



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación de la actividad antioxidante e hipoglucemiante *in vitro* de la combinación de extractos etanólicos de Marco (*Ambrosia arborescens*), Quishuar (*Buddleja incana*) y Cedrón (*Aloysia citrodora*)

Informe Final del Trabajo de Titulación, opción de Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Alison Paola Jaque Pavón

Tutor: Mg. Ruth Narcisa Pérez Salinas

Ambato – Ecuador

Febrero - 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. Ruth Narcisa Pérez Salinas

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, opción de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 04 de Enero de 2024

Mg. Ruth Narcisa Pérez Salinas

C.I. 1802726628

TUTORA

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Alison Paola Jaque Pavón, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Alison Paola Jaque Pavón

C.I. 1600585986

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando los derechos de autor.



Alison Paola Jaque Pavón

C.I. 1600585986

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Ing. Mg, Juan de Dios Espinoza Moya

1803201431

PhD, Lorena de los Ángeles Núñez Villacís

1804256905

Ambato, 06 de Febrero del 2024

DEDICATORIA

A mi familia.

A mis amigos.

A todo aquel que se atreve a soñar y no se rinde.

A mí.

*“La vida es un constante aprendizaje.
No tengas miedo a cometer errores,
porque son oportunidades
para crecer y mejorar”*

Jeong Jungkook

Alison Paola Jaque Pavón

AGRADECIMIENTO

Primero a Dios, que ha sabido ser bueno al escuchar las oraciones de mi mamá.

A mi mami, mi flaca, quien me ama y apoya incondicionalmente en todo lo que hago.

A mis hermanas: Pole, Abi y Yassi, la luz de mis ojos, quienes han sabido apoyarme a pesar de habernos separado en esta travesía llamada Universidad.

A mi papá.

A mi tutora Ruth Pérez, quien además de ser una destacada profesional, es una maravillosa persona.

Al doc. Irvin Tubón, por compartir sus conocimientos y ayuda en este proceso.

A mi roomie y mejor amiga, Dayita, y a la ing. Samita, a quienes siempre quiero regresar, gracias por estar en cada momento, por escuchar, aconsejar y no dejarme caer.

A mis amigos, Jona, Oscar, Alex, Vivi, Erick, quienes en todos estos años me han soportado, escuchado y ayudado en todo lo que he necesitado.

A mi primer amigo en una ciudad que no es mía, Jeff, gracias por haberme acompañado, me salvaste.

A las chichas del lab 2.1 gracias por colaborarme con el termobloque, sin ustedes no hubiera podido terminar este proyecto:)

A MÍ, por haber sido valiente.

Alison Paola Jaque Pavón

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN EJECUTIVO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1 Antecedentes investigativos	1
1.1.1 Diabetes Mellitus (DM)	2
1.1.1.1 Tratamientos para la Diabetes	4
1.1.2 Flora ecuatoriana y sus beneficios	5
1.1.2.1 Metabolitos secundarios vegetales	6
1.1.2.2 Marco (<i>A. arborescens</i>).....	8
1.1.2.3 Quishuar (<i>B. incana</i>)	9
1.1.2.4 Cedrón (<i>A. citrodora</i>)	9
1.1.3 Actividad antioxidante y la Diabetes Mellitus	10
1.1.3.1 Métodos de medición de la actividad antioxidante	12
1.1.4 Actividad hipoglucemiante	13

1.1.5	Microencapsulación de extractos vegetales	14
1.1.5.1	Biopolímeros usados en la microencapsulación de extractos vegetales.	15
1.2	Objetivos	17
1.2.1	Objetivo General	17
1.2.2	Objetivos Específicos	17
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA		18
2.1	Materiales	18
2.2	Métodos	19
2.2.1	Cuantificación de metabolitos secundarios presentes en las combinaciones de extractos realizadas mediante la medición de las concentraciones de flavonoides y fenoles totales	19
2.2.1.1	Obtención de extractos	19
2.2.1.2	Cálculo del rendimiento	20
2.2.1.3	Realización de la combinación de extractos.....	21
2.2.1.4	Determinación de flavonoides y fenoles totales.....	21
2.2.2	Desarrollo del proceso de microencapsulación de la combinación de extractos etanólicos generados.....	22
2.2.2.1	Preparación de las disoluciones de las combinaciones	22
2.2.2.2	Microencapsulación por secado por aspersión	22
2.2.2.3	Verificación de la eficiencia de la microencapsulación	23
2.2.3	Comparación de la actividad antioxidante e hipoglucémica de la combinación de extractos etanólicos y el microencapsulado generado mediante ensayos enzimáticos.....	23
2.2.3.1	Preparación de la solución de DPPH y Trolox	23
2.2.3.2	Medición de la actividad antioxidante.....	24
2.2.3.3	Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH.....	24

2.2.3.4	Ensayo enzimático α -amilasa	24
2.2.3.5	Ensayo enzimático α -glucosidasa.....	25
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN		26
3.1	Análisis y discusión de los resultados	26
3.1.1	Rendimiento de los extractos vegetales	26
3.1.2	Combinaciones de extractos realizados	28
3.1.3	Determinación de fenoles totales	29
3.1.4	Determinación del contenido de flavonoides totales	31
3.1.5	Evaluación de la capacidad hipoglucémica mediante ensayos de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa	34
3.1.6	Evaluación de la capacidad hipoglucémica mediante el ensayo de inhibición de la enzima α -glucosidasa	36
3.1.7	Evaluación de la actividad antioxidante.....	40
3.1.8	Microencapsulación	42
3.1.8.1	Análisis de Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) 44	
3.1.9	Comparación de la actividad antioxidante e hipoglucemiante de la combinación MQ sin microencapsular y microencapsulada	47
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		51
4.1	Conclusiones	51
4.2	Recomendaciones	52
MATERIALES DE REFERENCIA		53
	Referencias Bibliográficas.....	53
ANEXOS		67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características diferenciales para el diagnóstico de DMT1 y DMT2.	3
Tabla 2. Clasificación de los compuestos fenólicos.	7
Tabla 3. Recursos materiales que se utilizaron.	18
Tabla 4. Rendimiento del extracto obtenido de cada planta.	26
Tabla 5. Combinaciones de extractos realizados.	28
Tabla 6. Contenido de fenoles totales de las combinaciones de extractos.	29
Tabla 7. Contenido de flavonoides de las combinaciones de extractos.	32
Tabla 8. Medias de la inhibición enzimática de α -amilasa a concentraciones de 100 ug/mL a 500 ug/mL.	35
Tabla 9. Medias de la inhibición enzimática de α -glucosidasa a concentraciones de 100 ug/mL a 500 μ g/mL.	37
Tabla 10. Medias de la evaluación de la actividad antioxidante de las cuatro combinaciones.	40
Tabla 11. Eficiencia de los dos microencapsulados.	43
Tabla 12. Comparación entre la actividad antioxidante e hipoglucemiante de la combinación MQ microencapsulada y sin microencapsular.	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras químicas de algunos ejemplos de fenoles. A) Estructura química de un fenol. B) Estructura química del resorcinol. C) Estructura química del ácido gálico. D) Estructura química de la quercetina.	7
Figura 2. Estructura química básica de un flavonoide.	8
Figura 3. Mecanismo de reacción del ensayo de DPPH.	13
Figura 4. Esquema del proceso de microencapsulación.	15
Figura 5. Contenido de fenoles totales en las combinaciones de extractos.	31
Figura 6. Contenido de flavonoides totales en las combinaciones de extractos.	33
Figura 7. Inhibición de la enzima α -amilasa a 500 ug/mL.	35
Figura 8. Inhibición de la enzima α -glucosidasa a 500 ug/mL.	38
Figura 9. Actividad antioxidante de las cuatro combinaciones.	41
Figura 10. Espectro infrarrojo del microencapsulado de la combinación MQ con MD.	45
Figura 11. Espectro infrarrojo del microencapsulado de la combinación MQ con MDGA.	46
Figura 12. Resultados de la actividad antioxidante de las muestras MQ y MQ MDGA.	48
Figura 13. Resultados de la inhibición de la enzima α -amilasa de las muestras MQ y MQ MDGA.	49
Figura 14. Resultados de la inhibición de la enzima α -glucosidasa de las muestras MQ y MQ MDGA.	49
Figura 15. Lavado de material vegetal.	67
Figura 16. Hojas secas.	67
Figura 17. Secado de las hojas con un desecador por convección.	68
Figura 18. Macerado.	68
Figura 19. Filtración del macerado.	68
Figura 20. Extracto filtrado.	69
Figura 21. Eliminación del solvente.	69
Figura 22. Extractos secos obtenidos.	69
Figura 23. Solución madre de cada combinación.	70

Figura 24. Diluciones de las combinaciones.....	70
Figura 25. Ensayo de DPPH	70
Figura 26. Determinación de fenoles	71
Figura 27. Determinación de flavonoides	71
Figura 28. Ensayo de inhibición de α -amilasa	71
Figura 29. Ensayo de inhibición de la α -glucosidasa.....	71
Figura 30. Microencapsulación.....	72

RESUMEN EJECUTIVO

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad crónica caracterizada por la elevada cantidad de glucosa presente en la sangre, provocando hiperglucemia al paciente. Uno de los factores que intervienen en el desarrollo progresivo y complicaciones de la enfermedad es el daño celular producido por el exceso de radicales libres presentes en el cuerpo. Las plantas presentan una gran variedad de propiedades biológicas, conferidas por los compuestos que poseen, como la actividad antioxidante e hipoglucemiantes, dadas principalmente por fenoles y flavonoides presentes en la matriz vegetal. Por lo que, estas moléculas son estudiadas como alternativas en el tratamiento de la hiperglucemia.

Dicho lo anterior, en el presente estudio se evalúa la actividad antioxidante e hipoglucemiante de cuatro combinaciones de extractos etanólicos de Marco, Quishuar y Cedrón. Para lo cual, se cuantificaron fenoles y flavonoides mediante el método de Folin-Ciocalteu y método de Cloruro de aluminio. A continuación, se evaluó la actividad antioxidante e hipoglucemiante mediante el método de DPPH y ensayos enzimáticos con las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa. La combinación con mayor actividad biológica fue microencapsulada con maltodextrina y una combinación de maltodextrina y goma arábica.

Las combinaciones de Marco-Quishuar (MQ) y Quishuar-Cedrón (QC) presentaron un mayor contenido de los metabolitos mencionados. La combinación MQ presentó una mayor inhibición del radical DPPH y de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa, por lo que, esta combinación fue microencapsulada. Mediante espectroscopia infrarroja (FTIR), se analizó la eficiencia de los microencapsulados. Por último, la combinación sin microencapsular exhibió mejor actividad biológica.

Palabras clave: Biotecnología vegetal, actividad antioxidante, actividad hipoglucemiante, extractos etanólicos, antioxidantes naturales, diabetes mellitus, Marco, Cedrón, Quishuar.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a chronic disease characterized by the high amount of glucose present in the blood, causing hyperglycemia in the patient. One of the factors involved in the progressive development and complications of the disease is the cellular damage produced by the excess of free radicals present in the body. Plants present a great variety of biological properties, conferred by the compounds they possess, such as antioxidant and hypoglycemic activity, given mainly by phenols and flavonoids present in the plant matrix. Therefore, these molecules are studied as alternatives in the treatment of hyperglycemia.

This study evaluates the antioxidant and hypoglycemic activity of four combinations of ethanolic extracts of Marco, Quishuar and Cedron. Phenols and flavonoids were quantified using the Folin-Ciocalteu method and the aluminum chloride method. Then, antioxidant and hypoglycemic activity was evaluated by the DPPH method and enzymatic assays with α -glucosidase and α -amylase enzymes. The combination with the highest biological activity was microencapsulated with maltodextrin and a combination of maltodextrin and gum arabic.

The Marco-Quishuar (MQ) and Quishuar-Cedron (QC) combinations presented a higher content of the mentioned metabolites. The MQ combination presented a greater inhibition of the DPPH radical and of the α -glucosidase and α -amylase enzymes; therefore, this combination was microencapsulated. By means of infrared spectroscopy (FTIR), the efficiency of the microencapsulation was analyzed. Finally, the combination without microencapsulation exhibited better biological activity.

Keywords: Plant biotechnology, antioxidant activity, hypoglycemic activity, ethanolic extracts, natural antioxidants, diabetes mellitus, Marco, Cedron, Quishuar.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

En Latinoamérica, en el año 2019, la diabetes cobró la vida de 284.049 personas, representando el 4% del total de muertes de la región (**Organización Panamericana de la Salud, 2023**). La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad crónica en la que el páncreas no produce la hormona insulina o el cuerpo no aprovecha la insulina disponible, la cual, se encarga de regular la glucosa en la sangre. La hiperglucemia (elevada glucosa en la sangre) es uno de los efectos de la DM, lo cual provoca daños graves a distintos sistemas del cuerpo humano (**World Health Organization, 2023**). Dadas las cifras mencionadas, la diabetes es una de las enfermedades de interés en la salud pública, actualmente se desarrollan investigaciones clínicas enfocadas en prevención y tratamientos complementarios a los ya existentes (**Bahmani et al., 2014**).

En el Ecuador, a lo largo de los años, se han usado distintas plantas como base de los tratamientos ancestrales, partiendo del conocimiento empírico de las comunidades indígenas (**Armijos et al., 2022**). A pesar de los estudios recientes, sigue existiendo una escasez de evidencia científica que sustente o valide las propiedades de una gran variedad de plantas, con el fin de aprovechar su actividad biológica (**Armijos et al., 2021**). En el campo farmacológico y etnofarmacológico, el estudio de dichas propiedades es realizado frecuentemente en modelos animales (**Hubrecht & Carter, 2019**). No obstante, con el fin de velar por el bienestar animal, se debe tomar en cuenta las 3 Rs, donde se plantea, primeramente, el reemplazo de animales por tecnologías o enfoques, como: cultivos celulares, modelos *in silico* o ensayos *in vitro* (**Ritskes-Hoitinga & Van Luijk, 2019**).

En base a lo mencionado, en el presente trabajo de investigación se plantea la realización de diversas combinaciones usando plantas medicinales del país y la evaluación de su capacidad hipoglucemiante y antioxidante *in vitro* mediante ensayos enzimáticos. Las plantas utilizadas son especies de la Sierra ecuatoriana como el Marco (*A. arborescens*), Quishuar (*B. incana*) y Cedrón (*A. citrodora*), con el fin comprobar los efectos ya mencionados y usar dichas formulaciones como coadyuvante en el tratamiento de la diabetes y sus efectos.

1.1.1 Diabetes Mellitus (DM)

La Diabetes Mellitus (DM), es una enfermedad crónica, caracterizada por una elevada presencia de glucosa en la sangre, también conocida como hiperglucemia, la cual se da por una deficiente producción de insulina o por resistencia a la misma (**World Health Organization, 2023**). La DM es un problema de salud pública a nivel mundial, y se prevé un aumento de 643 millones de personas con diabetes para el 2030 y 783 millones para el 2045 (**International Diabetes Federation, 2021**).

La insulina es una hormona que el páncreas secreta al detectar elevadas cantidades de glucosa en la sangre (**Huang et al., 2020**). Las células β pancreáticas funcionales y sanas producen insulina inducida por la glucosa, sin embargo, cuando se hallan daños en estas células, se produce una desregularización y disminución en la secreción de insulina, dando como resultado elevadas cantidades de glucosa postprandial (**Rachdaoui, 2020**). La función de esta hormona es inducir la captación de la glucosa por parte del tejido muscular y adiposo, desde el torrente sanguíneo hasta las células (**Yaribeygi et al., 2020**).

Existen dos principales tipos de DM: la tipo 1 (DMT1) y la tipo 2 (DMT2) (**Tabla 1**). La DMT1 representa el 5-10 % de casos reportados, y es también conocida como Diabetes Juvenil, ya que se da en niños y adolescentes (**Lovic et al., 2020; Yaribeygi et al., 2020**).

En este caso, las células β del páncreas se autodestruyen, de modo que, no se produce insulina, y la glucosa no puede ser asimilada, produciendo hiperglucemia (**Darenskaya et al., 2021**).

Por otro lado, la DMT2 representa el 90-95 % de los casos, dándose principalmente en adultos (aunque con el paso del tiempo, se han reportado casos en jóvenes), y se caracteriza por la resistencia a la insulina (**Lovic et al., 2020; Yaribeygi et al., 2020**). En este caso, la enfermedad se desarrolla de manera progresiva y muchas investigaciones exponen que está relacionada con la obesidad (**Rachdaoui, 2020**). En la DMT2, en primera instancia, las células β pancreáticas aumentan la producción de insulina con el fin de asimilar la glucosa presente, sin embargo, con el paso del tiempo, las células del páncreas se desgastan produciendo una menor cantidad de insulina y volviéndose a elevar las cantidades de glucosa en la sangre, ocasionando hiperglucemia (**Zhang et al., 2020**).

Tabla 1. *Características diferenciales para el diagnóstico de DMT1 y DMT2.*

	Diabetes Tipo 1	Diabetes Tipo 2
Etiología	Predisposición genética, autoinmune	Predisposición genética, multifactores
Herencia	Variable	Variable
Porcentaje que representa en el total de los casos de DM	5 – 10%	90 – 95%
Patogénesis	Autoanticuerpos, deficiencia absoluta de insulina	Resistencia a la insulina y desordenes de la secreción de insulina

Edad frecuente de manifestación	Niñez a edad adulta	Edad adulta
Manifestación clínica	Poliuria, polidipsia, polifagia, hiperglucemia grave y cetoacidosis	Hiperglucemia moderada
Resistencia a la insulina o HOMA-R3	o	Sí
Terapia	Insulina	Ejercicio físico, dieta y fármacos que aumenten la sensibilidad a la insulina, insulina

Fuente: (Petersmann et al., 2019)

1.1.1.1 Tratamientos para la Diabetes

Los tratamientos comunes para la DMT1 y DMT2 son la inyección de insulina y los agentes hipoglucemiantes orales sintéticos (DMT2) como sulfonilureas, biguanidas, tiazolidinedionas, inhibidores de α -glucosidasa, derivados de meglitinida, entre otros (Artasensi et al., 2020). Sin embargo, estos fármacos producen efectos secundarios y complicaciones a largo plazo (Pearson, 2019). En los últimos años se han buscado alternativas y tratamientos complementarios, una de estas alternativas es el uso de compuestos bioactivos de origen vegetal (Bahmani et al., 2014).

Las sulfonilureas son estimulantes de la secreción de insulina por parte de las células β del páncreas. Las biguanidas disminuyen la producción de glucosa hepática, la absorción de la glucosa en el intestino y mejora la asimilación del cuerpo a la insulina producida (Artasensi et al., 2020). Los inhibidores de α -glucosidasa retrasan la descomposición y

absorción de glucosa en el intestino, lo que controla la aparición brusca de picos de glucosa en la sangre, evitando así la aparición de hiperglucemia postprandial (**Buse et al., 2020; Artasensi et al., 2020**). Las tiazolidinedionas actúan sobre el tejido adiposo aumentando así la sensibilidad a la insulina (**Pearson, 2019**). Es importante resaltar que, estos fármacos producen hipoglucemia grave, aumento de peso, poca eficacia por una dosificación ineficaz; además algunos de estos medicamentos no pueden ser recetados a cualquier paciente por los efectos secundarios que pueden causar (**Padhi et al., 2020**).

