayupa empleados en el programa de medicina alternativa y tradicional de Essalud, recolectados del local de Essalud de Villa el Salvador en Noviembre del 2015.

### 3.6. Variables e Indicadores

Variable Independiente (Y):

VARIABLE (Y)	INDICADORES
Tiempo de decocción de manayupa <i>“Desmodium molliculum”</i>	5 minutos luego de ebullición
	10 minutos luego de ebullición
	15 minutos luego de ebullición
	20 minutos luego de ebullición
	25 minutos luego de ebullición
	30 minutos luego de ebullición

Variable Dependiente (X):

VARIABLE (X)	INDICADORES
Contenido de Polifenoles	Contenido de polifenoles a los 5 minutos de decocción.
	Contenido de polifenoles a los 10 minutos de decocción.
	Contenido de polifenoles a los 15 minutos de decocción.
	Contenido de polifenoles a los 20 minutos de decocción
	Contenido de polifenoles a los 25 minutos de decocción.
	Contenido de polifenoles a los 30 minutos de decocción

### 3.7. Procedimiento Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

#### 3.7.1. Procedimiento

- Pesar seis veces 5 gramos de muestra manayupa Essalud “*Desmodium molliculum*”.
- Poner en cada matraz la muestra pesada con 100ml de agua destilada y calentar cada matraz a los tiempos dados a un punto de ebullición por 5min, 10min, 15min, 20min, 25min, 30min.
- Filtrar el extracto de muestra con papel de filtro.
- Enrrasar a 50 mL con agua destilada cada muestra
- Envasar y rotular las seis muestras filtradas en viales

#### Figura N°10

Hojas y tallos de manayupa “*Desmodium molliculum*”



**Fuente:** Elaboración Propia

Procedimiento concentrado de muestras por extracción en fase solida con resina DIAION HP20:

- Pesar 2.0g de resina en un matraz cubrir con 5ml de metanol se mezclara suavemente por agitación durante un minuto.
- Luego se centrifugara por 10 min a 25°C.
- Luego se enjuagará con agua destilada.

Adsorción de la muestra:

- Medir con una pipeta 5 ml del extracto a ser analizada colocar en un matraz junto con la resina agitar por 5 min y dejar en reposo por una hora agitando de cuando en cuando.

Lavado:

- Se realiza un lavado con agua destilada.
- Agitar suavemente por 20 minutos.
- Finalmente se filtra, se concentra en placas Petri en baño de vapor.

### **Figura N°11**

Extracción metanólico con resina



**Fuente:** Elaboración Propia

Procedimiento de la cromatografía capa fina:

- Activar las placas cromatográficas en la estufa a 105°C por 30 min.
- Sacar de la estufa las placas, esperar unos 10 min que se enfríó.
- Luego los seis extractos obtenidos se aplicara a las placas en la línea de siembra a 1.5cm.
- Llevarlos a las cubetas, donde previamente se saturó con la fase móvil compuesta de acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético: agua 20:2.2:2.2:5.2.
- Sacar las placas de las cubetas dejarlas secar al ambiente
- Realizar el revelado con el 2- Aminoethyl diphenylborinate
- Llevarlo a la luz ultravioleta a una longitud de onda de 360nm.

### Figura N°12

Revelador 2-aminoethyl diphenylborinate



**Fuente:** Elaboración Propia

### Figura N°13

#### Cromatografía en capa fina



**Fuente:** Elaboración Propia

#### Procedimiento de espectrofotometría ultravioleta

- Encender el espectrofotómetro y esperar 10 minutos.
- Seleccionar la longitud de onda (258 nanómetros).
- Colocar cada muestra en las celdas limpias, dentro del espectrofotómetro para que se realice la lectura.

### 3.7.2. Técnica

Las muestras de manayupa, se va a someter a decocción en tiempos variables, los extractos obtenidos serán concentrados con resina y se analizarán por cromatografía en capa fina y por espectrofotómetro UV.

#### **Análisis cualitativo en Cromatografía capa fina:**

Se realiza mediante la cromatografía en capa fina que permite resultados comparativos de los tratamientos con dos isoflavonas estándar que se obtendrán luego del procedimiento de ebullición con sus respectivos tiempos.

Especificaciones de la cromatografía en capa fina de Manayupa "*Desmodium molliculum*" empleado en Essalud.

