

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

**ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**USO DE TECNOLOGÍAS ALTERNATIVAS PARA LA
OBTENCIÓN DE EXTRACTOS CON CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE Y EFECTO INHIBITORIO DE
ENZIMAS RELACIONADAS CON LA DIABETES
MELLITUS TIPO 2 A PARTIR DE HOJAS DE OLIVO**

TESIS

Presentado por:

Bach. Luis Omar Mamani Apaza

Asesor:

Dr. Nils Leander Huamán Castilla

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA – PERÚ

2023

ACTA DE SUSTENTACIÓN



I. Modalidad:

Tesis : ☒
Trabajo de Suficiencia Profesional : ☐
Otro: : ☐

II. Documento de aprobación de la modalidad de titulación del bachiller:

RESOLUCIÓN DE FACULTAD N° 116 - 2022 - FACIA - UNAM

Fecha: 07/07/2022

III. Documento de aprobación para la sustentación:

RESOLUCIÓN DE FACULTAD N° 0104 - 2023 - FACIA - UNAM

Fecha: 14/07/2023

IV. El Jurado ha dictaminado la (el) TESIS

TITULADO: "USO DE TECNOLOGÍAS ALTERNATIVAS PARA LA OBTENCIÓN DE
EXTRACTOS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO INHIBITORIO DE
ENZIMAS RELACIONADAS CON LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 A PARTIR
DE HOJAS DE OLIVO"

Bachiller: LUIS OMAR MAMANI APAZA

Asesor Principal: Dr. NILS LEANDER HUAMÁN CASTILLA

Co-Asesor:

V. Se dictamina:

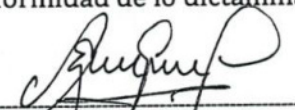
Como: APROBADO (EXCELENTE) por UNANIMIDAD la sustentación de manera:

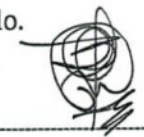
Presencial ☒ Virtual ☐

Con nota: DIECIOCHO (18) por lo que; Sí ☒ No ☐


Opta el Título Profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL.

Siendo las 13:00 horas, del 18 de JULIO del año 2023 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.


Presidente
Dr. Elías Escobedo Pacheco
(Nombres y Apellidos)


Primer Miembro
Dr. Erick Manuel Saldana Villa
(Nombres y Apellidos)


Segundo Miembro
M.sc. Lycei Maria Coceres Bustuz
(Nombres y Apellidos)


Asesor Principal
Dr. Nils Leander Huaman Castilla
(Nombres y Apellidos)


Miembro Accesorio
M.sc. Karina Erika Eduardo Belomino
(Nombres y Apellidos)

Bachiller
Luis Omar Mamani Apaza
(Nombres y Apellidos)

Co-Asesor
(Nombres y Apellidos)

Dedicatoria

Dedicado a mis queridos padres Angel e Yrma,
Por su cariño, fortaleza y comprensión
a lo largo de este camino;
A mi preciado hermano Luis Angel,
Por ser esa voz que,
sin decir mucho, lo dice todo.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por guiar mi camino y permitirme conocer a personas extraordinarias.

A mi asesor, Dr. Nils Huamán, quien, con sus consejos, experiencia y valiosa amistad permitió que pueda concluir con la ejecución del presente trabajo, y al mismo tiempo ingresar a este gran campo que es la investigación.

A mis profesores M.Sc. Yesica Vilcanqui, Mgr. Erik Allcca y Mgr. Nilton León, hoy mis amigos, por compartir lecciones que me han hecho crecer como persona y profesional.

A los miembros de mi jurado, Dr. Elías Escobedo, Dr. Erick Saldaña, M.Sc. Lycet Cáceres y M.Sc. Karina Eduardo, por sus comentarios, sugerencias y aportes con el fin de fortalecer la presente investigación.

A la Srta. Sujey Caso, por ser una gran amiga y excelente persona, quien, a lo largo de mi vida universitaria e incluso hoy sigue estado ahí escuchándome y deseándome lo mejor.

A cada uno de los profesores y personal de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua, por compartir sus conocimientos y experiencias para formarme como profesional.

Al Dr. Franz Zirena y al Ing. Jack Colque del Laboratorio de Contaminantes Orgánicos y Ambiente de la Universidad Nacional de Moquegua por compartir su experiencia, tiempo y permitir el uso de sus instalaciones.

A mis amigos Salome, Dayana, Marjhory, Cecilia y Yessica del Laboratorio de Tecnologías Sustentables para la Extracción de Compuestos de Alto Valor de la Universidad Nacional de Moquegua, quienes, durante la ejecución de nuestros respectivos proyectos de tesis, nos alentamos y dimos ánimos para continuar, y así lograr finalizarlos satisfactoriamente.

A mi familia, por ser quienes me impulsan a dar lo mejor de mí y apoyarme incondicionalmente en cada una de mis decisiones.

Glosario de términos

°C	:	Grados centígrados
%	:	Porcentaje
AAPH	:	Dihidrocloruro de 2,2'-Azinobis (2-metilpropionamidina)
Da	:	Dalton
DM	:	Diabetes mellitus
DM2	:	Diabetes mellitus tipo 2
dL	:	Decilitro
DPPH	:	2,2 difenil – 1 – picrilhidrazilo
EAG	:	Equivalente a ácido gálico
EAU	:	Extracción asistida por ultrasonido
ELP	:	Extracción por líquidos presurizados
ET	:	Equivalente a trolox
gss	:	Gramo de sólido seco
h	:	Hora
kDa	:	Kilo Dalton
mg	:	Miligramo
min	:	Minuto
mM	:	Milimol
mL	:	Mililitro
ORAC	:	Capacidad de absorción de radical oxígeno
p/p	:	relación peso/peso
p/v	:	relación peso/volumen
µg	:	Microgramo
µM	:	Micromol
v/v	:	relación volumen/volumen

Resumen

A nivel nacional la producción de olivo alcanza las 220 mil toneladas por año, donde el sur del Perú representa el 96% de la producción del cultivo de olivo, cuyo consumo es a través de productos derivados y consumo directo generando residuos como piel, semillas y hojas. En particular, las hojas son considerados residuos sin ningún valor comercial, que por lo general su mecanismo de eliminación se basa en la incineración, lo cual conlleva a problemas de gestión ambiental. Sin embargo, se ha demostrado que estas hojas presentan compuestos polifenólicos con importantes propiedades bioactivas beneficiosas para la salud, pudiendo ser valoradas a través de la industria de los alimentos y farmacéutica. Por ello, el presente trabajo evaluó el efecto de dos tecnologías de extracción (extracción por líquidos presurizada y extracción asistida por ultrasonido) combinadas con tres solventes (agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%) a dos temperaturas (50°C y 70°C) para la obtención de extractos con capacidad antioxidante y poder inhibitorio enzimático a partir de hojas de olivo. Se determinó el contenido de polifenoles, capacidad antioxidante (DPPH y ORAC), perfil de polifenoles y capacidad para inhibir enzimas (α -amilasa y α -glucosidasa) relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2. Los resultados mostraron que la mejor condición de extracción fue establecida con líquidos presurizados usando glicerol al 15% a 70°C obteniendo un contenido de polifenoles de 19,46 mg EAG/gss, una capacidad antioxidante por DPPH y ORAC de 4,11 mg/mL y 500,26 μ mol ET/gss respectivamente. Respecto al contenido de polifenoles específicos, la oleuropeína fue el compuesto mayoritario presente en los extractos obtenidos aplicando líquidos presurizados y ultrasonido, con cantidades de 171,48 μ g/gss y 246,70 μ g/gss respectivamente. Con respecto a la capacidad de inhibición, el extracto obtenido por líquidos presurizados a una condición de operación de 70°C y etanol al 15% mostró una reducción en la actividad enzimática de hasta el 76% y 29% para α -amilasa y α -glucosidasa, presentando este último un efecto similar al fármaco de referencia (acarbose). Finalmente, estos resultados demostraron gran potencial para inhibir enzimas relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 a partir de hojas de olivo, lo cual permitirá desarrollar futuros trabajos enfocados en la formulación de alimentos que permita reducir el índice glucémico postprandial.

Palabras clave: polifenoles, capacidad antioxidante, tecnología de extracción, actividad enzimática, diabetes mellitus tipo 2.

Abstract

In Peru, olive production reaches 220 thousand tons annually, and much of this cultivation is concentrated in the southern region, accounting for 96% of the total. The consumption of olives is primarily through derived products and direct consumption, which generates waste such as peels, seeds, and leaves. The leaves are considered waste with no commercial value, and their disposal method usually involves incineration, leading to environmental management issues. However, it has been demonstrated that these leaves contain polyphenolic compounds with significant bioactive properties beneficial to health, making them valuable for the food and pharmaceutical industries. Therefore, this study evaluated the effect of two extraction technologies (pressurized liquid extraction and ultrasound-assisted extraction) combined with three solvents (pure water, 15% ethanol, and 15% glycerol) at two temperatures (50°C and 70°C) for obtaining extracts with antioxidant capacity and enzymatic inhibitory power from olive leaves. The content of polyphenols, antioxidant capacity (DPPH and ORAC assays), polyphenolic profile, and the ability to inhibit enzymes (α -amylase and α -glucosidase) related to type 2 diabetes mellitus were determined. The results showed that the best extraction condition was achieved using pressurized liquids with 15% glycerol at 70°C, obtaining a polyphenol content of 19.46 mg GAE/gdw, an antioxidant capacity by DPPH and ORAC of 4.11 mg/mL and 500.26 μ mol TE/gdw, respectively. Regarding the specific polyphenol content, oleuropein was the major compound present in the extracts obtained using pressurized liquids and ultrasound, with quantities of 171.48 μ g/gdw and 246.70 μ g/gdw, respectively. In terms of inhibition capacity, the extract obtained by pressurized liquids at an operating condition of 70°C and 15% ethanol showed a reduction in enzymatic activity of up to 76% and 29% for α -amylase and α -glucosidase, with the latter exhibiting a similar effect to the reference drug (acarbose). Finally, these results demonstrated great potential for inhibiting enzymes related to type 2 diabetes mellitus from olive leaves, which will enable future research focused on formulating foods that can reduce the postprandial glycemic index.

Keywords: polyphenols, antioxidant capacity, extraction technology, enzymatic activity, type 2 diabetes mellitus.

ÍNDICE

Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos	iii
Glosario de términos.....	iv
Resumen.....	v
Abstract.....	vi
INTRODUCCIÓN	10
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
1.1. Descripción y formulación del problema.....	12
1.2. Objetivos.....	13
1.2.1. Objetivo general.....	13
1.2.2. Objetivos específicos	13
1.3. Justificación e importancia.....	14
1.4. Hipótesis	15
1.4.1. Hipótesis general.....	15
1.5. Variables.....	15
II. MARCO TEÓRICO.....	16
2.1. Antecedentes.....	16
2.2. Bases teóricas.....	18
2.2.1. Hojas de olivo	18
2.2.2. Polifenoles.....	19
2.2.2.1. Propiedades bioactivas de los polifenoles.....	21
2.2.2.2. Polifenoles target como compuestos antidiabéticos.....	23
2.2.3. Capacidad antioxidante	24
2.2.4. Métodos de extracción	25
2.2.4.1. Métodos convencionales	26
2.2.4.2. Tecnologías alternativas	26
2.2.5. Diabetes.....	28
2.2.5.1. Enzimas relacionadas con la DM2.....	30
2.2.5.2. Capacidad de inhibición de la actividad enzimática de los polifenoles	30
2.3. Definición de términos.....	31
III. METODOLOGÍA	32
3.1. Tipo y nivel de investigación	32
3.2. Ámbito temporal y espacial	32
3.3. Población y muestra.....	32
3.4. Instrumentos.....	32
3.4.1. Materiales.....	32

