



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

**TESIS**

**“Determinación de estabilidad química de Polifenoles en extracto alcohólico de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*), comercializadas en el Distrito de Santiago de Surco, periodo Noviembre 2013 – Enero 2014”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR: JAYO HUAMÁN, Sheyla Margaret**

**ASESOR: Q.F BARRETO YAYA, Danilo**

**LIMA – PERÚ**

**2014**

## **Dedicatoria**

A mi madre, por toda su dedicación, comprensión y esfuerzos durante estos años.

A mi familia y amigos, por su apoyo, consejos e incondicionalidad cada vez que lo requería.

## **Agradecimientos**

A mis profesores, porque sus enseñanzas fueron esenciales para nuestra formación académica y humana.

A la Universidad Alas Peruanas, facultad de Farmacia y Bioquímica que me permitió utilizar sus instalaciones.

A mis asesores, que me guiaron y direccionaron, para la elaboración del presente informe.

## RESUMEN

En las últimas décadas encontramos una tendencia global por regresar a lo natural, y la utilización de productos fitofarmacéuticos no es la excepción; sin embargo más allá de ser una simple moda este es un punto clave para regular la seguridad y la eficacia de estos productos, ya que hasta el momento no cuentan con parámetros o pautas bien establecidas, como si los tienen los medicamentos obtenidos por síntesis química.

El presente informe plantea una metodología para evaluar la estabilidad química de polifenoles en extractos de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). Se tomó en cuenta para la evaluación parámetros físicoquímicos y fitoquímicos.

La prueba de estabilidad se realizó en tres tipos de extractos alcohólicos de Yacón, los cuales fueron sometidos a condiciones de estrés: Rayos UV, oxidación, pH fuertemente ácido y básico, pasado el tiempo máximo de sometimiento (2 horas); se obtuvieron resultados favorables para las tres primeras condiciones de estrés, es decir no presentaron degradación de sus compuestos, pero el pH alcalino destruyó todo rastro de polifenoles en las muestras.

En los resultados cromatográficos apreciamos que ni la hidrólisis ácida, ni la radiación UV, degradaron los flavonoides; en la muestra sometida a oxidación sólo se degradó el tercer R<sub>f</sub>, mientras que la hidrólisis básica como anteriormente mencioné hubo destrucción total de los componentes del extracto.

Los resultados por espectrofotometría nos muestran que en el extracto de yacón sometido a hidrólisis alcalina resulta en la total eliminación de polifenoles, mientras que en el extracto Fitosana la oxidación e hidrólisis degradando la muestra.

## ABSTRACT

In recent decades found an overall tendency to return to nature, and use of plant protection products is no exception, but beyond being a simple fashion this is a key point for regulating the safety and efficacy of these products, and so far has not established guidelines or facing, as if the drugs are produced by chemical synthesis.

This report presents a methodology for assessing the chemical stability of polyphenols in extracts of Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) . It was taken into account for the physicochemical parameters and phytochemical evaluation.

The stability test was performed on three types of alcoholic extracts of Yacón, which were subjected to stress conditions: UV rays , oxidation, pH strongly acidic and basic , past the maximum time of submission (2 hours ), favorable results were obtained for the first three conditions of stress, showed no degradation compounds , but the alkaline pH destroyed all traces of polyphenols in the samples.

In the chromatographic results appreciate that neither the acid hydrolysis , or UV radiation degraded flavonoids , in the sample subjected to oxidation only degraded third Rf , while basic hydrolysis as previously mentioned there was complete destruction of the components of the extract.

The results show that by spectrophotometry in yacón extract is subjected to alkaline hydrolysis in the total elimination of polyphenols in the extract while the oxidation and hydrolysis Fitosana degrading sample.

The results show that by spectrophotometry in yacón extract is subjected to alkaline hydrolysis in the total elimination of polyphenols in the extract while the oxidation and hydrolysis Fitosana degrading sample.

## ÍNDICE

CARÁTULA.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE	
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	xii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.1 Descripción de la Realidad Problemática:.....	1
1.2 Formulación del Problema .....	2
1.2.1 Problema General .....	2
1.2.2 Problema Específico.....	2
1.3 Objetivos de la Investigación .....	2
1.3.1 Objetivo General .....	2
1.3.1 Objetivos Específicos.....	3
1.4 Hipótesis de la Investigación: .....	3
1.4.1 Hipótesis General.....	3
1.4.2 Hipótesis Secundarias. ....	3
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	3
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	5
2.1 Antecedentes de la Investigación. ....	5
2.2 Bases Teóricas: .....	6
2.3 Definición de Términos Básicos: .....	7

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	9
3.1 Tipo de Investigación.....	9
3.1.1 Método: .....	9
3.1.2 Técnica: .....	9
3.1.3 Diseño: .....	9
3.2 Población y Muestreo de la Investigación.....	10
3.2.1 Población.....	10
3.2.2 Muestra.....	10
3.3 Variables e Indicadores.....	11
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos: .....	11
3.4.1 Técnicas Cromatográficas.....	11
3.4.1.1 Procedimiento Cromatografía.....	12
3.4.1.2 Reacción de Shinoda.....	13
3.4.1.3 Reacción Espectofotometría.....	14
3.4.2 Instrumentos.....	15
3.4.2.1 Materiales de Laboratorio.....	15
3.4.2.2 Insumos de Laboratorio.....	16
3.4.2.3 Equipo de Laboratorio.....	17
 CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	 18
4.1 Resultados de Cromatografía.....	18
4.2 Resultados de Reacción de Shinoda.....	24
4.3 Resultados de Espectofotometría.....	25
 CONCLUSIONES.....	 35
 RECOMENDACIONES.....	 37
 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	 38
 ANEXOS.....	 40

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°01	
Selección de la Fase Móvil.....	18
(Fuente propia)	
Tabla N°02	
Rf de Cromatografía Extracto de Yacón .....	20
(Fuente propia)	
Tabla N°03	
Cromatografía de muestras sometidas a Condiciones Extremas .....	20
(Fuente propia)	
Tabla N°04	
Resultado de Reacción de Shinoda en Extractos de Yacón.....	24
(Fuente propia)	



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 01. Extractos de Yacón Fitosana, Ext. Yacón Sabia Natura y Extracto de Yacón elaborado en Lab. UAP – Elaboración propia.....	10
GRÁFICO N° 02. Muestras con FeCl <sub>3</sub> (Izquierda) y Reacción de Shinoda en Extractos de Yacón (Derecha) – Elaboración propia.....	14
GRÁFICO N° 03. Selección de fase móvil y cromatoplasmas de solvente 3, elaboración propia.....	19
GRÁFICO N° 04. Imagen de Cromatografía de extracto de Yacón, Ext. Fitosana y Ext. Sabia Natura - elaboración propia.....	19
GRÁFICO N° 05. Imagen de las tres muestras sometidas a de exposición de rayos UV, pasado el tiempo límite de 2 horas - elaboración propia.....	21
GRÁFICO N° 06. Imagen de Resultados de Cromatografía de Capa fina en las tres muestras analizadas, sometidas a condiciones extremas – Elaboración propia.....	23
GRÁFICO N° 07. Universidad nacional de Patagonia San Juan Bosco, Facultad de Ciencias Naturales Departamento de Farmacia.....	24
GRÁFICO N° 08. Espectros UV/vis típicos de diversos tipos de flavonoides – Autor José Martín Bedoya.....	26

GRÁFICO N° 09.	
Andersen Oyvind; Markham Kenneth; "Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications" pag. 10,11, CRC Press 2006 USA.....	26
GRÁFICO N° 10.	
Espectofotometría UV, Muestra Extracto de Yacón FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014.....	27
GRÁFICO N° 11.	
Andersen Oyvind; Markham Kenneth; "Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications" pag. 10,11, CRC Press 2006 USA.....	28
GRÁFICO N° 12.	
Espectofotometría UV, Muestra Extracto sometida a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014.....	28
GRÁFICO N° 13:	
Espectofotometría UV, Muestra Extracto de Yacón sometida a UV. FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014.....	29
GRÁFICO N° 14: Espectofotometría UV , Muestra Extracto de Yacón FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal sometida a HCl.....	29
GRÁFICO N° 15:	
Espectofotometría UV, Muestra Extracto de Yacón sometida NaOH FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014.....	30
GRÁFICO N° 16:	
Espectofotometría UV, Extracto de Yacón Fitosana. FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014.....	31

GRÁFICO N° 17.

Andersen Oyvind; Markham Kenneth; "Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications" pag. 10,11, CRC Press 2006 USA..... 31

GRÁFICO N° 18.

Espectofotometría UV, Extracto de Yacón Fitosana sometida H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014..... 32

GRÁFICO N° 19:

Espectofotometría UV, Extracto Fitosana sometida a rayos UV FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014..... 33

GRÁFICO N° 20.

Espectofotometría UV, Extracto Fitosana sometida HCl FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014..... 33

GRÁFICO N° 21:

Espectofotometría UV, Muestra Extracto Fitosana sometida NaOH FUENTE: Universidad Nacional Federico Villareal – 2014..... 34

## INTRODUCCIÓN

El Yacón es una planta doméstica utilizada hace varios siglos por los pobladores peruanos, hasta hace poco tiempo se cultivaba solo en huertos, pero recientemente se ha empezado a descubrir y difundir alguna de sus propiedades, se ha generado en la población un creciente interés por este producto. Es así que desde hace algunos años el Yacón ha empezado a llegar a los mercados urbanos, incluyendo cadenas de supermercados.