Dada la naturaleza incurable de la DM y sus complicaciones, actualmente se usa el tratamiento con medicamentos antidiabéticos durante toda la vida del paciente (**Artasensi et al., 2020; Huang et al., 2020**). Sin embargo, estos fármacos regulan la hiperglucemia, pero no previenen completamente las complicaciones de la enfermedad, además de generar efectos secundarios (**Artasensi et al., 2020**). Es importante resaltar que, la diabetes se asocia con un riesgo mayor de desarrollar algunos tipos de cáncer, como: cáncer de hígado, páncreas, útero, colon, mama y vejiga, además de desarrollar demencia y Alzheimer (**Fraga et al., 2019**). Los costos médicos de las personas diabéticas son 2 o 3 veces más altos que los costos de personas sin diabetes, por los problemas de salud derivados (**Center for Disease Control and Prevention, 2022**). Como consecuencia, varias personas no siguen el tratamiento debido, por esta razón, en los últimos años se han buscado alternativas farmacológicas seguras y eficaces en la prevención o retraso de la evolución de la DM, así como en sus complicaciones, y de ser accesibles económicamente (**Huang et al., 2020**).

1.1.2 Flora ecuatoriana y sus beneficios

Ecuador es un país megadiverso y multiétnico, la gran parte de especies vegetales presentes, son empleadas como medicina natural, por las distintas comunidades indígenas (**Armijos et al., 2022**). Para los diversos tratamientos, se emplean distintas partes de la planta, como las hojas, tallo, raíz, flores y fruto, las cuales contiene bioactivos importantes

para el cuerpo humano (**de la Torre et al., 2008**). No obstante, debido a la falta de evidencia científica que avalen los efectos terapéuticos de las plantas, se han incrementado los estudios de las plantas medicinales de la zona interandina (**Fakchich & Elachouri, 2021**).

1.1.2.1 Metabolitos secundarios vegetales

Las plantas, mediante su metabolismo, producen una diversidad de compuestos bioactivos, los cuales se generan como respuesta a diversos factores bióticos, como el ataque de plagas y otros organismos, y abióticos como la temperatura y humedad (**Munteanu & Apetrei, 2021**). Algunos de estos metabolitos son los polisacáridos, alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, polifenoles, terpenos, carotenoides, saponinas, fenoles, sesquiterpenos, entre otros (**Fraga et al., 2019**). Estos compuestos confieren a la planta propiedades antioxidantes, cardioprotectoras, antiinflamatorias, hipoglucémicas, antibacterianas, antihiperoglucémicas, entre otras (**Lu et al., 2021**).

Los fenoles son un amplio grupo de compuestos químicos, con moléculas tanto de estructura simple como compleja (**Fraga et al., 2019**). Su estructura básica es un grupo fenol, al que están anexos uno o más sustituyentes (**Figura 1**), y se pueden clasificar en flavonoides y no flavonoides (**Tabla 2**) (**Peñarrieta et al., 2014**). Varios fenoles son solubles en agua, sin embargo, dependiendo de su estructura, los fenoles con largas cadenas laterales son menos solubles en agua (**Gimeno Creus, 2004**). En la naturaleza, se encuentran fenoles en varios alimentos de origen vegetal como la cebolla, el té, cacao, aceite de oliva virgen, frutas, verduras, etc. Además, son muy empleados en la industria farmacéutica, química y cosmética como ingredientes activos y conservantes (**Kim et al., 2016**).

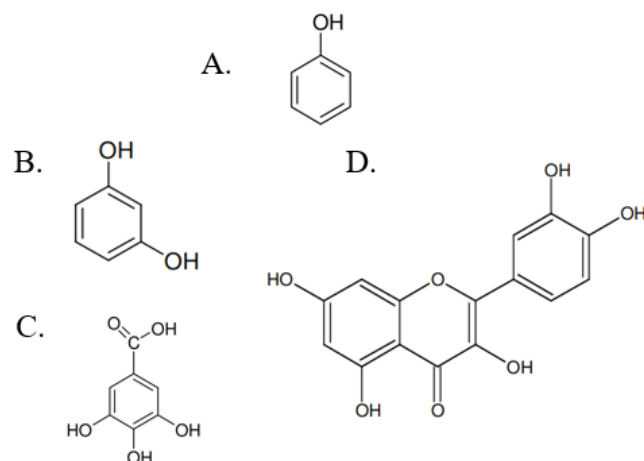


Figura 1. Estructuras químicas de algunos ejemplos de fenoles. A) Estructura química de un fenol. B) Estructura química del resorcinol. C) Estructura química del ácido gálico. D) Estructura química de la quercetina.

Fuente: (Peñarrieta et al., 2014).

Tabla 2. Clasificación de los compuestos fenólicos.

Flavonoides	No flavonoides
<ul style="list-style-type: none"> • Antocianos • Flaconas, flavononas, flavanoles y flavanonoles • Flavanoles, taninos condensados y lignanos 	<ul style="list-style-type: none"> • Fenoles no carboxílicos • Ácidos fenoles

Fuente: (Gimeno Creus, 2004).

Diversos autores reportan que, los polifenoles son el antioxidante más encontrado en las plantas, los cuales presentan actividad antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética, antitumoral, entre otras (Peñarrieta et al., 2014). Los polifenoles cuentan con múltiples grupos fenoles en su estructura, y se dividen en flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos (Kim et al., 2016).

Los flavonoides son un subtipo de polifenoles y son los más abundantes en la dieta, a su vez, los flavonoides incluyen flavonas, flavonoles, flavanonas, isoflavonas y antocianinas. Estos compuestos se encuentran en varios alimentos como las frutas, verduras y cereales (Fan et al., 2022). La estructura básica de este metabolito consiste en dos anillos aromáticos unidos por tres átomos de carbonos (Figura 2), a partir de esta, se presentan varios sustituyentes y distinta posición del anillo bencénico en el anillo pirano dando paso a los tipos de flavonoides ya descritos (Cartaya & Reynaldo, 2001). Poseen bajo peso molecular, son solubles en agua y poseen un rango de absorción de luz de 300 – 500 nm (Fraga et al., 2019; Wen et al., 2020).

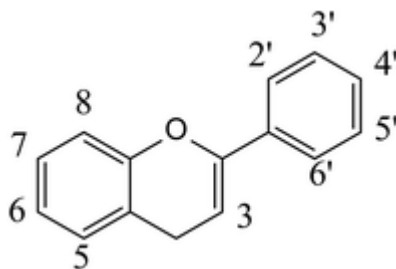


Figura 2. Estructura química básica de un flavonoide.

Fuente: (Fraga et al., 2019).

1.1.2.2 Marco (*A. arborescens*)

El marco, *A. arborescens*, es un arbusto aromático perteneciente a la familia Asteraceae, que mide de 1 a 3 m de altura. Nativo de los Andes de Sudamérica, crece a altitudes entre 2.000 y 3.500 m, en valles interandinos secos y terrenos sueltos y arenosos de pH ligeramente alcalino (Minga & Verdugo, 2016). Tradicionalmente es muy usada en infusiones para el tratamiento de desórdenes del sistema circulatorio, cólicos, diabetes, migrañas y como antiparasitario (de la Torre et al., 2008). La presencia de bioactivos como monoterpenos, sesquiterpenos, alcaloides, taninos y flavonoides, provee a la planta, propiedades antiinflamatorias, antivaho, antioxidantes, antirreumático, antidiarreico y

actividad antiproliferativa y citotóxica en líneas celulares de cáncer de mama (**Kovács et al., 2022; Silva-Correa et al., 2022**).

1.1.2.3 Quishuar (*B. incana*)

El quishuar (*B. incana*) es un árbol perteneciente a la familia Scrophulariaceae, que puede medir aproximadamente 15 m (**Jiménez Enriquez et al., 2020**). Nativo de los Andes de Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú, esta planta es usada para tratar enfermedades hepáticas, bronquiales, urogenitales y reumatismos (**de la Torre et al., 2008**). Debido a la presencia de flavonoides, esteroides, saponinas, antioxidantes, leucoantocinánidas, triterpenos, fenoles, taninos, cumarinas, alcaloides, terpenos y verbascosidos, el quishuar, presenta efectos antirreumáticos, antisépticos, cicatrizantes, antibacterianos y antimicóticos, así como estimulantes para la proliferación del endometrio y regeneración de la piel. Además, se evidencian funciones hipoglucémicas y propiedades antioxidantes, posiblemente por acción de los iridoides presentes (**Duke et al., 2009; Gutiérrez et al., 2020**).

1.1.2.4 Cedrón (*A. citrodora*)

El cedrón (*A. citrodora*), también conocida como verbena de limón, es un arbusto nativo de América del Sur, Norte de África y Sur de Europa, perteneciente a la familia Verbenaceae (**Bahramsoltani et al., 2018**). Mide aproximadamente 3 m de alto y crece habitualmente en regiones cálidas y templadas. Tradicionalmente se usan las hojas frescas o secas en infusiones y el aceite esencial en aromaterapia, con el fin de tratar trastornos nerviosos, resfriados, fiebre, insomnio, ansiedad, asma, indigestión, cólicos, flatulencias y diarrea (**Van Wyk & Wink, 2017**). Entre sus ingredientes activos presenta: terpenos, monoterpenos, sesquiterpenoides, fenoles, flavonoides, verbascósidos y ésteres metílicos,

los cuales confieren a la planta, efectos antimicrobianos, antioxidantes, ansiolíticos, neuroprotectores, anticancerígenos, anestésicos y sedantes (**Bahramsoltani et al., 2018; Rashid et al., 2022**).

1.1.3 Actividad antioxidante y la Diabetes Mellitus

Las Especies Reactivas de Oxígeno (ROS), son moléculas muy reactivas que cuentan con electrones desapareados en su última capa, de modo que estos se pueden unir a otras biomoléculas y producir modificaciones en las mismas (**Chaves et al., 2020**). Las ROS son producidas por el cuerpo humano en el metabolismo como radicales libres, los cuales son biomoléculas con funciones fisiológicas en varias vías metabólicas y moleculares como la cadena respiratoria mitocondrial, señalización celular, defensa contra patógenos, interacción célula-célula, crecimiento celular, procesos apoptóticos, autofagia y envejecimiento (**Yaribeygi et al., 2020**). Sin embargo, cuando un sistema biológico se encuentra en exposición continua a oxidantes, se genera un aumento en la cantidad de oxidantes o existe una disminución de la capacidad antioxidante de dicho sistema, se produce un estrés oxidativo (EO) (**Lu et al., 2021**). En este contexto, los radicales libres presentes en exceso, dañan las células, proteínas y el ADN; además pueden producir inflamaciones, diabetes, cáncer, aterosclerosis, envejecimiento y enfermedades neurodegenerativas (**Wahyuni et al., 2021**).

El cuerpo humano cuenta con antioxidantes endógenos (catalasas, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa) con la capacidad de proteger las células, convirtiendo las ROS en especies no radicales (**Yaribeygi et al., 2020**). Sin embargo, un exceso de radicales libres puede inhibir dichas enzimas, produciendo así, más radicales libres y dañando las células. Dicho lo anterior, es importante contar con un antioxidante exógeno con el fin de ayudar a contrarrestar el estrés oxidativo que se genere (**Chaves et al., 2020; Lu et al., 2021**).

En la DM el estrés oxidativo es uno de los diversos factores que contribuyen a esta fisiopatología (**Zhang et al., 2020**). Esto se debe al desequilibrio que se da entre la producción de radicales libres y la capacidad del sistema antioxidante endógeno, desencadenando una disminución en la sensibilidad periférica a la insulina (**Yaribeygi et al., 2020**). El estrés oxidativo puede alterar la homeostasis regular de la glucosa, a través de ciertas vías moleculares, de modo que, se genere un aumento en el riesgo de resistencia a la insulina, contribuyendo al desarrollo de DM (**Gunathilaka et al., 2019**).

El estrés oxidativo puede inducir resistencia a la insulina por cinco principales vías moleculares. En la disfunción de las células β pancreáticas, el EO induce un aumento de procesos apoptóticos, disminución de vías metabólicas en las células β , daño en los canales K_{ATP} , inhibición de factores de transcripción como el factor 1 promotor de insulina (Pdx-1) y MafA, disminución de la neogénesis de las células β , disfunción mitocondrial, activación de los receptores tipo peaje (TLR) e inducción de vías moleculares como Nf- κ b, JNK/SAPK, p38 MAPK y vías de hexosamina (**Yaribeygi et al., 2020; Lu et al., 2021**). Además, influye en la expresión y/o localización de GLUT-4, enzima encargada de regular la entrada de glucosa en las células dependientes de insulina. Así mismo, afectaría en las vías de señalización de la insulina; e induce un aumento en las respuestas inflamatorias. De igual forma, es un factor importante en varios casos de disfunción mitocondrial al alterar las cadenas respiratorias mitocondriales (MRC) dando como resultado la reducción de la capacidad de absorción de glucosa (**Yaribeygi et al., 2020; Zhang et al., 2020**).

Las plantas poseen una gran variedad de metabolitos secundarios como fenoles, carotenoides, vitaminas y flavonoides, los cuales son antioxidantes naturales (**Syiem & Warjri, 2015**). La estructura de cada uno de estos bioactivos confiere la capacidad de inhibir los radicales libres que estén presentes, es decir, pueden actuar como antioxidantes

exógenos (**Munteanu & Apetrei, 2021**). En el caso de los carotenoides, el doble enlace poliinsaturado conjugado protege las lipoproteínas y las membranas celulares, mientras los flavonoides eliminan los radicales libres al quelar los iones metálicos libres, inhiben algunas de las enzimas que producen ROS y mejoran la actividad de las enzimas antioxidantes (**Lu et al., 2021**).

1.1.3.1 Métodos de medición de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante puede ser evaluada mediante ensayos *in vitro*, usando distintos métodos de detección (**Lu et al., 2021**). Es común, el uso simultáneo de diferentes métodos de ensayo, con el fin de obtener resultados objetivos (**Munteanu & Apetrei, 2021**). Entre los ensayos comúnmente empleados se presenta el 1,1-difenil-1-2-picrilhidrazilo (DPPH); 2,2-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS); capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) y poder antioxidante reductor férrico (FRAP) (**Chaves et al., 2020**). Dichos ensayos se basan en evaluar la capacidad de eliminar los radicales libres producidos artificialmente de la sustancia examinada (**Lu et al., 2021**).

El ensayo de DPPH se basa en la capacidad que tienen los compuestos antioxidantes de neutralizar los radicales libres presentes al donar electrones para neutralizar el radical DPPH, dicha reacción produce un viraje de color morado intenso a amarillo pálido, lo cual evidencia la actividad antioxidante (**Munteanu & Apetrei, 2021**). De acuerdo a varias investigaciones, se han planteado diversos protocolos analíticos con variaciones e innovaciones, con el fin de ayudar a minimizar las interferencias de distintos factores como el periodo de reacción, temperatura y presencia de otras biomoléculas (**Chaves et al., 2020**).

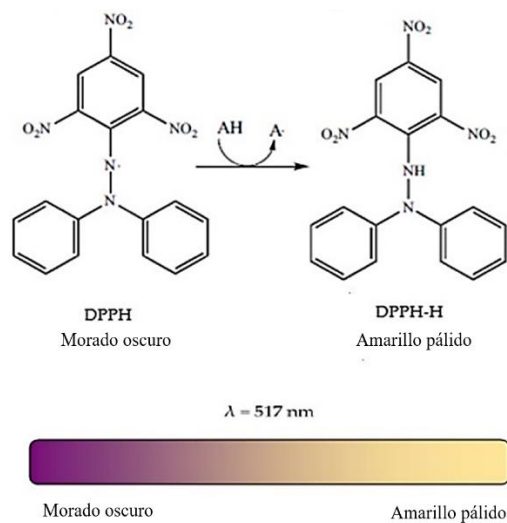


Figura 3. Mecanismo de reacción del ensayo de DPPH.

Neutralización del radical DPPH por un antioxidante (AH), produciéndose un cambio de color.

Fuente: (Munteanu & Apetrei, 2021)

1.1.4 Actividad hipoglucemiante

La actividad hipoglucemiante, es la capacidad de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, las cuales son importantes en el metabolismo de carbohidratos (Yu et al., 2021). Las plantas presentan compuestos bioactivos con dicha capacidad, es decir, pueden reducir los niveles elevados de glucosa del cuerpo humano. Además, estudios revelan la capacidad de ciertos metabolitos secundarios, de restaurar las funciones celulares del páncreas (Ortíz-Martínez et al., 2016; Rahman et al., 2022).

Entre los metabolitos secundarios de las plantas con actividad hipoglucemiante se encuentran los polifenoles, flavonoides, polisacáridos, terpenoides, taninos y alcaloides (Syiem & Warjri, 2015). Los compuestos fenólicos son capaces de establecer interacciones competitivas entre el sustrato y el sitio activo de las enzimas digestivas de carbohidratos (de Paulo Farias et al., 2021). Mientras que, los flavonoides son capaces de generar enlaces no covalentes en el sitio activo de las enzimas (Lim et al., 2022).

Además, regula la apoptosis e incrementa la proliferación de las células β pancreáticas, con el fin de promover la secreción de insulina y equilibrar el metabolismo de carbohidratos (Alhujaily et al., 2022).

Para la evaluación de la actividad hipoglucemiante se emplea el ensayo inhibidor de α -amilasa y α -glucosidasa *in vitro* (Syiem & Warjri, 2015). Dichas enzimas actúan sinérgicamente digiriendo almidón. La α -amilasa hidroliza los enlaces del almidón insoluble, mientras la α -glucosidasa cataliza la última parte del proceso de digestión de carbohidratos, convirtiendo los disacáridos en glucosa. La inhibición de estas enzimas reduce la degradación del almidón y aumenta el nivel de glucosa en sangre posprandial (Gunathilaka et al., 2019).

1.1.5 Microencapsulación de extractos vegetales

Los diversos compuestos bioactivos son sensibles a distintos factores ambientales, como la temperatura, pH, influencia de la luz, humedad y presencia de oxígeno. Con el fin de mantener la estabilidad de estos metabolitos es importante contar con un método de protección (Grassia et al., 2021). La microencapsulación es un método de conservación muy empleado, y consiste en atrapar el compuesto bioactivo dentro de un material de calidad alimentaria, dando como resultado partículas de distintos tamaños (nanómetros hasta pocos milímetros) (Safitri et al., 2022; Ștefănescu et al., 2022). Este método, además de mantener la estabilidad del metabolito, facilita el almacenamiento del compuesto bioactivo, permite su liberación controlada y aumenta su biodisponibilidad (Baltrusch et al., 2022). Con el paso del tiempo se han desarrollado diversas técnicas para la obtención de microencapsulados estables, algunas de las principales son: el secado por aspersión, liofilización, coacervación, gelificación iónica y evaporación de solventes (Annunziata et al., 2020).