- Placas cromatografías de silica gel de 15cm x 10cm.
- Aplicación de 10 repiques del extracto a 1.5cm del borde inferior. La fase móvil es acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético: agua (20:2.2:2.2:5.2). Deje saturar la cámara cromatografía. Colocar las placas cromatografías en la cámara hasta que la fase móvil se mueva.
- El agente revelador consiste en una solución metanólica al 1% de 2- Aminoethyl diphenylborinate y una solución metanólica al 5% de polietilenglicol.
- **Análisis cuantitativo por espectrofotometría Uv:**

Tratamiento de la muestra

- Coger 2ml de extracto de muestra y diluirlo en 2ml de metanol en un tubo de ensayo agitarlo suavemente.

- Dejar reposar y proceder a leer a 258nm

Preparación del estándar.

- Pesar 8mg de quercitina en un tubo de ensayo y llevar a volumen con metanol de 10ml, tomar 1 mL y diluir a 10 mL.
- Proceder a leer a 258nm cada muestra.
- Pesar 8mg de quercitina en un tubo con 10ml de metanol (peso/volumen en metanol)

### 3.7.3. Instrumentos:

Reactivos:

- Acetato de etilo
- Ácido Acético
- Etanol
- Metanol
- Ácido Fórmico
- Agua Destilada
- Amoniaco
- 2- Aminoethyl diphenylborinate
- Polietilenglicol
- Resina

Materiales y Equipos:

- Matraces
- Probeta
- Bureta
- Pipetas
- Tubos de ensayos
- Placas Petri
- Balanza
- Cámara flujo laminar

- Lámpara Uv
- Espectrofotómetro Uv
- Viales
- Papel de filtro
- Placas cromatografías

## CAPÍTULO IV

### PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Análisis e interpretación de Resultados

La interpretación de los resultados se hizo en base al cromatograma.

##### 4.1.1 Resultados: Cromatografía capa fina

**Tabla N°2**

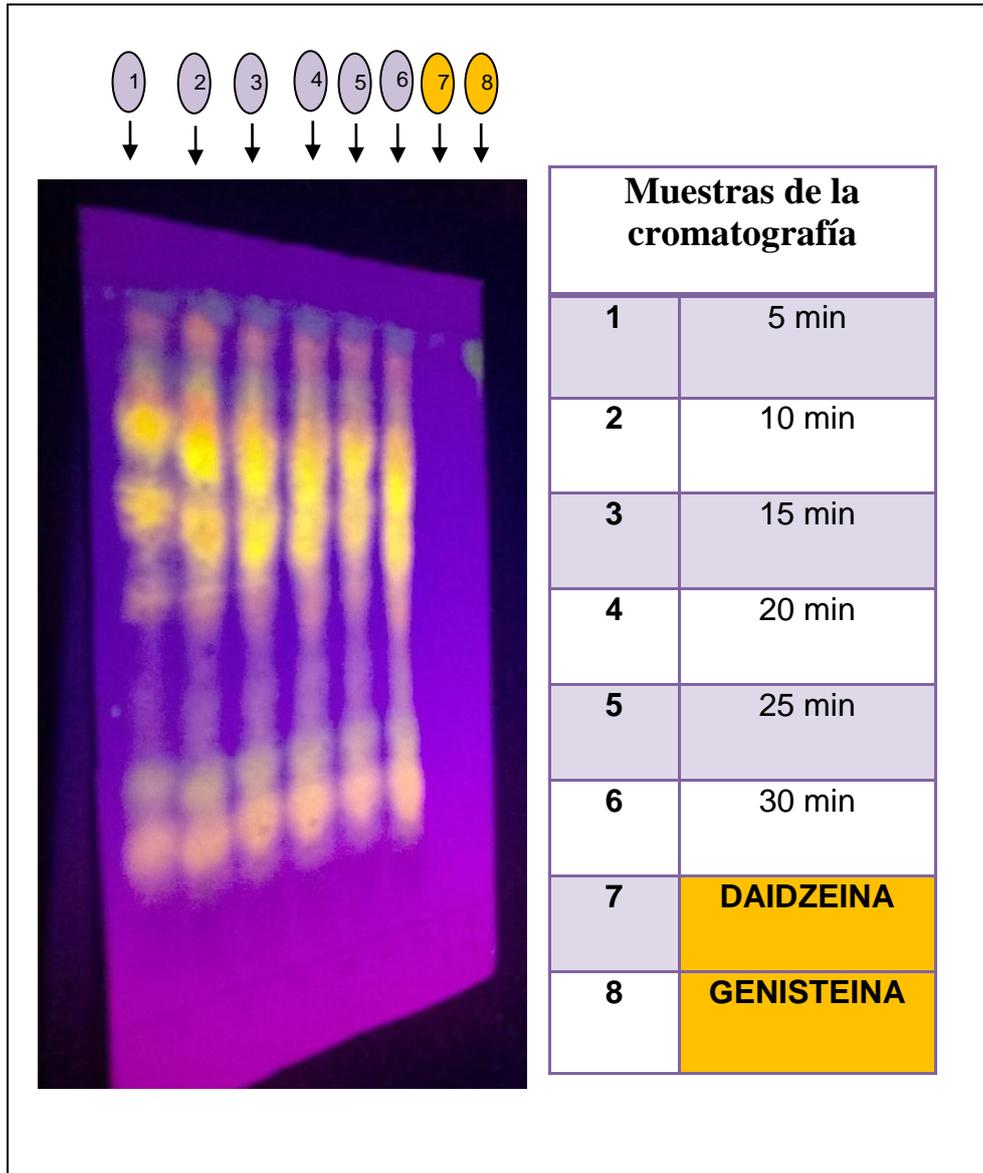
– Desarrollo de la cromatografía de capa fina para muestras