Las plantas de este cultivo producen un tipo especial de raíz “El Yacón”, el cual tiene una particularidad de comerse en forma fresca a pesar de ser una raíz, y sus propiedades han convertido al Yacón en un recurso importante para el mercado de productos dietéticos y de personas que padecen diabetes.

En Perú actualmente se comercializa este producto en diferentes áreas como por ejemplo casas naturistas, farmacias y mercados, y se venden en diferentes presentaciones como son: Cápsulas, néctares, tinturas, extractos, harinas, entre otros; pero el motivo del desarrollo del presente estudio, está centrado en la investigación de “Polifenoles en Extractos de Yacón”, pues estos metabolitos son los principales responsables de su actividad terapéutica.

Por tal razón, este trabajo evaluará las propiedades fitoquímicas de los diferentes Extractos de Yacón, con el fin de determinar la estabilidad química de metabolitos como los polifenoles, y hacer una aproximación a su durabilidad y estabilidad de los productos en mención, mientras se encuentren en los anaqueles para su venta.

Dentro de las técnicas para el análisis de un producto fitoterapéuticos encontramos la cromatografía de capa fina y la espectrofotometría las cuales son importantes porque nos da la información necesaria sobre la homogeneidad de los componentes químicos y así garantizar que las sustancias responsables de la actividad farmacológica estén presentes en el nivel adecuado.

Toda información estará fundamentada y detallada en base a estudios científicos que sustenten de manera coherente y concreta toda la investigación realizada y en

consecuencia los resultados obtenidos serán beneficiosos para estudios posteriores, permitiendo profundizar más en los conocimientos sobre el Yacón.

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática

El Yacón es uno de los 11 tubérculos y raíces andinas medicinales mantenidas en custodia en el banco genético del Centro Internacional de la Papa. Se cultiva desde hace más de 3,000 años, y estudios realizados en Japón y Brasil respaldan sus beneficios saludables y sus múltiples propiedades medicinales; Se encuentra en altitudes de hasta 3200 metros, es nativo de las bajas regiones de los Andes del Perú posee una textura crujiente y sabor dulce con un delicado sabor a la manzana o al melón y una dulzura sorpresiva que aumenta con el estacionamiento.

La raíz o el tubérculo del Yacón es una fuente rica de Polifenoles, metabolito responsable de sus propiedades medicinales, también posee hasta un 67% de fructooligosacaridos (FOS). Estos compuestos ayudan a dar al tubérculo su sabor dulce sin embargo la mayoría de estos tipos de azúcar no son fácilmente digeridos o metabolizados por humanos. Por esta razón, el Yacón muestra mucha promesa como una comida para diabéticos y como una base para endulzantes bajos en calorías por lo que se recomienda en personas con sobrepeso; además de todos los beneficios que brinda.

En nuestro país se comercializan los tubérculos además de diferentes productos como: extractos, tinturas, cápsulas, harinas, néctares, té, etc. Así se puede encontrar en los diferentes mercados distritos de Lima, extractos de Yacón. El problema radica en que muchos de estos extractos se encuentran sin Registro Sanitario, lo cual nos hace suponer que habría problemas de calidad y seguridad de los productos sin Registro Sanitario; y tampoco se tiene certeza sobre la fecha de vencimiento (durabilidad) de estos productos.

Entonces se puede decir que existe poco control en la comercialización y en la calidad de productos naturales, usados en medicina tradicional, lo anterior lleva a plantear esta investigación enfocada en la estabilidad fitoquímica de extractos alcohólicos de Yacón.

## **1.2 Formulación del Problema**

### **1.2.1 Problema general**

¿Cuál es la estabilidad química de polifenoles en extracto alcohólico de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*), comercializadas en el Distrito de Santiago de Surco, periodo Noviembre 2013 – Enero 2014?

### **1.2.2 Problema Específico**

- ¿Cuál es la estabilidad química de flavonoides en extracto alcohólico de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) comercializadas en el Distrito de Santiago de Surco, periodo Noviembre 2013 – Enero 2014?
- ¿Se mantienen las características fitoquímica del extracto alcohólico de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) sometidas a condiciones de estrés?

## **1.3 Objetivos de la Investigación**

### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar la estabilidad química de polifenoles en extracto alcohólico de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*), bajo condiciones de estrés.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar la estabilidad química de flavonoides en extracto alcohólico de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*).
- Determinar la estabilidad fitoquímica del extracto alcohólico de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*).

## **1.4 Hipótesis de la Investigación**

### **1.4.1 Hipótesis General**

La estabilidad química de polifenoles en extracto alcohólico (*Smallanthus sonchifolius*), sometidas a condiciones de estrés no se mantiene.

### **1.4.2 Hipótesis Secundarias**

- La estabilidad química de flavonoides en extracto alcohólico (*Smallanthus sonchifolius*), no se mantiene.
- Las características fitoquímicas serán alteradas por las condiciones de estrés.

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

Actualmente tenemos investigaciones relacionadas a la determinación de polifenoles en diferentes productos fitofarmacéuticos (frutos, vegetales, raíces, tallos y sábilas); pero encontramos pocos trabajos que profundicen en la “Estabilidad química de polifenoles en Extracto de Yacón”; mucho menos estudios que ahonden en las características fitoquímicas de este tubérculo.



Por esta razón es importante plantear una investigación que profundice más en el tema de “Estabilidad química de Polifenoles”; no solo por las propiedades farmacológicas que posee, sino también para conocer si realmente son extractos verdaderos de Yacón, que poseen la calidad y seguridad para ser comercializados y esto podrá determinarse mediante el estudio de sus propiedades fitoquímicas.

La calidad es un requisito básico, porque constituye la base para la reproductividad de los parámetros de seguridad y eficacia; parámetros que resultan ser más complejos en productos hechos a partir de plantas medicinales. Generalmente un fitofármaco es un sistema complejo de compuestos, por lo que su demostración de la estabilidad de los componentes se hace mucho más difícil.

Además este estudio nos permite conocer la efectividad, calidad y el tiempo de vida útil de los productos en mención, nos permite conocer también las alteraciones que sufre cuando se encuentra en almacenamiento, y nos dará los lineamientos para que estos productos no sufran una degradación anticipada.

Este estudio es muy importante, ya que se pretende determinar la estabilidad de los productos que se expenden para prevenir fallo terapéutico y reacciones contrarias, y así beneficiar a la población que consume este tipo de productos.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de la Investigación

- En el año 2003 en la investigación, realizada por Breda Simonovska a, Irena Vovk a, Samo Andresek a, Katerina Valentová b, Jitka Ulrichová, se llega a la conclusión de que el Yacón contiene compuestos fenólicos (2).
- La Organización Mundial de la Salud OMS (WHO) tiene injerencia en la calidad seguridad y eficacia de productos farmacéuticos, y recomienda la obligatoriedad de la presentación de la fecha de vencimiento de los productos fitofarmacéuticos como las tinturas(8).
- En el año 2009 Sieres Pedraja Eneyda y Nieto Acosta Olga describen un método por cromatografía en capa fina para evaluar la estabilidad de tinturas obtenidas a partir de Quassia amara y Maytenus ilicifolia.(4)
- En el año 2008 Flores Barrios Wendy plantea una metodología para la evaluación de la estabilidad acelerada de una tintura obtenida a partir de plantas medicinales en la que se toma en cuenta parámetros fisicoquímicos y fitoquímicos(3)
- En el año 2009 en la investigación, realizada por Fabiana L. Goularte Dutra y Rosmery Hoffmann Ribani – Departamento de Energía Química Universidad Federal de Paraná se llega a la conclusión de que el método utilizado de cromatografía podría ser utilizado para la investigación realizada.(1)
- Al hablar de estabilidad la definimos como la capacidad que posee un producto para mantener sus condiciones y características dentro de los límites específicos a través de un período de almacenamiento y uso. Este deberá mantener las mismas características que tenía en el momento de su manufactura.
- Existen varios factores que pueden afectar la estabilidad del producto y cada componente de un medicamento puede ser responsable potencial de un cambio en la potencia del producto. Los principales factores son:

factores ambientales, tales como temperatura, radiación, luz, aire (presencia de oxígeno, dióxido de carbono y vapor de agua), humedad, tamaño de partícula, pH, propiedades de los disolventes o del agua, naturaleza de los contenedores y contaminantes.

## 2.2 Bases Teóricas:

Clasificación Taxonómica:

El yacón es una especie de la familia Asteraceae (Compositae) cuyo nombre botánico es *Smallanthus sonchifollus*)

Subreino	:	Eucaryotes
División	:	Magnoliophyta (plantas con flor)
Orden	:	Asteridae.
Familia	:	Asteraceae – Compositae}
Género	:	<i>Smallanthus</i> Mackenzie
Especie	:	<i>Smallanthus fruticosa</i> <i>Smallanthus gradratas</i> <i>Smallanthus parviceps</i> <i>Smallanthus riparias</i>

Los Polifenoles son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los polifenoles son generalmente subdivididos en: Taninos, ligninas y flavonoides.

Los polifenoles derivadas de los metabolitos secundarios de las plantas de la ruta del ácido shikímico,

Para los químicos los flavonoides tienen una estructura química muy definida puede observarse que de manera general son moléculas que tienen dos anillos bencénicos (aromáticos) unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono, los autores los denominan simplemente como compuestos C6C3C6.