La técnica más empleada para microencapsular es el secado por aspersión. Esta técnica consiste en pulverizar finas gotas de una solución usando un atomizador, de modo que la solución entre en contacto con el aire caliente y el solvente se evapore, produciendo las

micropartículas secas (Estevinho & Rocha, 2018). El secado por aspersion exhibe ventajas como un bajo costo operativo, facilidad para establecer condiciones de operación, accesibilidad tanto a nivel de laboratorio como industrial y el material obtenido es estable y fácil de almacenar y transportar (Choudhury et al., 2021).

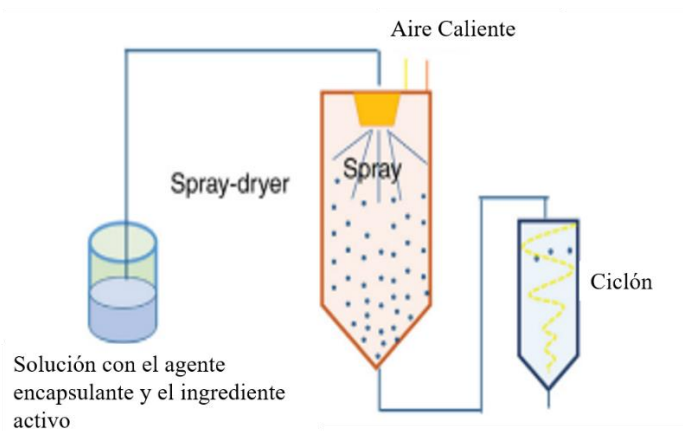


Figura 4. Esquema del proceso de microencapsulación

Fuente: (Estevinho & Rocha, 2018).

1.1.5.1 Biopolímeros usados en la microencapsulación de extractos vegetales

Los biopolímeros son macromoléculas naturales usados en el proceso de microencapsulación para recubrir y proteger el principio activo (Estevinho & Rocha, 2018). En la microencapsulación, la eficiencia y la estabilidad de las micropartículas están ligadas al material usado como agente encapsulante, es decir, depende del biopolímero utilizado (Annunziata et al., 2020). La elección del polímero a emplear está ligada a sus características fisicoquímicas y las interacciones que puede tener con el ingrediente activo (Ștefănescu et al., 2022). En general, deben cumplir con algunas condiciones como: poseer buenas propiedades reológicas a altas concentraciones, no reaccionar con el ingrediente activo, mantener en su interior y proporcionar una máxima protección al

bioactivo, ser económico, disponible y de calidad, además de ser de grado alimentario y legalmente permitido **(Estevinho & Rocha, 2018)**.

En el secado por aspersión, principalmente se emplean maltodextrina, ciclodextrinas, goma arábiga, casinato de sodio, proteínas de suero y de soja, quitosano, gelatina y almidón modificado **(Chen et al., 2019)**. Entre los polisacáridos más empleados, la maltodextrina es usada generalmente para la microencapsulación de polifenoles, ya que, en el proceso de secado por aspersión la conformación química cambia de lineal a circular, lo cual posibilita la incorporación de los polifenoles **(Estevinho & Rocha, 2018; Choudhury et al., 2021)**. Además, presenta ventajas como alta solubilidad en el agua y baja viscosidad a grandes concentraciones, siendo una buena opción para la microencapsulación de materiales hidrofílicos **(T. Gutiérrez & Álvarez, 2017)**. Algunos de los antioxidantes microencapsulados en diversas investigaciones son: café, extracto de guayaba, extracto de cáscara de naranja, antocianinas, entre otros **(Annunziata et al., 2020)**. Otro de los materiales usados es la goma arábiga, la cual es un polisacárido complejo de origen vegetal. Es soluble en agua, posee baja viscosidad, buenas propiedades de emulsificación y retención de compuestos volátiles, siendo útil en la microencapsulación de compuestos hidrófobos **(Kanakidi et al., 2022)**.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Evaluar la actividad antioxidante e hipoglucemiante in vitro de la combinación de extractos etanólicos de Marco (*Ambrosia arborescens*), Quishuar (*Buddleja incana*) y Cedrón (*Aloysia citrodora*).

1.2.2 Objetivos Específicos

1.2.2.1 Cuantificar los metabolitos secundarios presentes en las combinaciones de extractos realizadas mediante la medición de las concentraciones de flavonoides y fenoles totales.

1.2.2.2 Desarrollar el proceso de microencapsulación de la combinación de extractos etanólicos generados.

1.2.2.3 Comparar la actividad antioxidante e hipoglucémica de la combinación de extractos etanólicos y el microencapsulado generado mediante ensayos enzimáticos.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1 Materiales

A continuación, en la **Tabla 3** se enlistan los recursos materiales que fueron empleados para la ejecución del presente proyecto.

Tabla 3. *Recursos materiales que se utilizaron.*

Recursos materiales	
Reactivos	
Hipoclorito de sodio	Metanol
Agua destilada	Solución madre Trolox
Etanol 70%	Solución de almidón
Ácido Gálico	Solución de alfa amilasa
Reactivo de Folin-Ciocalteu	Reactivo DNS
Solución de carbonato de sodio 7%	Solución 5 mM reactivo PNPG
Solución de cloruro de aluminio 2% (p/v)	Solución alfa glucosidasa
Solución madre DPPH	Tampón fosfato de sodio
	Carbonato de sodio 0.2 M
Material fungible	
Probeta (10 mL, 50 mL, 100 mL)	Micropipeta (10 – 100 µL, 20 – 200 µL, 100 – 1000 µL)
Vaso de precipitación (100 mL, 250 mL, 500 mL)	Puntas para micropipetas (10 – 100 µL, 20 – 200 µL, 100 – 1000 µL)
Frasco ámbar (100 mL, 500 mL)	Papel filtro
Balón de aforo 100 mL	Papel aluminio
Microtubos	

Paquete de fundas ziplock	Placa de 96 pocillos	
Gradilla		
Equipos		
Equipo	Marca	Modelo
Deshidratador por convección	Smart Heat	546150
Espectrofotómetro UV	Fisher Scientific	Accuskan Go
Rotoevaporador	Eyela	OSB-2100
Baño María	Witeg	WSB-30
Refrigerador		
Mini Spray Dryer	BUCHI	B-290
Espectroscopio infrarrojo FT-IR	PERKIN ELMER	Spectrum Two
Ultracongelador	Binder	UF V 500-UL
Autoclave	Hirayama	HV-110

2.2 Métodos

2.2.1 Cuantificación de metabolitos secundarios presentes en las combinaciones de extractos realizadas mediante la medición de las concentraciones de flavonoides y fenoles totales

2.2.1.1 Obtención de extractos

Se realizaron los extractos usando las hojas recolectadas de Marco (*A. arborescens*), Quishuar (*B. incana*) y Cedrón (*A. citrodora*). Dicho material vegetal fue desinfectado

empleando una solución de hipoclorito de sodio al 10 % por 10 minutos, y seguidamente lavado con abundante agua estéril. Se dejó escurrir el agua por aproximadamente 30 minutos, y se colocaron las hojas en bandejas de metal (dispersas y evitando que se sobrepongan). Las bandejas fueron situadas en un deshidratador a 40 °C por 24 horas (Salles et al., 2020). Una vez transcurrido el tiempo, las hojas se trituraron empleando una licuadora casera, hasta obtener un polvo fino. El material vegetal procesado se pesó y almacenó en fundas ziplock, con el fin de mantener un stock.

A continuación, se realizó un macerado con el material vegetal y etanol al 70 % en proporción 1:10 (p/v) usando frascos ámbar de vidrio, y se mantuvo en un lugar con ausencia de luz por 8 días, sin embargo, se los agitó todos los días. Cumplido el tiempo de maceración, se filtró el producto empleando un matraz kitasato y una bomba de vacío. Posteriormente, el solvente se eliminó con ayuda de un rotoevaporador (50 °C, 80 atm). El extracto obtenido fue reservado en tubos cónicos estériles envueltos en aluminio para evitar el contacto con el sol (Salles et al., 2020).

2.2.1.2 Cálculo del rendimiento

El rendimiento de los extractos obtenidos de las tres plantas se calculó usando la **Ecuación 1** mencionada por **Gonelimali et al. (2018)**:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{X_1}{X_0} * 100 \quad (1)$$

Donde:

X₁: Peso del extracto después de la evaporación del solvente.

X₀: Peso seco del polvo vegetal antes de la extracción.

2.2.1.3 Realización de la combinación de extractos

Se realizaron cuatro combinaciones usando los tres extractos generados: Marco-Cedrón (MC), Marco-Quishuar (MQ), Cedrón-Quishuar (CQ) y Marco-Cedrón-Quishuar (MCQ), en una relación 1:1 y 1:1:1, respectivamente (**Gao et al., 2022**).

2.2.1.4 Determinación de flavonoides y fenoles totales

La cuantificación de flavonoides totales se efectuó empleando el método de cloruro de aluminio. En una placa de 96 pocillos se añadieron 60 μL de la combinación de extracto con 120 μL de una solución de cloruro de aluminio al 2 % (p/v) y se incubó la mezcla a temperatura ambiente y en ausencia de luz por 60 minutos. Una vez cumplido el tiempo de incubación, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm, usando un espectrofotómetro. Se realizó una curva estándar de quercetina (QE), preparando soluciones seriadas de 10 a 100 mg/L, para posteriormente efectuar una curva de calibración. El contenido de flavonoides totales se expresó como equivalente de miligramos de quercetina por gramos de peso seco de la muestra (mg QE/g PS) (**N'guessan et al., 2021**).

La cuantificación de fenoles totales se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu modificado. En una placa de 96 pocillos se colocó 10 μL de la combinación de extractos, 130 μL de agua destilada y 10 μL de una solución 2 N del reactivo Folin-Ciocalteu. Se incubó la reacción por 6 minutos y se agregó 100 μL de una solución de carbonato de sodio al 7 % (p/v). La reacción se incubó a temperatura ambiente y en ausencia de luz por 90 minutos. Se midió la absorbancia de cada muestra usando un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 750 nm. Se calibró una curva estándar realizando soluciones seriadas de ácido gálico estándar (GAE) de 10 a 100 mg/L. El contenido de fenoles totales se expresó como equivalente de miligramos de ácido gálico por gramos de peso seco de la muestra (mg GAE/g PS) (**Baek et al., 2021**).

2.2.2 Desarrollo del proceso de microencapsulación de la combinación de extractos etanólicos generados

2.2.2.1 Preparación de las disoluciones de las combinaciones

Para la microencapsulación de la combinación de extractos con mejor actividad biológica, se mezcló la combinación de extractos y el agente encapsulante, en una relación 30:70, respectivamente. Se usaron dos combinaciones de polímeros, el uno compuesto por una mezcla de maltodextrina y goma arábiga (1:1) y otra solo por maltodextrina. Dichos polímeros se disolvieron mediante agitación a 45 °C, hasta obtener una mezcla homogénea **Kanakidi et al. (2022)**.

2.2.2.2 Microencapsulación por secado por aspersion

El proceso de microencapsulación se desarrolló usando el equipo Mini Spray Dryer BUCHI-B290, a una presión de 5 bar, 150 °C de temperatura de entrada y 90 °C de temperatura de salida. Para esto, se alimentó el equipo con la disolución de combinación de extractos y polímeros realizados. Una vez se obtuvieron las microcápsulas, se almacenó en bolsas ziploc de aluminio (**Kanakidi et al., 2022**). Seguidamente se verificó la eficiencia de la microencapsulación, evaluando la concentración total y superficial del extracto en agua y etanol, empleando una relación 1:50 de microesferas: disolvente, respectivamente. Y se usó la siguiente ecuación (2) (**Safitri et al., 2022**):

$$EE\% = \frac{CT_{\text{agua}} - CS_{\text{etanol}}}{CT_{\text{agua}}} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

EE%: Eficiencia de microencapsulación

CT_{agua}: Concentración total superficial de agua

CT_{etanol}: Concentración total superficial de etanol

2.2.2.3 Verificación de la eficiencia de la microencapsulación

Mediante la metodología descrita por **Patel et al. (2020)**, se usó el programa Spectra Analysis, y se efectuó un análisis de espectroscopía infrarroja empleando el espectroscopio infrarrojo FT-IR (PerkinElmer) en un intervalo de frecuencias entre 500 y 4000 cm^{-1} . Se tomaron pequeñas cantidades de la muestra del extracto sin microencapsular, el microencapsulado y el polímero usado, y se compararon los picos más relevantes de cada muestra.

2.2.3 Comparación de la actividad antioxidante e hipoglucémica de la combinación de extractos etanólicos y el microencapsulado generado mediante ensayos enzimáticos

2.2.3.1 Preparación de la solución de DPPH y Trolox

Se preparó una solución madre de DPPH (150 $\mu\text{mol/L}$), disolviendo 0,0059 g de reactivo con 100 ml de solución diluyente formada por metanol-agua en proporción 80:20, en un balón de aforo de 100 mL. A continuación, se cubrió para evitar la exposición de la luz, usando papel aluminio, y se la agitó entre 30-40 minutos, con el fin de disolver todo el reactivo, se sonicó usando un baño sonicador por 30 minutos. Posteriormente, se elaboró una solución madre de Trolox (500 $\mu\text{mol/L}$), disolviendo 0,0125 g de reactivo en 100 ml de solución diluyente metanol-agua en proporción 50:50, en un balón de aforo de 100 mL. Finalmente, se la agitó para homogenizar los componentes. A partir de la solución madre de Trolox se prepararon concentraciones de reactivo y se generó una curva de calibración (**Bobo et al., 2015**).

2.2.3.2 Medición de la actividad antioxidante

En una placa de 96 pocillos se colocó 180 μL de diluyente para DPPH formado por metanol-agua (80:20) y 20 μL de agua destilada (blanco). Para el control, se empleó 180 μL de solución DPPH y 20 μL de agua destilada. Para la medición de la actividad del extracto se colocó 180 μL de solución DPPH y 20 μL de extracto diluido. Se dejó incubar la reacción por 40 minutos en ausencia de luz. Una vez transcurrido el tiempo, usando un espectrofotómetro, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm.

2.2.3.3 Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH

El porcentaje de inhibición se calculó usando la Ecuación descrita por **Bobo et al. (2015)**:

$$\% \text{Inhibición DPPH} = \left[1 - \left(\frac{A_m - A_b}{A_c - A_b} \right) \right] \times 100 \quad (3)$$

Donde A_m corresponderá a la absorbancia de la muestra, A_b a la absorbancia del blanco y A_c a la absorbancia del control.

2.2.3.4 Ensayo enzimático α -amilasa

Se realizaron soluciones madre de las combinaciones de extracto disuelto en tampón fosfato salino (PBS), a distintas concentraciones (100 – 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$). En un microtubo estéril se colocó un volumen de 50 μL de cada de la solución de las combinaciones con 50 μL de solución enzimática alfa amilasa disuelta PBS (0,1 mol/L, pH =6,9), a una concentración de (5 U/ml). La mezcla se dejó incubar a 37 °C durante 60 minutos y posteriormente se adicionó 50 μL de una solución de almidón (0,5 % p/v) disuelta en tampón fosfato salino (0,1 M, pH = 6,9), para incubarse nuevamente a 37 °C por 5 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, se añadió 50 μL de reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico 96 mmol/L), y se incubó a 100 °C durante 5 minutos. Se dejó enfriar 5

minutos a temperatura ambiente. Por último, se leyó la absorbancia a 540 nm empleando un espectrofotómetro UV-visible y se calculó el porcentaje de inhibición con la siguiente fórmula:

$$\%Inhibición = \frac{A_c - A_m}{A_c} \times 100 \quad (4)$$

Donde A_c corresponderá a la Absorbancia del control a 540 nm y A_m a la absorbancia de la muestra a 540 nm. La absorbancia de la muestra se obtuvo al restar la lectura del blanco a la de la muestra correspondiente.

2.2.3.5 Ensayo enzimático α -glucosidasa

Se realizaron soluciones madre de las combinaciones de extracto disuelto en tampón fosfato de potasio (0,1 mol/L y pH 6,9), a distintas concentraciones (100 – 500 $\mu\text{g/mL}$). En un microtubo estéril se colocó un volumen de 50 μL de cada combinación de extracto con 50 μL de tampón fosfato de potasio (0,1 mol/L y pH 6,9), el cual contenía la solución α -glucosidasa (0,5 U/ml). La mezcla se incubó por 30 minutos a 37 °C y posteriormente se adicionó 50 μL de solución 5 mmol/L de pNPG (p-nitro fenil- α -D-glucopiranosido) contenida en tampón fosfato de potasio (0,1 mol/L y pH 6,9), se incubó nuevamente a 37 °C durante 5 minutos. Por último, se agregaron 50 μL de carbonato de sodio 0,2 mol/L y se incubó a 37°C por 5 minutos. Posteriormente, se midió la absorbancia a 405 nm en un espectrofotómetro UV-visible. Se usó 50 μL del tampón fosfato de potasio en lugar de extracto como control y se calculó el porcentaje de inhibición producido según la siguiente Ecuación (5):

$$\%Inhibición = \frac{A_c - A_m}{A_c} \times 100 \quad (5)$$

Donde A_c corresponderá a la Absorbancia del control a 405 nm y A_m a la absorbancia de la muestra a 405 nm. La absorbancia de la muestra se obtuvo al restar la lectura del blanco a la de la muestra correspondiente.

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

3.1.1 Rendimiento de los extractos vegetales

Los extractos secos empleados para la realización de las combinaciones fueron obtenidos mediante el método de maceración. Como resultado, se obtuvieron 3 extractos cuyo rendimiento se calculó aplicando la **Ecuación 1**, dichos valores se encuentran presentes en la **Tabla 4**. En este caso, el Marco tuvo un mayor rendimiento de 12,045 % y el Cedrón presentó un rendimiento menor de 5,98 %.

Tabla 4. Rendimiento del extracto obtenido de cada planta.

Especie vegetal	% Rendimiento
<i>A. arborescens</i> (Marco)	12,045
<i>B. incana</i> (Quishuar)	9,472
<i>A. citrodora</i> (Cedrón)	5,98

La maceración es una técnica muy empleada para la obtención de extractos vegetales, así como diferentes componentes de estas matrices (**Abubakar & Haque, 2020**). Es importante señalar que, el rendimiento de la extracción de los extractos obtenidos está influenciada por diversos factores como: temperatura, solvente usado, proporción material vegetal: solvente, tamaño de la partícula, pH, calidad del material vegetal, parte de la planta, agitación, tiempo de exposición y condiciones de la planta (**Tingting et al., 2022**).

En dos estudios realizados por **Chamorro, (2020)** y **Cunalata & Jara, (2023)**, se obtuvo un rendimiento del 9,84 % y 10,30 %, para el extracto de *A. arborescens*, usando etanol al 76 % y 70 % como solvente por 3 y 4 días, respectivamente. A comparación con el

rendimiento obtenido en la presente investigación, que fue de 12,045 %, se evidencia un aumento en el rendimiento conseguido, con lo reportado en bibliografía. Esto puede deberse a la influencia de la agitación, ya que, en las dos investigaciones citadas, se agitó una sola vez el macerado, durante todo el proceso. Mientras en el presente estudio, se agitaron los frascos dos veces al día durante el tiempo de maceración. Esto permite que el solvente entre en contacto con la mayor cantidad de material vegetal presente, mejorando así la extracción (**Sridhar et al., 2021**).