Planta	Fase móvil	Reactivo Revelador	Componentes a identificar	Resultados Esperados
<b>Desmodium molliculum</b>	Acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético-agua(20:2.2:2.2:5.2)	2- Aminoethyl diphenylborinate	Flavonoides Isoflavonoides	Amarillo, verde, rojo, fluorescente Azul fluorescente

**Fuente:** Elaboración Propia

**Tabla N°3**

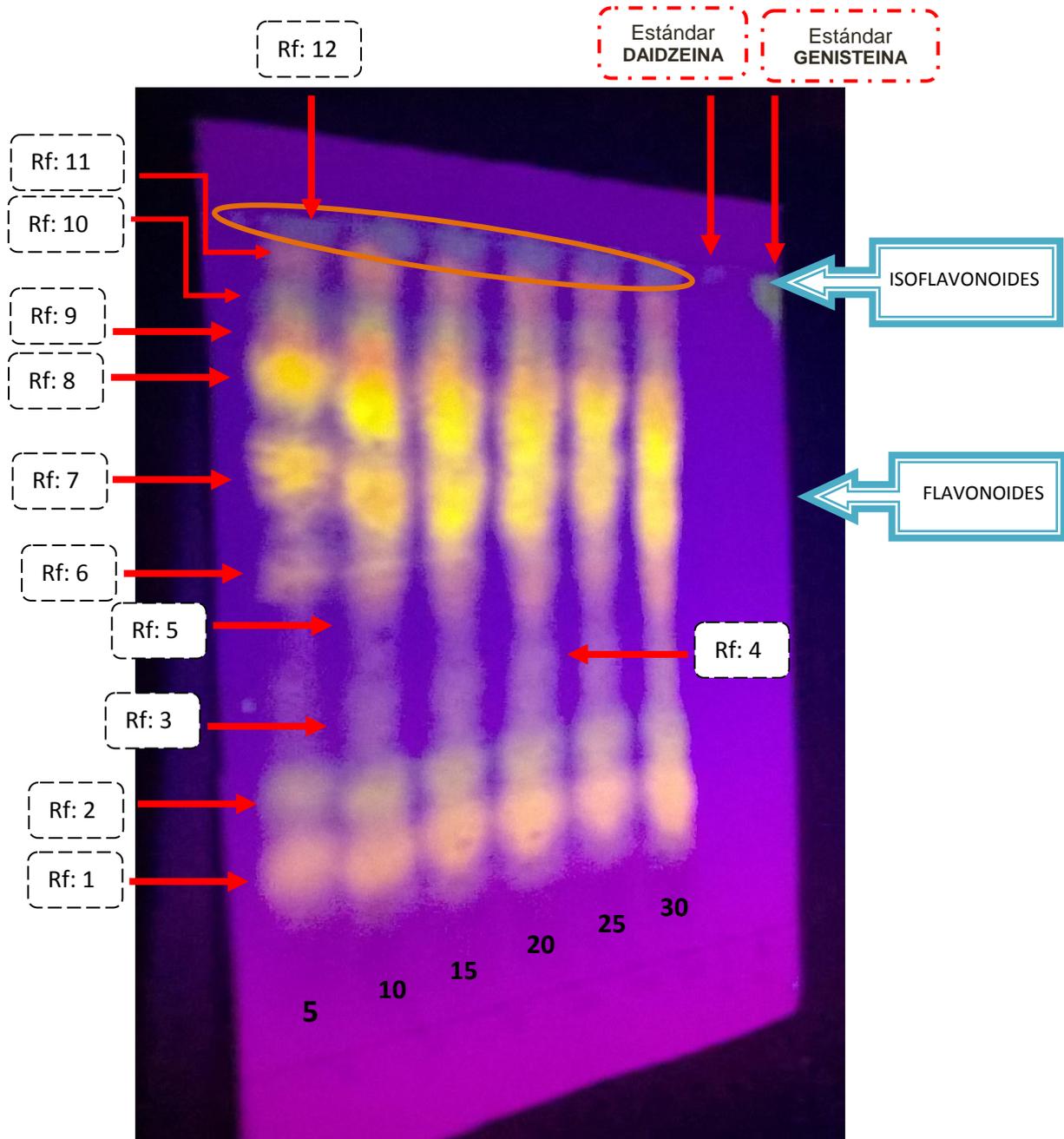
Desarrollo de la cromatografía en capa fina de la muestras estándar de trabajo de manayupa "*Desmodium molliculum*"