### 2.3 Definición de Términos Básicos:

- Polifenoles: Son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los Polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides, como la lignina, flavonoides y taninos condensados.
- Yacón: (*Smallanthus sonchifolius*) Familia de los girasoles, es un tubérculo cultivados en las zonas cálidas y templadas de la Cordillera de los Andes, posee una textura crujiente y una sabor dulce, además también posee propiedades prebióticas y se cree que tiene un efecto favorable en la flora intestinal.
- Extractos: Son sustancias obtenidas por la extracción de una parte la materia prima (hojas, frutos, tallo, tubérculos), a menudo usando un solvente como etanol, metanol o agua. Los extractos pueden comercializarse como tinturas o hasta en forma de polvo.
- Flavonoides: (del latín “flavus”, amarillo) es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. La estructura base es C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones, por lo que la familia de flavonoides es muy diversa.

Los flavonoides han adquirido notoriedad pública a raíz de su actividad biológica en el hombre (antimicóticos, anticancerígenos, hipoglucemiantes, entre otros).

- Fitofarmacéuticos: (del griego “fito”, planta y “fármaco” medicamento), son medicamentos que contienen como principio activo exclusivamente plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien preparaciones obtenidas a partir de ellas.

- Características fisicoquímicas: Se llama fisicoquímica a la parte de la química que estudia las propiedades físicas y estructura de la materia, las leyes de la interacción química y las teorías que las gobiernan. La fisicoquímica recaba primero todos los datos necesarios para la definición de los gases, líquidos, sólidos, soluciones y dispersiones coloidales a fin de sistematizarlos en leyes y darles un fundamento teórico.
- Características fitoquímicas: Disciplina científica que contiene como objeto el aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias producidas por los vegetales.
- fructooligosacaridos (FOS): Oligosacárido lineal formado por 10 – 20 monómeros de frutosa, unidos por un enlace  $\beta(1-2)$  y que puede contener una molécula de glucosa. Llamados también oligofruktosas (FOS), suele utilizarse como sustituto del azúcar, es decir como edulcorantes.
- Cromatografía de capa fina: Técnica cromatográfica, la fase estacionaria es una capa uniforme de un solvente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte. Consiste en una fase estacionaria polar (sílica gel) y un eluyente apolar, generalmente orgánico.
- Espectrofotometría: Instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.
- Condiciones de estrés: Se llama así porque se somete a las muestras a situaciones extremas de almacenamiento, para lo cual se aumentó la oxidación, hidrólisis ácida y básica de las muestras.
- Estabilidad: Se puede llamar estabilidad al tiempo de vida útil en anaquel de un producto, permitiendo garantizar calidad, efectividad y propiedades terapéuticas.

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1 Tipo de Investigación

##### 3.1.1 Método:

- **Deductivo**  
Por qué se partirá del análisis general proporcionado por la bibliografía “Determinación de estabilidad química de Polifenoles” para la determinar la estabilidad de Flavonoides en extractos de Yacón, en tres diferentes muestras del extracto del tubérculo.
- **Análisis**  
Por qué se determinó la estabilidad química de polifenoles, en las diferentes muestras de extracto de Yacón mediante pruebas de laboratorio.
- **Síntesis**  
Por qué se determinó la estabilidad química de polifenoles en tres extractos de Yacón de diferentes casas naturistas (simple), con esto se pretenderá demostrar la presencia de flavonoides en todos los lotes de extractos de Yacón estudiados (general).

##### 3.1.2 Técnica:

- **Descriptivo**  
Mediante estudios de “Estabilidad química de polifenoles” ya comprobadas y validadas se pretende demostrar la presencia de este metabolito en extracto de Yacón; va de procesos generales a lo particular.

##### 3.1.3 Diseño:

- No Experimental.

Por ser un productos cuya actividad depende de fitocomplejos, no fue posible realizar los cálculos de establecidos para moléculas sintéticas, por lo cual se evaluó con los parámetros fitoquímicas.

### 3.2 Población y Muestreo de la Investigación

#### 3.2.1 Población

Extractos alcohólicos de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) comercializados en el distrito de Santiago de Surco.

#### 3.2.2 Muestra

- Extracto Alcohólico de Yacón (tubérculo) – Lab. Físicoquímica UAP.
- Extracto de Yacón – Lab. Sabia Natura.
- Extracto de Yacón – Lab. Fitosana.



**GRÁFICO N° 01. Extractos de Yacón Fitosana, Ext. Yacón Sabia Natura y Extracto de Yacón elaborado en Lab. UAP –  
Elaboración propia**

### 3.3 Variables e Indicadores

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES
Estabilidad química de Polifenoles en extracto alcohólico de Yacón.	<ul style="list-style-type: none"><li>Estabilidad química de Flavonoides.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Estabilidad química</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>Característica fitoquímicas.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Determinación de Flavonoides</li></ul>

### 3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:

Se compró 2 tipos de Extractos Alcohólicos de Yacón de diferentes casas naturistas:

Laboratorio Sabia Natura (Sab)

Laboratorio Fitosana (Fit)

También se preparó un Extracto de Yacón, utilizando solo el tubérculo (Yac)

#### 3.4.1 Técnicas Cromatográficas CCF (TLC)

Selección de condiciones Cromatográficas:

Fase Estacionaria: Placas cromatográficas TLC Sílica gel 60 F254

Fase móvil: Se evaluaron 3 sistemas de solventes como fase móvil:

1ro. N butanol - Ácido acético - Agua (5/1/4)

2do. Isopropanol - Ácido acético - Agua (7/1.5/1.5)



3ro. Acetato de etilo - Metanol - Agua (7/1.65/1.65)

#### **3.4.1.1 Procedimiento Cromatografía:**

Patrón. Extracto alcohólico de yacón.

Se aplicaron 10 uL de las tinturas Sab, Fit, Yac respectivamente en la placa cromatográfica (bajo condiciones normales de almacenamiento)

Se deja secar las manchas

Se introdujo la placa en la cámara Cromatográficas previamente saturadas.

Se deja ascender la fase móvil hasta las tres cuartas partes de la altura de la placa.

Se extrae la placa de la fase móvil, se marcó el frente del solvente y se deja secar al medio.

Se expone la placa a la luz UV, se visualiza manchas y se marca cada una de ellas, directamente y después de la aplicación de vapores de amoníaco.

Para la determinación general de polifenoles se somete a la muestra a cromatográficas con  $\text{FeCl}_3$  por medio de aspersion.

Se calcula los  $R_f$ .

Condiciones de Estrés Químico - Degradativas.

Se somete a las muestras a condiciones de estrés.

- Luz: 10ml de las muestras Sab, Fit, Yac (c/u) son sometidas a 2 horas de Luz UV 365nm.
- Hidrolisis básica: 10ml de las muestras Sab, Fit, Yac (c/u) más 10 ml de NaOH 1N, se deja reposar por 2 horas.
- Hidrolisis ácida: 10ml de las muestras Sab, Fit, Yac (c/u) más 10 ml de HCl 1N, se deja reposar por 2 horas.

- Oxidación: 10 ml de las muestras Sab, Fit, Yac (c/u) más 10 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30 %, se deja reposar por 2 horas.

En el caso de la oxidación se toma muestras a los 15 min, 1 hora y 2 horas.

Pasado las 2 horas se procede a sembrar cada una de las muestras en las cromatoplacas.

Se introdujo la placa en la cámara Cromatográficas previamente saturadas.

Se deja ascender la fase móvil hasta las tres cuartas partes de la altura de la placa.

Se extrae la placa de la fase móvil, se marcó el frente del solvente y se deja secar al medio.

La placa seca es sometida a vapores de amoníaco, de 5 a 10 segundos, con el objetivo de intensificar las fluorescencias.

Se expone la placa a la luz UV, se visualiza manchas y se marca cada una de las manchas.

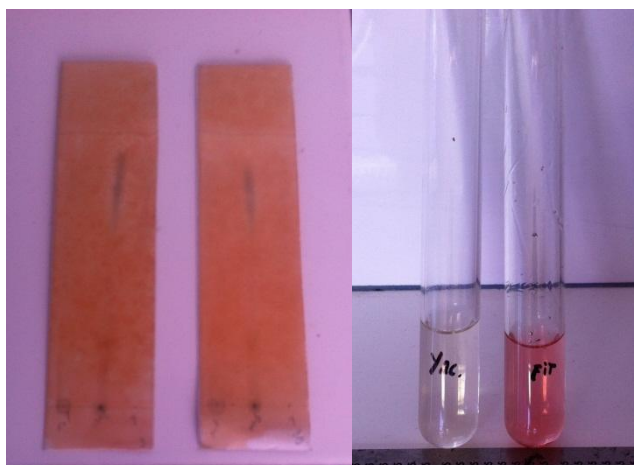
Se calcula los R<sub>f</sub>.

#### **3.4.1.2 Reacción de Shinoda para flavonoides:**

Se somete a las muestras a evaporación (placas Petri), se desengrasa inicialmente con éter de petróleo, y se extrae con etanol de 96°

El extracto se vierte sobre un tubo de ensayo, se adiciona 0.5 gr de magnesio, finalmente se adiciona un ml de HCl al 28%.