3.4.2.	Equipos	33
3.4.3.	Insumos y reactivos.....	34
3.5.	Procedimientos.....	35
3.5.1.	Acondicionamiento de muestra.....	35
3.5.2.	Tecnologías alternativas de extracción.....	36
3.5.2.1.	Extracción Líquida Presurizada (ELP).....	36
3.5.2.2.	Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU)	36
3.5.3.	Determinación de polifenoles totales	36
3.5.4.	Determinación de capacidad antioxidante	37
3.5.4.1.	Método DPPH	37
3.5.4.2.	Método ORAC	37
3.5.5.	Cuantificación del perfil de polifenoles específicos	38
3.5.6.	Inhibición de enzimas relacionadas con la DM2	38
3.5.6.1.	Inhibición de la actividad de α -amilasa.....	38
3.5.6.2.	Inhibición de la actividad de α -glucosidasa	39
3.6.	Análisis de datos	40
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	43
4.1.	Efecto de las tecnologías alternativas de extracción	43
4.1.1.	Contenido de polifenoles totales	43
4.1.2.	Capacidad antioxidante	45
4.1.2.1.	Método DPPH	45
4.1.2.2.	Método ORAC	46
4.1.3.	Cuantificación del perfil de polifenoles específicos	47
4.1.3.1.	Ácidos fenólicos.....	47
4.1.3.2.	Estilbenos	48
4.1.3.3.	Flavanoles	48
4.1.3.4.	Flavonoles	49
4.1.3.5.	Flavona.....	51
4.1.3.6.	Feniletanoides	51
4.1.3.7.	Secoiridoides	52
4.1.4.	Inhibición de enzimas relacionadas con la DM2	52
4.1.4.1.	Inhibición de la actividad de α -amilasa.....	52
4.1.4.2.	Inhibición de la actividad de α -glucosidasa	53
V.	CONCLUSIONES	56
VI.	RECOMENDACIONES	57
VII.	REFERENCIAS	58
VIII.	ANEXOS	78

Índice de tablas

Tabla 1. Variables independientes	15
Tabla 2. Variables dependientes	15
Tabla 3: Contenido de polifenoles totales en hojas de olivo	19
Tabla 4: Propiedades bioactivas de las principales familias de polifenoles presentes en la hoja de olivo.....	22
Tabla 5: Principales especies reactivas	24
Tabla 6: Arreglo factorial 3x2 para la obtención de extractos mediante extracción por líquidos presurizados	40
Tabla 7: Arreglo factorial 3x2 para la obtención de extractos mediante extracción asistida por ultrasonido	41
Tabla 8: Análisis de datos para la determinación de la actividad enzimática	42
Tabla 9: Contenido de polifenoles totales en extractos obtenidos por ELP y EAU.....	44
Tabla 10: Capacidad antioxidante por DPPH en extractos obtenidos por ELP y EAU ...	46
Tabla 11: Capacidad antioxidante por ORAC en extractos obtenidos por ELP y EAU...	47
Tabla 12: Perfil de polifenoles de los extractos de hojas de olivo	50

Índice de figuras

Figura 1: Clasificación esquemática de polifenoles	20
Figura 2: Función de los antioxidantes sobre los radicales libres.....	25
Figura 3: Esquema de la extracción por líquidos presurizados	27
Figura 4: Esquema de la extracción asistida por ultrasonido.....	28
Figura 5: Esquema del proceso experimental	35
Figura 6: Actividad enzimática de α -amilasa en los extractos obtenidos por A) ELP y B) EAU. Actividad enzimática de α -glucosidasa en los extractos obtenidos por C) ELP y D) EAU	55

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de distintas enfermedades crónicas y degenerativas tales como Alzheimer, diabetes, cáncer entre otros están vinculadas con desordenes producidos por la acumulación de radicales libres, esto producto de los distintos procesos metabólicos ocurridos en el organismo (Phaniendra et al., 2015). Una de las enfermedades crónicas de mayor prevalencia en la actualidad es la diabetes, donde aproximadamente un 10% de la población adulta a nivel mundial padece esta enfermedad (Sun et al., 2022). La diabetes es caracterizada por la hiperglucemia a causa de la deficiencia en la producción o resistencia a la insulina, que de no controlarse puede resultar en complicaciones microvasculares como neuropatía, nefropatía y retinopatía, además de macrovasculares como accidentes cerebrovasculares, aterosclerosis y posiblemente disfunción cognitiva (Kitada et al., 2010). Por ello, uno de los tratamientos está enfocado en la inhibición de la actividad de enzimas (α -amilasa y α -glucosidasa) que hidrolizan los carbohidratos, como mecanismo para regular la glucemia postprandial al retardar la absorción de glucosa en sangre.

Si bien existen medicamentos como la acarbosa, voglibosa y miglitol que inhiben estas enzimas, su constante uso ha sido vinculado con problemas gastrointestinales y daño hepático (Fred-Jaiyesimi et al., 2009). Por ello, diversos estudios se han enfocado en buscar inhibidores naturales a partir de matrices vegetales con la finalidad de no solo inhibir las enzimas relacionadas con la diabetes, sino también con la finalidad de reemplazar las drogas sintéticas con efectos adversos al organismo.

La industria agrícola y de alimentos genera una elevada cantidad de residuos proveniente de etapas de recolección, almacenamiento y transformación durante el procesamiento de alimentos. Estos residuos no son aprovechados, por el contrario, se han convertido en un problema ambiental, a pesar de ser una fuente de importantes concentraciones de metabolitos secundarios como los polifenoles, los cuales presentan distintas propiedades como antioxidante, anticancerígeno, antiinflamatorio, hipoglucemiante entre otras (Leyva-López et al., 2020).

En particular, las hojas de olivo son residuos de la industria que no son aprovechados a pesar de contener distintas familias de polifenoles como ácidos fenólicos (ácido vanílico y ácido cafeico), flavonoides (catequina, rutina, luteolina y apigenina), feniletanoides (tirosol e hidroxitirosol) y secoiridoides (oleuropeína), los cuales han mostrado propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antihipertensivas, hipocolesterolémicas e hipoglucémicas (Selim et al., 2022), siendo esta última propiedad

de gran interés en la industria para diseñar productos nutraceuticos que ayuden al tratamiento y control de la hiperglucemia en pacientes con diabetes.

La extracción de polifenoles se ha realizado a través de métodos convencionales como la maceración, hidrodestilación y soxhlet. Sin embargo, estos se caracterizan por emplear grandes volúmenes de solvente y largos periodos de proceso (> 6 h), los cuales no solo reducen los rendimientos en la extracción, sino también promueven la hidrólisis y oxidación de estos compuestos (Ignat et al., 2011). Por ello, diversas tecnologías alternativas como la extracción asistida por microondas, extracción con fluidos supercríticos, extracción por líquidos presurizados y extracción asistida por ultrasonido para la recuperación de compuestos bioactivos, han sido estudiadas. Estos procedimientos combinados con solventes de grado alimentario (agua, etanol y glicerol) proporcionan un mayor rendimiento de extracción de estos compuestos, además de ser amigables con el medio ambiente (Oreopoulou et al., 2019).

Por ello, en el presente trabajo se propuso el uso de tecnologías alternativas para la obtención de extractos polifenólicos con capacidad antioxidante y efecto inhibitorio de enzimas relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 partir de hojas de olivo.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción y formulación del problema

A nivel nacional se cultiva ~28 000 hectáreas de olivo con la finalidad de obtener su fruto (aceituna) y derivados como el aceite en sus diferentes categorías (virgen y extra virgen). Por ejemplo, en Tacna, Arequipa y Moquegua se produjo 176 423, 41 976 y 684 toneladas el año 2022, respectivamente (MIDAGRI, 2023). No obstante, durante la cosecha de aceituna y/o durante su procesamiento se generan residuos agroindustriales tales como restos de piel, semilla y hojas (Gullón et al., 2018; Navas et al., 2015). En particular, las hojas de olivo son un tipo de residuo que se generan en mayor proporción durante la poda y cosecha del fruto de la aceituna, los cuales no presentan ningún valor comercial, pero sí representan un problema de contaminación ambiental.

Diversos trabajos de investigación mencionan que las hojas de olivo son una excelente fuente natural de polifenoles con importantes propiedades bioactivas tales como: antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas, antiproliferativo, antiarrítmico, antihipertensivos, antiinflamatorios, hipoglucemiantes e hipocolesterolemiantes (Ahmad-Qasem et al., 2016; Quirantes-Piné et al., 2013), las cuales podrían ser aprovechadas por la industria alimentaria y farmacéutica para el desarrollo de productos nutraceuticos que sirvan para el tratamiento de diversas enfermedades degenerativas (Peršuric et al., 2019; Žuntar et al., 2019). Sin embargo, el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan una eficiente recuperación de estos polifenoles para su aplicación y que estas sean de grado alimentario, son aún una tarea pendiente por resolver.

A la fecha diferentes métodos convencionales de extracción han sido desarrollados para la obtención de polifenoles tales como soxhlet, maceración y destilación (Markhali et al., 2020), o de manera indirecta (polifenoles) al obtener aceites mediante prensado en frío (Chew, 2020). No obstante, estos métodos presentan varias desventajas como son los prolongados periodos de proceso, uso de solventes tóxicos no amigables con el medio ambiente (acetona, hexano, metanol) (Chen et al., 2015). Por ello, en las últimas décadas las tecnologías alternativas como la extracción asistida por ultrasonido (EAU) y la extracción por líquidos presurizados (ELP), también denominadas tecnologías verdes han tomado mayor relevancia debido a que son más eficientes y eco-amigables, esto gracias a la reducción en el uso de solventes orgánicos y/o sintéticos, menor tiempo de operatividad y a la obtención de extractos de mejor calidad (Soquetta et al., 2018). Por tanto, estas tecnologías de extracción permiten la obtención de extractos

ricos en polifenoles, cuyos rendimientos superan ampliamente a la extracción convencional (Jha y Sit, 2022; Panja, 2018).

Si bien a la fecha existen trabajos de investigación que han caracterizado químicamente los extractos obtenidos a partir de hojas de olivo relacionados con su contenido de polifenoles, capacidad antioxidante e inclusive perfil de polifenoles, aún no está bien definido como estos extractos ricos en polifenoles pueden ayudar a la prevención de enfermedades degenerativas como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Esta enfermedad degenerativa crónica se caracteriza por presentar elevados niveles de glucosa en sangre, esto a consecuencia de la poca producción de insulina o a que esta no es utilizada eficazmente por el organismo (Chatterjee et al., 2017). La International Diabetes Federation (IDF) (2021), reporta que a la fecha existen 537 millones de personas entre los 20 a 79 años con algún tipo de diabetes y se proyecta que para el 2045, este número ascienda a 784 millones de personas diagnosticadas.

En Perú, un promedio del 70% de adultos y 40 % de jóvenes entre los 15 y 25 años padecen de sobrepeso causado por una dieta desequilibrada y un estilo de vida sedentario. Estos hábitos de alimentación están vinculados con la diabetes mellitus tipo 2 (Carrillo-Larco y Bernabé-Ortiz, 2019; Segundo, 2015). Por ello, dada la creciente carga clínica y económica de esta enfermedad es necesario proponer el uso de polifenoles como una alternativa para inhibir las enzimas relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 y de ser posible a futuro sustituir el uso de medicamentos como la acarbosa.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la extracción por líquidos presurizados y asistida por ultrasonido, combinados con solventes (agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%) a temperaturas moderadas (50 y 70°C) sobre el contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante, perfil de polifenoles e inhibición de la actividad de α -amilasa y α -glucosidasa por extractos obtenidos a partir de hojas de olivo.

1.2.2. Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la extracción por líquidos presurizados y asistida por ultrasonido, combinados con solventes (agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%) a temperaturas moderadas (50 y 70°C) sobre el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante por extractos obtenidos a partir de hojas de olivo.

Evaluar el efecto de la extracción por líquidos presurizados y asistida por ultrasonido, combinados con solventes (agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%) a temperaturas moderadas (50 y 70°C) sobre el perfil de polifenoles por extractos obtenidos a partir de hojas de olivo.

Evaluar el efecto de la extracción por líquidos presurizados y asistida por ultrasonido, combinados con solventes (agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%) a temperaturas moderadas (50 y 70°C) sobre la inhibición de la actividad de α -amilasa y α -glucosidasa por extractos obtenidos a partir de hojas de olivo.

1.3. Justificación e importancia

Los residuos provenientes de la industrialización del cultivo del olivo tales como las hojas representan ~10% del peso total del fruto procesado, los cuales son considerados como residuos que afectan el medio ambiente debido a que estos no se aprovechan y/o eliminan de manera correcta; con lo cual, el aprovechamiento de estos residuos podría revalorar el cultivo del olivo y promover una economía circular.

Actualmente el interés por encontrar fuentes naturales para la obtención de compuestos bioactivos como los polifenoles se ha ido incrementando con la finalidad de utilizarlos en alimentos funcionales o nutraceuticos. En ese contexto, se ha reportado que las hojas de olivo son una fuente económica, renovable y abundante de polifenoles con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias e hipoglucemiantes, las cuales pueden contribuir a prevenir cierto tipo enfermedades degenerativas como la diabetes.

Por otro lado, los cambios en el estilo de vida y hábitos de alimentación han traído como consecuencia el desarrollo de enfermedades degenerativas como la diabetes. Además de ello, gran parte de la población es intolerante a la glucosa, siendo esta una de las principales señales que colocan a la persona en un alto riesgo de desarrollar la diabetes mellitus tipo 2. Este tipo de diabetes es diagnosticado al 90% de personas que la padecen, los síntomas pueden pasar casi desapercibidos hasta el momento en que se comienza a presentar complicaciones.