Por otra parte, el rendimiento obtenido para *B. incana* fue de 9,472 %, siendo este, similar al rendimiento conseguido por **Llanga, (2014)** de 9,23 % para la misma planta. Es importante señalar que, en dicha investigación, se realizó un premacerado con éter etílico por 48 horas y posteriormente se ejecutó la maceración con etanol por otras 48 horas. El rendimiento pudo verse afectado tanto por el pretratamiento y por el solvente empleado.

El uso de un solvente adecuado dará como resultado altos rendimientos y una cantidad significativa de metabolitos en el extracto (**Tingting et al., 2022**). Esto se ve reflejado en los resultados expuestos por **Garrido et al., (2013)**, donde el uso de metanol y agua como solventes en la maceración, reflejan rendimientos de $33,9 \pm 1,2$ % y $10,9 \pm 1,5$ %, respectivamente, para la obtención de extractos de *Lampaya medicinalis*.

Por último, el rendimiento conseguido para el extracto de *A. citrodora* fue de 5,98 %. Dicho rendimiento entra en el intervalo de valores de 5,25 % y 31 % que se han reportado hasta el momento (**S. Rashid et al., 2021; Yungán, 2019**). El tamaño de la partícula usada para la maceración influye en el rendimiento, ya que, se presenta una mayor la superficie de contacto con el solvente. Tal es el caso en el que se emplean tamices con tamaño de partícula de hasta 125 micras, donde se obtiene más extracto (**Álvarez Rosales et al., 2019**). Otro factor a tomar en cuenta es la parte de la planta empleada, el uso de tallos

produce una menor cantidad de extracto que el uso de hoja maduras y en buen estado (Abubakar & Haque, 2020).

Además, se explica que no es necesario realizar la maceración por tiempos prolongados ya que la exposición extensa podría descomponer los compuestos bioactivos presentes, y es mejor usar una combinación de factores para mejorar el rendimiento que se obtiene, como son: tiempos cortos, agitación, temperaturas y solventes que estimulen la extracción de los componentes de interés (Valdez López et al., 2022). Se debe tomar en cuenta que, la presencia de componentes bioactivos va a depender de factores tanto intrínsecos como externos a la planta, como son la ubicación geográfica, factores ambientales, interacciones bióticas, edad de la planta y genética de la misma (Abubakar & Haque, 2020).

3.1.2 Combinaciones de extractos realizados

Empleando los extractos de Marco, Quishuar y Cedrón obtenidos se realizaron combinaciones con el fin de comprobar si existen efectos sinérgicos. En la **Tabla 5** se muestran las combinaciones efectuadas con las que se realizaron los análisis posteriores, y su nomenclatura.

Tabla 5. *Combinaciones de extractos realizados.*

Combinación de extractos	Nomenclatura	Proporción
Marco-Quishuar	MQ	
Marco-Cedrón	MC	1:1
Quishuar-Cedrón	QC	
Marco-Quishuar-Cedrón	MQC	1:1:1

3.1.3 Determinación de fenoles totales

La determinación del contenido de fenoles totales de las cuatro combinaciones se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu, los valores de concentración obtenidos son presentados en unidades de mgEAG/g PS (mg Equivalente de Ácido Gálico por g de peso seco) y se exponen en la **Tabla 6**. Siendo la combinación MQ la que expuso mayor concentración, mientras la combinación QC exhibió una menor cantidad de fenoles totales.

Tabla 6. *Contenido de fenoles totales de las combinaciones de extractos.*

Combinación de extractos	Fenoles totales (mgEAG/g PS)
Marco-Quishuar (MQ)	76,913 ± 3,929 ^a
Marco-Cedrón (MC)	64,691 ± 2,708 ^b
Quishuar-Cedrón (QC)	40,802 ± 3,930 ^c
Marco-Quishuar-Cedrón (MQC)	58,519 ± 11,040 ^b

Nota: Los datos presentados son el promedio de las medias ± desviación estándar (DE). Aquellas letras diferentes que formen parte de la misma columna indican diferencias significativas, los valores $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

La combinación MQ exhibió una mayor concentración de fenoles totales con respecto a las otras combinaciones, con un valor de 76,913 ± 3,929 mgEAG/g PS. Hasta el momento no se han realizado investigaciones sobre combinaciones con las plantas que se han escogido para el presente estudio, sin embargo, en el caso del Marco y el Quishuar se han reportado concentraciones de 45,360 ± 0,200 mgEAG/g PS y 47,400 mgEAG/g PS respectivamente (**Chamorro, 2020; Llanga, 2014**). Comparando los resultados, esta combinación mostró un incremento de la cantidad de fenoles totales con respecto a los extractos.

La combinación MC, se reportó una concentración de $64,691 \pm 2,708$ mgEAG/g PS. **Rojas et al., (2022)** y **Tammar et al., (2021)** en sus respectivos estudios, obtuvieron concentraciones de 102,130 mgEAG/g PS, $29,160 \pm 0,300$ mgEAG/g PS y $12,750 \pm 0,300$ mgEAG/g PS en extractos metanólicos de *A. citrodora*, estos resultados también están ligados al solvente y las condiciones bióticas y abióticas a las que están sometidas las plantas (en estas investigaciones las plantas se encuentran en distintas ubicaciones geográficas). Sin embargo, la combinación de MC, supone un incremento en las concentraciones fenólicas a comparación con las concentraciones determinadas en los extractos individuales de Marco y Cedrón.

El contenido de fenoles totales de la combinación QC fue de $40,802 \pm 3,930$ mgEAG/g PS. Comparando con los valores que se reportan en los extractos de cada especie, se refleja una disminución en la cantidad de fenoles en la mezcla. En cuanto a la combinación MQC, el contenido de fenoles totales fue de $58,519 \pm 11,040$ mgEAG/g PS, lo cual también refleja una disminución en el contenido de fenoles. Sin embargo, es importante señalar que no existe diferencia significativa entre las medias de las concentraciones de fenoles de la combinación MC y MQC ($p < 0,05$) (**Anexo 2**), lo que supondría que los componentes del extracto de Cedrón interactúan con los componentes de los otros extractos, reduciendo la disponibilidad de fenoles totales. Las concentraciones de fenoles de las cuatro combinaciones de extractos se pueden observar en la **Figura 5**.

Gómez et al., (2019) expresa que, combinar dos o más extractos podría aumentar la concentración de ciertos componentes bioactivos y potenciar algunas de sus propiedades, sin embargo, se deben considerar ciertos factores que podrían afectar la sinergia, tal es el caso de los taninos que, en algunas ocasiones, al estar en presencia de fenoles, forman complejos y reducen la biodisponibilidad o actividad antioxidante de estos últimos. También es importante tener en cuenta la concentración que se usa de cada extracto ya que, el emplear distintas concentraciones potenciaría ciertas actividades biológicas como es el caso reportado por **Más Toro et al., (2017)**, donde una combinación de moringa y

guayaba, con mayor proporción de moringa revela mayor actividad antibacteriana frente a bacterias Gram Negativas.

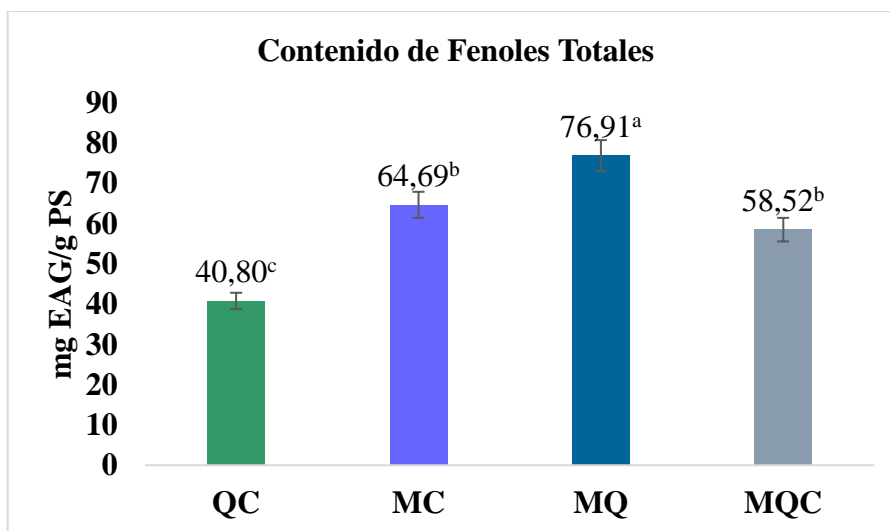


Figura 5. *Contenido de fenoles totales en las combinaciones de extractos.*

3.1.4 Determinación del contenido de flavonoides totales

La determinación del contenido de flavonoides totales se realizó usando el método de Cloruro de aluminio y los valores obtenidos se presentan en la **Tabla 7**. Los valores de concentración de flavonoides totales son presentados en unidades de mgEQ/g PS (mg Equivalente de Quercetina por g de peso seco), siendo la combinación de QC la que más contenido de flavonoides expuso, en contraste con la combinación de MQC la cual contiene una menor cantidad de flavonoides.

Tabla 7. *Contenido de flavonoides de las combinaciones de extractos.*

Combinación de extractos	Flavonoides totales (mgEQ/g PS)
Quishuar-Cedrón (QC)	39,4 ± 0,650 ^a
Marco-Quishuar (MQ)	33,120 ± 0,970 ^b
Marco-Cedrón (MC)	26,454 ± 0,811 ^c
Marco-Quishuar-Cedrón (MQC)	25,163 ± 0,371 ^d

Nota: Los datos presentados son el promedio de las medias ± desviación estándar (DE). Aquellas letras diferentes que formen parte de la misma columna indican diferencias significativas, los valores $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

La combinación de QC presentó una concentración de $39,4 \pm 0,650$ mgEQ/g PS, siendo esta, la que mayor concentración de flavonoides exhibió. Aunque no existen datos de combinaciones realizadas con Marco, Quishuar y Cedrón, algunos autores reportan la concentración de flavonoides individual de dichas especies. Tal es el caso del Quishuar, cuya concentración conseguida fue de $62,56$ mgEQ/g PS en un extracto de *B. officinalis* obtenido mediante extracción asistida por microondas (Pan et al., 2010). Esto refleja la importancia de la elección del método de extracción, siendo, la extracción por ultrasonido y la extracción con fluidos supercrítico más eficientes con respecto a la maceración (Abubakar & Haque, 2020). En el caso del Cedrón, se reportó una concentración de $10,893 \pm 0,050$ mgEQ/g PS. La concentración de flavonoides en la combinación es menor a comparación con el extracto de Quishuar, y mayor que el contenido del extracto de Cedrón, lo cual podría deberse a la presencia de ciertos metabolitos que reaccionan con otros en cada una de las plantas, reduciendo así el contenido de flavonoides (Garrido et al., 2013).

En cuanto al contenido de flavonoides en la combinación MC se obtuvo una concentración de $26,454 \pm 0,811$ mgEQ/g PS. Dicho valor es superior al contenido de flavonoides del extracto de Marco reportado por Gutiérrez et al., (2020), cuya concentración fue de 1,12

mgEQ/g PS. La combinación de Marco y Cedrón supondría un aumento en el contenido de flavonoides en comparación con sus extractos individuales.

El contenido de flavonoides obtenido en la combinación MQ fue de $33,120 \pm 0,970$ mgEQ/g PS. En contraste con los valores obtenidos en distintas investigaciones para cada extracto, se reflejó una disminución de la concentración de flavonoides con respecto al Quishuar, y un aumento con respecto al Marco. Respecto a la combinación de MCQ, el valor del contenido de flavonoides fue de $25,163 \pm 0,371$ mgEQ/g PS, dicho valor fue el menor de entre todas las combinaciones, lo cual podría deberse a las interacciones de los distintos metabolitos presentes en cada matriz vegetativa, cuya interacción afectaría en la biodisponibilidad de flavonoides (Tingting et al., 2022). Es importante señalar que todas las medias de la concentración de flavonoides fueron estadísticamente significativas a excepción de las combinaciones MC y MQC (Anexo 3).

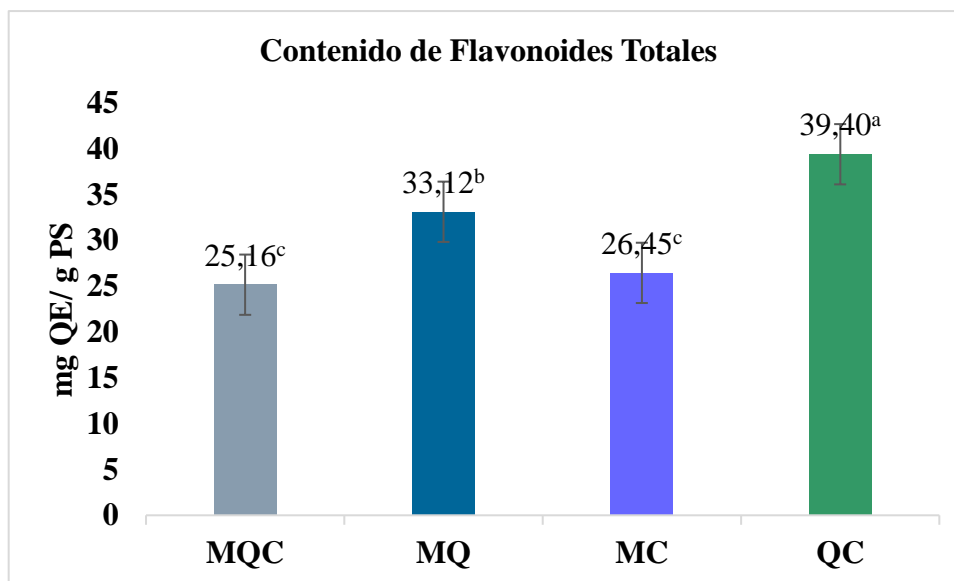


Figura 6. *Contenido de flavonoides totales en las combinaciones de extractos.*

3.1.5 Evaluación de la capacidad hipoglucémica mediante ensayos de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa

Para la microencapsulación de la combinación de extractos, se realizaron ensayos previos para la determinación de la combinación con mejor actividad antioxidante e hipoglucemiante, mediante ensayos de inhibición del radical DPPH y de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, respectivamente.

Las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa tienen la capacidad de descomponer carbohidratos y azúcares complejos presentes en el torrente sanguíneo, en unidades simples y absorbibles por las células (Tingting et al., 2022). En específico, la α -amilasa descompone carbohidratos complejos en unidades intermedias, que posteriormente serán procesadas por otras enzimas, hasta obtener azúcares simples, como la glucosa (Gunathilaka et al., 2019). La ejecución de estos ensayos ayuda a determinar la capacidad, que podrían tener ciertos compuestos, de reducir la liberación de azúcares simples en la digestión y controlar los niveles de glucosa postprandial (actividad hipoglucemiante) (Jurgoński et al., 2019).

De acuerdo a los resultados obtenidos, a mayor concentración de la combinación de extractos, el porcentaje de inhibición de la enzima aumenta. Las cuatro combinaciones presentaron una mayor inhibición al usar una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$ de extracto, lo cual se observa en la **Tabla 8**. La combinación MQ presentó una mayor inhibición de la enzima, mientras la combinación QC fue la que menor porcentaje de inhibición tuvo, como se muestra en la **Figura 7**.

Tabla 8. Medias de la inhibición enzimática de α -amilasa a concentraciones de 100 $\mu\text{g/mL}$ a 500 $\mu\text{g/mL}$.

		Concentración ($\mu\text{g/mL}$)				
		100	200	300	400	500
Combinaciones	MQ	10,928 \pm 2,185 ^a	16,255 \pm 3,243 ^a	21,852 \pm 2,591 ^a	31,092 \pm 3,118 ^a	42,054 \pm 1,940 ^a
	MC	10,037 \pm 1,268 ^a	13,557 \pm 1,310 ^b	16,147 \pm 1,648 ^b	24,680 \pm 1,760 ^b	33,434 \pm 1,378 ^b
	QC	7,863 \pm 1,057 ^b	10,910 \pm 0,927 ^c	16,972 \pm 1,803 ^b	17,296 \pm 1,000 ^c	23,057 \pm 1,572 ^c
	MQC	9,306 \pm 1,585 ^c	18,338 \pm 1,276 ^d	23,127 \pm 1,044 ^a	29,799 \pm 1,710 ^d	40,921 \pm 1,932 ^a

Nota: Los datos presentados son el promedio de las medias \pm desviación estándar (DE). Aquellas letras diferentes que formen parte de la misma columna indican deferencias significativas, los valores $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

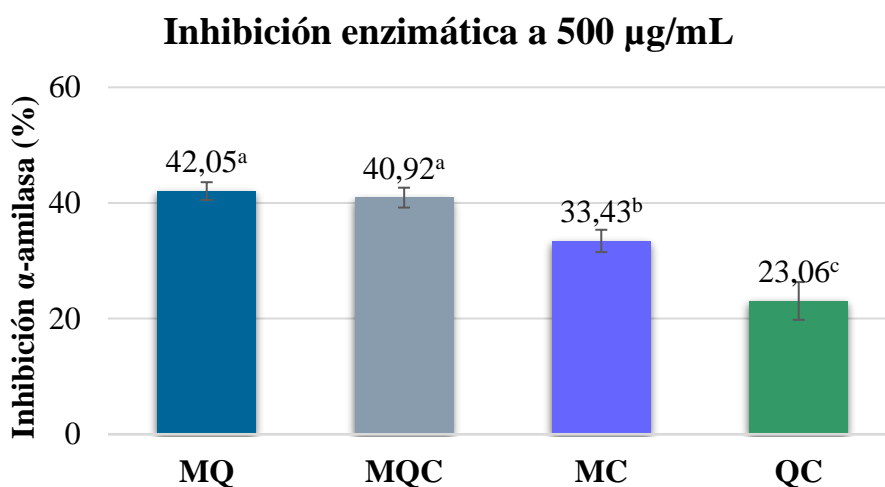


Figura 7. Inhibición de la enzima α -amilasa a 500 $\mu\text{g/mL}$.

Hasta el momento no se han realizado ensayos de combinaciones con extractos de Marco, Cedrón y Quishuar; sin embargo, se reportan datos en matrices vegetales pertenecientes a las mismas familias. Dicho lo anterior, para la combinación MQ se determinó un 42,054 \pm 1,940 % de inhibición enzimática, siendo esta, mayor con respecto a una especie

de *Psiadia punctulata* (Familia Asteraceae), estudiada por **Kidane et al., (2018)**, la cual exhibió un valor de $37,50 \pm 5$ % de inhibición a una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$.

No obstante, también se reportan especies cuya actividad es superior a la obtenida usando una menor concentración de extracto, tal es el caso de *Artemisia pallens* de la misma familia, cuya inhibición fue de 46,190 % a una concentración de 312,500 $\mu\text{g/mL}$ (**Kulkarni & Kamble, 2022**). Esto podría estar relacionado con el método de extracción de los metabolitos, así como la presencia de metabolitos específicos con mayor potencial hipoglucemiante en la matriz vegetal. Mientras que, para el Quishuar, **Chemjong, (2021)** y **Elhady et al., (2021)** han reportado un $23,738 \pm 3,69\%$ y 50% de inhibición en *B. asiatica* y *B. indica*, respectivamente.