Se determina resultados positivos a flavonoides si la muestra da como resultado un color rojizo.



**GRÁFICO N° 02 . Muestras con FeCl<sub>3</sub> (Izquierda) y Reacción de Shinoda en Extractos de Yacón (Derecha) – Elaboración propia**

#### **3.4.1.3 Procedimiento Espectrofotometría:**

Se tomó un tercio de gota de cada una de las muestras (sin y con tratamiento).

En las muestras tratadas, el procedimiento fue el siguiente: Se colocó en un beaker 10ml de muestra, más 10 ml de reactivo, de esta mezcla se tomó un tercio de gota.

Se transfirió a una celda y se disolvió con agua destilada, esta solución se llevó al equipo de UV/vis para realizar un barrido espectral, como blanco se utilizó agua destilada.

Las muestras fueron las siguientes:

- a. Tinturas Fitosana (Fit) sin tratamiento alguno.
- b. Tinturas Fitosana tratadas con NaOH 1N
- c. Tinturas Fitosana tratadas con de HCl 1N
- d. Tinturas Fitosana tratadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- e. Tinturas de Yacón (Yac) sin tratamiento alguno.
- f. Tinturas Yacón tratadas con NaOH 1N

g. Tinturas Yacón tratadas con de HCl 1N

h. Tinturas Yacón tratadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

### **3.4.2 Instrumentos**

#### **3.4.2.1 Materiales de Laboratorio**

- Erlenmeyer
- Balón
- Matraz Erlenmeyer
- Matraz aforado
- Beaker 40ml.
- Beaker 250ml.
- Beaker 500ml.
- Tubos Capilares.
- Pera de Decantación
- Mechero de Alcohol
- Soporte universal
- Pipetas de 1ml.
- Pipetas de 5ml.
- Pipetas de 10ml.
- Placas Petri
- Baguetas
- Termómetros

- Probetas
- Placas Cromatográficas
- Cubetas
- Espátula
- Pinzas
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Embudo
- Papel filtro

#### **3.4.2.2 Insumos de Laboratorio (Reactivos)**

- N Butanol  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
- Isopropanol (propanol)  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
- Ácido Acético  $\text{CH}_3\text{COOH}$
- Agua destilada  $\text{H}_2\text{O}$
- N – Butanol  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
- Tricloruro férrico  $\text{Cl}_3\text{Fe}$
- Metanol  $\text{CH}_3\text{OH}$
- Etanol  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
- Peróxido de hidrogeno  $\text{H}_2\text{O}_2$  A 30% (9gr)
- Hidróxido de sodio  $\text{NaOH}$  1M
- Ácido Clorhídrico  $\text{HCl}$  1N

- Ácido Clorhídrico HCl 28%
- Amoníaco NH<sub>4</sub>
- Éter de petróleo
- Magnesio.

#### **3.4.2.3 Equipos de Laboratorio**

- Estufa
- Balanza digital
- Cámara UV (Lámpara UV)
- Espectofotómetro
- Incubadora

**CAPÍTULO IV**  
**PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

**4.1 Resultados de Cromatografía**

En la tabla N° 01 se muestra que la mejor resolución se obtuvo para el sistema de solventes 3. Isopropanol – ácido acético – agua (7:1,5:1,5), ya que permitió la mejor separación de tres manchas bien definidas de la muestra Extracto de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*),

**TABLA N° 01 Selección de la Fase Móvil**

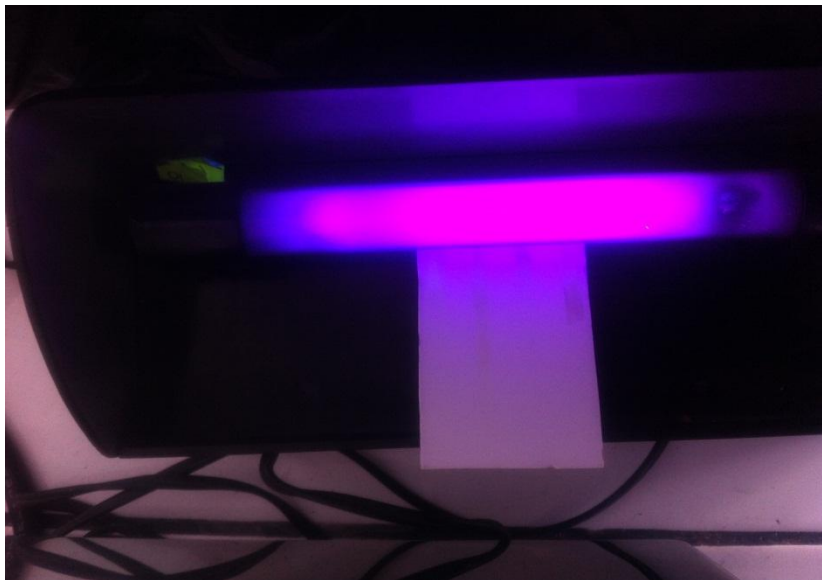
<b>Fase Móvil</b>			
	<b>Sab. Natura</b>	<b>Ext. Yacón</b>	<b>Fitosana</b>
<b>1. N Butanol – Ac. Acético – Agua (5:1:4)</b>	- -	Rf 1 = 0.39 Rf 2 = 0.47	Rf 1 = 1.37 Rf 2 = 1.83
<b>2. Acetato de Etilo – Metanol – Agua (7:1,65:1,65)</b>	- -	- -	- -
<b>3. Isopropanol – Ac. Acético – Agua (7:1,5:1,5)</b>	Rf 1 = 0.18 Rf 2 = 0.26 -	Rf 1 = 0.184 Rf 2 = 0.369 Rf 3 = 0.530	Rf1 = 0.38 Rf2 = 0.452 Rf3 = 0.530

**FUENTE:** Elaboración propia.



**GRÁFICO N° 03.**

**Selección de fase móvil y cromatoplasmas de solvente 3, elaboración propia.**



**GRÁFICO N° 04.**

**Imagen de Cromatografía de extracto de Yacón, Ext. Fitosana y Ext. Sabia Natura - elaboración propia.**

Por otra parte para la identificación general de fenoles, se utilizó el ClFe<sub>3</sub> por aspersión en las cromatoplasmas, dando como resultado una mancha de color verde oscuro en el extracto de Yacón, mientras que para el resto de muestras no tuvo ninguna coloración.



**TABLA N° 02 Rf de Cromatografía Extracto de Yacón**

<b>RESULTADOS DE CROMATOGRAFIA</b>		
Muestra patrón Yacón	Rf 1	0.185
	Rf 2	0.370
	Rf 3	0.530

**FUENTE:** Elaboración propia.

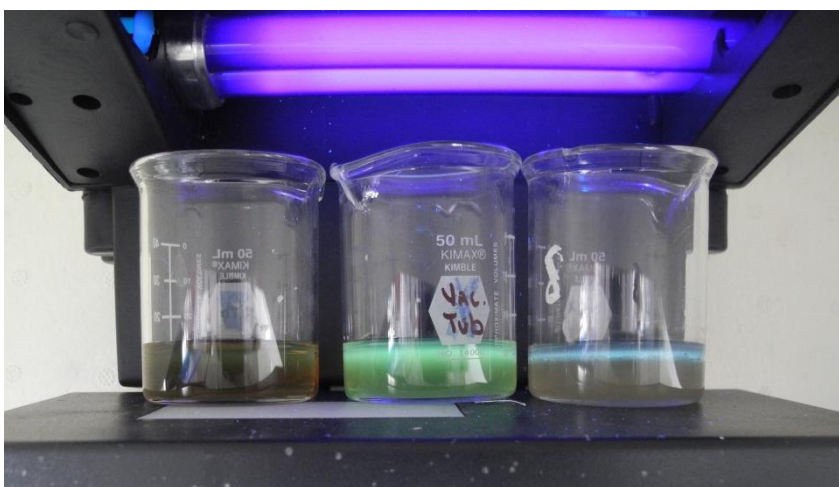
**TABLA N° 03 Cromatografía de muestras sometidas a Condiciones de estrés  
Extremas.**

<b>RESULTADOS CROMATOGRAFIA</b>						
Rf	H2O2			UV	HCl 1N	NaOH 1N
	15 min	1 hora	2 horas	2 horas	2 horas	2 horas
<b>Sabia Natura</b>	Rf 1 = 0.102 Rf 2 = 0.261 Rf 3 = 0.590	Rf 1 = 0.06 Rf 2 = 0.31 Rf 3 = 0.65	Rf 1 = 0.202 Rf 2 = 0.416 Rf 3 = 0.738	Rf 1 = 0.44 Rf 2 = 0.65 Rf 3 = 0.80	Rf 1 = 0.003 con cola Rf 2 = 0.077 -	-
<b>Yacón</b>	Rf 1 = 0.056 Rf 2 = 0.159 Rf 3 = 0.27	Rf 1 = 0.08 Rf 2 = 0.30 Rf 3 = 0.61	Rf 1 = 0.202 Rf 2 = 0.523 -	Rf 1 = 0.25 Rf 2 = 0.44 Rf 3 = 0.64	Rf 1 = 0.012 Rf 2 = 0.064 -	-
<b>Fitosana</b>	Rf 1 = 0.090 Rf 2 = 0.261 -	Rf 1 = 0.04 Rf 2 = 0.277 -	Rf 1 = 0.154 Rf 2 = 0.452 -	Rf 4 = 0.38 Rf 5 = 0.65 -	Rf 1 = 0.025 Rf 2 = 0.077 -	-

**FUENTE:** Elaboración propia.

En la tabla N° 03 se puede observar hubo cambios en los valores del Rf algunos valores desaparecieron y aparecieron otros, cuando estas se someten a oxidación (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ya que se puede visualizar que tenemos manchas similares en los tres ensayos sometidos a tiempo de 1 horas; pero transcurridas las 2 horas tenemos una leve degradación en el Extracto de Yacón (tomado como referencia por no disponer de sustancias patrones), mientras que en el Extracto Fitosana no se aprecia degradación oxidativa transcurrida las 2 horas.