**Fuente:** Elaboración Propia

**Figura N°14**

Resultados de la cromatografía en capa fina identificación de isoflavonoides y flavonoides



**Fuente:** Elaboración Propia

**Tabla N°4**

Distancia recorrida por el disolvente Rf

Rf	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	Estándar Daidzeina	Estándar Genisteina
1	0.22	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	--	--
2	0.31	0.29	0.28	0.29	0.29	0.29	--	--
3	--	0.35	0.37	0.37	0.38	0.36	--	--
4	--	--	--	0.41	0.43	0.43	--	--
5	--	0.46	0.47	0.46	0.47	0.48	--	--
6	0.58	0.54	0.53	0.56	0.56	0.56	--	--
7	0.70	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	--	--
8	0.80	0.73	0.76	0.76	0.76	0.76	--	--
9	0.88	0.84	0.83	0.83	0.84	0.84	--	--
10	0.91	0.89	0.87	0.88	0.86	0.85	--	--
11	0.96	0.94	0.93	0.92	0.91	0.91	--	--
12	0.99	0.98	0.98	0.97	0.98	0.98	0.98	0.97

**Fuente:** Elaboración Propia

#### 4.1.2. Resultados espectrofotométrico

**Tabla N°5**

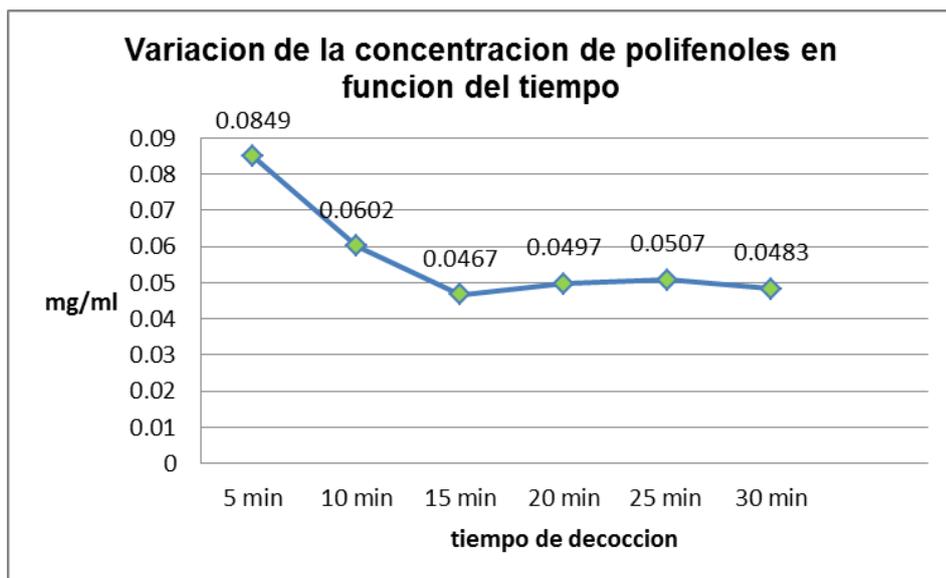
Resultados del análisis Espectrofotométrico