Con respecto a la combinación MQC, se obtuvo un $40,921 \pm 1,932$ % de inhibición, dicho valor, no presenta una diferencia significativa con el porcentaje de inhibición de la combinación MQ. Sin embargo, las combinaciones MC y QC, expusieron un $33,434 \pm 1,378$ % y $23,057 \pm 1,572\%$ de inhibición. Los valores de estas dos combinaciones son significativamente distintos tanto entre sí, como en comparación con las combinaciones MQ y MQC (**Anexo 8**).

3.1.6 Evaluación de la capacidad hipoglucémica mediante el ensayo de inhibición de la enzima α -glucosidasa

La enzima α -glucosidasa, es parte del proceso de digestión de los carbohidratos, dicha enzima se encarga de descomponer a los productos intermedios obtenidos de la digestión de la α -amilasa, en unidades simples, como la glucosa (**Tingting et al., 2022**). Para la evaluación de la capacidad de inhibir la enzima α -glucosidasa presentada por extractos vegetales, se emplean distintos métodos, como es el caso de los métodos colorimétricos (**Rincon et al., 2019**).

En la **Tabla 9** se presentan las medias obtenidas en el ensayo de inhibición de la enzima α -glucosidasa, empleando cuatro combinaciones a cinco distintas concentraciones de extracto. En base a lo obtenido, todas las combinaciones poseen una mayor capacidad inhibitoria al usar mayor concentración de extractos. Como resultado, la combinación MQ exhibió una mayor capacidad inhibitoria, y la combinación QC, presentó una menor capacidad de inhibir la enzima.

Tabla 9. Medias de la inhibición enzimática de α -glucosidasa a concentraciones de 100 $\mu\text{g/mL}$ a 500 $\mu\text{g/mL}$.

		Concentración ($\mu\text{g/mL}$)				
		100	200	300	400	500
Combinaciones	MQ	9,956 \pm 0,309 ^a	16,128 \pm 1,031 ^a	24,854 \pm 0,633 ^a	30,917 \pm 1,041 ^a	41,298 \pm 0,362 ^a
	MC	11,626 \pm 0,544 ^b	14,371 \pm 0,936 ^b	21,551 \pm 0,843 ^b	26,714 \pm 0,649 ^b	36,147 \pm 3,693 ^b
	QC	11,328 \pm 0,539 ^b	19,565 \pm 0,379 ^c	24,255 \pm 0,953 ^a	29,176 \pm 0,752 ^c	34,779 \pm 3,119 ^b
	MQC	10,456 \pm 0,707 ^a	13,047 \pm 0,987 ^b	16,821 \pm 0,699 ^c	24,196 \pm 1,260 ^b	37,377 \pm 1,073 ^b

Nota: Los datos presentados son el promedio de las medias \pm desviación estándar (DE).

Aquellas letras diferentes que formen parte de la misma columna indican deferencias significativas, los valores $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

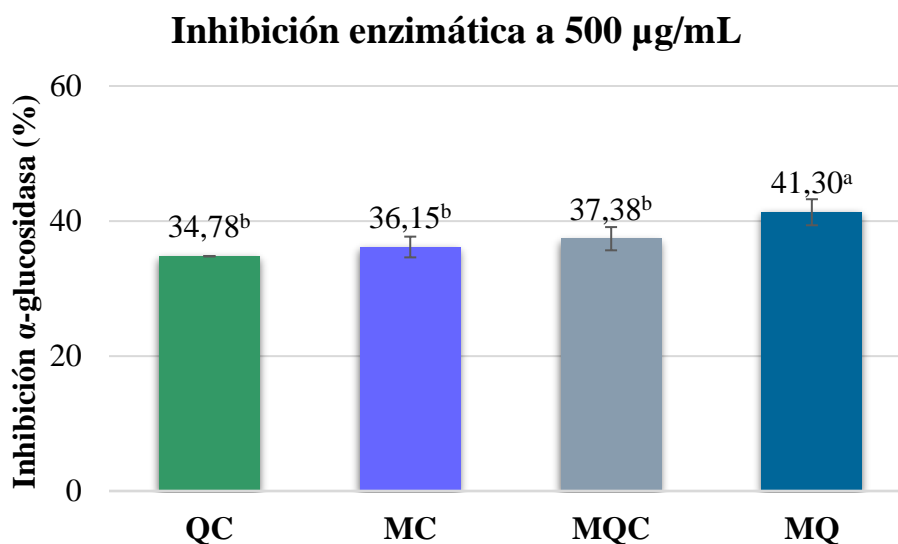


Figura 8. Inhibición de la enzima α -glucosidasa a 500 ug/mL.

En el caso de la combinación MQ se obtuvo un $41,298 \pm 0,362$ % de inhibición de la enzima, mientras las combinaciones MQC y MC presentaron un $36,147 \pm 3,693$ % y $37,377 \pm 1,073$ % de inhibición, respectivamente, siendo la combinación QC la que presentó una menor inhibición, $34,779 \pm 3,119$ %, como se muestra en la **Figura 8**. Sin embargo, solo la media de la combinación MQ a 500 µg/mL es significativamente diferente con respecto a las otras combinaciones (**Anexo 13**). Es decir, la inhibición de la combinación MQ es mayor con respecto a las combinaciones MC, MQC y QC, mientras el porcentaje de inhibición de estas tres últimas combinaciones es similar.

Actualmente no se han reportado datos usando extractos o combinaciones con las mismas matrices vegetales sobre la inhibición de la enzima; aun así, **Elhady et al., (2021)** menciona que, el extracto de *B. indica* exhibió un 55 % de inhibición de la enzima α -glucosidasa a 500 µg/mL. En el caso de *A. citrodora* y *A. arborescens* no se reportan datos en bibliografía; sin embargo, (**Mocan et al., 2020**) en su estudio menciona que *Salvia officianalis* L. (perteneciente al orden Lamiaceae, al igual que *A. citrodora* y *A.*

arborescens), presenta una actividad inhibitoria de $27,01 \pm 0,12$ mmolACAE/g Extracto (ACAE= equivalentes de acarbosa).

Es importante tener en cuenta que, muchos compuestos actúan sobre otros, inhibiendo sus distintas actividades biológicas. **Coronado-Olano et al., (2021)** menciona que, *Chenopodium quinoa* Willd y *Chenopodium pallidicaule* Aellen, presentan un 30 % y 15 % de inhibición frente a la enzima α -glucosidasa, sin embargo, no presentan actividad frente a α -amilasa. De modo que, se sugiere, primero aislar los distintos componentes de la matriz vegetal, con el fin de evaluar individualmente su acción, y así, evitar interacciones antagonistas, para finalmente, realizar combinaciones que potencien la sinergia (**He et al., 2022**).

Como ya se ha mencionado, el solvente y la parte de la planta empleados para la obtención de los extractos influyen en los efectos que exhiben los extractos finales, como se observa en la investigación de **Zhang et al., (2022)**, donde se determinó la actividad hipoglucémica de extractos de la parte aérea floreciente seca de *Polygonum aviculare* L. obtenidos con etil acetato, etanol, éter de petróleo y n-Butanol. En este caso, el extracto con etil acetato presentaba mayor inhibición a la enzima α -glucosidasa, mientras el extracto en n-Butanol presentaba una acción menor sobre la enzima, y, frente a la enzima α -amilasa, casi no tenía actividad inhibitoria.

Es importante tener en cuenta que, al emplear métodos colorimétricos como el ensayo de DNS para la determinación de la inhibición de la enzima α -amilasa, algunos factores como la presencia de flavonoides dietéticos o el tamaño molecular de los oligosacáridos interfieren con el resultado final al revelar valores sobreestimados. Una gran variedad de flavonoides cuenta con propiedades inhibitorias de enzimas digestivas, como lo son la α -amilasa y α -glucosidasa, cuya actividad está relacionada con su estructura química (**Lim et al., 2022**). Al revisar las concentraciones de flavonoides que presentaron cada

combinación, la mezcla QC exhibió una mayor cantidad de estos metabolitos, a pesar de ello, en los ensayos de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa, esta combinación expuso una menor inhibición de estas enzimas.

De acuerdo a los datos que se obtuvieron, la combinación MQ presentó un mayor porcentaje de inhibición en los ensayos de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, esta combinación fue escogida para su microencapsulación y posterior determinación de actividad antioxidante e hipoglucemiante.

3.1.7 Evaluación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante es la capacidad de ciertos compuestos de neutralizar o reducir los efectos nocivos de los radicales libres presentes en el organismo al donar electrones y estabilizarlos. De esta forma se reduce el estrés oxidativo del cuerpo, previniendo el daño celular. La determinación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método de DPPH, obteniendo valores expresados en porcentaje de inhibición de radical libre DPPH, los cuales se reportan en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Medias de la evaluación de la actividad antioxidante de las cuatro combinaciones

Combinación	Inhibición (%)	Equivalente de Trolox ($\mu\text{mol/L}$)
MQC	70,573 \pm 2,236 ^a	396,743 \pm 12,778
MQ	79,282 \pm 1,361 ^b	446,504 \pm 7,779
MC	77,250 \pm 0,864 ^c	434,893 \pm 4,940
QC	77,141 \pm 1,846 ^c	434,271 \pm 10,546

Nota: Los datos presentados son el promedio de las medias \pm desviación estándar (DE). Aquellas letras diferentes que formen parte de la misma columna indican deferencias significativas, los valores $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

La combinación MQ, MC y QC presentaron un $79,282 \pm 1,361$ %, $77,250 \pm 0,864$ % y $77,141 \pm 1,846$ % de inhibición del radical libre DPPH, es decir, las tres combinaciones exhibieron la mayor actividad antioxidante ya que sus medias no presentan diferencias significativas, mientras la combinación MQC, expuso la menor actividad antioxidante en comparación con las otras combinaciones. Con respecto al control, las combinaciones MQ, MC y QC fueron significativamente diferentes, mientras la combinación MQC no presentó diferencia significativa con respecto al control (**Anexo 1**) (**Figura 9**).

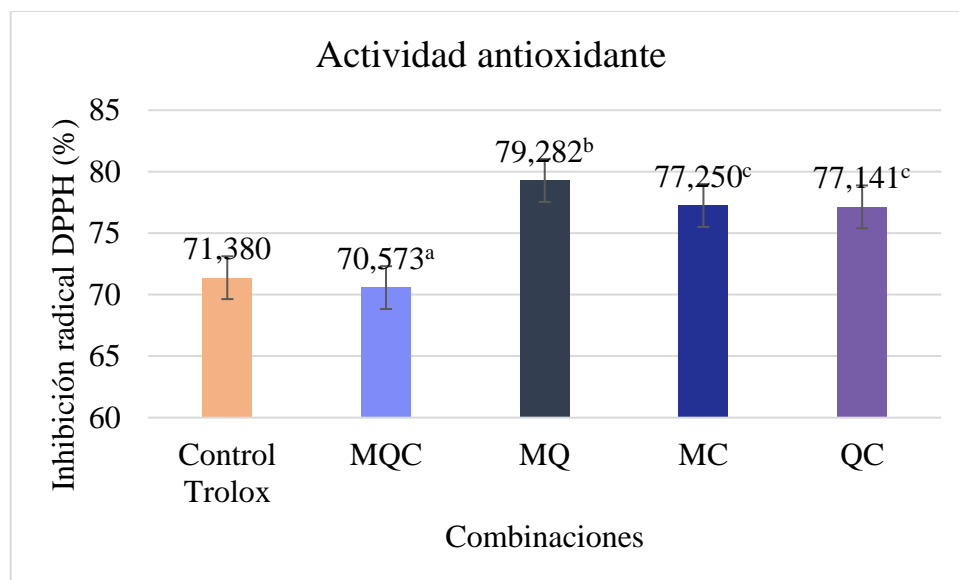


Figura 9. Actividad antioxidante de las cuatro combinaciones.

Hasta el momento no se han reportado datos sobre la actividad antioxidante de combinaciones con extractos de Marco, Quishuar y Cedrón; sin embargo, se han obtenido valores de la actividad antioxidante expuesta por los extractos individuales. En el caso de *A. arborescens*, en el estudio ejecutado por **Alvarado & Fuertes, (2017)**, se obtuvo un 57,60 % de inhibición en el extracto metanólico de la misma especie. En cuanto a *B. incana*, se ha reportado un 67,582 % de inhibición de DPPH en un extracto metanólico. Mientras para *A. citrodora* se expuso un 63,90 % de inhibición (**Miranda, 2019**).

Al comparar los resultados obtenidos en la presente investigación con los resultados presentados por distintos autores, es evidente que la realización de las combinaciones ha incrementado la actividad antioxidante de cada extracto individual. Los fenoles y flavonoides, por su estructura molecular, poseen la capacidad de actuar sobre los radicales libres, es decir, están asociados con la actividad antioxidante (**Munteanu & Apetrei, 2021; İlgin et al., 2023**). De acuerdo con los resultados de la determinación del contenido de fenoles y flavonoides en las combinaciones, la combinación MQ posee un mayor contenido de estos metabolitos, con respecto a las otras combinaciones, esto respaldaría los resultados obtenidos en el presente ensayo

3.1.8 Microencapsulación

Una vez obtenidas las microcápsulas se evaluó la eficiencia de la microencapsulación, con el fin de determinar si el bioactivo de interés se ha encapsulado correctamente. Existen diversos factores que influyen en los resultados finales de eficiencia, entre los que se mencionan las temperaturas de entrada y salida, termosensibilidad de los ingredientes activos, los biopolímeros empleados y la concentración de los mismos (**Movasaghi et al., 2008**).

Para el presente estudio se empleó maltodextrina y una combinación de maltodextrina: goma arábica (en proporción 1:2, goma arábica: maltodextrina) como biopolímeros para el recubrimiento de la combinación de extracto (combinación MQ) en una proporción ingrediente activo: biopolímero 30:70. De modo que se obtuvieron los dos microencapsulados presentados en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Eficiencia de los dos microencapsulados

Tratamiento	Ingrediente activo	Biopolímero	% Eficiencia
MQ MD	Combinación MQ	MD	77,829 ± 1,423 ^a
MQ MDGA		MDGA	79,064 ± 1,135 ^b

Nota: Maltodextrina *MD*, mezcla polimérica de maltodextrina y goma arábica *MDGA*. Los datos presentados son el promedio de las medias ± desviación estándar (DE). Aquellas letras diferentes que formen parte de la misma columna indican deferencias significativas, los valores $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

En base a los resultados, el tratamiento MQ-MDGA presentó una mayor eficiencia. Si bien, no se reportan investigaciones donde se microencapsulen extractos de Marco, Quishuar y Cedrón, existen muchos estudios en los que se microencapsulan extractos a partir de hojas de varias plantas usando como agentes microencapsulantes maltodextrina y goma arábica. **Navarro-Flores et al., (2020)** reportan una eficiencia del $85,95 \pm 0,43$ % en el microencapsulado de extracto metanólico de hojas de *Crotalaria longirostrata* al usar una mezcla polimérica de MDGA, mientras el microencapsulado del mismo extracto con MD como biopolímero, exhibió una eficiencia del $65,40 \pm 0,41$ %.

Es importante tener en cuenta los distintos factores que intervienen tanto en el rendimiento como en la eficiencia del microencapsulado. En este caso, probablemente la baja eficiencia al usar solo maltodextrina se pudo deber a la falta de emulsificación y menor capacidad de recubrimiento del polímero (**Xiao et al., 2022**). El uso de la combinación de MD y GA ha reportado resultados significativos de eficiencia, ya que, los polímeros se complementan y compensan sus falencias, como es el caso de la goma arábica, que posee una alta capacidad emulsionante (**Tolun et al., 2020**). Además, posee ventajas como solubilidad en agua, estabilidad y buena eficiencia, y ayuda a evitar la pegajosidad y notable higroscopicidad que se da en el proceso de microencapsulación, lo cual influye en

el resultado final del rendimiento y eficiencia del microencapsulado (**Chen et al., 2019; Velazquez-Martinez et al., 2021**).

Cabe mencionar que la concentración del agente microencapsulante influye tanto en el tamaño final de las micropartículas, como en la eficiencia de la microencapsulación (**Tolun et al., 2020**). Aunque el uso de goma arábiga contribuya a elevar la eficiencia del microencapsulado, emplear una concentración elevada de este polímero solo disminuirá la eficiencia de la microencapsulación (**Lourenço et al., 2020**), por lo que, se utiliza en menor proporción en la mezcla MDGA. Por otro lado, algunos estudios mencionan que, para la microencapsulación de compuestos fenólicos, es mejor optar por el uso de proteínas, como la proteína de soja, debido a las interacciones hidrofóbicas y enlaces de hidrógeno que se generan entre las proteínas y los compuestos fenólicos, tomando en cuenta el grado de pureza de cada polímero (**Navarro-Flores et al., 2020**).

3.1.8.1 Análisis de Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La Espectroscopia Infrarroja por la Transformada de Fourier (FTIR) es una técnica muy empleada para el análisis de la eficiencia de la microencapsulación. Esta técnica permite analizar las propiedades químicas y estructurales de una gran variedad de muestras, brindando información sobre las capas internas y externas del microencapsulado (**Movasaghi et al., 2008**). Esta técnica se basa en la interacción entre la luz infrarroja emitida por el equipo y las moléculas de la muestra, lo que permite determinar vibraciones de los enlaces, grupos funcionales y conformaciones moleculares que se encuentre presentes en la muestra analizada (**Fadlelmoula et al., 2022**).

La aplicación de FTIR en el análisis de un microencapsulado, además de brindar información de los componentes del microencapsulado, nos proporciona información sobre el espesor de las capas que recubren el ingrediente activo, así como el estado de

agregación del mismo, y las interacciones químicas que se da entre el agente microencapsulante y el bioactivo (Movasaghi et al., 2008; Hussain et al., 2023).

Una vez obtenidos los dos microencapsulados, se analizó una pequeña muestra de la combinación sin microencapsular, del microencapsulado y del polímero usado como agente microencapsulante, con el fin de determinar la eficiencia de cada microencapsulado generado. En la **Figura 10** y **Figura 11** se observan los espectros correspondientes a las muestras MQ MD y MQ MDGA, comparados con la combinación MQ de extracto seco y el polímero y mezcla polimérica, respectivamente. En base al análisis cualitativo de los espectros presentado, se infiere que la muestra MQ MDGA, presentó una mayor eficiencia de microencapsulación ya que presenta una mayor similitud al espectro de la mezcla polimérica MDGA (**Figura 11**).