Se comprobó que las tinturas no fueron degradadas por efecto de la luz UV (tabla N° 3), ya que después del tiempo de exposición limite aunsiguen presentando las manchas flourenecentes.





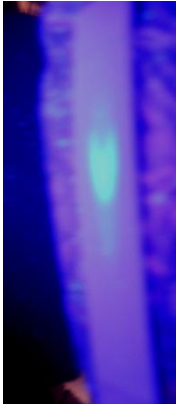
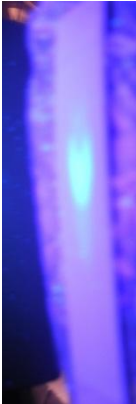
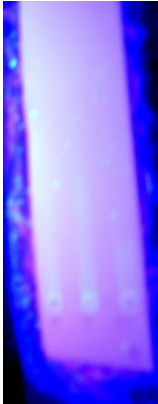

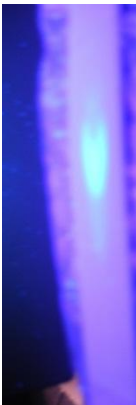
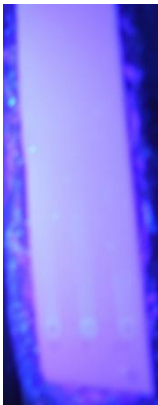


**GRÁFICO N° 05. Imagen de las tres muestras sometidas a de exposición de rayos UV, pasado el tiempo límite de 2 horas Ext. Sab. Natura, Ext. de Yacón y Ext. Fitosana - elaboración propia.**

En la hidrolisis en medio ácido, no se observan mayores cambios transcurrido las 2 horas, pero si se puede apreciar que las manchas se encuentran muy cerca al punto de origen (siembra), por la complejidad de estos extractos el método de cromatografía de capa fina presento algunas limitaciones, pero se comprobó una adecuada selección de la fase móvil ya que exceptuando la cola de la muestra Sabia Natura, no se aprecian interferencias en las demás muestras. (2)

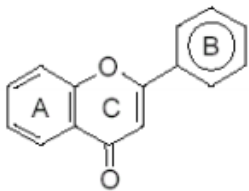
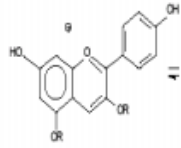
Por último en la hidrólisis en medio alcalino, condición extrema drástica, no se puede visualizar mancha alguna en las tres muestras, este resultado nos indica la total degradación de los polifenoles de los extractos de Yacón.

Sin embargo hubiera sido de gran utilidad muestrear a intervalos menores de exposición como se hizo en el caso de la oxidación, con el objetivo de evaluar la selectividad del método frente a posibles productos de degradación.

RESULTADOS CROMATOGRAFIA				
2 Horas	H2O2	UV	HCl 1N	NaOH 1N
Sabia Natura				<p>Ninguna de las muestras presenta fluorescencia.</p> 
Yacón				
Fitosan a				

**GRÁFICO N° 06.** Imagen de Resultados de Cromatografía de Capa fina en las tres muestras analizadas, sometidas a condiciones extremas – Elaboración propia.


## 4.2 Resultados de Reacción de Shinoda para Flavonoides

<p><b>FLAVONOIDES</b></p>		<p>- SHINODA (Zn / HCl cc)</p>	<p>El zinc en polvo reacciona con HCl cc. El hidrógeno generado produce por reducción el ión flavilio de color rojo escarlata (varía desde el rosa muy débil hasta rojo escarlata.</p>  <p>sal de flavilo (rojo)</p> <p>Todos los flavonoides, excepto chalconas, auronas, e isoflavonas, dan positiva esta reacción.</p>	<p>1- Patrón: -rutina -quercetina - extracto de: ginkgo, de tilo, de pasiflora</p> <p>2- Fracción A y D</p> <p>3- Infuso y Decocto</p>
---------------------------	---	------------------------------------	--	--

### GRÁFICO N° 07. Universidad nacional de Patagonia San Juan Bosco, Facultad de Ciencias Naturales Departamento de Farmacia.

Después de someter a las tres muestras a la Reacción de Shinoda se obtuvo el siguiente resultado:

**TABLA N° 04 Resultado de Reacción de Shinoda en Extractos de Yacón**

Resultado de Reacción de Shinoda en Extractos de Yacón			
	Flavonoides	Color	Imagen
<b>Extracto Sabia Natura</b>	-	Ninguna	

<b>Extracto Yacón</b>	-	Ninguna	
<b>Extracto Fitosana</b>	+	Rosa - Rojizo	

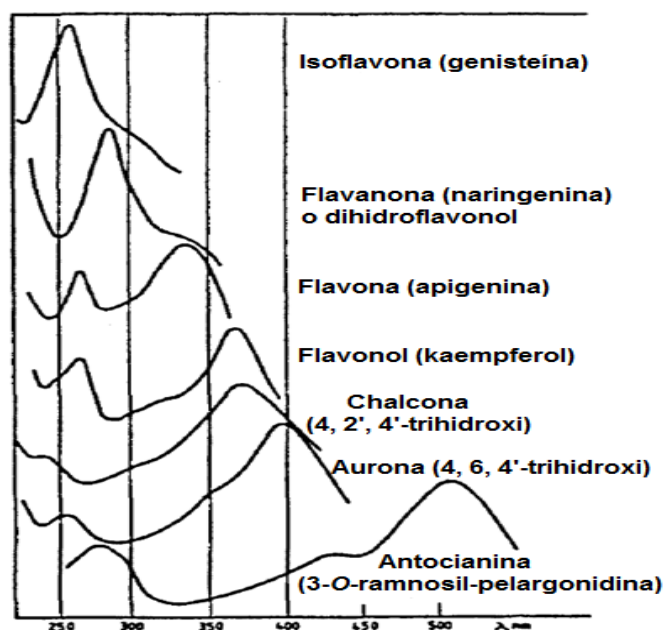
**FUENTE:** Elaboración propia.

Los resultados obtenidos son:

Presencia de flavonoides es Extracto de Yacón, aparentemente este metabolito se encuentra en las hojas, mas no así en el tubérculo, y esto se puede demostrar mediante las pruebas realizadas.

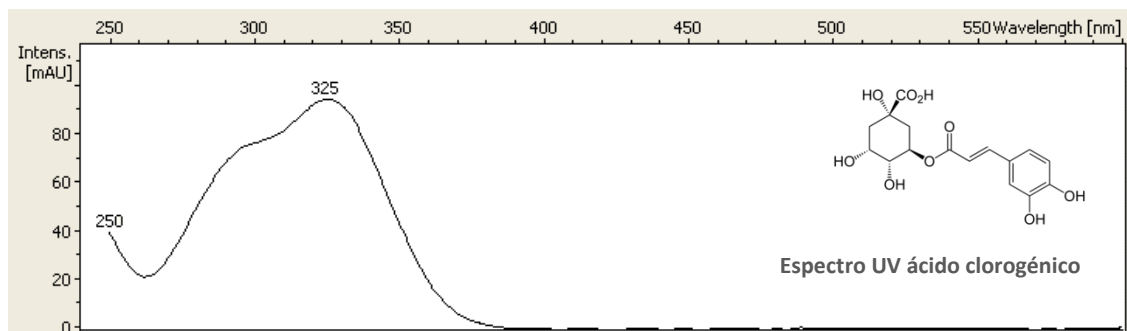
#### 4.3 Resultados de Espectofotometría

La aplicación de UV estandarizada (UV -Vis)espectroscopia ha sido durante años utilizada en los análisis de los polifenoles, Estos compuestos revelan dos bandas características de absorción UV con picos máximos en el 240-285 y 300-550 nm de rango. (2)



**GRÁFICO N° 08. Espectros UV/vis típicos de diversos tipos de flavonoides –  
Autor José Martín Bedoya.**

Para la interpretación de resultados, se toma como patrón el espectro UV del ácido clorogénico, pues presenta los dos picos representativos de polifenoles.