Frente a este escenario, la industria alimentaria y farmacéutica viene buscando tratamientos naturales que sean efectivos y que no signifiquen costos elevados para la población, todo ello a partir del uso de fuentes naturales ricas en compuestos bioactivos como los polifenoles. Es así como, encontrar nuevas materias primas podría mejorar la economía de las familias relacionadas con el cultivo de estas fuentes naturales.

Por lo tanto, dado que las hojas de olivo presentan elevados contenidos de polifenoles con propiedades antihipertensivas, antiinflamatorias, hipoglucémicas e hipocolesterolémicas, evaluar el uso de tecnologías alternativas para la obtención de extractos con capacidad antioxidante y efecto inhibidor de enzimas relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 a partir de hojas de olivo permitiría contribuir con la búsqueda de soluciones a esta enfermedad y poder darle un valor significativo a este descarte generado en la región.

1.4. Hipótesis

1.4.1. Hipótesis general

La extracción por líquidos presurizados y extracción asistida por ultrasonido con solventes alternativos a temperaturas moderadas mejoran la obtención de extractos con alta capacidad antioxidante y potencial de inhibición de la actividad de enzimas (α -amilasa y α -glucosidasa) relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 a partir del uso de hojas de olivo.

1.5. Variables

Tabla 1. Variables independientes

Variables independientes	Niveles
Tecnología alternativa de extracción	Extracción por líquidos presurizados Extracción asistida por ultrasonido
Solvente	Agua pura Etanol 15% Glicerol 15%
Temperatura	50°C 70°C

Tabla 2. Variables dependientes

Variables dependientes	Unidad
Polifenoles totales	mg equivalente a ácido gálico/ g de sólido seco
Capacidad antioxidante	
DPPH	mg/mL
ORAC	μ mol equivalente a trolox/g sólido seco
Perfil de polifenoles	μ g polifenol específico/ g sólido seco
Inhibición enzimática	
α -amilasa	% actividad enzimática
α -glucosidasa	% actividad enzimática

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Ben Salah y Abdelmelek, (2012) reportaron el contenido de polifenoles totales, flavonoides y propiedades antioxidantes de hojas de olivo de ocho ecotipos. Si bien hubo un alto contenido de polifenoles y flavonoides, la oleuropeína fue el compuesto mayoritario presente en los extractos de hoja para todos los ecotipos. Los extractos mostraron alta capacidad antioxidante y poder reductor. Por ello, el alto contenido de oleuropeína y las importantes actividades antioxidantes del extracto de hojas de olivo podrían ser fuentes útiles para el desarrollo de nuevas técnicas de extracción a nivel industrial y futura aplicación farmacológica en la prevención de la de daños causados por los radicales libres.

Nouri et al. (2014) estudiaron las propiedades antioxidantes, antibacterianas e inhibidoras de las hojas de betel utilizando cuatro solventes (metanol, etanol, acetona y acetato de etilo), reportaron que el extracto metanólico y el extracto etanólico al 90% mostraron el mayor contenido de compuestos fenólicos con 205,2 y 202,9 mg EAG/g, respectivamente. El uso del extracto etanólico permitió inhibir el 94% del radical DPPH. Asimismo, el potencial de inhibición de α -amilasa fue ~90%, mostrando además que la actividad inhibitoria se correlaciona positivamente con el contenido de polifenoles totales, siendo posible utilizar este extracto para regular la hiperglucemia.

Irakli et al. (2018) realizaron un proceso de optimización mediante extracción asistida por ultrasonidos con el fin de obtener oleuropeína, ácidos fenólicos y flavonoides de las hojas de olivo y evaluar su capacidad antioxidante. Las mejores condiciones se consiguieron utilizando acetona al 50% durante 10 minutos a 60°C, lo cual permitió recuperar 10,65% de oleuropeína, 0,29% de flavonoides, reflejando en el alto contenido de polifenoles totales (37,44 mg EAG/gss) y capacidad antioxidante. Además, los extractos obtenidos con agua presentaron un mayor contenido de hidroxitirosol y ácidos fenólicos.

da Costa Silva et al. (2019) reportaron el potencial antidiabético de las hojas de *Cassia bakeriana Craib* por medio de la evaluación de la actividad antioxidante e inhibición de las actividades de α -amilasa, α -glucosidasa, lipasa y glicación. Los extractos se obtuvieron por maceración utilizando n-hexano y etanol. Los extractos obtenidos mediante hexano presentaron una baja capacidad antioxidante comparado con el uso de etanol con 1 465 y 4 390 μ mol ET/g, respectivamente. El uso de etanol mostro una mayor capacidad de inhibición (93%) de la actividad α -amilasa $IC_{50} = 5 \mu$ g/mL

mientras que para la inhibición (54%) de α -glucosidasa mostro un $IC_{50} = 443 \mu\text{g/mL}$, presentando de esta manera potencial para el tratamiento de la diabetes.

Martín-García et al. (2020) emplearon la extracción por líquidos presurizados como método de extracción verde para la obtención de compuestos fenólicos de hojas de olivo mediante las siguientes condiciones: 105°C , etanol al 100% y 5 minutos de extracción estática. Esto permitió recuperar de 2,5 a 3,6 veces más polifenoles totales que otros estudios realizados con extracción asistida por ultrasonido y asistida por microondas. La mejor condición fue establecida a 138°C , etanol al 100% y 5 minutos de extracción estática, obteniendo un contenido de polifenoles totales de 144 mg EAG/gss. No obstante, se encontró que las temperaturas elevadas generan compuestos tóxicos no deseados.

Dobrinčić et al., (2020) aplicaron diferentes técnicas de extracción para la recuperación de polifenoles de las hojas de olivo. Las técnicas empleadas fueron extracción asistida por microondas (EAM), asistida por ultrasonido (EAU) y asistida por alta presión (EAAP). Se utilizó etanol al 50% como solvente. Para la EAM las mejores condiciones de extracción fueron 2 minutos a 80°C con 3 g de muestra, obteniendo 92,18 mg/g de fenoles; mientras que para la EAU fueron: 21 minutos a 50°C con 1,5 g de muestra, obteniendo 92,49 mg/g de fenoles, distribuidos entre oleuropeína, hidroxitirosol, ácido clorogénico, ácido cafeico, verbascósido y rutina. Se determinó que el polifenol más abundante en los extractos de hojas de olivo fue la oleuropeína (83 – 95%) con concentraciones de 74,81 (EAM), 74,24 (EAU) y 69,23 mg/g (EAAP).

Quaresma et al., (2020) estudiaron el uso de los compuestos antioxidantes de las hojas de *Banisteriopsis argyrophylla* sobre la inhibición de α -amilasa, α -glucosidasa, lipasa e inhibición del índice de glicación por medio de extractos etanólicos obtenidos mediante maceración y sus fracciones (fracción de acetilacetato, fracción de n-butanol, fracción de diclorometano y fracción de agua). El uso de etanol presento un contenido de polifenoles totales de 337 mg GAE/g, siendo superado por acetilacetato, la capacidad antioxidante en términos de DPPH fue relativamente baja con etanol, reportando un $IC_{50} = 4 \mu\text{g/mL}$, pero alto en términos de ORAC con un $IC_{50} = 6\,069 \mu\text{mol ET/g}$. Con relación a la inhibición enzimática, el extracto etanólico mostró un IC_{50} de 4, 1 075 y 26,1 g/mL contra la α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa respectivamente, dando resultados favorables para el desarrollo de fármacos contra la diabetes y sus complicaciones a partir de recursos naturales.

Mwakalukwa et al., (2020) evaluaron el efecto reductor de la hiperglucemia postprandial de 7 compuestos ([1] ácido oleanólico, [2] ácido maslínico, [3] 1-acetoxiprinoresinol, [4] acetato de hidroxitirosol, [5] 3, 4-dihidroxifenil-2-metoxietanol, [6] luteolina-7-O- β -glucósido y [7] hidroxitirosol) aislados de los residuos del olivo en términos de la actividad inhibitoria de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa. Los triptenos [1], [2] y los compuestos fenólicos [3], [6] tuvieron una alta actividad inhibitoria, mostrando el compuesto [3] una inhibición en términos de $IC_{50} = 13,9$ y $313 \mu M$ para α -amilasa y α -glucosidasa, respectivamente. Esto permitió considerar los residuos de olivo como una fuente importante para formulaciones antidiabéticas, complementos alimenticios o para desarrollar fármacos antidiabéticos.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Hojas de olivo

El cultivo del árbol del olivo actualmente ha incrementado su área de cultivo a nivel mundial para la obtención de aceituna, cuya área superficial alcanza ~ 7 millones de hectáreas (ha). Los países de Europa, Asia y América están presentando los mayores porcentajes de siembra de este cultivo con 65%, 19% y 15%, respectivamente (FAO, 2019). En el caso América latina, nuestro país tuvo una superficie cosechada de ~ 28 mil ha de olivo, destacándose su producción en las regiones de Tacna y Arequipa con el 76% y 17% de superficie cosechada al 2021 respectivamente. Asimismo, la producción de aceituna el 2022 fue de ~ 227 mil toneladas (MIDAGRI, 2023; SIEA, 2022).

La aceituna o fruto del árbol del olivo es un producto de consumo directo, no obstante, resulta más atractivo económicamente su procesamiento para la obtención de aceite de oliva, pero al mismo tiempo este proceso genera grandes cantidades de residuos agroindustriales tales como pulpa, piel y semilla, los cuales representan entre 30 y 40% del peso seco del fruto fresco (Ouazzane et al., 2017). Por otro lado, las hojas de olivo son un subproducto agrícola que se obtiene como resultado de las labores culturales y cosecha del fruto de la aceituna, el cual representa $\sim 10\%$ del peso de este fruto y no presentan ningún valor comercial siendo consideradas un problema de gestión ambiental. No obstante, diversos estudios han demostrado la presencia de distintas familias de polifenoles con importantes aplicaciones tecnológicas y farmacéuticas, destacando algunas propiedades como antiinflamatorias, antihipertensivas, antioxidantes, hipoglucémicas y antimicrobianas (Gorzynik-Debicka et al., 2018; Reboredo-Rodríguez et al., 2018; Rodríguez et al., 2008; Selim et al., 2022).

2.2.2. Polifenoles

Los polifenoles son metabolitos secundarios presentes en frutas y verduras, los cuales contienen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo en su estructura química (Yu y Ahmedna, 2013). Estos compuestos presentan un peso molecular relativamente alto (200 Da – 3 500 kDa) y una compleja estructura química que puede variar de simples monómeros a complejos polímeros, los cuales pueden estar glicosilados con diferentes tipos de carbohidratos (Huaman-Castilla et al., 2017; Obreque-Slier et al., 2011). Los polifenoles, se pueden clasificar como flavonoides y no flavonoides; entre los flavonoides, se pueden distinguir distintas familias tales como flavonoles, flavanoles, flavonas, isoflavonas, flavanonas, y antocianinas (Figura 1). Mientras que en el caso de los no flavonoides encontramos otras familias tales como estilbenos y ácidos fenólicos (Huaman-Castilla et al., 2017).

En particular, las hojas presentan concentraciones importantes de polifenoles (30,8 – 57,2 mg/g de hoja de olivo seca) (Ben Salah y Abdelmelek, 2012), cuyas familias de polifenoles tales como oleuropeósidos, flavonoles, flavonas, flavanoles y fenoles sustituidos han demostrado diferentes aplicaciones tecnológicas, bioactivas y nutraceuticas (Altiok et al., 2008; Žuntar et al., 2019).

Estos polifenoles presentes en las hojas de olivo pueden verse afectados en cierta medida por distintos factores como: ubicación geográfica, etapa de madurez, clima, cultivar (Tabla 3), tiempo de vida del árbol/hoja, almacenamiento, periodo de cosecha y método de extracción (Markhali et al., 2020).