Tiempo	Absorbancia de la muestra	mg/ml
5 minutos	6.000 absorbancia	0.0849 mg/ml
10 minutos	4.252 absorbancia	0.0602 mg/ml
15 minutos	3.3005 absorbancia	0.0467 mg/ml
20 minutos	3.513 absorbancia	0.0497 mg/ml
25 minutos	3.5815 absorbancia	0.0507 mg/ml
30 minutos	3.4115 absorbancia	0.0483 mg/ml

Fuente: Elaboración Propia

**Figura N°15**

Variación de la concentración de polifenoles en función al tiempo



Fuente: Elaboración Propia

## DISCUSION

En el presente trabajo de investigación determina el tiempo de decocción del Manayupa "*Desmodium molliculum*" y el contenido de polifenoles.

Los flavonoides, son un grupo de polifenoles en las plantas, se ha demostrado que emplea efectos positivos sobre la salud humana y desempeña un papel importante en la prevención y/o tratamiento en la inflamación (Acero 2012); como antidiurético (Carrillo 2015); anticonceptivo (Acaro 2013).

También es importante destacar para un mejor rendimiento de obtención de polifenoles empleando el método de absorción con resina. Estos resultados coinciden con los reportados por otro autor en investigaciones previas realizadas (Young Bod 2014). De acuerdo al estudio se demostró que el método de absorción con resina es efectivo para la extracción de flavonoides.

En el proceso de decocción se originó un efecto de disminución en polifenoles. Estos resultados coinciden con los reportados por otros autores en investigaciones previas realizadas (Hernández 2005). De acuerdo a estos autores la disminución observada podría deberse a la sensibilidad térmica de los compuestos con actividad antioxidante presentes en el *Desmodium molliculum*. Desafortunadamente para el consumo de leguminosas y particularmente del *Desmodium molliculum*, es necesaria la decocción previa, de allí la importancia de la investigación sobre los usos del proceso.

Finalmente, de acuerdo a los resultados obtenidos del extracto acuoso del Manayupa *Desmodium molliculum*, se concluyeron que el proceso de decocción degrada los polifenoles presentes en el *Desmodium molliculum*, ya que la reactividad de los anillos aromáticos se ve afectada por la exposición prolongada a altas temperaturas<sup>13</sup>.

## CONCLUSIONES

- El tiempo y la temperatura influyen en la extracción acuosa de los polifenoles en los extractos *Desmodium molliculum*. Los mejores resultados se obtuvieron a los 5 minutos de decocción, obteniéndose 0.0849mg/ml en contenido de polifenoles.
- El contenido de polifenoles en los extractos *Desmodium molliculum* disminuyo en un tiempo de decocción a los 10 minutos, obteniéndose 0.0602mg/ml.
- El contenido de polifenoles en los extractos *Desmodium molliculum*, presentan una degradación con un valor de 0.0467mg/ml a medida que el tiempo de decocción va avanzando o es más largo se mantiene una estabilidad hasta los 30 minutos con un valor de 0.0483mg/ml.
- Por lo tanto la disminución de los polifenoles en los extractos de *Desmodium molliculum*, podría deberse a la sensibilidad térmica de los compuestos de actividad antioxidante, también de los procesos químicos que sufren los polifenoles.