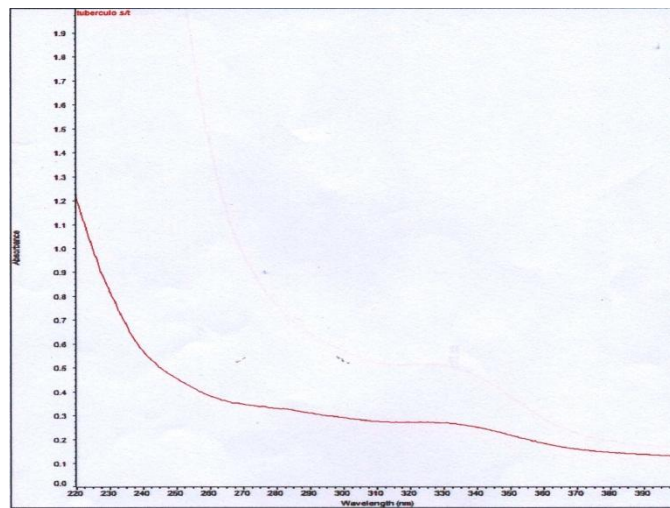
**GRÁFICO N° 09. Andersen Oyvind ; Markham Kenneth ; "Flavonoids : chemistry,  
biochemistry, and applications" pag. 10,11, CRC Press 2006 USA.**

De acuerdo a la investigación realizada, se tiene referencia que los Ácidos Fenólicos tienen picos característicos entre 300 – 500 nm, mientras que los flavonoides son reconocidos por sus picos entre 200 – 285 nm; según este criterio evaluaremos los resultados obtenidos. (3)

a. Muestra Tintura de Yacón sin tratamiento:

En esta muestra no presenta picos, no se puede determinar la presencia de polifenoles; posiblemente esto se debe a que se hizo una mala dilución.

Se recomienda repetir la muestra para obtener resultados confiables.



**GRÁFICO N° 10:** EspectrofotometríaUV , Muestra Extracto de Yacón

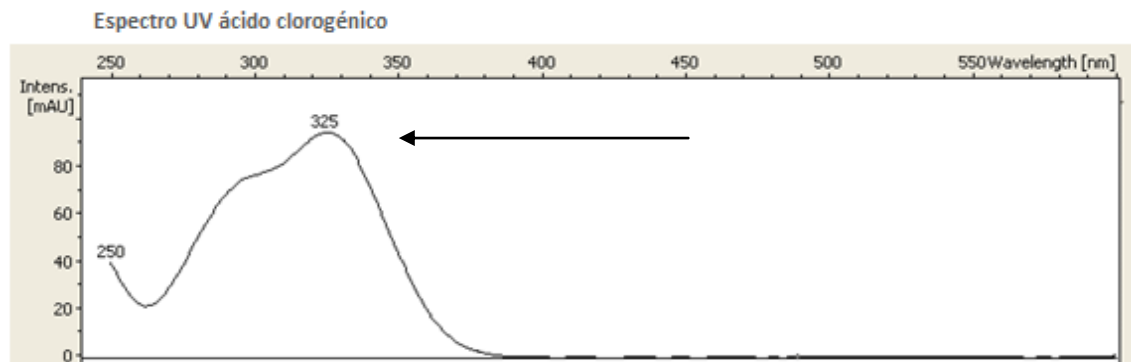
**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal – 2014

b. Muestra Tintura de Yacón tratadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:

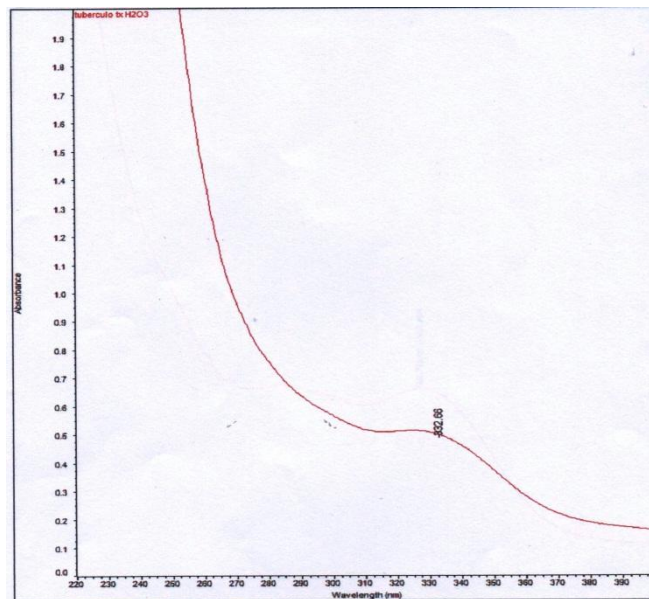
En esta muestra la oxidación por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, causó degradación de flavonoides, pero se observa un pico a 332.66nm, que se encuentra dentro del rango de Ácidos Fenólicos (300 – 500 nm) patrón original.

Por tanto la muestra no es susceptible a degradación frente a la oxidación.





**GRÁFICO N° 11.** Andersen Oyvind ; Markham Kenneth ; "Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications" pag. 10,11, CRC Press 2006 USA.



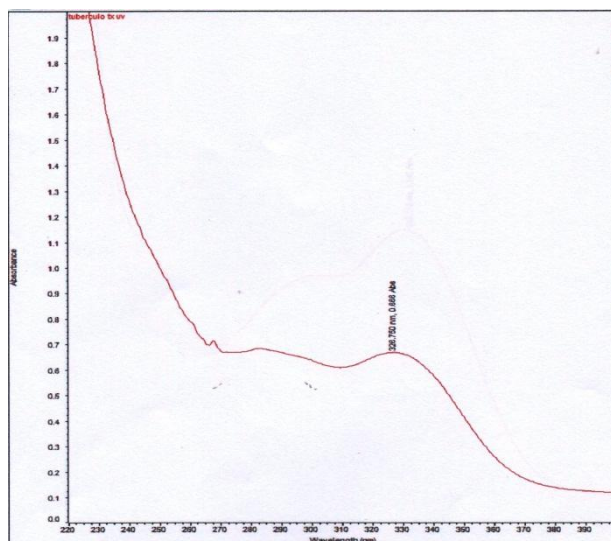
**GRÁFICO N° 12:** Espectrofotometría UV , Muestra Extracto sometida a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal – 2014

c. Muestra Tintura de Yacón tratadas con radiación UV:

Aparentemente la radiación UV a la que fue sometida la muestra no afecta la estabilidad de los polifenoles, ya que tenemos un pico de 326.750 nm se encuentra dentro del rango de Acidos Fenólicos (300 – 500 nm).

Por tanto la muestra no es susceptible a degradación frente a la oxidación.

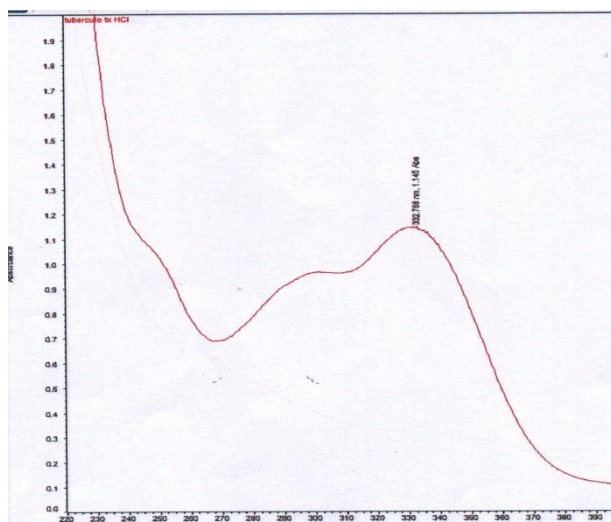


**GRÁFICO N° 13:**EspectofotometríaUV, Muestra Extracto de Yacón sometida a UV.

**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal – 2014

d. Muestra Tintura de Yacón tratadas con HCl 1N:

Aparentemente la hidrólisis ácida no afecta la estabilidad química de los polifenoles, pues se puede apreciar un pico de 332.788nm, encenrándose dentro del rango de Acidos Fenólicos (300 – 500 nm).



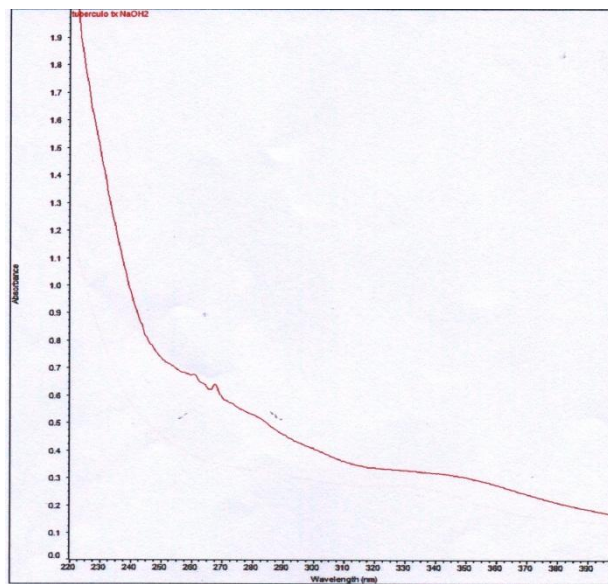
**GRÁFICO N° 14:**Espectofotometría UV, Muestra Extracto de Yacón

**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal sometida a HCl.

e. Muestra Tintura de Yacón tratadas con NaOH 1N:

La estabilidad química en esta prueba es degradada totalmente, pues el medio básico, condición extrema y drástica destruyo todos los polifenoles en la muestra.

Este análisis también se puede comprobar con cromatografía de capa fina, ya que arrojó como resultados la destrucción total de metabolitos.