Tabla 3: Contenido de polifenoles totales en hojas de olivo

Cultivar	Contenido de polifenoles totales (mg EAG/gss)	Referencia
Negrinha do Freixo	40,14	(Oliveira et al., 2021)
Cornicabra	27,10	
Chemlali	81,96	(Hannachi et al., 2019)
Gemlik	10,45	(Kırbaşlar y Şahin, 2021)

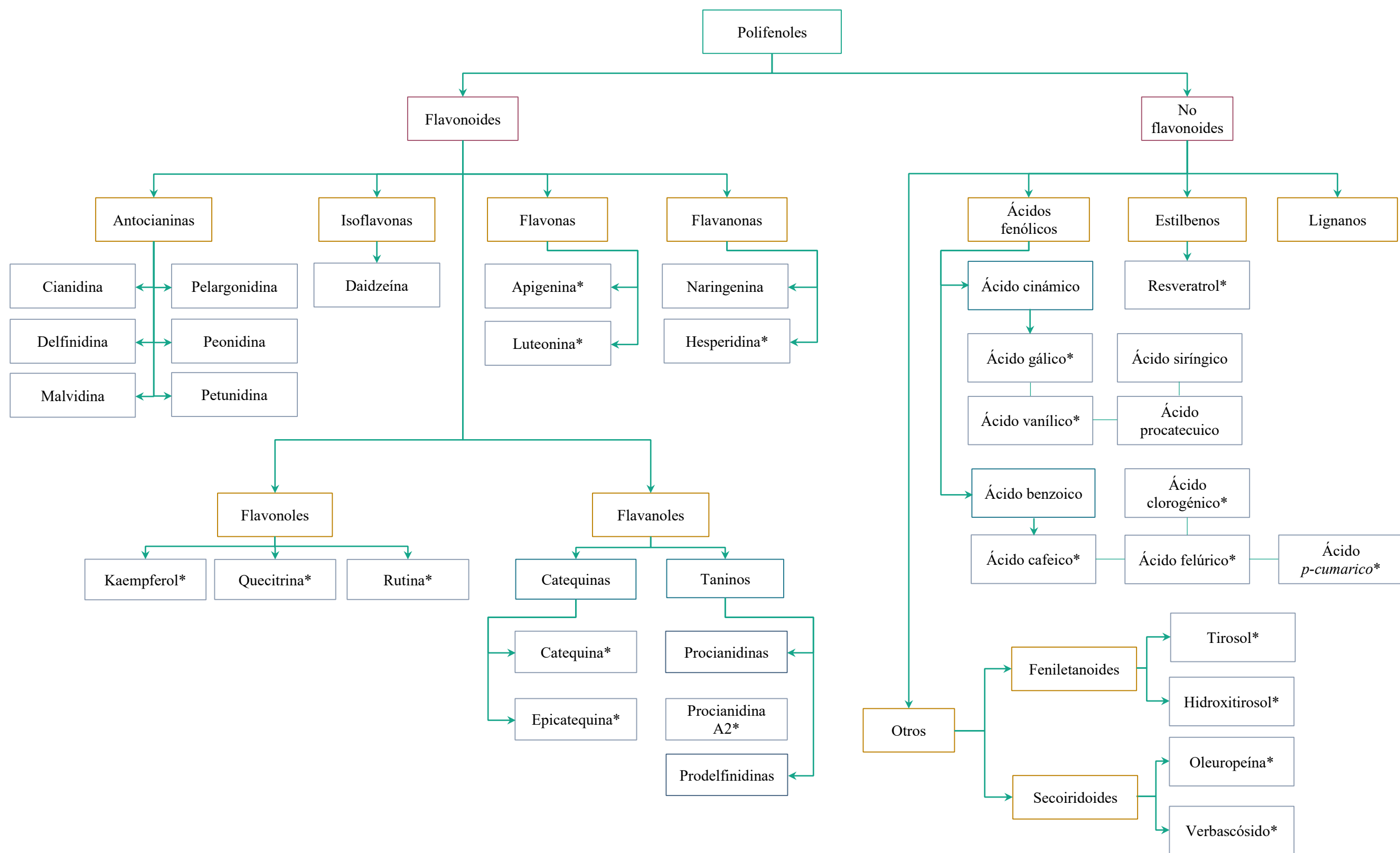


Figura 1: Clasificación esquemática de polifenoles. *polifenoles específicos presentes en las hojas de olivo

Fuente: Adaptado de Zhang y Tsao, (2016) y Clodoveo et al., (2021)

Particularmente, las hojas de olivo presentan diferentes familias específicas de polifenoles tales como oleuropeósidos, flavonoles, flavonas, flavanoles y ácidos fenólicos (El y Karakaya, 2009). Diversos trabajos de investigación se han enfocado no solo a la extracción de los polifenoles presentes en este residuo agroindustrial, sino también han demostrado su elevada capacidad antioxidante y propiedades bioactivas, consecuentemente su efectividad en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Acar-Tek y Ağagündüz, 2020; El y Karakaya, 2009; Vergara-Barberán et al., 2020).

2.2.2.1. Propiedades bioactivas de los polifenoles

Los polifenoles de las hojas de olivo son compuestos generalmente reconocidos como seguros (Shi et al., 2003), estos presentan diferentes propiedades nutraceuticas y tecnologicas (Tabla 4). Por ejemplo, la oleuropeína ha mostrado efectos anticarcinogénicos, antiinflamatorios y antioxidantes debido a que mejora la actividad mitocondrial a través de la activación de enzimas específicas (Sun et al., 2017). Los flavonoles como la quercetina, inhiben la liberación de histamina, por lo tanto, ellos muestran actividad antiinflamatoria y antialérgica (Mlcek et al., 2016; Shi et al., 2003). A su vez, los flavanoles (catequina) pueden modular la astringencia debido a que interactúan con proteínas específicas de la saliva (prolina) (Kennedy, 2008), así como son útiles para recuperar proteínas de suero de soja (Xu et al., 2019).

Tabla 4: Propiedades bioactivas de las principales familias de polifenoles presentes en la hoja de olivo

Familia	Polifenol específico	Propiedad bioactiva	Acción en el organismo	Referencia
Secoiridoides	Oleuropeína	Hipoglucemiante	Aumenta la absorción periférica de glucosa, estimula la liberación de insulina.	(Alam et al., 2019; Sato et al., 2007)
		Antiinflamatoria	Capacidad en poder inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias y de la actividad de la lipooxigenasa, modula parámetros antiinflamatorios	(Nediani et al., 2019)
		Anticancerígena Antiproliferativa	Modula diferentes procesos y vías metabólicas relacionadas con la carcinogénesis; ejerce un efecto inhibidor sobre la proliferación de células cancerígenas	(Ruzzolini et al., 2020)
Flavonoles	Rutina	Anticancerígena Antiproliferativa	Actuando sobre ciertas líneas celulares presentes en el cáncer de colon, leucemia, neuroblastoma evitando su proliferación por medio de la apoptosis, reduciendo el tamaño del tumor, etc.	(Ganeshpurkar y Saluja, 2017)
		Antidiabética	Disminuye los niveles de glucosa en plasma y suero, además de contribuir con la prevención de cambios degenerativos en el corazón (miocardiopatía diabética) y protege los tejidos del páncreas hígado, riñón y retina.	(Gullón et al., 2017)
		Antialérgica	Disminuye la proliferación de mastocitos humanos HMC-1; reduce los niveles de ciertos transcritores (MDM2 y STAT6) relacionados con enfermedades alérgicas.	(Jeong et al., 2018)
		Antiinflamatoria	Disminuye la producción de marcadores inflamatorios en afecciones inflamatorias vasculares al reducir la actividad fagocítica.	(Tian et al., 2019)
		Antioxidante	Capacidad de eliminar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica. Mantiene la homeostasis redox intracelular, combatiendo el estrés oxidativo.	(Ragheb et al., 2020; Singh et al., 2019)
Flavonas	Luteolina Luteolina-7-glucósido	Antiinflamatoria	Suprime la producción de citoquinas y de las vías de transducción de señales de inflamación inducida por bacterias.	(Lin et al., 2008)
		Antioxidante	Captura especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, bloquea metales participantes en la reacción de Fenton, además de inhibir enzimas prooxidantes.	(Lopez-Lazaro, 2009)
		Anticancerígena	Inhibe la proliferación celular y el crecimiento tumoral al promover la apoptosis y detención del ciclo celular, sensibiliza la resistencia a los medicamentos en casos de cáncer de mama	(Lin et al., 2017)
		Antidiabética	Protección contra procesos cardíacos asociados a la diabetes como la miocarditis diabética, previniendo la fibrosis e hipertrofia cardíaca dada la inhibición de respuestas inflamatorias y el estrés oxidativo.	(Li et al., 2019)

Estas propiedades bioactivas (Tabla 4) y tecnológicas demostradas en diversos polifenoles específicos ha permitido que las empresas dedicadas a su comercialización incrementen sus ingresos de \$1,2 billones en 2017 a \$1,8 billones para el 2019 (Grand View Research, 2019). Sin embargo, dada la complejidad en la extracción y purificación de cada polifenol específico en particular su costo individual en el mercado puede variar significativamente. Por ejemplo, los precios de polifenoles específicos tales como quercetina ($\geq 95\%$), el resveratrol ($\geq 99\%$) y la oleuropeína ($\geq 98\%$) pueden llegar a alcanzar \$14 700; \$3 600 y \$13 400 por gramo respectivamente (SIGMA ALDRICH, 2023). Por ello, dado el amplio espectro de aplicaciones de los polifenoles presentes en los diversos residuos agroindustriales como las hojas de olivo, el desarrollo y la optimización de tecnologías sostenibles de extracción y purificación es altamente deseable.

2.2.2.2. Polifenoles target como compuestos antidiabéticos

Según el Instituto Nacional de Salud, (2019) $\sim 70\%$ de adultos y $\sim 40\%$ de jóvenes entre los 15 y 25 años padecen de sobrepeso y obesidad, las cuales son causadas por una dieta desequilibrada y un estilo de vida sedentario. Esta prevalencia sostenida de sobrepeso y obesidad afecta la salud pública, ya que estas afecciones parecen estar asociadas con una afección inflamatoria que vincula el exceso de grasa corporal y favorecen el desarrollo de enfermedades degenerativas crónicas como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Leitner et al., 2017). La DM2, está asumiendo una proporción epidemiológica importante en el Perú en términos de morbilidad, mortalidad y discapacidad, la cual se caracteriza por la resistencia a la insulina y una mala absorción de glucosa en los tejidos del cuerpo humano como el hígado, el tejido adiposo y el músculo esquelético (Kumar et al., 2011; Leitner et al., 2017)

Si bien a la fecha existen diferentes tratamientos para las personas afectadas por esta enfermedad crónica, los costos que demandan su atención tienen un impacto negativo en la economía del sistema de salud y la sociedad (Carrillo-Larco y Bernabé-Ortiz, 2019). Por ello, diversos trabajos de investigación han demostrado que el consumo de compuestos bioactivos como los polifenoles no solo ayuda en la prevención de la DM2 sino también puede ser usado como un tratamiento efectivo a bajo costo (Li et al., 2019). En particular, el uso de flavanoles y flavonoles presentes en diversos descartes agroindustriales como las hojas de olivo podrían ser usados en el tratamiento de la DM2 a través de la inhibición de las enzimas relacionadas con la diabetes tales como α -amilasa y α -glucosidasa, con la consecuente reducción del índice glucémico, que comprende una herramienta terapéutica potencial contra esta enfermedad (Fan et al., 2013; Rasouli et al.,

2017; Sarian et al., 2017; Striegel et al., 2015). Por ello, la extracción e identificación de agentes farmacéuticos y dietéticos, como los extractos selectivos de polifenoles, parece ser un enfoque rentable para el manejo de la DM2.

2.2.3. Capacidad antioxidante

Los radicales libres (figura 2) son especies altamente reactivas (Tabla 5) que dentro de su estructura química poseen un electrón desapareado, estos se producen de manera natural luego de los procesos metabólicos de organismo, los cuales pueden provocar distintos daños debido a su acumulación y se ha asociado a procesos patológicos; estos radicales pueden presentarse como especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (Kehrer et al., 2010).

Los antioxidantes (figura 2) son moléculas o átomos que tienen la capacidad de retrasar, inhibir o eliminar el daño oxidativo en otra molécula. Estos protegen el cuerpo humano de los efectos de las especies reactivas, las cuales han sido relacionados con las enfermedades crónicas (Gulcin, 2020).

Tabla 5: Principales especies reactivas

Especies reactivas		Especies reactivas no radicales	
Radical hidroxilo	HO·	Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂
Radical superóxido	O ₂ ^{-·}	Oxígeno singulete	¹ O ₂
Radical hidroperóxido	HOO·	Ozono	O ₃
Radical lipídico	L·	Hidroperóxido de lípido	LOOH
Radical peróxido lipídico	LOO·	Hipoclorito	HOCl
Radical peróxido	ROO·	Peroxinitrito	ONOO ⁻
Radical alquilóxido lipídico	LO·	Trióxido de dinitrógeno	N ₂ O ₃
Radical de dióxido de nitrógeno	NO ₂ ·	Ácido nitroso	HNO ₂
Radical de óxido nítrico	NO·	Cloruro de nitrilo	NO ₂ Cl
Catión nitrosilo	NO ⁺	Anión nitroxilo	NO ⁻
Radical tiilo	RS·	Ácido peroxinitroso	ONOOH
Radical proteico	P·	Óxido nitroso	N ₂ O

Fuente: Gulcin, (2020)

Por lo cual, la capacidad antioxidante ha sido definida como la eficiencia de una mezcla heterogénea de antioxidantes para inhibir la degradación oxidativa de distintos biocompuestos a causa de los radicales libres (Bunaciu et al., 2016; Flieger et al., 2021).