## RECOMENDACIONES

- Según los resultados obtenidos en el Manayupa "*Desmodium molliculum*" debería tener 5 minutos de tiempo de decocción para evitar la disminución de sus polifenoles y aprovechar sus beneficios que son muy importantes para la salud.
- Para una mejor conservación de polifenoles es recomendable mantenerlo en una solución metanólica, para evitar un deterioro de la muestra obtenida.
- Se recomienda tomar todas las precauciones al momento de cuantificar los polifenoles como es un ambiente libre de luz para evitar la degradación de estos compuestos o la lectura al tiempo determinado en la técnica.
- Consumir este producto, ya que posee grandes beneficios para la salud y bienestar de las personas es un producto totalmente natural.
- Realizar un estudio de las propiedades fisicoquímicas de los extractos de otras plantas sometidos a un proceso de decocción.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gamarra C., Chirinos G., Campos. Evaluación de la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos y en extractos ocosos.2004;(57):208-228.
2. Guevara G., Fonseca E., Cuevas Y. Flavonoides y sus acciones antioxidantes.UNAM.2009; 52(2):35-46.
3. Moscol Gamero R. Influencia de la cocción en el contenido de compuestos fenólicos antocianinas, flavonoides 2009.126.
4. Duncan A., Underhill K., Kurzer M. Modes hormonal effects of soy isoflavones in postmenopausal women.1999;84(10):347-351:file://C:/User/Downloads/vol6pag 05-10(1)pdf.
5. Willard H., Merritt L. Dean, F., Settle Jr, "Métodos Instrumentales de análisis", Grupo Editorial Iberoamericana S.A. de C.V., México (1996):<http://www.uib.es/depart/dqu/dquo/pau/Cromatograf%92a/chrom10/chrom/GC/concept/main.htm>.
6. Cifuentes, Vargas Erika, Gallego, Castellano Adriana. Cromatografía: <http://es.slideshare.net/tatianacifuentes13/articulo-cromatografia>.
7. Chang, Artenio, Klinar, Silvia, Castillo, Patricia, Peralta, Katia. SCREENING FITOQUIMICO DE *Gentianella alborosea*, *Desmodium sp.* Y *Tiquilia paronychioides*.UNICA-IPIFA.2009:7-11.
8. Acaro Chuquicaña, Fidel Ernesto. Efecto anticonceptivo y postcoital del extracto etanolico de las hojas del *Desmodium molliculum* (H.B.K.) DC Manayupa en Ratas Holtzmann.Eciperu.2013; 9(2):33-41.



15. Elejalde Caravaca, Edurme. Aplicación de métodos espectroscópicos al estudio de las características de los componentes polifenólicos presentes en vino. Univ. del País Vasco.1999.Pag 41.  
<http://hedatuz.euskomedia.org/6568/1/05039066.pdf>
16. Alejandro Martínez M..Flavonoides. Univ. de Antioquia.2005. Pag.19.<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>
17. Hernandez Garcia, Gilberto (2005). Efectos del procesamiento sobre la actividad antioxidante de Cjanus Cajan.Univ. Simos Bolivar. Pag 15.<http://159.90.80.55/tesis/000130459.pdf>.
18. Young Beob Yu (2014). The Effective Preparation of Flavonoids from Scutellaria baicalensis GEORGI by Diaion HP-20 Resin. Departmente of Herbal Pharmaceutical Developmente, Nambu University 506-706, Korea.
19. Quiñones (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables. Departamento de Farmacologia Facultad de Medicina. Univ. Complutense. Madrid. España.
20. Catalino de la Rosa (2012). Cuantificacion de flavonoides en extractos metanolicos de Glycine max.Univ. del Pais de Colombia2012;1;1; pag.39-42.