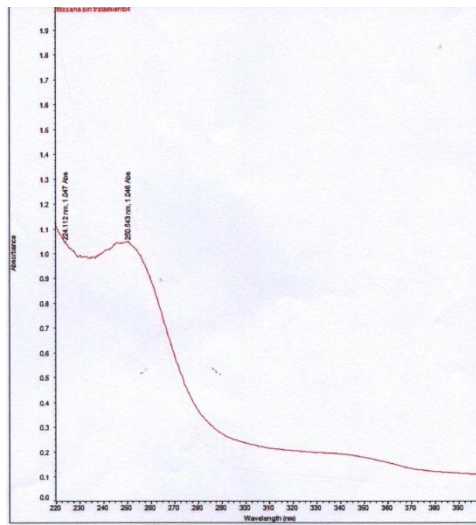
**GRÁFICO N° 15:**

Espectrofotometría UV , Muestra Extracto de Yacón sometida NaOH

**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal – 2014

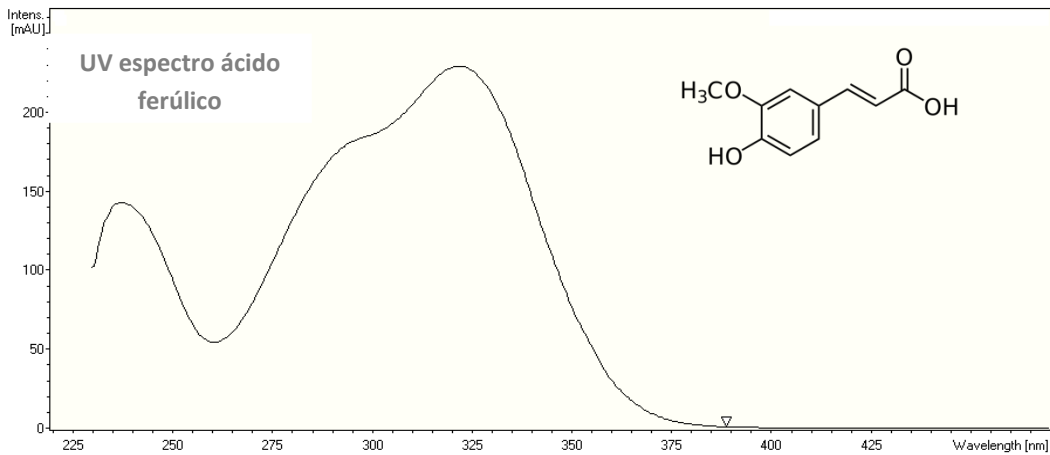
f. Muestra Tintura Fitosana sin tratamiento:

En esta muestra se puede observar claramente un pico a 250.543 nm, indicando presencia de flavonoides correspondientes al rango (200 – 285 nm)



**GRÁFICO N° 16:** EspectofotometríaUV , Extracto de Yacón Fitosana.

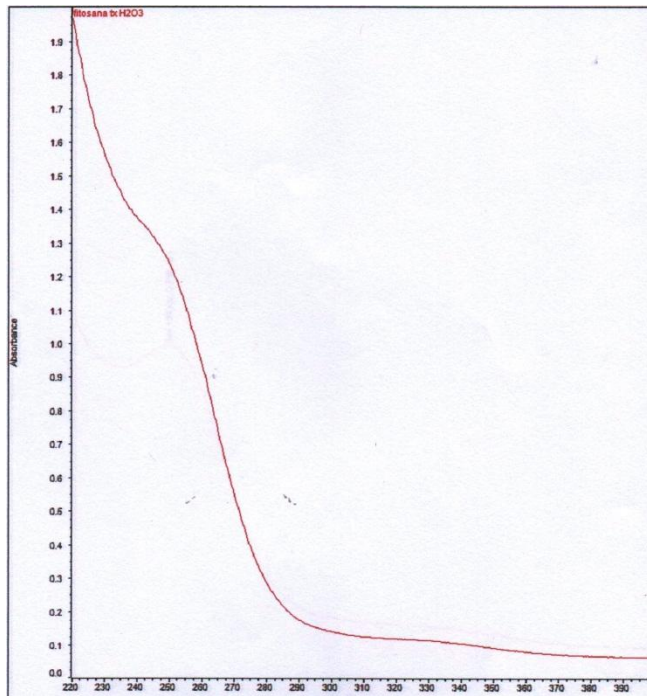
**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal – 2014



**GRÁFICO N° 17.** AndersenOyvind ; Markham Kenneth ; "Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications" pag. 10,11, CRC Press 2006 USA.

g. Muestra Tintura Fitosana tratadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:

La oxidación degradó la muestra totalmente, no se observa ningún pico.



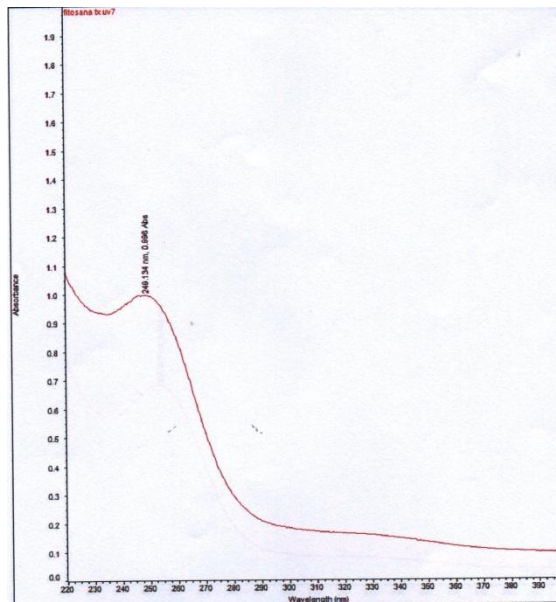
**GRÁFICO N° 18:**

Espectrofotometría UV, Extracto de Yacón Fitosana sometida H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal – 2014

h. Muestra Tintura Fitosana tratadas con radiación UV:

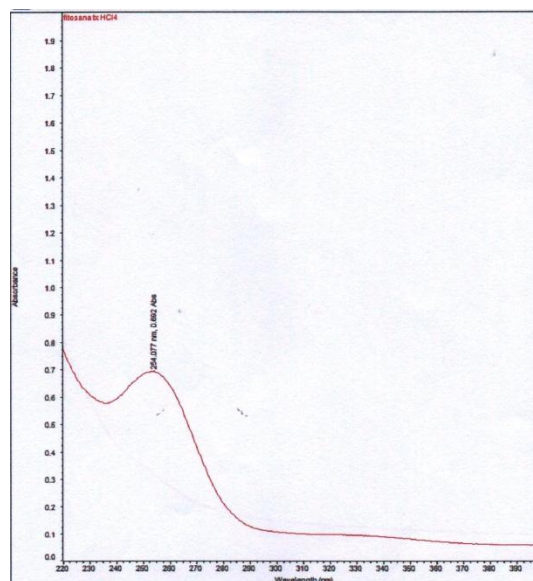
Aparentemente la radiación UV no tiene mayor impacto en la estabilidad química de flavonoides, pues presenta un pico de 249.134 nm, muy similar al pico de la muestra Fitosana sin tratamiento 250.543 nm.



**GRÁFICO N° 19:** Espectrofotometría UV, Extracto Fitosana sometida a rayos UV  
**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal – 2014

i. Muestra Tintura Fitosana tratadas con HCl:

Aparentemente la hidrolisis ácida intensifica el pico de la muestra, pues la muestra original “Tintura de Fitosana” obtuvo un pico a 250.54 nm y la muestra tratada con HCl nos dio un pico de 254.077, una leve mejora en la lectura.



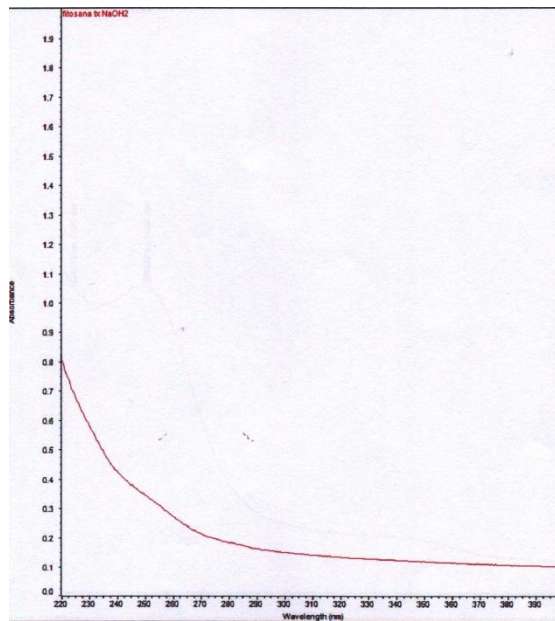
**GRÁFICO N° 20:** Espectofotometría UV , Extracto Fitosana sometida HCl

**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal - 2014

j. Muestra Tintura Fitosana tratadas con NaOH:

En esta muestra se aprecia la total degradación de polifenoles.

Es decir la hidrolisis básica es un medio extremo para la tintura Fitosana que degradó todos los metabolitos.