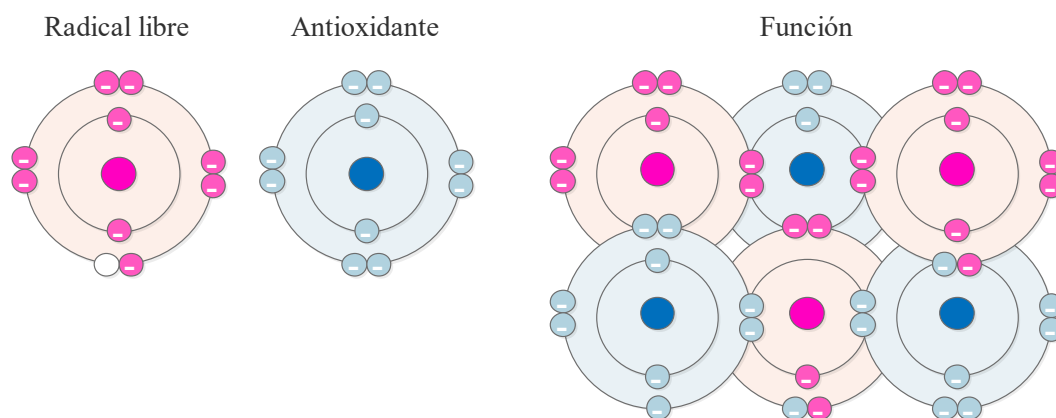


Figura 2: Función de los antioxidantes sobre los radicales libres

Fuente: Adaptado de Nikolaidis y Margaritelis, (2023)

2.2.4. Métodos de extracción

Los compuestos bioactivos de diferentes matrices vegetales pueden ser extraídas a través de métodos convencionales a condiciones atmosféricas, los cuales están basados en la capacidad de extracción del solvente y la aplicabilidad del factor térmico y/o de homogenización, siendo la extracción Soxhlet, maceración e hidrodestilación las más empleadas; no obstante, presentan varias desventajas como los periodos prolongados de extracción, baja selectividad de extracción, descomposición de compuestos termolábiles y al empleo de solventes de alta pureza (Sagar et al., 2018).

Por otro lado, Gligor et al., (2019) manifiestan que un método de extracción es eficaz debido a la elección del solvente, esto dada la relación con la polaridad del compuesto bioactivo a extraer; de igual forma se debe prestar atención a la afinidad molecular entre el solvente y el soluto, el proceso de transferencia de masa, las mezclas de cosolvente, leyes ambientales, nivel de toxicidad y la viabilidad financiera.

En las últimas décadas, el creciente aumento del uso de métodos alternativos para la extracción de compuestos bioactivos y nutraceuticos, ha permitido que la extracción asistida por ultrasonido, extracción con fluidos supercríticos y la extracción por líquidos presurizados tengan una mayor presencia en el sector alimentario y farmacéutico debido a que son amigables con el medio ambiente, disminuyen el consumo de solventes, reducen el tiempo de extracción y presentan un mejor rendimiento que los métodos convencionales (Wang y Weller, 2006).

2.2.4.1. Métodos convencionales

a. Extracción Soxhlet

Este método tradicional y/o convencional es considerado como referencia para evaluar el rendimiento de otros métodos de extracción sólido – líquido (lixiviación). La muestra es colocada en un envase de celulosa, este es incorporado en la cámara de extracción; se agrega el solvente en el matraz de destilación y se inicia con el proceso. El solvente, al ser calentado pasa a estado gaseoso, el vapor de este es conducido al condensador donde a través de un flujo de agua a contracorriente cambia a estado líquido y se dirige a la cámara de extracción donde hace contacto con la muestra. Cuando el líquido alcanza el nivel de desbordamiento, mediante el sifón, el líquido es transportado al matraz de destilación para iniciar nuevamente el proceso. Sin embargo, puede tener bajo rendimiento en la extracción de compuestos termolábiles (Wang y Weller, 2006).

b. Extracción por Maceración

Método empleado para la extracción de compuestos bioactivos y aceites esenciales mediante tres pasos: (1) molienda completa de las muestras, (2) mezcla de la cantidad apropiada de solvente a un recipiente cerrado y (3) se filtra la mezcla al término del tiempo propuesto. En este método suele emplearse la agitación para incrementar el rendimiento del proceso a través de: (a) el aumento de la difusión y (b) la homogenización del solvente (Sagar et al., 2018).

2.2.4.2. Tecnologías alternativas

a. Extracción por Líquidos Presurizados (ELP)

Conocida también como Extracción Acelerada por Solvente (ASE), es un método amigable utilizado frecuentemente para la obtención de compuestos bioactivos por medio de altas presiones y temperaturas. La temperatura usualmente empleada oscila entre los 50 a 200 °C y gracias a las altas temperaturas, el solvente utilizado presenta propiedades únicas debido al cambio en la constante dieléctrica, densidad, viscosidad y difusividad a causa de la ruptura de las fuerzas intermoleculares (tales como Van der Waals, enlaces de hidrogeno) e interacciones polares, esto combinado con las altas presiones (10 a 15 MPa) permite mantener el solvente en estado líquido a pesar de utilizar temperaturas superiores a su punto de ebullición (Herbst et al., 2021).

En un inicio, se inserta un filtro en la celda de extracción seguido de la muestra mezclada con un agente dispersante (de ser necesario), luego de manera manual o

automática (según el equipo empleado) es incorporado al horno a la temperatura y presión previamente establecida. El solvente es transferido a la celda por medio de una bomba de alta presión para iniciar con el proceso de extracción, en este punto distintas válvulas y restrictores son esenciales para controlar la presión de extracción; este proceso puede tener más de un ciclo de extracción. Por último, el vial colector recibe el extracto obtenido, donde el circuito de gas inerte (generalmente nitrógeno) ayuda a circular el solvente restante de la línea de extracción (Alvarez-Rivera et al., 2020).

Si bien este método trae grandes ventajas como la reducción en el uso de solvente y el tiempo empleado en el proceso de extracción, los puntos en contra son el elevado costo de implementación, adicional a ello al trabajar con temperaturas superiores de 140°C se puede inducir a la degradación de compuestos termosensibles y/o a la formación de compuestos no deseados debido a la reacción de Maillard como el hidroximetilfurfural, además de ser un proceso no selectivo, esto porque permite recuperar compuestos como azúcares, carbohidratos, proteínas, entre otros (Ebrahimi y Lante, 2022).

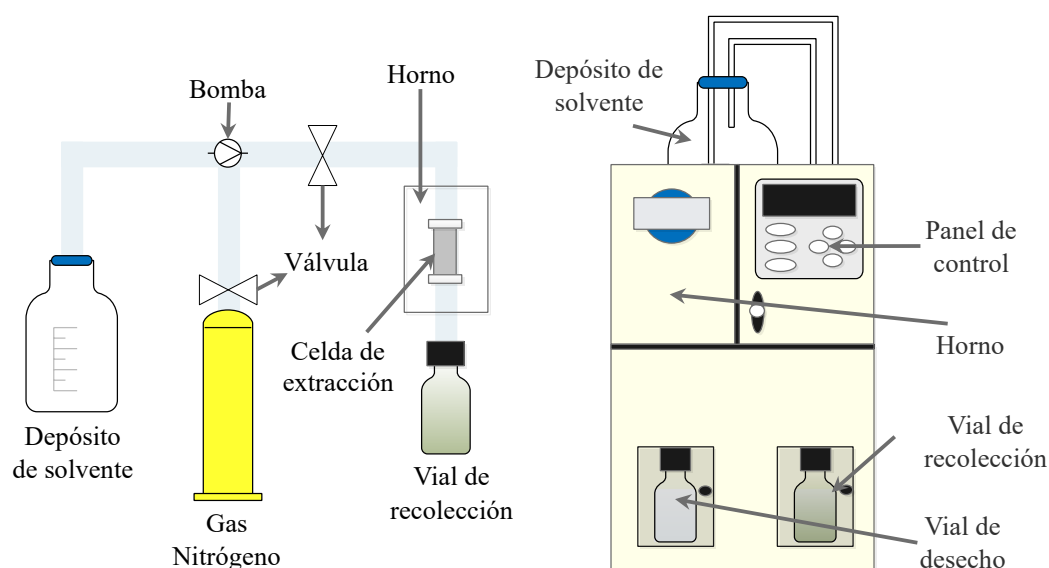


Figura 3: Esquema de la extracción por líquidos presurizados

Fuente: Adaptado de Ebrahimi y Lante, (2022)

b. Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU)

Método utilizado para extraer distintos metabolitos secundarios, para lo cual utiliza ondas sonoras con frecuencias de 20 kHz, denominadas ultrasonido, las cuales en conjunto con solventes líquidos producen una serie de ciclos de expansión (separación de moléculas) y ciclos de compresión (que las juntan); en el ciclo de expansión se crean

burbujas/cavidades las cuales crecen y colapsan cuando la presión negativa que se ejerce excede la resistencia a la tracción local del líquido, rompiendo de esta manera la pared celular y pasando a liberando el contenido celular, siendo este proceso denominado cavitación. La cavitación tiene una duración de alrededor 400 μ s, tiempo en el cual se pueden presentar temperaturas y presiones de hasta 5 000 K y 1 000 atm., respectivamente (Adetunji et al., 2017; Khoddami et al., 2013).

Existen dos sistemas de ultrasonido, (1) el baño ultrasónico, el cual generalmente se usa, sin embargo presenta dos limitaciones: (a) no hay distribución uniforme de la ondas ultrasónicas y (b) la potencia disminuye con el tiempo; y (2) la sonda ultrasónica la cual enfoca una zona de muestra específica para la cavitación (Adetunji et al., 2017).

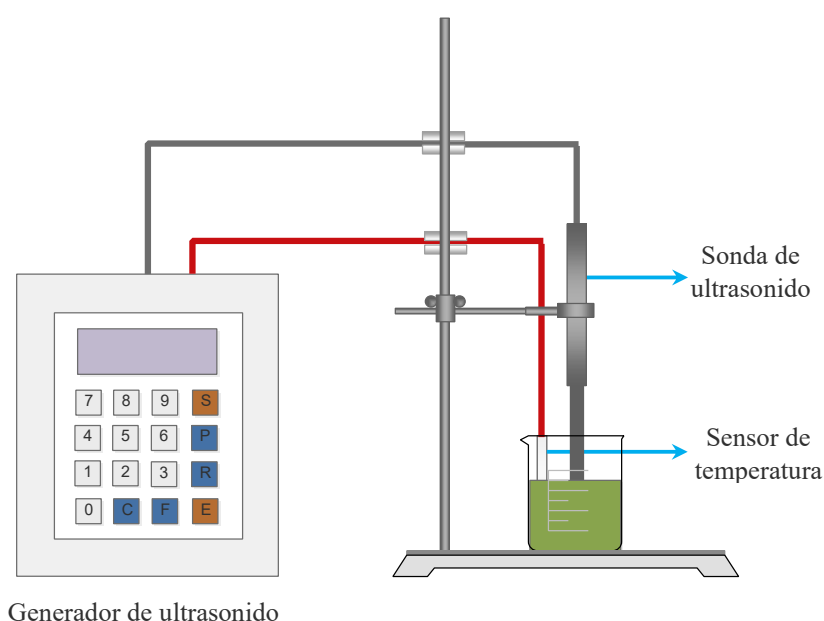


Figura 4: Esquema de la extracción asistida por ultrasonido

2.2.5. Diabetes

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica no transmisible (ECNT), que, junto a las enfermedades cardiovasculares, respiratorias y el cáncer son las responsables del fallecimiento de 41 millones de personas al año. La DM es un trastorno metabólico que se caracteriza por el elevado nivel de glucosa (hiperglucemia) en sangre, donde en ayunas la concentración de glucosa plasmática reporta valores superiores a 126 mg/dL, o cuando la concentración de glucosa en sangre se encuentra por encima de los 200 mg/dL en cualquier momento del día, esto debido a una baja producción de insulina, siendo de esta manera un problema de salud que está creciendo rápidamente en el mundo (Ashcroft y Rorsman, 2012; Gajbhiye et al., 2018; Rasouli et al., 2017).