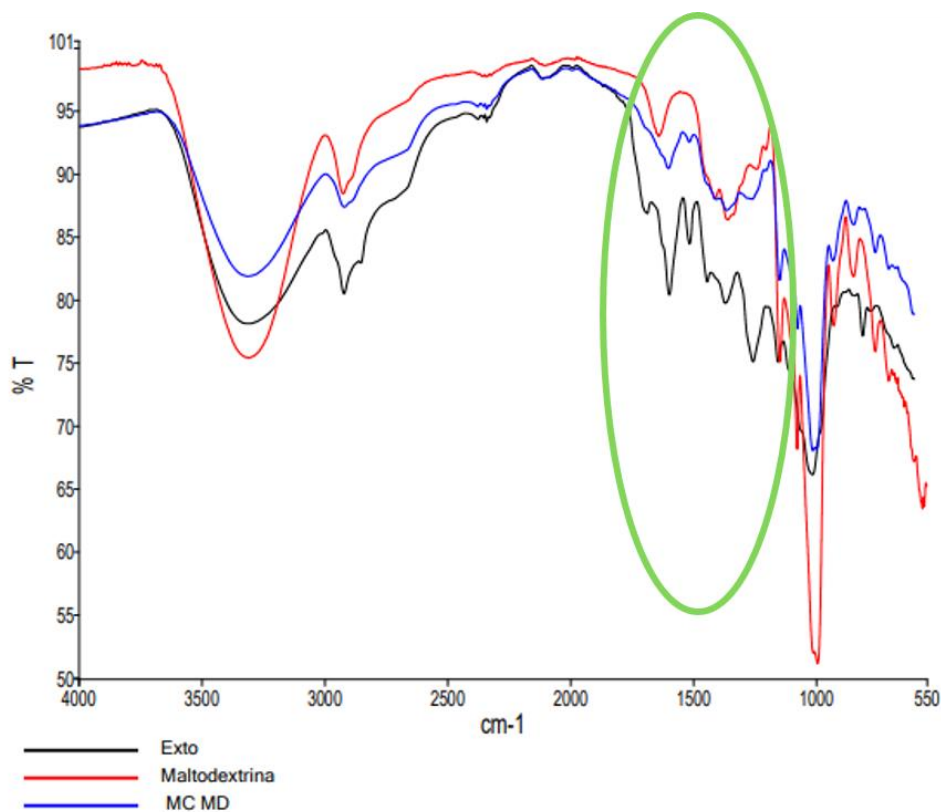


Figura 10. Espectro infrarrojo del microencapsulado de la combinación MQ con MD.

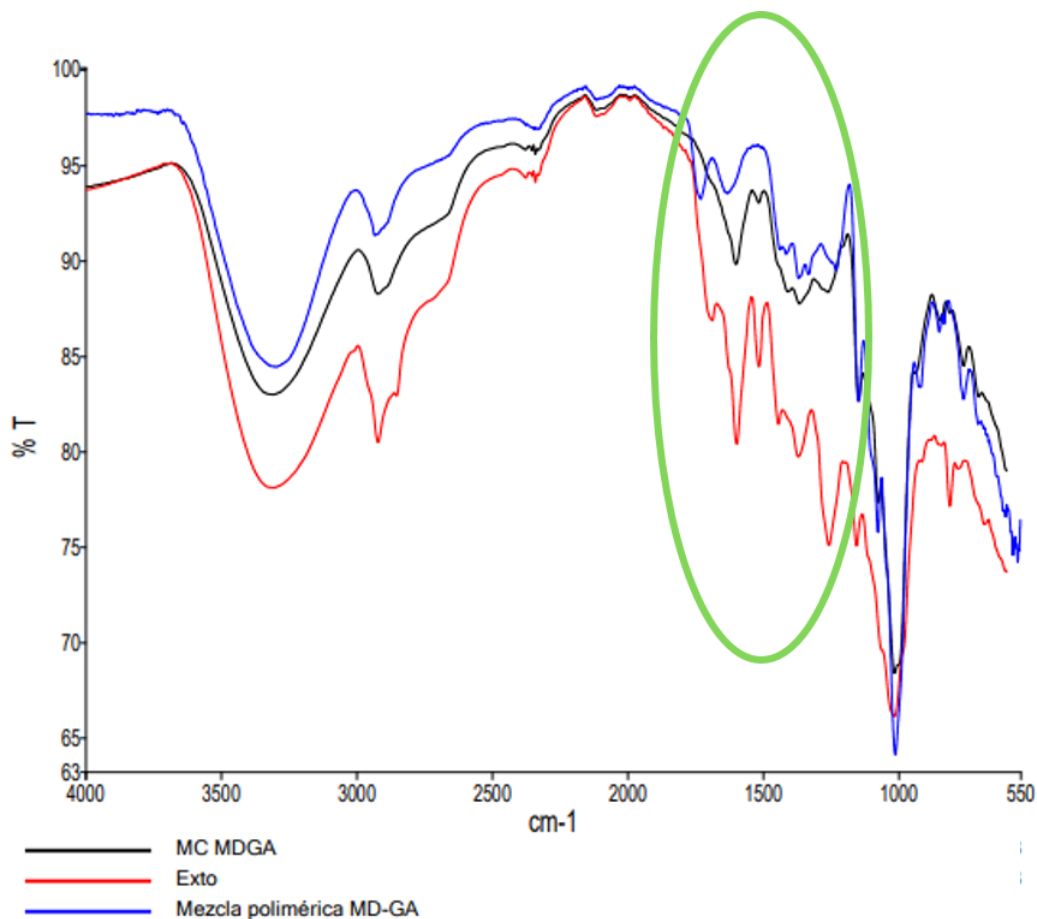


Figura 11. Espectro infrarrojo del microencapsulado de la combinación MQ con MDGA.

Tanto en el espectro del microencapsulado con MD como con MDGA, se observan los picos característicos de los grupos funcionales tanto de los polímeros, como de los componentes de la combinación de extractos. De acuerdo a **Hussain et al., (2023)**, la banda de estiramiento del grupo hidroxilo (-OH) suele situarse en la región de 3200 – 3600 cm^{-1} , mientras las bandas de estiramiento de los anillos aromáticos (C=C) se encuentran en la región de 1600 – 1620 cm^{-1} y 1500 y 1600 cm^{-1} , y la banda del grupo C-O (grupo presente en compuestos fenólicos) generalmente aparece en el área de 1300 – 1000 cm^{-1} , así como del grupo carbonilo (C=O), el cual está en la región 1700 – 1650 cm^{-1} (presente en algunos flavonoides), dichos grupos son característicos tanto de fenoles como de flavonoides, compuestos que están presentes en la matriz vegetal analizada.

En cuanto a la mezcla polimérica, se pueden observar picos característicos de los dos polímeros. De acuerdo al análisis individual de cada espectro de la mezcla, se reveló una gran similitud en los grupos funcionales que poseen (**Kang et al., 2019**). Es importante mencionar que los espectros de los microencapsulados con MD y MDGA, son similares al espectro de los polímeros empleados, lo que quiere decir, que se el microencapsulado fue eficiente y que el ingrediente activo se encuentra dentro de la matriz microencapsulante.

3.1.9 Comparación de la actividad antioxidante e hipoglucemiante de la combinación MQ sin microencapsular y microencapsulada

La microencapsulación de extractos es una técnica que permite la protección de distintos ingredientes activos, mejora la solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad, además de permitir la liberación controlada de los mismos (**Macías-Cortés et al., 2020**). Una vez microencapsulada la combinación con mejor actividad antioxidante e hipoglucemiante, y determinado el microencapsulado más eficiente, se realizaron ensayos para medir la actividad antioxidante e hipoglucemiante y comparar con los resultados obtenidos al usar la combinación de extractos seca.

En la **Tabla 12** se resumen los resultados de los ensayos de inhibición del radical DPPH e inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, tanto de la combinación MQ seca como de la combinación MQ microencapsulada. Conforme a lo obtenido, en todos los ensayos ejecutados, la combinación MQ sin microencapsular reveló una mayor actividad tanto antioxidante como hipoglucemiante (**Figuras 12-14**).

Tabla 12. Comparación entre la actividad antioxidante e hipoglucemiante de la combinación MQ microencapsulada y sin microencapsular

Muestra	Actividad antioxidante		Actividad hipoglucemiante	
	% Inhibición DPPH	Equivalente Trolox ($\mu\text{mol/L}$)	% Inhibición α -Amilasa	% Inhibición α -Glucosidasa
Combinación MQ	79,282 \pm 1,361 ^a	446,504 \pm 7,779 ^a	42,054 \pm 1,940 ^a	41,298 \pm 0,362 ^a
Combinación MQ MDGA	63,469 \pm 7,359 ^b	356,150 \pm 42,053 ^b	32,906 \pm 0,920 ^b	23,102 \pm 0,897 ^b

Nota: Los valores de % de inhibición de las enzimas, son la media de las 6 repeticiones usando una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$ (concentración a la que se exhibe una mayor inhibición de las enzimas). Los datos presentados son el promedio de las medias \pm desviación estándar (DE). Aquellas letras que formen parte de la misma columna no indican deferencias significativas, los valores $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos. Todas las medias son diferentes significativamente (**Anexos 14-16**).

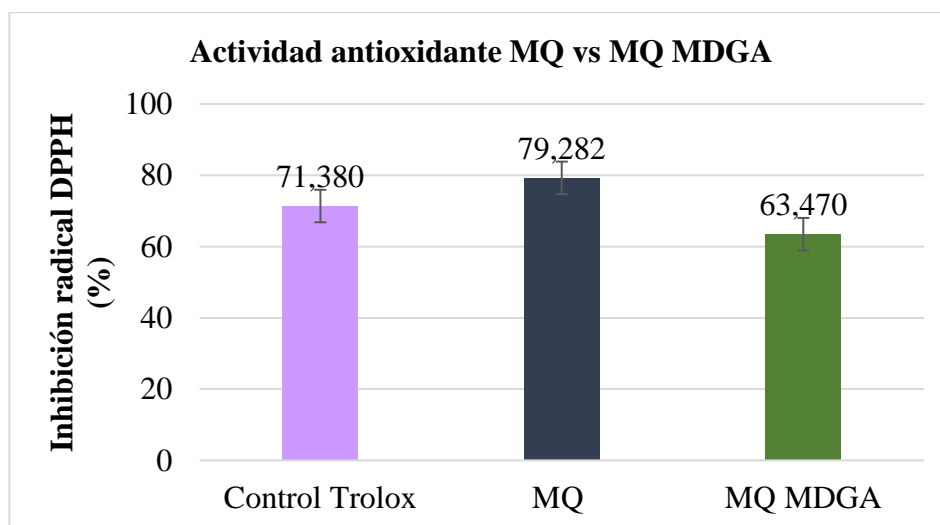


Figura 12. Resultados de la actividad antioxidante de las muestras MQ y MQ MDGA

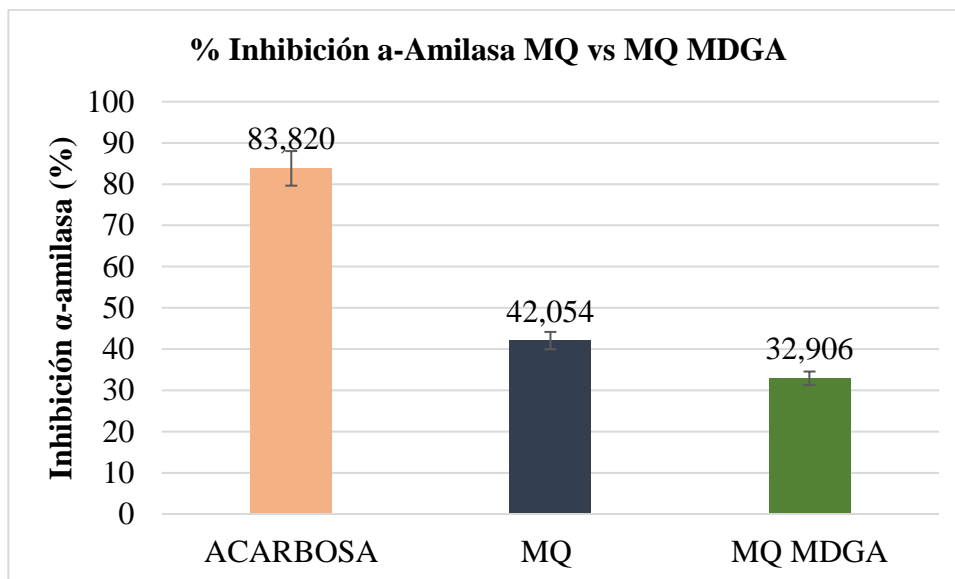


Figura 13. Resultados de la inhibición de la enzima α -amilasa de las muestras MQ y MQ MDGA.

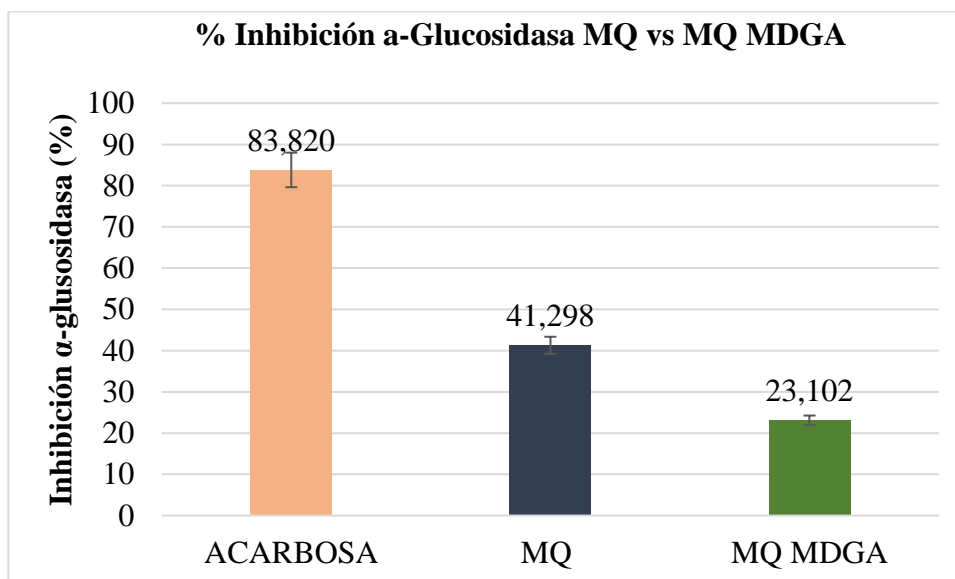


Figura 14. Resultados de la inhibición de la enzima α -glucosidasa de las muestras MQ y MQ MDGA

En el proceso de microencapsulación, distintos factores interfieren en el contenido final de ciertos metabolitos, uno de ellos es la temperatura, la cual puede degradar algunos compuestos fenólicos que confieren de actividad antioxidante como hipoglucemiante a la

matriz vegetal (**Tolun et al., 2020**). Este podría ser uno de los motivos por los cuales el microencapsulado presenta menor inhibición en los distintos ensayos aplicados, ya que, en el proceso de microencapsulación se emplean temperaturas superiores a 90 °C. De igual forma, los biopolímeros empleados para la microencapsulación podrían haber interactuado con los componentes de la combinación, lo cual afectaría a sus distintas actividades (**Lourenço et al., 2020**).

El enmascaramiento del ingrediente activo con un polímero permite una liberación controlada del bioactivo, sin embargo, esto también supone que se afecte la velocidad a la que los componentes se encuentren disponibles para la neutralización de los radicales libres que se presentan en el ensayo de DPPH (**Chen et al., 2019**). Además, es importante tener en cuenta que, en los ensayos con el microencapsulado, la concentración de la combinación de extractos es menor, ya que, el microencapsulado contiene solo un 30 % de ingrediente activo, con respecto al peso final del microencapsulado

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- En base a los resultados obtenidos, se determinó que las cuatro combinaciones realizadas a partir de extractos etanólicos de Marco, Quishuar y Cedrón presentan concentraciones de fenoles y flavonoides considerables. Sin embargo, el contenido de estos compuestos está ligado distintos factores que intervienen en obtención de los extractos. Una mayor concentración de estos metabolitos favorece la actividad antioxidante e hipoglucemiante de las mismas.
- Mediante ensayos enzimáticos se determinó la combinación con mayor capacidad hipoglucemiante y antioxidante para su microencapsulación empleando como polímeros encapsulantes MD y MDGA. Con el método FTIR se verificó la eficiencia de la microencapsulación y el mejor polímero a emplear. De modo que la mezcla polimérica MDGA presenta una mayor eficiencia ($79,064 \pm 1,135$ %).
- La comparación de los resultados de los ensayos de inhibición del radical DPPH y de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa de la combinación microencapsulada y sin microencapsular, exhiben que esta última presentan menor actividad antioxidante e hipoglucemiante, y a pesar que proteja a los metabolitos presentes en las combinaciones, no se muestra un aumento significativo de la actividad antioxidante e hipoglucemiante.