**GRÁFICO N° 21:** Espectofotometría UV, Muestra Extracto Fitosana sometida NaOH

**FUENTE:** Universidad Nacional Federico Villareal - 2014

## CONCLUSIONES

- En el desarrollo del estudio y teniendo en cuenta los valores del Rf (Tabla N°1), se optó por utilizar el solventes 3. Isopropanol – ácido acético – agua, ya que permitió la mejor separación y definición de las manchas en las muestras.
- En las pruebas cromatográficas de, muestras sometidas a estados de estrés, se comprobó que la estabilidad química de polifenoles se ve alterada, encontrado resultados de total degradación con NaOH (Tabla N°3)
- La Reacción de Shinoda prueba para determinar flavonoides nos da una coloración rojiza típica de flavonoides, según bibliografía encontramos mayor cantidad de flavonoides en hojas *Smallanthus sonchifolius*, y en la práctica dio positivo (+) en el extracto Fitosana y negativo (-) en los extractos Sabia Natura y Yacón.
- En el análisis de Espectrofotometría se tomó como referencia dos bandas características de absorción UV con picos de 240-285 y 300-550 nm, para polifenoles. (1), y se tomó como patrón a los Ácidos Fenólicos que tienen picos entre 300 – 500 nm y los flavonoides entre 200 – 285 nm. En la Tintura de Yacón se ve alterada la estabilidad química, pero posiblemente se deba a una mala dilución de la muestra; por otra parte las muestras sometidas a oxidación, radiación UV e hidrólisis ácida no sufren aparentemente una degradación, encontrándose en el rango de Ácidos Fenólicos (300 – 500 nm); mientras que en la muestra sometida con NaOH se observa una total degradación. En la tintura Fitosana se obtuvo un pico de 250 nm; según la información en la que está basada el presente trabajo estas mediciones



corresponderían al rango de flavonoides que van entre 200 – 285 nm, mientras que en las muestras tratadas con radiación UV y hidrólisis ácida no se observa alteraciones e incluso se podría decir que el HCl intensifica ligeramente el pico de la muestra. Las muestras sometidas con NaOH y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fueron totalmente degradadas.

- Esto nos lleva a suponer que en condiciones normales de almacenamiento, es decir venta libre, la hidrólisis básica sería la principal causa de destrucción de la estabilidad química de las muestras, eliminando todo rastro de Polifenoles y así su actividad terapéutica.

## RECOMENDACIONES

- Por la complejidad de estos extractos el método de cromatografía de capa fina presenta algunas limitaciones, pero se comprobó una adecuada selección de la fase móvil, ya que exceptuando la cola de una muestra, no se aprecian interferencias en las demás muestras; pero se sugiere probar con otros tipos de solventes polares para determinar otro medio efectivo.
- Producto de la investigación se determinó que la hidrólisis básica, en cromatografía destruye a los polifenoles; sin embargo hubiera sido de gran utilidad muestrear a intervalos menores de exposición, para evaluar la selectividad del método frente a posibles productos de degradación.
- Debido a la gran variedad de flavonoides dentro de una misma familia de polifenoles, se recomienda hacer un reconocimiento más específico para su determinación.
- La muestra “Tintura de Yacón sin tratamiento” no presentan picos, es decir no se puede determinar la presencia de polifenoles; se sugiere repetir el procedimiento realizando más dilución para mejorar el estándar de comparación con las muestras sometidas a situaciones de estrés. Se recomienda repetir la muestra para obtener resultados confiables.
- Por último se recomienda realizar más pruebas de estabilidad, para determinar el tiempo de vida que estos extractos y/o tinturas tendrían en anaquel, y determinar las condiciones aptas de almacenamiento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andersen Oyvind ; Markham Kenneth ; "Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications" pag. 10,11, CRC Press 2006 USA. (2)
2. Alimentación Sana. Portal Nuevo [en línea] 2003 [fecha de acceso 06 de diciembre de 2013]. URL disponible en: <http://www.alimentacion-sana.org/PortalNuevo/compresano/plantillas/yacon03.htm>
3. Barrios, Wendy. "Evaluación de la estabilidad acelerada de una tintura vegetal comercializada con propiedades antibacteriana, preparado a partir de *Gnaphaliumstramieum* HBK (flores), *Plantago major* L. (hojas), *Psidium guajava* L. (hojas) y *Tagetes lucida* Cav. (hojas y flores), EN SOLUCION ALCOHOLICA AL 35%". . [Tesis Doctoral]. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad Ciencia Químicas y Farmacia; 2008.
4. Breda Simonovska a, Irena Vovk a, Samo Andresek a, Katerina Valentová b, Jitka Ulrichová. Investigation of phenolic acids in Yacón(*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *Journal of Chromatography A* 2003 89-98 Czech Republic2003.(3)
5. Eneyda Sieres Pedraja; Olga María Nieto Acosta. Estabilidad por cromatografía en capa delgada de mezclas de tintura de *Quassia amara* and *Maytenus ilicifolia* tinctures. Cuba 2009 (1)
6. Goularte Dutra Fabiana y Hoffmann-Ribani Rosmary. "Determinacao de compostos fenólicos por cromatografía de alta eficiencia isocrática durante estacionamento da erva-mate". Brasil 2010.
7. Juan Seminario, Miguel Valderrama, Iban Manrique. El Yacón Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. ARTC [en línea] 2003 [fecha de acceso 27 de noviembre de 2013]. URL disponible en: [http://cipotato.org/artc/docs/Yacon\\_Fundamentos\\_password.pdf](http://cipotato.org/artc/docs/Yacon_Fundamentos_password.pdf)
8. José Gregorio Martín bedoya y Angélica María Montes Ortiz. [monografía en Internet] UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA 2012 [acceso 10 de enero de 2014]. Disponible en: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesisd/textoyanexos/6606M379.pdf>
9. Q-lab. Normativas para ensayos de laboratorio acelerados. ES-ES [en línea] 2013 [fecha de acceso 26 de noviembre de 2013]. URL disponible en:

<http://www.q-lab.com/es-es/resources/standards/test-service/accelerated-laboratory>

10. "Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials" World Health Organization Geneva 1998.
11. Martínez M, Alejandro. [monografía en Internet] Universidad nacional de Patagonia San Juan Bosco, Facultad de Ciencias Naturales Departamento de Farmacia 2009 [acceso 12 de enero de 2014]. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001>
12. Sieres Pedraja, Eneyda ; Nieto Acosta, Olga María "Estabilidad por Cromatografía en Capa Delgada de tinturas de Quassia amara y Maytenus ilicifolia" Revista Cubana de Farmacia 2009 43(4):93-101.
13. The United States Pharmacopoeia Convention. 2007. Farmacopea de los Estados Unidos de América, Formulario Nacional. USP Trigésima edición, NF Vigésimoquinta edición. Edición anual en español. USA. Volumen 1. 1364p.
14. Universidad nacional de Patagonia San Juan Bosco, Facultad de Ciencias Naturales Departamento de Farmacia. [monografía en Internet] [acceso 12 de enero de 2014]. Disponible en: [http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wpcontent/uploads/2009/04/tp5\\_glicosidos\\_2009.pdf](http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wpcontent/uploads/2009/04/tp5_glicosidos_2009.pdf)
15. Vaibhab M. Shinde "Application of quality control principles to herbal drugs" International Journal of Phytomedicine 2009 1: 4-8

## ANEXOS

### 1. MATRIZ DE CONSISTENCIA

Determinación de estabilidad química de Polifenoles en extracto alcohólico de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*), comercializadas en el distrito de Santiago de Surco, periodo noviembre 2013 – enero 2014.

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	TIPO	
<b>PROBLEMA GENERAL</b>  ¿Cuál es la estabilidad química de polifenoles en extracto alcohólico de Yacón ( <i>Smallanthus sonchifolius</i> ), comercializadas en el distrito de Santiago de Surco, periodo noviembre 2013 – enero 2014?	<b>OBJETIVO GENERAL</b>  Determinar la estabilidad química de polifenoles en extracto alcohólico de Yacón ( <i>Smallanthus sonchifolius</i> ) bajo condiciones de estrés.	<b>HIPOTESIS GENERAL</b>  La estabilidad química de polifenoles en extracto alcohólico ( <i>Smallanthus sonchifolius</i> ), sometidas a estrés no se mantiene.	<b>V. DEPENDIENTE</b> :  Estabilidad química de Polifenoles en extracto alcohólico de Yacón.	<b>MÉTODO DE INVESTIGACIÓN:</b>  <ul style="list-style-type: none"> <li>• Deductivo.</li> <li>• Análisis.</li> <li>• Síntesis.</li> </ul> <b>TÉCNICA DE INVESTIGACIÓN:</b>  <ul style="list-style-type: none"> <li>• Descriptivo.</li> </ul>	<b>POBLACIÓN:</b>  Extractos alcohólicos de Yacón ( <i>Smallanthus sonchifolius</i> ) comercializados en el distrito de Santiago de Surco.
	<b>O. ESPECIFICO:</b>  <ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar la</li> </ul>	<b>H. ESPECÍFICO:</b>	<b>INDICADORES</b> :	<b>DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</b>	<b>MUESTRA:</b>

	<p>estabilidad química de flavonoides en extracto alcohólico de Yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar la estabilidad fitoquímica en extracto alcohólico de Yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La estabilidad química de flavonoides en extracto alcohólico (<i>Smallanthus sonchifolius</i>), no se mantiene.</li> <li>• Las características fitoquímicas serán alteradas por las condiciones de estrés.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estabilidad química</li> <li>• Flavonoides</li> </ul>	<p>ÓN:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• No experimental.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracto Alcohólico de Yacón (tubérculo) – Lab. Físicoquímica UAP.</li> <li>• Extracto de Yacón – Lab. Sabia Natura.</li> <li>• Extracto de Yacón – Lab. Fitosana.</li> </ul>
--	---	--	--	---	--