Según los datos de la International Diabetes Federation (IDF) (2021) a la fecha 537 millones de personas entre los 20 a 79 años han sido diagnosticados con diabetes alrededor del mundo, de este total, en Sudamérica y América Central, 32 millones de personas viven con diabetes y se estima que para el 2045, habrán sido diagnosticadas con esta enfermedad alrededor de 784 millones de personas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la IDF reconocen tres tipos de diabetes (diabetes mellitus tipo 1, tipo 2 y gestacional), mientras que la Asociación Americana de Diabetes, además de estas tres, también incluye a la diabetes específica debida a otras causas. La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune en la cual el propio sistema de defensa de cuerpo destruye las células β pancreáticas productoras de insulina. Generalmente se presenta en la infancia, representa del 5% al 10% de todos los casos de diabetes y se asocia con la presencia de anticuerpos de células de los islotes, como resultado los pacientes requieren insulina de por vida (Dasgupta y Wahed, 2014). Mientras la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), es el tipo con mayor prevalencia en las personas diagnosticadas, representando el 90% de los casos, es comúnmente influenciada por diversos factores como la edad, el estilo de vida, la obesidad (Dasgupta y Wahed, 2014); este tipo de diabetes se desarrolla debido a la pérdida de la función de las células β pancreáticas y el aumento de la resistencia a la insulina (Florian Chhabra et al., 2021).

La presencia de un largo cuadro de hiperglucemia hace propensa a la persona a desarrollar complicaciones vasculares diabéticas, destacando la nefropatía, retinopatía, síntomas cardiovasculares, entre otras (Shi et al., 2018). La progresión de la diabetes se ha asociado con el estrés oxidativo inducido por la generación de radicales libres y/o producción de especies reactivas (ROS) en condiciones hiperglucémicas, siendo una de las principales fuentes de producción de radicales libres la oxidación de la glucosa, que a su vez conduce a daños estructurales en el hígado, el riñón y el páncreas (Johansen et al., 2005; Özkaya et al., 2011).

La hiperglucemia también produce un incremento de la producción de óxido nítrico (NO) que eventualmente interactúa con los ROS generando peroxinitrito (ONOO-) que conduce a un estrés nitrosativo y altera la señalización celular y el metabolismo. En conclusión, el aumento del daño oxidativo es uno de los principales mecanismos de toxicidad de la glucosa en la DM2 y sus complicaciones micro y macrovasculares asociadas (Pivovarova-Ramich et al., 2020).

La homeostasis glucémica es de gran importancia para la salud humana, esta se manifiesta como el equilibrio entre el consumo de carbohidratos, su absorción y utilización por distintos tejidos como fuente de energía a base de glucosa. Esta se ve

alterada por la hiperglicemia al no poder controlar de manera eficaz la absorción de glucosa en sangre, desencadenando complicaciones cardíacas y hepáticas (Milionis et al., 2023).

2.2.5.1. Enzimas relacionadas con la DM2

La α -amilasa (α -1,4-D-glucano 4-glucanohidrolasa, EC 3.2.1.1) es una endoenzima que durante el proceso de digestión de almidón y glucógeno en maltodextrinas juega un rol muy importante. La inhibición de esta enzima es considerada un mecanismo contra los trastornos de la absorción de carbohidratos, tales como la diabetes y la obesidad. Por otro lado, la α -glucosidasa es una exoenzima que hidroliza la dextrina y los oligosacáridos en glucosa. Los inhibidores de la α -glucosidasa orales retardan la liberación de glucosa de los carbohidratos complejos, mejorando de esta manera la hiperglucemia posprandial. Por ello, un proceso lento de digestión de los carbohidratos a causa de la inhibición de estas enzimas daría como resultado la disminución de la glucosa en sangre pudiendo ser considerada como estrategia terapéutica para la prevención de la diabetes mellitus tipo 2 (da Silva et al., 2014; Wang et al., 2022).

2.2.5.2. Capacidad de inhibición de la actividad enzimática de los polifenoles

La α -amilasa y α -glucosidasa son enzimas que hidrolizan los carbohidratos en los enlaces α -1,4 y α -1,6 respectivamente (Papoutsis et al., 2021; Tian et al., 2021). Este efecto enzimático incrementa los niveles de azúcar en la sangre (alto índice glucémico) favoreciendo las probabilidades de padecer enfermedades crónicas como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la cual es originada por un desequilibrio entre la absorción de azúcar en la sangre y la secreción de insulina (hormona que regula la cantidad de glucosa de la sangre) (Papoutsis et al., 2021). Por ello, una estrategia para disminuir los niveles de azúcar en la sangre es inhibir la actividad de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa (Hui et al., 2020). Los polifenoles han demostrado inhibir las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 (DM2); siendo una alternativa natural al fármaco sintético (acarbose) que actualmente se usa (Kalita et al., 2018; Kumar et al., 2011; Yilmazer-Musa et al., 2012). En particular, el efecto inhibitorio de la enzima α -amilasa se debe a la interacción entre los polifenoles y la enzima que permite reducir su actividad enzimática; mientras que la enzima α -glucosidasa interactúa con los polifenoles formando complejos que favorecen su precipitación, consecuentemente su inhibición (Hui et al., 2020; Yilmazer-Musa et al., 2012). Por lo cual, es deseable un proceso de extracción y purificación sustentable que permita obtener extractos ricos en polifenoles para producir comercialmente ingredientes funcionales que permitan inhibir las enzimas relacionadas con la DM2.

2.3. Definición de términos

- a) **Capacidad de inhibición enzimática:** acción mediante la cual se ve reducida acción de enzimas para desarrollar determinado proceso, resultando en una disminución en su actividad.
- b) **Compuesto bioactivo:** sustancias que pueden ser encontradas en distintas matrices vegetales, las cuales están presentando efectos benéficos a la salud por su capacidad para modular distintos procesos metabólicos.
- c) **Enfermedades crónicas:** son enfermedades de larga duración, las cuales además presentan una progresión lenta, siendo una de las principales causas de decesos a nivel mundial.
- d) **Hiperglucemia:** condición en la cual se presenta una elevada concentración de glucosa en sangre, siendo reportada en pacientes diagnosticados con diabetes.
- e) **Índice glucémico:** es un indicador mediante el cual se evalúa la velocidad con la cual un alimento incrementa los niveles de glucosa en sangre.
- f) **Metabolitos secundarios:** compuestos que se forman como respuesta de defensa de distintas plantas, estas presentan distintas propiedades biológicas y se caracterizan por sus variadas aplicaciones.
- g) **Polifenoles target:** compuestos específicos a los cuales se les ha identificado determinada acción benéfica.
- h) **Proceso metabólico:** proceso físico y/o químico propio del organismo con la finalidad de producir energía.
- i) **Resistencia a la insulina:** situación en la cual el organismo no responde a la insulina, lo cual impide la absorción de glucosa por parte de distintas células.

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de investigación

El trabajo de investigación es de tipo experimental, cuantitativa y el nivel de investigación explicativo.

3.2. Ámbito temporal y espacial

El presente proyecto de investigación se desarrolló entre julio de 2022 a junio de 2023. El acondicionamiento de muestra, procesos de extracción (ELP y EAU), los análisis de determinación de contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante: DPPH y ORAC, así como los métodos de inhibición enzimática (α -amilasa y α -glucosidasa) partir de hojas de olivo se desarrollaron en el Laboratorio de Tecnologías Sustentables para la Extracción de Compuestos de Alto Valor (TESECAV) de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua. El análisis para la determinación del perfil de polifenoles se desarrolló en el Laboratorio de Contaminantes Orgánicos y Ambiente (GICOA) de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional de Moquegua - filial Ilo.

3.3. Población y muestra

Se recolectaron 10 kg de las hojas de olivo teniendo en cuenta los siguientes aspectos: edad del árbol (10 años), variedad (sevillana), hojas (elípticas, verdes y sin daño físico); estas fueron obtenidas durante la poda posterior a la cosecha del fruto, las cuales fueron suministradas por la empresa Agroindustrias Unidas del Perú S.A.C (Fundo Olivers, Islay, Arequipa).

3.4. Instrumentos

3.4.1. Materiales

- Balón de 10 m³ de nitrógeno
- Botellas ámbar 250 mL
- Cartuchos SPE C18
- Celda de 100 mL para ASE 150
- Espátulas
- Embudos
- Filtros de celulosa para ASE 150
- Filtros de jeringa 0,22 μ m
- Fiolas (5, 10, 25, 100, 250, 500 y 1000 mL)
- Jeringas de 3 mL

- Micropipetas (20 – 200 μ L, 100 – 1000 μ L y 1 – 5 mL)
- Microplacas blancas y negras de 96 pocillos
- Papel absorbente
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Papel secante
- Piseta (500 mL)
- Probetas de vidrio (50, 100 y 250 mL)
- Tubos de polipropileno para centrifuga (50 mL)
- Tubos Eppendorf de polipropileno para microcentrífuga (2 mL)
- Vasos de precipitados de vidrio (50, 100 y 250 mL)
- Viales ámbar (1,5 mL)

3.4.2. Equipos

- Balanza analítica (ENTRIS224-1S, Sartorius Lab Instruments GmbH & Co, KG, Goettingen, Alemania)
- Balanza semimicro (EX225/AD, OHAUS, USA)
- Baño termostático (LWB-122D, ISOLAB)
- Centrifuga (Pro-analysyt.C2004, Centurion Scientific Ltd, UK)
- Congeladora (modelo Rh25h5613sg, Samsung)
- Cromatógrafo Líquido de Ultra Alta Performance (UHPLC) 1290 Infinity II (Agilent, USA) acoplado a un detector de arreglo de diodos 1290 Infinity II (Agilent, USA)
- Espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 150, Thermofisher, San Jose, CA, USA)
- Extractor de líquidos presurizados (ASE 150, Dionex, Thermofisher, San Jose, CA, USA)
- Homogenizador por ultrasonido (CY-500, Optic Ivymen Systems™, COMECTA®, Barcelona, España)
- Lector de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, USA)
- Liofilizador (Alpha 1-4 LSCbasic, Martin Christ, Alemania)
- Sistema de extracción en fase sólida
- Rotavapor (Hei-vap Ultimate control, Heidolph, Alemania)
- Tamizador (Analysette 3 pro, Fritsch, Idar-Oberstein, Alemania)

3.4.3. Insumos y reactivos

- 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo – DPPH (> 90%)
- α -amilasa de páncreas porcino
- α -glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae*
- Acarbosa
- Acetonitrilo
- Ácido 3,5-dinitrosalícilico - DNS
- Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico - Trolox (> 98%)
- Ácido clorhídrico concentrado (37%)
- Ácido fórmico (\geq 98%)
- Agua destilada
- Agua tipo I
- Almidón
- Arena de cuarzo
- Carbonato de sodio
- Cloruro de sodio
- Dihidrocloruro de 2,2'-Azinobis (2-metilpropionamidina) – AAPH (>97%)
- Dimetilsulfóxido
- Estándar de ácido vanílico (97%)
- Estándar de apigenina (95%)
- Estándar de catequina (95%)
- Estándar de epicatequina (90%)
- Estándar de hidroxitirosol (97%)
- Estándar de kaempferol (97%)
- Estándar de oleuropeína (98%)
- Estándar de procianidina A2 (90%)
- Estándar de quercitrina (90%)
- Estándar de resveratrol (99%)
- Estándar de rutina (93%)
- Estándar de tirosol (97%)
- Etanol (99,5%)
- Fosfato dibásico de potasio
- Fosfato dibásico de sodio
- Fosfato monobásico de potasio
- Fosfato monobásico de sodio
- Fluoresceína sódica (\geq 95%)

3.5.2. Tecnologías alternativas de extracción

3.5.2.1. Extracción Líquida Presurizada (ELP)

Para ELP se empleó la metodología propuesta por Huamán-Castilla et al. (2020) con algunas modificaciones. En resumen, ~10 g de hojas de olivo (base seca) se mezclaron con arena de cuarzo (relación 1:4 p/p) como agente de dispersión. Luego, la muestra acondicionada fue colocada en una celda de extracción de 100 mL en un sistema de líquidos presurizados (ASE 150, Dionex, Thermofisher, San Jose, CA, USA), la cual previamente fue cargada con 10 g de arena de cuarzo. Los parámetros de extracción fueron los siguientes: presión 10 MPa, un ciclo de extracción, 20% de volumen de lavado, 250 s de tiempo de purga de nitrógeno y 5 minutos de tiempo de extracción estático. Como solventes de extracción se emplearon: agua pura, etanol (15%, v/v) y glicerol (15%, v/v) a temperaturas de 50°C y 70°C.

Estas condiciones permitieron obtener una relación muestra sólida: volumen de extracto de 1:10. Después de la extracción, los extractos crudos obtenidos fueron envasados en viales ámbar y almacenados a -20 °C hasta su posterior análisis.