4.2 Recomendaciones

- Evaluar la actividad antioxidante e hipoglucemiante de las combinaciones empleando extractos obtenidos con otros métodos y solventes.
- Evaluar la actividad antioxidante e hipoglucemiante de las combinaciones a diferentes concentraciones de cada extracto.
- Ensayar distintos métodos de determinación de la actividad antioxidante como FRAP, ABTS, TRAP, entre otros métodos.
- Aplicar cromatografía líquida HPLC con el fin de identificar los componentes específicos de cada extracto con el fin de analizar cómo interactúan entre ellos.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Alhujaily, M., Dhifi, W., & Mnif, W. (2022). An Overview of the Potential of Medicinal Plants Used in the Development of Nutraceuticals for the Management of Diabetes Mellitus: Proposed Biological Mechanisms. *Processes*, 10(10), 2044. <https://doi.org/10.3390/pr10102044>
- Alvarado, B., & Fuertes, C. (2017). *Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Álvarez Rosales, J. ., Gaytán Mares, L., Sosa Morales, M. ., & Cerón García, A. (2019). Estimación de biocomponentes, color y pH en extractos etanólicos de tallos y hojas de cedrón (*Aloysia citrodora*). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 352–358.
- Annunziata, G., Jiménez-García, M., Capó, X., Moranta, D., Arnone, A., Tenore, G. ., Sureda, A., & Tejada, S. (2020). Microencapsulation as a tool to counteract the typical low bioavailability of polyphenols in the management of diabetes. *Food and Chemical Toxicology*, 139 (March), 111248. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111248>
- Armijos, C., Ramírez, J., Salinas, M., Vidari, G., & Suárez, A. I. (2021). Pharmacology and phytochemistry of ecuadorian medicinal plants: An update and perspectives. *Pharmaceuticals*, 14(11), 1–41. <https://doi.org/10.3390/ph14111145>
- Armijos, C., Ramírez, J., & Vidari, G. (2022). Poorly Investigated Ecuadorian Medicinal

- Plants. *Plants*, 11(12), 1–33. <https://doi.org/10.3390/plants11121590>
- Artasensi, A., Pedretti, A., Vistoli, G., & Fumagalli, L. (2020). Type 2 diabetes mellitus: A review of multi-target drugs. *Molecules*, 25(8), 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules25081987>
- Baek, S. H., Cao, L., Jeong, S. J., Kim, H.-R., Nam, T. J., & Lee, S. G. (2021). The comparison of total phenolics, total antioxidant, and anti-tyrosinase activities of Korean sargassum species. *Journal of Food Quality*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2021/6640789>
- Bahmani, M., Zargaran, A., Rafieian-Kopaei, M., & Saki, K. (2014). Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in the Urmia, Northwest Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(S1), S348–S354. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60257-1](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60257-1)
- Bahramsoltani, R., Rostamiasrabadi, P., Shahpiri, Z., Marques, A. M., Rahimi, R., & Farzaei, M. H. (2018). *Aloysia citrodora* Paláu (Lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 222). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.04.021>
- Baltrusch, K. L., Torres, M. D., Domínguez, H., & Flórez-Fernández, N. (2022). Spray-drying microencapsulation of tea extracts using green starch, alginate or carrageenan as carrier materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 203, 417–429. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.129>
- Buse, J. B., Wexler, D. J., Tsapas, A., Rossing, P., Mingrone, G., Mathieu, C., D'Alessio, D. A., & Davies, M. J. (2020). 2019 update to: Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*, 43(2), 487–493. <https://doi.org/10.2337/dci19-0066>
- Bobo, G., Davidov, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín, M., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional

- spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. <https://doi.org/10.1002/JSFA.6706>
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5–14.
- Center for Disease Control and Prevention. (2022). *Diabetes Report Card 2021*. <https://www.cdc.gov/diabetes/library/reports/reportcard.html>
- Chamorro, J. (2020). *Actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos preparados con diferentes solventes de las hojas de Ambrosia arborescens (Marco)*. UCE.
- Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/antiox9010076>
- Chemjong, K. (2021). *Study of α -Amylase enzyme inhibition activity and antimicrobial activity of local tea Camellia sinensis (L.) Kuntze, leaves of Buddleja asiatica Lour, and roots of Polygala arillata Buch.-Ham. ex D. Don*. Tribhuvan University.
- Chen, L., Gnanaraj, C., Arulselvan, P., El-Seedi, H., & Teng, H. (2019). A review on advanced microencapsulation technology to enhance bioavailability of phenolic compounds: Based on its activity in the treatment of Type 2 Diabetes. *Trends in Food Science and Technology*, 85 (June 2018), 149–162. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.026>
- Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2(4), 426–442. <https://doi.org/10.1002/fft2.94>
- Coronado-Olano, J., Repo-Carrasco-Valencia, R., Reategui, O., Toscano, E., Valdez, E., Zimic, M., & Best, I. (2021). Inhibitory activity against α -amylase and α -glucosidase by phenolic compounds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) from the Andean region of Peru. *Pharmacognosy Journal*, 13(4), 896–901. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.115>

- Cunalata, E., & Jara, D. (2023). *Evaluación de la actividad antioxidante e hipoglucémica in vitro de extractos de Marco (Ambrosia arborescens), Quishuar (Buddleja incana), Cedrón (Aloysia citrodora) y Capulí (Prunus serotina)*. Universidad Técnica de Ambato.
- Darenskaya, M. A., Kolesnikova, L. I., & Kolesnikov, S. I. (2021). Oxidative Stress: Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches to Correction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 171(2), 179–189. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05191-7>
- de la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, P., Macía, M., & Balslev, H. (Eds.). (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador & Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus.
- de Paulo Farias, D., de Araújo, F. F., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2021). Antidiabetic potential of dietary polyphenols: A mechanistic review. *Food Research International*, 145, 110383. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110383>
- Duke, J. A., Bosenschutz-Godwin, M. J., & Ottesen, A. R. (2009). *Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America*. Taylor & Francis Group.
- Elhady, S. S., Youssef, F. S., Alahdal, A. M., Almasri, D. M., & Ashour, M. L. (2021). Anti-hyperglycaemic evaluation of *Buddleja indica* leaves using in vitro, in vivo and in silico studies and its correlation with the major phytoconstituents. *Plants*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/plants10112351>
- Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2018). Application of Biopolymers in Microencapsulation Processes. In *Biopolymers for Food Design* (pp. 191–222). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811449-0/00007-4>
- Fadlelmoula, A., Pinho, D., Carvalho, V. H., Catarino, S. O., & Minas, G. (2022). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood over the Last 20 Years: A Review towards Lab-on-a-Chip Devices. *Micromachines*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/mi13020187>

- Fakchich, J., & Elachouri, M. (2021). An overview on ethnobotanico-pharmacological studies carried out in Morocco, from 1991 to 2015: Systematic review (part 1). *Journal of Ethnopharmacology*, 267(part 1), 113200. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113200>
- Fan, X., Fan, Z., Yang, Z., Huang, T., Tong, Y., Yang, D., Mao, X., & Yang, M. (2022). Flavonoids—Natural Gifts to Promote Health and Longevity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4). <https://doi.org/10.3390/ijms23042176>
- Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food and Function*, 10(2), 514–528. <https://doi.org/10.1039/c8fo01997e>
- Gao, A. X., Xia, T. C. X., Mak, M. S. H., Zhu, K. Y., Dong, T. T. X., & Tsim, K. W. K. (2022). A Herbal Mixture of Sesami Semen Nigrum and Longan Arillus Induces Neurite Outgrowth in Cultured Neurons and Shows Anti-Depression in Chronic Mild Stress-Induced Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/8809546>
- Garrido, G., Ortiz, M., & Pozo, P. (2013). Total phenols and flavonoids and antioxidant activity of *Lampaya medicinalis* F. Phil. leaf extracts. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*, 1(1), 30–38.
- Gimeno Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm*, 23(6), 80–84. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>
- Gómez, C., Carbay, Y., Sorroza, L., & Rivera, L. (2019). Sinergia de combinaciones de extractos vegetales para el control de vibriosis en sistema productivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*). *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 2, 91–98.
- Gonelimali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., & Hatab, S. R. (2018). Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01639>

- Grassia, M., Messia, M. C., Marconi, E., Demirkol, Ş., Erdoğan, F., Sarghini, F., Cinquanta, L., Corona, O., & Planeta, D. (2021). Microencapsulation of Phenolic Extracts from Cocoa Shells to Enrich Chocolate Bars. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76(4), 449–457. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00917-4>
- Gunathilaka, T. L., Samarakoon, K. W., Ranasinghe, P., & Peiris, L. D. C. (2019). In-Vitro Antioxidant, Hypoglycemic Activity, and Identification of Bioactive Compounds in Phenol-Rich Extract from the Marine Red Algae *Gracilaria edulis* (Gmelin) Silva. *Molecules*, 24(20), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules24203708>
- Gutiérrez, J. E., Pérez, J. A., Miranda, V., Mayanga, A., Tapia, S., & Domínguez, F. F. (2020). Uso etnomedicinal, fitoquímica y actividad biológica de la planta andina *Buddleja incana* Ruiz & Pav. (Scrophulariaceae). *Ethnobotany Research and Applications*, 20(June). <https://doi.org/10.32859/era.20.5.1-14>
- Gutiérrez, T., & Álvarez, K. (2017). Biopolymers as microencapsulation materials in the food industry. *Advances in Physicochemical Properties of Biopolymers*, 296–322.
- He, X., Han, X., Yu, J., Feng, Y., & Chu, G. (2022). Rapid prediction method of α -Glycosidase inhibitory activity of *Coreopsis tinctoria* extract from different habitats by near infrared spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 268, 120601. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120601>
- Huang, D. D., Shi, G., Jiang, Y., Yao, C., & Zhu, C. (2020). A review on the potential of Resveratrol in prevention and therapy of diabetes and diabetic complications. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 125(October 2019), 109767. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109767>
- Hubrecht, R. C., & Carter, E. (2019). The 3Rs and humane experimental technique: Implementing change. *Animals*, 9(10), 1–10. <https://doi.org/10.3390/ani9100754>
- Hussain, S., Javed, W., Tajammal, A., Khalid, M., Rasool, N., Riaz, M., Shahid, M., Ahmad, I., Muhammad, R., & Shah, S. A. A. (2023). Synergistic Antibacterial

- Screening of *Cymbopogon citratus* and *Azadirachta indica*: Phytochemical Profiling and Antioxidant and Hemolytic Activities. *ACS Omega*, 8(19), 16600–16611. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06785>
- İlgün, S., Şeker Karatoprak, G., Çiçek Polat, D., Köngül Şafak, E., Yücel, Ç., İnce, U., Uvat, H. Ö., & Küpeli Akkol, E. (2023). Assessment of Phenolic Composition, Antioxidant Potential, Antimicrobial Properties, and Antidiabetic Activity in Extracts Obtained from *Schinus molle* L. Leaves and Fruits. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 28(12), 353. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2812353>
- International Diabetes Federation. (2021). *Diabetes facts & figures*. <https://idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/facts-figures.html>
- Jiménez Enriquez, P., Barrera Aguilar, P., Huachi Espín, L., Vera Zambrano, A., & Caicedo Vargas, C. (2020). Propagation in vitro of Quishuar (*Buddleja incana* Ruiz & Pav). *La Granja*, 31(1), 71–81. <https://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.05>
- Jurgoński, A., Billing-Marczak, K., Juśkiewicz, J., & Krotkiewski, M. (2019). Formulation of a mixture of plant extracts for attenuating postprandial glycemia and diet-induced disorders in rats. *Molecules*, 24(20). <https://doi.org/10.3390/molecules24203669>
- Kanakidi, L. D., Tsimogiannis, D., Kiokias, S., & Oreopoulou, V. (2022). Formulation of Rosemary Extracts through Spray-Drying Encapsulation or Emulsification. *Nutraceuticals*, 2(1), 1–21. <https://doi.org/10.3390/nutraceuticals2010001>
- Kang, Y. R., Lee, Y.-K., Kim, Y. J., & Chang, Y. H. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272, 337–346. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.063>
- Kidane, Y., Bokrezion, T., Mebrahtu, J., Mehari, M., Gebreab, Y. B., Fessehaye, N., & Achila, O. O. (2018). In Vitro Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Extracts from *Psiadia punctulata* and *Meriandra bengalensis*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.

<https://doi.org/10.1155/2018/2164345>

- Kim, Y. A., Keogh, J. B., & Clifton, P. M. (2016). Polyphenols and glycémie control. *Nutrients*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/nu8010017>
- Kovács, B., Hohmann, J., Csupor-Löffler, B., Kiss, T., & Csupor, D. (2022). A comprehensive phytochemical and pharmacological review on sesquiterpenes from the genus *Ambrosia*. *Heliyon*, 8(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09884>
- Kulkarni, A. A., & Kamble, R. P. (2022). α -Amylase Inhibitory Secondary Metabolites from *Artemisia pallens* Wall ex DC—Biochemical and Docking Studies. *Biology and Life Sciences Forum*, 1–14. <https://doi.org/10.3390/iecps2021-11978>
- Lim, J., Ferruzzi, M. G., & Hamaker, B. R. (2022). Structural requirements of flavonoids for the selective inhibition of α -amylase versus α -glucosidase. *Food Chemistry*, 370(February 2021), 130981. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130981>
- Llanga, B. (2014). *Determinación de la actividad antioxidante de los extractos de Quishuar (buddleja incana), Aliso (alnus acuminata) y Romerillo (hypericum laricifolium) localizados en 3 zonas geográficas diferentes*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2020). Microencapsulation of pineapple peel extract by spray drying using maltodextrin, inulin, and Arabic gum as wall matrices. *Foods*, 9(6), 1–17. <https://doi.org/10.3390/FOODS9060718>
- Lovic, D., Piperidou, A., Zografou, I., Grassos, H., Pittaras, A., & Manolis, A. (2020). The Growing Epidemic of Diabetes Mellitus. *Current Vascular Pharmacology*, 18(2), 104–109. <https://doi.org/10.2174/1570161117666190405165911>
- Lu, W., Shi, Y., Wang, R., Su, D., Tang, M., Liu, Y., & Li, Z. (2021). Antioxidant activity and healthy benefits of natural pigments in fruits: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9). <https://doi.org/10.3390/ijms22094945>
- Macías-Cortés, E., Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Medina-Torres, L., & González-Laredo, R. F. (2020). Microencapsulation of

- phenolic compounds: Technologies and novel polymers. *Revista Mexicana de Ingeniera Quimica*, 19(2), 491–521. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim642>
- Más Toro, D., Martínez Aguilar, Y., Rodríguez Bertot, R., Pupo Torres, G., Rosabal Nava, O., & Olmo González, C. (2017). Preliminary analysis of secondary metabolites in mixed powders of leaves of medicinal plants. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(1), 1–9.
- Minga, D., & Verdugo, A. (2016). *Árboles y arbustos de los ríos de Cuenca. Serie de Textos Apoyo a la Docencia Universidad del Azuay*. Imprenta Don Bosco.
- Miranda, V. (2019). *Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria in vitro del extracto metanólico de hojas de Piper aduncum, Buddleja incana y Dracontium spruceanum*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Mocan, A., Babotă, M., Pop, A., Fizeșan, I., Diuzheva, A., Locatelli, M., Carradori, S., Campestre, C., Menghini, L., Sisea, C. R., Sokovic, M., Zengin, G., Păltinean, R., Bădărău, S., Vodnar, D. C., & Crișan, G. (2020). Chemical constituents and biologic activities of sage species: A comparison between *Salvia officinalis* L., *S. glutinosa* L. and *S. transsylvanica* (schur ex griseb. & schenk) schur. *Antioxidants*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/antiox9060480>
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & Rehman, I. U. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134–179. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Navarro-Flores, M. J., Ventura-Canseco, L. M. C., Meza-Gordillo, R., Ayora-Talavera, T. del R., & Abud-Archila, M. (2020). Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials. *Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 4111–

4122. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04447-w>

- N'guessan, B. B., Asiamah, A. D., Arthur, N. K., Frimpong-Manso, S., Amoateng, P., Amponsah, S. K., Kukuia, K. E., Sarkodie, J. A., Opuni, K. F.-M., Asiedu-Gyekye, I. J., & Appiah-Opong, R. (2021). Ethanolic extract of *Nymphaea lotus* L. (Nymphaeaceae) leaves exhibits in vitro antioxidant, in vivo anti-inflammatory and cytotoxic activities on Jurkat and MCF-7 cancer cell lines. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03195-w>
- Organización Panamericana de la Salud. (2023). Panorama de la diabetes en la Región de las Américas. <https://doi.org/10.37774/9789275326336>
- Ortíz-Martínez, D. M., Cordero-Pérez, P., & Leos-Rivas, C. (2016). Actividad antidiabética. En Rivas-Morales, C., Oranday-Cardenas, M.A., & Verde-Star, M.J. (Eds). Investigación en plantas de importancia médica (pp. 215–268). *OmniaScience*. <https://doi.org/10.3926/oms.342>
- Padhi, S., Nayak, A. K., & Behera, A. (2020). Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 131, 110708. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110708>
- Pan, Y., He, C., Wang, H., Ji, X., Wang, K., & Liu, P. (2010). Antioxidant activity of microwave-assisted extract of *Buddleia officinalis* and its major active component. *Food Chemistry*, 121(2), 497–502. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.072>
- Patel, A. S., Kar, A., & Mohapatra, D. (2020). Development of microencapsulated anthocyanin-rich powder using soy protein isolate, jackfruit seed starch and an emulsifier (NBRE-15) as encapsulating materials. *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67191-3>
- Pearson, E. R. (2019). Diabetes: Is There a Future for Pharmacogenomics Guided Treatment? *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 106(2), 329–337. <https://doi.org/10.1002/cpt.1484>
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Compuestos

- fenolicos en los alimentos. *Bolivian Journal of Chemistry*, 31(2), 68–81. <https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf>
- Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., Heinemann, L., & Schleicher, E. (2019). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 127(Suppl 1), S1–S7. <https://doi.org/10.1055/a-1018-9078>
- Rachdaoui, N. (2020). Insulin: The friend and the foe in the development of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1–21. <https://doi.org/10.3390/IJMS21051770>
- Rahman, Md. M., Dhar, P. S., Sumaia, Anika, F., Ahmed, L., Islam, Md. R., Sultana, N. A., Cavalu, S., Pop, O., & Rauf, A. (2022). Exploring the plant-derived bioactive substances as antidiabetic agent: An extensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 152, 113217. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113217>
- Rashid, H. M., Mahmood, A. I., Afifi, F. U., & Talib, W. H. (2022). Antioxidant and Antiproliferation Activities of Lemon Verbena (*Aloysia citrodora*): An *In Vitro* and *In Vivo* Study. *Plants*, 11(6), 1–23. <https://doi.org/10.3390/plants11060785>
- Rashid, S., Majeed, L. R., Nisar, B., Nisar, H., Bhat, A. A., & Ganai, B. A. (2021). Chapter 1 - Phytomedicines: Diversity, extraction, and conservation strategies. In R. A. Bhat, K. R. Hakeem, & M. A. Dervash (Eds.), *Phytomedicine* (pp. 1–33). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824109-7.00009-1>
- Rincon, N. G., Rincon, J. D., & Acosta, J. S. (2019). Inhibición de la α -glucosidasa mediante flavonoides de origen natural como vía de control en el desarrollo de diabetes mellitus. *Biociencias*, 14(2), 129–148.
- Ritskes-Hoitinga, M., & Van Luijk, J. (2019). How can systematic reviews teach us more about the implementation of the 3Rs and animal welfare? *Animals*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/ani9121163>
- Rojas, J., Trávez, A., & Cevallos, E. (2022). Extracción hidroalcohólica de polifenoles a

partir de las hojas de cedrón (*Aloysia citrodorae* Paláu), como ingrediente alimentario natural. *Renpys*, 56–69.

Royal Botanic Gardens Sydney. (2005). *How to collect plants, Equipment for collecting plant specimens*. [https://www.rbgsyd.nsw.gov.au/getmedia/36d07669-629a-45c1-b39a-66b5961dca48/How-to-collect-plants.pdf.aspx#:~:text=2 Equipment for collecting plant specimens&text=water - to moisten specimens once,measuring variation of leaves etc.](https://www.rbgsyd.nsw.gov.au/getmedia/36d07669-629a-45c1-b39a-66b5961dca48/How-to-collect-plants.pdf.aspx#:~:text=2%20Equipment%20for%20collecting%20plant%20specimens&text=water%20-%20to%20moisten%20specimens%20once,measuring%20variation%20of%20leaves%20etc.)