# ANEXOS

**ANEXO N°1**  
**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

**TIEMPO DE DECOCCION DE MANAYUPA “*Desmodium molliculum*” Y EL CONTENIDO DE POLIFENOLES.**

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLE	PROBLEMA Y MUESTRA
<p>¿Cuál es la relación entre el tiempo de decocción de manayupa y el contenido de polifenoles?</p> <p><b>PROBLEMA ESPECIFICO</b></p> <p>- ¿Cuál es el efecto de 5 min de decocción en el contenido de polifenoles?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto de 10 min de decocción en el contenido de polifenoles?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto de 15 min de decocción en el contenido de polifenoles?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto de 20 min de decocción en el contenido de polifenoles?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto de 25 min de decocción en el contenido de polifenoles?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto de 30 min de decocción en el contenido de polifenoles?</p>	<p>Determinar la relación entre el tiempo de decocción de manayupa “<i>Desmodium molliculum</i>” y el contenido de polifenoles.</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECIFICOS</b></p> <p>- Determinar el efecto de 5 min de decocción en el contenido de polifenoles.</p> <p>- Determinar el efecto de 10 min de decocción en el contenido de polifenoles.</p> <p>- Determinar el efecto de 15 min de decocción en el contenido de polifenoles.</p> <p>- Determinar el efecto de 20 min de decocción en el contenido de polifenoles.</p> <p>- Determinar el efecto de 25 min de decocción en el contenido de polifenoles.</p> <p>- Determinar el efecto de 30 min de decocción en el contenido de polifenoles.</p>	<p>El tiempo prolongado de decocción de manayupa “<i>Desmodium molliculum</i>” disminuye significativamente el contenido de polifenoles.</p> <p><b>HIPOTESIS ESPECIFICOS</b></p> <p>- A los 5 min de decocción disminuye 10% del contenido de polifenoles.</p> <p>- A los 10 min de decocción disminuye 30% del contenido de polifenoles</p> <p>- A los 15 min de decocción disminuye 50% del contenido de polifenoles.</p> <p>- A los 20 min de decocción disminuye 70% del contenido de polifenoles.</p> <p>- A los 25 min de decocción disminuye 90% del contenido de polifenoles.</p> <p>- A los 30 min de decocción disminuye 100% del contenido de polifenoles.</p>	<p><b>TIPO DE INVESTIGACION</b></p> <p>Aplicada</p> <p><b>NIVEL DE INVESTIGACION</b></p> <p>Correlacional</p>	<p><b>METODO DE INVESTIGACION:</b></p> <p>Deductivo Laboratorio Método caso.</p> <p><b>DISEÑO DE INVESTIGACION:</b></p> <p>Experimental</p>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE (x):</b></p> <p>Tiempo de decocción de manayupa “<i>Desmodium molliculum</i>”.</p> <p><b>INDICADORES:</b></p> <p><b>Y1:</b> 5min luego de ebullición. <b>Y2:</b> 10min luego de ebullición. <b>Y3:</b> 15 min luego de ebullición <b>Y4:</b> 20 min luego de ebullición <b>Y5:</b> 25 min luego de ebullición. <b>Y6:</b> 30 min luego de ebullición.</p> <p><b>VARIABLE DEPENDIENTE(Y):</b></p> <p>Contenido de Polifenoles.</p> <p><b>INDICADORES:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Contenido de polifenoles a los 5 minutos de decocción.</li> <li>- Contenido de polifenoles a los 10 minutos de decocción.</li> <li>- Contenido de olifenoles a los 15 minutos de decocción.</li> <li>- Contenido de polifenoles a los 20 minutos de decocción.</li> <li>- Contenido de polifenoles a los 25 minutos de decocción.</li> <li>- Contenido de polifenoles a los 30 minutos de decocción.</li> </ul>	<p><b>POBLACION:</b></p> <p>Sobres de manayupa utilizados en el programa de medicina alternativa y tradicional de Essalud, del local de Villa el Salvador.</p> <p><b>MUESTRA:</b></p> <p>03 sobres de contenido 100gr./3.53oz N° Lote MAN-150201 de Manayupa empleados en el programa de medicina alternativa y tradicional de Essalud, recolectados del local de Essalud de Villa el Salvador en Noviembre del 2015.</p>

**ANEXO N°2**  
**CERTIFICADOS DE ANALISIS**

# Foto N°1

## Certificado de Análisis de Genisteina

**SIGMA-ALDRICH**

[sigma-aldrich.com](http://sigma-aldrich.com)

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)

Email USA: [techserv@sial.com](mailto:techserv@sial.com)

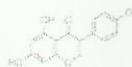
Outside USA: [eurtechserv@sial.com](mailto:eurtechserv@sial.com)

### Certificate of Analysis

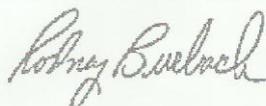
Product Name:

Genistein - synthetic, ≥98% (HPLC), powder

Product Number: G6649  
Batch Number: SLBP6095V  
Brand: SIGMA  
CAS Number: 446-72-0  
MDL Number: MFCD00016952  
Formula: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>  
Formula Weight: 270.24 g/mol  
Storage Temperature: Store at -20 °C  
Quality Release Date: 09 OCT 2015



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Off-White to Yellow	Faint Yellow
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Faint Yellow to Light Yellow	Light Yellow
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
10 mg/mL, CHCl <sub>3</sub> :MeOH (1:1)		
Origin	Synthetic	Synthetic
EmM	36.1 - 36.8	36.3
Lambda max 262 to 263 nm in EtOH		
Purity (HPLC)	≥ 98 %	98 %



Rodney Burbach, Manager  
Analytical Services  
St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at [Sigma-Aldrich.com](http://Sigma-Aldrich.com). For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 1

Page 1 of 1

## Foto N°2

### Certificado de análisis de Daidzeina

**SIGMA-ALDRICH**

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)

Email USA: [techserv@sial.com](mailto:techserv@sial.com)

Outside USA: [eurtechserv@sial.com](mailto:eurtechserv@sial.com)

### Certificate of Analysis

Product Name:

Daidzein - ≥98%, synthetic

Product Number: D7802  
Batch Number: 085M4116V  
Brand: SIGMA  
CAS Number: 486-86-8  
Formula: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>  
Formula Weight: 254.24 g/mol  
Storage Temperature: Store at -20 °C  
Quality Release Date: 28 JAN 2015  
Recommended Retest Date: JAN 2018