3.5.2.2. Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU)

Los parámetros de proceso se definieron en base a investigaciones previas reportadas por Giacometti et al., (2018) con algunas modificaciones. Se pesaron ~10 g de hojas de olivo (base seca) las cuales fueron colocadas en un vaso precipitado de 250 mL. El homogenizador por ultrasonido (CY-500, Optic Ivymen Systems™, COMECTA®, Barcelona, España) trabajó con una frecuencia de 20 kHz a una potencia de salida del 70% por un tiempo de 30 minutos. Se empleó los siguientes solventes: etanol (15%, v/v), glicerol (15%, v/v) y agua pura a temperaturas de 50 y 70°C. Estas condiciones permitieron obtener extractos en una relación muestra sólida: volumen de extracto de 1:10. Luego, los extractos obtenidos fueron centrifugados a 4000 RPM por 10 minutos por medio de una centrifuga (Pro-analylt.C2004, Centurion Scientific Ltd, UK). El sobrenadante fue filtrado usando papel filtro (Wang et al., 2018). Finalmente, los extractos fueron almacenados en viales ámbar a -20 °C hasta su posterior análisis.

3.5.3. Determinación de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales de los extractos crudos de hojas de olivo se determinó mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1965). Un volumen de 3,75 mL de agua destilada, 0,5 mL de extracto de crudo y 0,25 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (1N) se mezclaron con 0,5 mL de una solución de carbonato de sodio (10%

p/v). La mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente y en oscuridad durante 1 h. La absorbancia fue medida a una longitud de onda de 765 nm en un espectrofotómetro (UV-Vis Genesys 150, Thermofisher, San Jose, CA, USA).

Se preparó una curva de calibración ($r^2 = 0,9988$) a partir de una solución stock de ácido gálico (200 mg/L) con las siguientes concentraciones: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 mg/L. Los resultados fueron expresados en mg EAG/gss (equivalente a ácido gálico por gramo de sólido seco).

3.5.4. Determinación de capacidad antioxidante

3.5.4.1. Método DPPH

La capacidad antioxidante de los extractos de hojas de olivo se determinó utilizando el método de inhibición del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) reportado por Brand-Williams et al., (1995). En resumen, 0,1 mL del extracto fue mezclado con 3,9 mL de solución DPPH (50 μ M). Luego la solución se incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 30 minutos. La reducción del radical DPPH fue medida a una longitud de onda de 517 nm en un espectrofotómetro (UV-Vis Genesys 150, Thermofisher, San Jose, CA, USA). Como control positivo se utilizó metanol y el control negativo fue la solución metanólica de DPPH. Los resultados se expresaron en factor CI_{50} (mg/mL), definido como la concentración de extracto efectivo necesario para inhibir el 50% de la actividad del radical DPPH.

3.5.4.2. Método ORAC

El análisis ORAC de los extractos se realizaron en un lector de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, USA) de acuerdo con la metodología propuesta por Chirinos et al., (2013). En resumen, se preparó una solución buffer PBS 75 mM en agua tipo I a un pH de 7,4. Con el buffer PBS se diluyó fluoresceína (55 nM), AAPH (153 mM), Trolox como estándar de referencia (8, 16, 24, 32 y 40 μ M) y cada muestra. En una microplaca negra de 96 pocillos, se agregó 25 μ L de muestra, Trolox y blanco (buffer PBS) y fue llevado al lector de microplacas. El equipo inyectó automáticamente 250 μ L de fluoresceína a cada pocillo, la mezcla fue incubada a 37°C durante 10 minutos. Seguidamente fue inyectado 25 μ L de AAPH a cada pocillo. La fluorescencia se midió a una longitud de onda de excitación y emisión de 485 nm y 520 nm respectivamente cada minuto durante 50 minutos. Los valores ORAC finales se calcularon utilizando el área bajo la curva y fueron expresados como μ mol ET/gss (micro mol equivalente a Trolox por gramo de sólido seco).

3.5.5. Cuantificación del perfil de polifenoles específicos

La cuantificación de polifenoles específicos se realizó utilizando la metodología propuesta por Maldonado et al., (2022) con algunas modificaciones. Primero, se realizó la preparación de la muestra a través de una extracción en fase sólida (SPE) antes del análisis cromatográfico. Para ello, cartuchos SPE SiliaPrep C18 6 mL, 500 mg (Silicycle, Québec, Canadá) fueron activados con 10 mL de metanol grado HPLC seguidos de 10 mL de agua tipo I. Inmediatamente se agregó 25 mL del extracto crudo. Los analitos retenidos en el cartucho se recuperaron con 5 mL de metanol grado HPLC. Luego, 100 μ L de la muestra preparada fue mezclada con 900 μ L metanol grado HPLC, la mezcla fue filtrada a través de un filtro de jeringa de 0,22 μ m y almacenada en viales ámbar de 1,5 mL. Posteriormente, 2 μ L de cada muestra fue inyectada en un cromatógrafo líquido de ultra alta performance (Agilent 1290 Infinity II, USA) acoplado a un detector de arreglo de diodos (DAD). La separación de compuestos se realizó a través de una columna analítica de fase reversa InfinityLab (Agilent, USA) Poroshell EC-C18 (2,1 mm \times 150 mm \times 1,9 μ m) a 30 °C. La fase móvil estuvo conformada por agua tipo I con 0,1% de ácido fórmico (A) y acetonitrilo con 0,1% ácido fórmico (B), utilizando una elución en gradiente: 0 min 95 % A – 5 % B, 15 min 60 % A – 40 % B y 18 min 95 % A – 5 % B a un flujo de 0,3 mL/min. Diferentes estándares de polifenoles fueron previamente diluidos a concentraciones de 0,3, 1, 3, 6, 10 y 20 μ g/mL para construir las curvas de calibración. Finalmente, los polifenoles específicos fueron cuantificados comparando el tiempo de detención y el área bajo la curva de cada uno de los estándares analizados (λ : 270 nm tirosol, rutina y quercitrina; λ : 280 nm, ácido vanílico, catequina, epicatequina, hidroxitirosol, procianidina A2 y oleuropeína; λ : 324 nm, resveratrol y apigenina; λ : 373 nm, Kaempferol). Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en μ g de polifenol específico por gramo en base seca.

3.5.6. Inhibición de enzimas relacionadas con la DM2

3.5.6.1. Inhibición de la actividad de α -amilasa

La capacidad de cada extracto para inhibir la actividad de α -amilasa se determinó utilizando el método descrito por Pacheco et al., (2020) y adaptado por Huamán-Castilla et al., (2021) con algunas modificaciones. Un volumen de 10 mL de cada uno de los extractos fue llevado a un rotavapor (Hei-vap Ultimate control, Heidolph, Alemania), para separar el solvente más volátil, posteriormente los extractos fueron liofilizados (Alpha 1-4 LSCbasic, Martin Christ, Alemania). Cada muestra resultante fue reconstituida en dimetilsulfóxido al 10% v/v para obtener una solución madre de 10 mg

de hoja de olivo/mL. Se preparó una solución buffer de fosfato de sodio 20 mM (pH 6,9 con cloruro de sodio 6 mM). A partir del stock reconstituido, se realizaron las siguientes diluciones: 0,1, 1, 10, 100 y 1000 µg/mL con tampón fosfato de sodio (pH 6,9). Luego, 100 µL de cada dilución de muestra y solución de almidón al 1% en tampón de fosfato de sodio fueron incubados a 25°C durante 10 minutos. Posteriormente, se añadió 100 µL de α-amilasa de páncreas porcino (0,5 mg/mL) a cada tubo y las muestras se incubaron a 25°C durante otros 10 minutos. Seguidamente se agregó 200 µL de ácido dinitrosalicílico. Luego los tubos que contenían la mezcla fueron colocados en un baño termostático (LWB-122D, ISOLAB) a 96°C durante 5 minutos, culminado el tiempo, se llevó a baño frío por 5 minutos. Por último, 50 µL de la reacción fueron añadidos a una microplaca blanca de 96 pocillos y transferida lector de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, USA) donde se inyectó 200 µL de agua tipo I. La absorbancia fue medida a una longitud de onda de 540 nm. La actividad enzimática fue determinada por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Actividad enzimática} = \left(\frac{Abs_{muestra}}{Abs_{100\% \text{ control}}} \right) * 100$$

Donde el control es la reacción enzima-sustrato en ausencia de inhibidores. El efecto del inhibidor farmacológico, acarbosa, se determinó siguiendo el mismo protocolo.

3.5.6.2. Inhibición de la actividad de α-glucosidasa

La capacidad de cada extracto para inhibir la actividad de la α-glucosidasa se medirá utilizando el método descrito por Pacheco et al., (2020) con algunas modificaciones. Las muestras se prepararon de la misma manera que para el ensayo de actividad de α-amilasa. El efecto inhibidor de cada extracto se midió a concentraciones de 0,1 a 1000 µg/mL de solución tampón de fosfato de sodio 100 mM (pH 6,9). Luego, se mezclaron 50 µL de solución de extracto y 50 µL de solución 5 mM de p-nitrofenil-α-D-glucopiranosido (p-NPG) (en tampón fosfato de sodio) en una microplaca blanca de 96 pocillos y se incubó a 37 °C durante 5 minutos. Luego se añadió a cada pocillo tampón fosfato (100 µL) un volumen de 0,1 U/mL de α-glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae*. Finalmente, la absorbancia a 405 nm se registró durante 15 minutos usando un lector de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, USA) a 37 °C. El cálculo de la actividad enzimática se realizó de manera similar al análisis descrito en el punto anterior.

3.6. Análisis de datos

Cada tecnología de extracción (ELP y EAU) fue desarrollada de manera individual, siendo conducido mediante un arreglo factorial completo de 3x2 con 3 repeticiones. Esto permitió evaluar el efecto de los factores de estudio, tales como solvente (agua pura, etanol 15% v/v y glicerol 15% v/v) y temperatura moderada (50 y 70°C) sobre las variables de respuesta (polifenoles totales, capacidad antioxidante por DPPH y ORAC, perfil de polifenoles), haciendo un total de 18 unidades experimentales por tecnología de extracción. Los datos fueron analizados mediante el software R-studio, se evaluó la normalidad de los residuos y la homogeneidad de varianza mediante las pruebas de Shapiro-Wilk ($p\text{-valor} > 0,05$) y Leneve ($p\text{-valor} > 0,05$) respectivamente. Luego, se realizó el análisis de varianza para determinar la influencia de los factores de estudio considerando un $p\text{-valor} < 0,05$, con una posterior comparación de medias mediante la prueba de Tukey.

Modelo factorial

Modelo para la extracción por líquidos presurizados

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + Te_j + (STe)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Modelo para la extracción asistida por ultrasonido

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + Te_j + (STe)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} representa a la variable respuesta; μ es la media global de todos los tratamientos; S es el factor solvente, i representa los niveles del factor S ; Te es el factor temperatura, j representa los niveles del factor Te ; $(STe)_{ij}$ representa la interacción de los niveles ij de los factores S y Te ; ϵ_{ijk} representa el error experimental.

Tabla 6: Arreglo factorial 3x2 para la obtención de extractos mediante extracción por líquidos presurizados

Tecnología alternativa de extracción	Solvente	Temperatura (°C)	Tratamiento	Variables respuesta
Extracción líquida presurizada	Agua pura	50	T1	
		70	T2	
	Etanol 15%	50	T3	
		70	T4	
	Glicerol 15%	50	T5	
		70	T6	

Tabla 7: Arreglo factorial 3x2 para la obtención de extractos mediante extracción asistida por ultrasonido

Tecnología alternativa de extracción	Solvente	Temperatura (°C)	Tratamiento	Variables respuesta
Extracción asistida por ultrasonido	Agua pura	50	T1	
		70	T2	
	Etanol 15%	50	T3	
		70	T4	
	Glicerol 15%	50	T5	
		70	T6	

Por otro lado, la inhibición de la actividad enzimática de α -amilasa y α -glucosidasa de los extractos fue comparado con un control positivo (acarbose). Para tal fin, se evaluó de manera independiente para cada tecnología de extracción seis extractos y un control a cinco concentraciones diferentes (0,1, 1, 10, 100 y 1000 $\mu\text{g/mL}$), las cuales se agruparon como tratamientos. Los datos fueron analizados mediante el software R-studio, se confirmó las presuposiciones como se describió en el párrafo líneas arriba. Luego se realizó el análisis de varianza con la prueba de comparación de medias por Dunnett ($p < 0,05$) con la finalidad de identificar si algún tratamiento presentó un comportamiento similar que el control.