Safitri, A., Roosdiana, A., Kurnianingsih, N., Fatchiyah, F., Mayasari, E., & Rachmawati, R. (2022). Microencapsulation of *Ruellia tuberosa* L. Aqueous Root Extracts Using Chitosan-Sodium Tripolyphosphate and Their *In Vitro* Biological Activities. *Scientifica*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/9522463>

Salles, B. C. C., da Silva, M. A., Taniguthi, L., Ferreira, J. N., da Rocha, C. Q., Vilegas, W., Dias, P. H., Pennacchi, P. C., Duarte, S. M. da S., Rodrigues, M. R., Brigagão, M. R. P. L., & Paula, F. B. de A. (2020). *Passiflora edulis* Leaf Extract: Evidence of Antidiabetic and Antiplatelet Effects in Rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 43(1), 169–174. <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00952>

Silva-Correa, C. R., Villarreal-La Torre, V. E., González-Siccha, A. D., Cruzado-Razco, J. L., González-Blas, M. V., Sagástegui-Guarniz, W. A., Calderón-Peña, A. A., Aspajo-Villalaz, C. L., & Hilario-Vargas, J. (2022). Acute toxicity of aqueous extract of *Ambrosia arborescens* Mill. on biochemical and histopathological parameters in rats. *Toxicological Research*, 38(2), 225–233. <https://doi.org/10.1007/s43188-021-00106-0>

Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P. S., Kapoor, A., Vo, D. V. N., & Prabhakar, S. (2021). Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: a review. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 19, Issue 4). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01217-8>

Ștefănescu, B. E., Nemes, S. A., Teleky, B. E., Călinoiu, L. F., Mitrea, L., Martău, G. A., Szabo, K., Mihai, M., Vodnar, D. C., & Crișan, G. (2022). Microencapsulation and

- Bioaccessibility of Phenolic Compounds of Vaccinium Leaf Extracts. *Antioxidants*, 11(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antiox11040674>
- Syiem, D., & Warjri, P. (2015). Antidiabetic, antioxidant, and TNF- α lowering properties of extract of the traditionally used plant *Ixeris gracilis* in alloxan-induced diabetic mice. *Pharmaceutical Biology*, 53(4), 494–502. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.924151>
- Tammar, S., Salem, N., Wannas, W. A., Limam, H., Bourgou, S., Fares, N., Dakhlaoui, S., Hammami, M., Khammassi, S., Re, G. Del, Hessini, K., & Msaada, K. (2021). Chemometric profiling and bioactivity of verbena (*Aloysia citrodora*) methanolic extract from four localities in Tunisia. *Foods*, 10(12), 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods10122912>
- Tingting, Z., Xiuli, Z., Kun, W., Liping, S., & Yongliang, Z. (2022). A review: extraction, phytochemicals, and biological activities of rambutan (*Nephelium lappaceum* L) peel extract. *Heliyon*, 8(11), e11314. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11314>
- Tolun, A., Artik, N., & Altintas, Z. (2020). Effect of different microencapsulating materials and relative humidities on storage stability of microencapsulated grape pomace extract. *Food Chemistry*, 302(March 2019), 125347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125347>
- Valdez López, L. L., Gutiérrez Gaitén, Y. I., García Mir, V., & Nieto Acosta, O. M. (2022). Characterization of the Extractive Process by Maceration by Means of a Fractional Factorial Design in *Nephelium Lappaceum* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 55(3), 1–17.
- Van Wyk, B.-E., & Wink, M. (2017). *Medicinal Plants of the World: An Illustrated Scientific Guide to Important Medicinal Plants and Their Uses*. CABI.
- Wahyuni, Diantini, A., Ghozali, M., Subarnas, A., Julaha, E., Amalia, R., & Sahidin, I. (2021). Phytochemical screening, toxicity activity and antioxidant capacity of ethanolic extract of *Etlingera alba* rhizome. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 24(7), 807–814. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2021.807.814>

- Wen, K., Fang, X., Yang, J., Yao, Y., Nandakumar, K. S., Salem, M. L., & Cheng, K. (2020). Recent Research on Flavonoids and their Biomedical Applications. *Current Medicinal Chemistry*, 28(5), 1042–1066. <https://doi.org/10.2174/0929867327666200713184138>
- World Health Organization. (2023). *Diabetes*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Xiao, Z., Xia, J., Zhao, Q., Niu, Y., & Zhao, D. (2022). Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydrate Polymers*, 298, 120113. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120113>
- Yaribeygi, H., Sathyapalan, T., Atkin, S. L., & Sahebkar, A. (2020). Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8609213>
- Yu, H., Zhang, P., Liu, H., Sun, X., Liang, J., Sun, L., & Chen, Y. (2021). Hypoglycemic activity of *Origanum vulgare* L. And its main chemical constituents identified with HPLC-ESI-QTOF-MS. *Food and Function*, 12(6), 2580–2590. <https://doi.org/10.1039/d0fo03166f>
- Yungán, D. (2019). *Formulación y control de calidad de un fotoprotector a base de cedrón (Aloysia triphylla)*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Zhang, K., Han, M., Zhao, X., Chen, X., Wang, H., Ni, J., & Zhang, Y. (2022). Hypoglycemic and Antioxidant Properties of Extracts and Fractions from *Polygoni Avicularis* Herba. *Molecules*, 27(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules27113381>
- Zhang, P., Li, T., Wu, X., Nice, E. C., Huang, C., & Zhang, Y. (2020). Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Frontiers of Medicine*, 14(5), 583–600. <https://doi.org/10.1007/s11684-019-0729-1>

ANEXOS



Figura 15. *Lavado de material vegetal.*



Figura 16. *Hojas secas.*



Figura 17. *Secado de las hojas con un desecador por convección.*



Figura 18. *Macerado*



Figura 19. *Filtración del macerado*



Figura 20. *Extracto filtrado*



Figura 21. *Eliminación del solvente.*



Figura 22. *Extractos secos obtenidos*

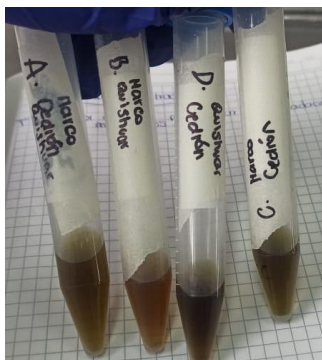


Figura 23. *Solución madre de cada combinación*

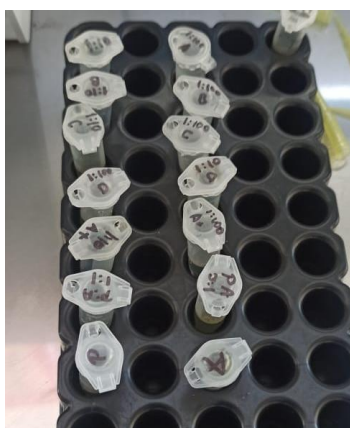


Figura 24. *Diluciones de las combinaciones*

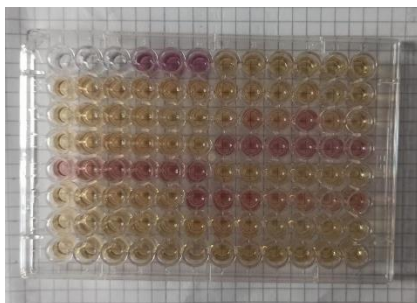


Figura 25. *Ensayo de DPPH*

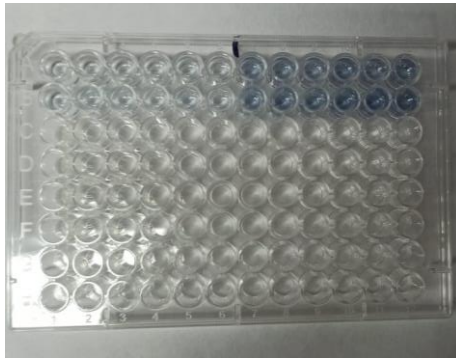


Figura 26. *Determinación de fenoles*

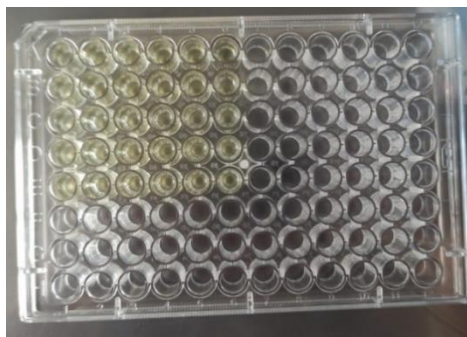


Figura 27. *Determinación de flavonoides*

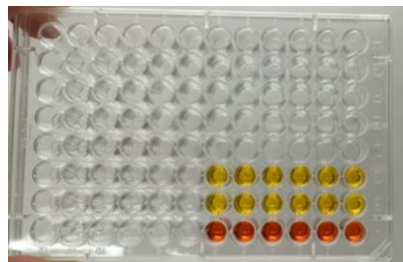


Figura 28. *Ensayo de inhibición de α -amilasa*

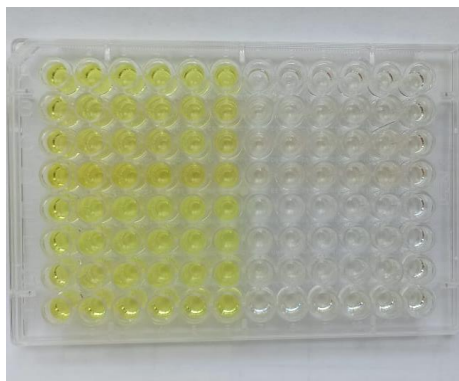


Figura 29. *Ensayo de inhibición de la α -glucosidasa*

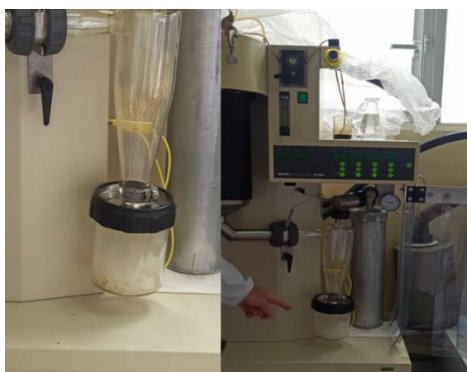


Figura 30. Microencapsulación

Anexo 1. Análisis estadístico de la capacidad antioxidante de las combinaciones de extractos.

ANOVA Simple - % Inhibición DPPH por Combinaciones

Variable dependiente: % Inhibición DPPH

Factor: Combinaciones

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para % Inhibición DPPH por Combinaciones

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	258,395	3	86,1315	31,30	0,0000
Intra grupos	55,035	20	2,75175		
Total (Corr.)	313,429	23			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición DPPH por Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	6	70,5733	A
4	6	77,1408	B
3	6	77,2496	B
2	6	79,2816	C

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 2. Análisis estadístico de la concentración de fenoles totales

ANOVA Simple - Concentración fenoles totales por Combinaciones

Variable dependiente: Concentración fenoles totales

Factor: Combinaciones

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para Concentración Fenoles por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3744,87	3	1248,29	238,07	0,0000
Intra grupos	104,87	20	5,24348		
Total (Corr.)	3849,74	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido_Fenoles por Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	6	40,8025	A
4	6	62,0988	B
2	6	62,7778	B
3	6	75,6173	C

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 3. Análisis estadístico de la concentración de flavonoides totales,

ANOVA Simple - Concentración flav. totales por B.Combinaciones

Variable dependiente: Concentración flav. totales

Factor: B.Combinaciones

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para Concentración flav. totales por B. Combinaciones

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	778,711	3	259,57	480,82	0,0000
Intra grupos	10,7971	20	0,539854		
Total (Corr.)	789,508	23			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido Flav por Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	6	25,1634	A
3	6	26,4538	B
2	6	33,1204	C
4	6	39,4	D

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 4. Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-amilasa de la combinación A)

ANOVA Simple - Inhibición Comb. A por amilasa extracto. Concentración

Variable dependiente: Inhibición Comb. A

Factor: amilasa extracto. Concentración

Número de observaciones: 30

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Inhibición Comb. A por amilasa extracto. Concentración

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3664,6	4	916,15	129,06	0,0000
Intra grupos	177,463	25	7,09853		
Total (Corr.)	3842,06	29			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición Comb. A por Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	6	10,928	A
200	6	16,2552	B

300	6	21,8524	C
400	6	31,0922	D
500	6	42,054	E

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 5. Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-amilasa de la combinación B).

ANOVA Simple - Inhibición Comb. B por amilasa extracto.Concentración

Variable dependiente: Inhibición Comb. B

Factor: amilasa extracto.Concentración

Número de observaciones: 30

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Inhibición Comb. B por amilasa extracto.Concentración

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3369,72	4	842,43	319,70	0,0000
Intra grupos	65,8768	25	2,63507		
Total (Corr.)	3435,59	29			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición Comb. B por Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	6	9,30588	A
200	6	19,0043	B
300	6	22,7932	C
400	6	29,7986	D
500	6	40,9213	E

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 6. Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-amilasa de la Combinación C).

ANOVA Simple - Inhibición Comb. C por amilasa extracto.Concentración

Variable dependiente: Inhibición Comb. C

Factor: amilasa extracto.Concentración

Número de observaciones: 30

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Inhibición Comb. C por amilasa extracto. Concentración

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2142,4	4	535,6	307,97	0,0000
Intra grupos	43,4782	25	1,73913		
Total (Corr.)	2185,88	29			

Pruebas post hoc**Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición Comb.C por Concentraciones**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Combinación</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	6	10,037	A
200	6	13,5574	B
300	6	16,1475	C
400	6	24,6797	D
500	6	33,4341	E

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 7. Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-amilasa de la Combinación D).

ANOVA Simple - Inhibición Comb. D por amilasa extracto. Concentración

Variable dependiente: Inhibición Comb. D

Factor: amilasa extracto. Concentración

Número de observaciones: 30

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Inhibición Comb. D por amilasa extracto. Concentración

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	848,999	4	212,25	89,34	0,0000
Intra grupos	59,3948	25	2,37579		
Total (Corr.)	908,394	29			

Pruebas post hoc**Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición Comb. D por Concentraciones**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	6	7,86305	X
200	6	10,9101	X
300	6	16,9716	X

400	6	17,2957	X
500	6	23,0573	X

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 8. Análisis estadístico de la actividad hipogluceminate (Ensayo a-amilasa Combinaciones a 500 ug/mL).

ANOVA Simple - Inhibición T.C 500 por amilasa extracto.Concentración

Variable dependiente: Inhibición T.C 500

Factor: amilasa extracto.Concentración

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para Inhibición T.C 500 por amilasa extracto.Concentración

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1378,98	3	459,659	154,94	0,0000
Intra grupos	59,3354	20	2,96677		
Total (Corr.)	1438,31	23			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para N.Inhibición amilasa a500 por N.Combinaciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>N.Combinaciones</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
4	6	23,0573	A
3	6	33,4341	B
2	6	40,9213	C
1	6	42,054	C

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 9. Análisis estadístico de la actividad hipogluceminate (Ensayo a-glucosidasa Combinación A).

ANOVA Simple - Inhibición a-Gluc Combinación A por Concentraciones

Variable dependiente: Inhibición_a-Gluc_Combinación_A

Factor: Concentraciones

Número de observaciones: 30

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Inhibición α -Gluc_Combinación_A por Concentraciones

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1938,76	4	484,689	208,29	0,0000
Intra grupos	58,1747	25	2,32699		
Total (Corr.)	1996,93	29			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para GLUCOSIDASA. Inhibición gluc. comb A por GLUCOSIDASA. Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	6	11,3282	A
200	6	19,5649	B
300	6	24,255	C
400	6	29,1764	D
500	6	34,7788	E

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 10. Análisis estadístico de la actividad hipogluceminate (Ensayo α -glucosidasa Combinación B).

ANOVA Simple - Inhibición α -Gluc_Combinación_B por Concentraciones

Variable dependiente: Inhibición α -Gluc_Combinación_B

Factor: Concentraciones

Número de observaciones: 30

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Inhibición α -Gluc_Combinación_B por Concentraciones

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2330,1	4	582,526	182,67	0,0000
Intra grupos	79,7256	25	3,18902		
Total (Corr.)	2409,83	29			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición gluc. comb B por GLUCOSIDASA. Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	6	11,6265	A
200	6	14,371	B
300	6	21,551	C

400	6	26,7144	D
500	6	36,1472	E

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 11. *Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-glucosidasa Combinación C).*

ANOVA Simple - Inhibición a-Gluc Combinación C por Concentraciones

Variable dependiente: Inhibición_a-Gluc_Combinación_C

Factor: Concentraciones

Número de observaciones: 30

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Inhibición a-Gluc Combinación C por Concentraciones

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2810,22	4	702,555	747,22	0,0000
Intra grupos	23,5056	25	0,940226		
Total (Corr.)	2833,72	29			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición gluc. comb C por GLUCOSIDASA. Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	6	10,4561	A
200	6	13,0469	B
300	6	16,8208	C
400	6	24,1957	D
500	6	37,3767	E

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 12. *Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-glucosidasa Combinación D).*

ANOVA Simple - Inhibición a-Gluc Combinación D por Concentraciones

Variable dependiente: Inhibición_a-Gluc_Combinación_D

Factor: Concentraciones

Número de observaciones: 30

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Inhibición_a-Gluc_Combinación_D por Concentraciones

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3630,03	4	907,506	1635,76	0,0000
Intra grupos	13,8698	25	0,554794		
Total (Corr.)	3643,9	29			

Pruebas post hoc

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición gluc. comb D por GLUCOSIDASA. Concentraciones

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	6	9,95555	A
200	6	16,1277	B
300	6	24,8536	C
400	6	30,9165	D
500	6	41,2975	E

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 13. Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-Glucosidasa Combinaciones a 500 ug/mL).

ANOVA Simple - Inhibición aGlucosidasa TC a 500 por Concentración

Variable dependiente: Inhibición_aGlucosidasa_TC a 500

Factor: Concentración

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para Inhibición_aGlucosidasa_TC a 500 por Concentración

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	141,788	3	47,2626	7,67	0,0013
Intra grupos	123,241	20	6,16206		
Total (Corr.)	265,029	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición_aGlucosidasa_TC a 500 por Concentración

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Combinación</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	6	34,7788	A
2	6	36,1472	A
3	6	37,3767	A
4	6	41,2975	B

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 14. *Inhibición del radical DPPH de la combinación MQ microencapsulada y sin microencapsular*

ANOVA Simple - Inhibición DPPH por Muestra

Variable dependiente: Inhibición DPPH

Factor: Muestra

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 2

Tabla ANOVA para Inhibición DPPH por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	750,055	1	750,055	26,78	0,0004
Intra grupos	280,072	10	28,0072		
Total (Corr.)	1030,13	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición DPPH por Muestra

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	6	356,15	A
1	6	446,504	B

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 15. *Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-Amilasa del Microencapsulado y combinación MQ).*

ANOVA Simple - Inhibición Amilasa por Muestra

Variable dependiente: Inhibición_Amilasa

Factor: Muestra

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 2

Tabla ANOVA para Inhibición_Amilasa por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1077,5	1	1077,5	471,64	0,0000
Intra grupos	22,8459	10	2,28459		
Total (Corr.)	1100,35	11			

La tabla ANOVA descompone la varianza de Inhibición_Amilasa en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 471,64, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-

de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Inhibición_Amilasa entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 5% de significación.

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición_Amilasa por Muestra

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	6	23,1023	A
1	6	42,054	B

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.

Anexo 16. Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante (Ensayo a-Glucosidasa del Microencapsulado y la combinación MQ).

ANOVA Simple - Inhibición Glucosidasa por Muestra

Variable dependiente: Inhibición_Glucosidasa

Factor: Muestra

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 2

Tabla ANOVA para Inhibición_Glucosidasa por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	211,246	1	211,246	431,98	0,0000
Intra grupos	4,89023	10	0,489023		
Total (Corr.)	216,136	11			

La tabla ANOVA descompone la varianza de Inhibición_Glucosidasa en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 431,976, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Inhibición_Glucosidasa entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 5% de significación.

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición_Glucosidasa por Muestra

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	6	32,9061	A
1	6	41,2975	B

Aquellas letras que forman parte de la misma columna no hay diferencias estadísticamente significativas.