Test	Specification	Result
Appearance (Form)	Powder	Powder
Appearance (Colour)	Off-White to Light Yellow	Off-White
Solubility (Solvent)	Dimethylsulfoxide	Dimethylsulfoxide
Solubility (Conc)	9,80 - 10,20 mg/ml	10,00 mg/ml
Solubility (Turbidity)	Clear to Slightly Hazy	Clear
Solubility (Color)	Colorless to Light Yellow	Faint Yellow
Water (by Karl Fischer)	≤ 0,00 %	0,35 %
Elemental Anal. (%C anhydrous)	70,40 - 71,40 %	70,45 %
Purity (TLC)	≥ 98,00 %	98,00 %
NMR (Solvent)	DMSO-d <sub>6</sub>	DMSO-d <sub>6</sub>
Identity by NMR	Consistent	Consistent with Structure
NMR (Residual Solvent 1)	Methanol	Methanol
NMR (% Solvent 1)	≤ 2,00 %	0,00 %
NMR (Residual Solvent 2)	Ethanol	Ethanol
NMR (% Solvent 2)	≤ 2,00 %	0,37 %
NMR (Total % Resid.Solvents)	≤ 2,00 %	0,37 %
Storage Conditions	Under Argon	Under Argon

*Theo Ackermann*

Theo Ackermann PhD MScEng CQM  
Manager, Quality and Regulatory Affairs

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at [Sigma-Aldrich.com](http://Sigma-Aldrich.com). For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

### Foto N°3

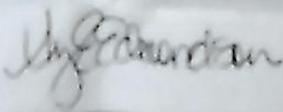
## Certificado de análisis de Resina Diaion HP20

**Certificate of Analysis**  
Diaion HP20 Resin

Catalog Number: 13605  
Test Date: 03/09/15  
Supelco Lot Number: 72185  
Manufacturer Lot Number: 5A502

*Analytical data provided by manufacturer*

Test	Specification	Results
Water Content	55 - 65 %	59.4 %
Effective Size	$\geq 0.25$ mm	0.35 mm
Particle Size Distribution through 250 $\mu$ m	$\leq 10$ %	1.8 %
Uniformity Coefficient	$\leq 1.6$	1.4

  
Quality Control Supervisor

**SUPELCO**  
Supelco Park - Bellefonte, PA  
16823-0048 USA

**ANEXO N°3**  
**FOTOGRAFIAS**

Foto N°4



Estándar Daidzeina

Foto N°5



Estándar Genisteina

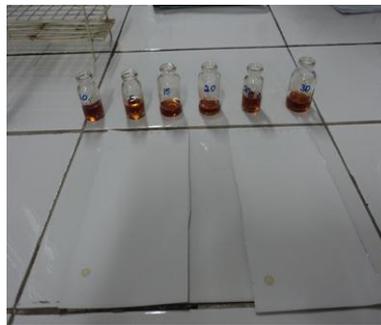
Foto N°6

Preparación de la muestra "Desmodium molliculum"



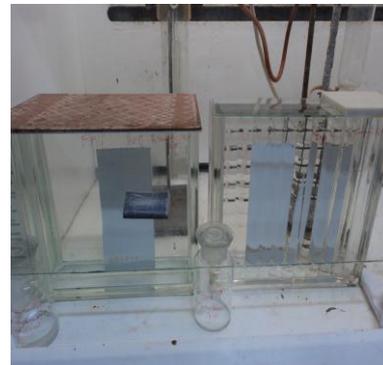
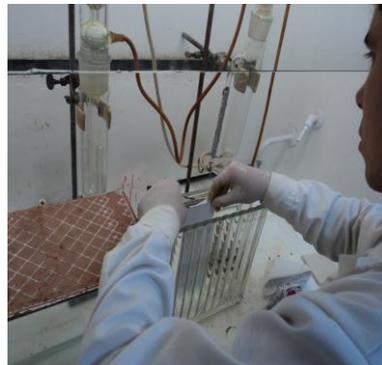
**Foto N°7**

Filtración y envasado de las muestras



**Foto N°8**

Procedimiento a la cromatografía capa fina



**Fuente:** Elaboración Propia

**Foto N°9**

Preparación del estándar Quercitina



**Foto N°10**

Espectrofotómetro