Análisis de datos para la inhibición de la actividad enzimática

$$Y_{ijk} = \mu + Tr_i + \epsilon_{ij}$$

Donde: Y_{ijk} representa a la variable respuesta; μ es la media global de todos los tratamientos; Tr es el tratamiento, i representa los niveles de Tr ; ϵ_{ij} representa el error experimental.

Tabla 8: Análisis de datos para la determinación de la actividad enzimática

Solvente-Temperatura	Concentración (µg/mL)	Tratamiento	Variables respuesta	
			% actividad α-amilasa	% actividad α-glucosidasa
Acarbosa	0,1	A		
Agua pura - 50°C	0,1	B		
Agua pura - 70°C	0,1	C		
Etanol 15% - 50°C	0,1	D		
Etanol 15% - 70°C	0,1	E		
Glicerol 15% - 50°C	0,1	F		
Glicerol 15% - 70°C	0,1	G		
Acarbosa	1	A1		
Agua pura - 50°C	1	B1		
Agua pura - 70°C	1	C1		
Etanol 15% - 50°C	1	D1		
Etanol 15% - 70°C	1	E1		
Glicerol 15% - 50°C	1	F1		
Glicerol 15% - 70°C	1	G1		
Acarbosa	10	A10		
Agua pura - 50°C	10	B10		
Agua pura - 70°C	10	C10		
Etanol 15% - 50°C	10	D10		
Etanol 15% - 70°C	10	E10		
Glicerol 15% - 50°C	10	F10		
Glicerol 15% - 70°C	10	G10		
Acarbosa	100	A100		
Agua pura - 50°C	100	B100		
Agua pura - 70°C	100	C100		
Etanol 15% - 50°C	100	D100		
Etanol 15% - 70°C	100	E100		
Glicerol 15% - 50°C	100	F100		
Glicerol 15% - 70°C	100	G100		
Acarbosa	1000	A1000		
Agua pura - 50°C	1000	B1000		
Agua pura - 70°C	1000	C1000		
Etanol 15% - 50°C	1000	D1000		
Etanol 15% - 70°C	1000	E1000		
Glicerol 15% - 50°C	1000	F1000		
Glicerol 15% - 70°C	1000	G1000		

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Efecto de las tecnologías alternativas de extracción

4.1.1. Contenido de polifenoles totales

Para la ELP, el contenido de polifenoles totales obtenidos mediante ELP usando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% con temperaturas de 50 y 70 °C varía entre 9,35 a 19,46 mg EAG/gss (Tabla 9). Independiente del solvente, los incrementos de temperatura tuvieron un efecto positivo en la recuperación de polifenoles. Cuando la temperatura ascendió de 50 a 70°C, el contenido de polifenoles totales incrementó 1,15, 1,03 y 2,08 veces más con agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%, respectivamente (Tabla 9). Por ello, la mejor condición de operación fue establecida a 70°C usando glicerol al 15% como solvente de extracción.

Si bien no existen reportes usando glicerol como solvente de extracción para la recuperación de polifenoles totales a partir de hojas de olivo bajo condiciones subcríticas, existen algunos trabajos que usan agua pura y etanol para su recuperación bajo condiciones atmosféricas (Martín-García et al., 2020; Putnik et al., 2017; Rosa et al., 2019; Silva et al., 2022; Taamalli et al., 2012; Xynos et al., 2012). El primer reporte del uso de glicerol para recuperar polifenoles de hojas de olivo fue desarrollado por Apostolakis et al., (2014) quienes encontraron un incremento de 9,4% en la recuperación de polifenoles usando glicerol al 9,3% a 80°C en comparación con etanol al 60%. Comportamiento similar fue reportado por Karakashov et al., (2015) quienes observaron una mejora de 13,8% en la extracción de compuestos fenólicos de *Hypericum perforatum* cuando usaron glicerol al 10% a 70°C en comparación con el uso de agua pura bajo las mismas condiciones. Los parámetros solvatocrómicos Kamlet-Taft permiten establecer la habilidad del solvente para donar (acidez: α) y aceptar (basicidad: β) enlaces hidrogeno con otras moléculas (Jessop et al., 2012). Si bien bajo condiciones atmosféricas, el glicerol presenta una menor polaridad (π^* : 0,51) en comparación con agua (π^* : 1,14), su capacidad para la formación de enlaces hidrogeno (α : 1,21) es relativamente superior a solventes como el agua (α : 1,07) y etanol (α : 0,98). Por otro lado, durante ELP debido al incremento de temperatura, las interacciones electrostáticas (enlaces de hidrógeno) entre solvente – molécula disminuyen, lo cual favorece las fuerzas de dispersión de London (Jakobek, 2015; Plaza y Turner, 2015; Shang et al., 2014). Asimismo, disminuye la constante dieléctrica del solvente de extracción, por lo cual la polaridad de este se reduce, así como su viscosidad incrementando la transferencia de masa (Pagano et al., 2021).

Tabla 9: Contenido de polifenoles totales en extractos obtenidos por ELP y EAU.

T (°C)	Extracción líquida presurizada			Extracción asistida por ultrasonido		
	Solvente			Solvente		
	Agua pura	Etanol 15%	Glicerol 15%	Agua pura	Etanol 15%	Glicerol 15%
50	13,98 ^{b,A} ± 0,12	17,81 ^{c,A} ± 0,07	9,35 ^{a,A} ± 0,18	7,19 ^{a,A} ± 0,10	15,12 ^{c,A} ± 0,07	13,60 ^{b,A} ± 0,19
70	15,98 ^{a,B} ± 0,26	18,38 ^{b,B} ± 0,29	19,46 ^{c,B} ± 0,22	11,27 ^{a,B} ± 0,04	15,56 ^{b,B} ± 0,13	17,59 ^{c,B} ± 0,07

T (°C): Temperatura. El contenido de polifenoles totales esta expresado como miligramos equivalente a ácido gálico por gramo de sólido seco (mg EAG/gss). La tabla presenta el promedio ± la desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre los solventes de extracción; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre la variación de temperatura para cada proceso de extracción.

Para EAU, la recuperación de polifenoles totales varia en un rango de 7,19 a 17,59 mg EAG/gss (Tabla 9). Similar al proceso ELP, un incremento de temperatura favorece la extracción de polifenoles. Por ejemplo, un cambio de temperatura de 50 a 70°C permite recuperar 56%, 3% y 29% más contenido de polifenoles totales usando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%, respectivamente (Tabla 9). Un comportamiento similar fue descrito por Bao et al., (2021), quienes indican que un incremento de temperatura de 50 a 70°C usando glicerol al 30% recupera 15% más contenido de polifenoles totales de *Receptaculum nelumbinis*. Al respecto, el incremento de temperatura podría disminuir la viscosidad y tensión superficial del solvente de extracción, esto aumenta su difusión dentro de la matriz vegetal. Además, el cambio de temperatura mejoría la extracción de compuestos debido a una mayor solvatación y solubilidad con los analitos de la muestra (Dzah et al., 2020; Kumar et al., 2021). Considerando los solventes de nuestro estudio a 70°C, el uso de glicerol al 15% permitió recuperar 13% y 56% más contenido de polifenoles comparado con el uso de etanol al 15% y agua pura, respectivamente (Tabla 9). Sucharitha et al. (2019) mostró resultados similares en EAU, donde el uso de una mezcla agua/glicerol (3:1) logró recuperar un 68% y 34% más contenido de polifenoles a partir de hojas de olivo comparado con agua/etanol (3:1) y agua pura respectivamente.

En EAU, el uso de etanol al 15% a 50°C permitió recuperar 15,12 mg EAG/gss mientras que, con un incremento de temperatura a 70 °C, mejoró en 3% la extracción de polifenoles (Tabla 9). Interesantemente, cuando glicerol al 15% fue usado como solvente

de extracción se logró recuperar un 29% más contenido de polifenoles totales a 70°C en comparación al mismo solvente a 50°C (Tabla 9). Probablemente, este comportamiento podría atribuirse a temperaturas superiores a 50°C, esto a causa del fenómeno de cavitación, donde el colapso de las burbujas es más efectivo en solventes de baja presión de vapor como es el caso de mezclas agua/glicerol (Grigorakis et al., 2020).

Si bien ambas tecnologías de extracción permitieron recuperar importantes concentraciones de polifenoles totales, el uso de la ELP permitió obtener 10,63% más contenido de estos compuestos usando glicerol al 15% a 70°C en comparación a la EAU bajo las mismas condiciones de operación (Tabla 9).

4.1.2. Capacidad antioxidante

4.1.2.1. Método DPPH

Bajo condiciones subcríticas (10 MPa), los extractos obtenidos a partir de hojas de olivo presentaron valores de capacidad antioxidante expresado en factor IC_{50} entre 20,29 a 4,11 mg/mL (Tabla 10). Los incrementos de temperatura redujeron el valor IC_{50} . Por ejemplo, un incremento en la temperatura de 50 a 70°C presentó una reducción de 32%, 9% y 80% en la cantidad de extracto necesario para inhibir el radical DPPH cuando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% fueron usados como solventes de extracción, respectivamente (Tabla 10). La mejor condición para inhibir el 50% del radical DPPH fue establecida con glicerol al 15% a 70°C. Similares resultados fueron reportados por Huamán et al. (2021), donde el uso de glicerol al 15% a 90°C presentó una reducción del 4% y 59% en el volumen del extracto necesario para inhibir el radical DPPH respecto a etanol al 15% y agua pura respectivamente. Los polifenoles al poseer grupos hidroxilo (OH), tienen la capacidad de transferir átomos de hidrógeno con la finalidad de reducir el radical DPPH (Singh et al., 2016).

Los extractos de hojas de olivo obtenidos mediante EAU mostraron una capacidad antioxidante expresado en factor IC_{50} entre 29,23 y 4,35 mg/mL (Tabla 10). Mientras menor sea el valor IC_{50} , menor es la cantidad de extracto necesario para inhibir el radical DPPH (Al-Laith et al., 2019). La mejor condición para inhibir el 50% del radical DPPH fue determinada a 70°C usando glicerol al 15% como solvente de extracción, esto al requerirse 40% y 20% menos cantidad de extracto en comparación con agua pura y etanol al 15%, respectivamente a la misma temperatura de extracción.

Tabla 10: Capacidad antioxidante por DPPH en extractos obtenidos por ELP y EAU

T (°C)	Extracción líquida presurizada			Extracción asistida por ultrasonido		
	Solvente			Solvente		
	Agua pura	Etanol 15%	Glicerol 15%	Agua pura	Etanol 15%	Glicerol 15%
50	15,16 ^{b,B} ± 0,20	7,14 ^{a,B} ± 0,11	20,29 ^{c,B} ± 0,83	29,23 ^{c,B} ± 1,00	7,13 ^{a,B} ± 0,10	9,71 ^{b,B} ± 0,03
70	10,29 ^{c,A} ± 0,09	6,50 ^{b,A} ± 0,16	4,11 ^{a,A} ± 0,10	7,21 ^{c,A} ± 0,14	5,42 ^{b,A} ± 0,04	4,35 ^{a,A} ± 0,04

T (°C): Temperatura. La capacidad antioxidante por DPPH esta expresado como factor IC₅₀ en miligramos por mililitro (mg/mL). La tabla presenta el promedio ± la desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre los solventes de extracción; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre la variación de temperatura para cada proceso de extracción.

Los extractos de hojas de olivo obtenidos bajo ELP y EAU muestran capacidad para neutralizar el radical DPPH. Sin embargo, el extracto de ELP (glicerol 15% a 70°C) requiere un 6% menos cantidad de extracto para realizar dicha acción que el de EAU bajos las mismas condiciones, siendo estadísticamente mejor (Tabla 10).

4.1.2.2. Método ORAC

Mediante ELP, el uso de agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% combinados con temperaturas de 50 y 70°C presentaron alta capacidad antioxidante expresado en valores de ORAC entre 114,27 a 500,26 µmol ET/gss (Tabla 11). La variación de temperatura de 50 a 70°C mejora 4,38 veces la capacidad antioxidante de los extractos de hojas de olivo con el uso de glicerol al 15%, por lo que para esta tecnología de extracción la mejor condición fue establecida a 70°C con glicerol al 15%. Por otro lado, la capacidad antioxidante de los extractos de hojas de olivo obtenidos mediante EAU usando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% con temperaturas de 50 y 70°C variaron entre 104,42 y 488,09 µmol ET/gss (Tabla 11). Un cambio de temperatura de 50 a 70°C mejoró 2 veces más la capacidad para neutralizar los radicales peróxilo cuando glicerol al 15% fue usado como solvente de extracción. Siendo la mejor condición para esta tecnología la extracción con glicerol al 15% a 70°C.

El análisis ORAC evalúa la capacidad de los antioxidantes para neutralizar el radical peróxilo (ROO[•]), el cual es una de las más comunes especies reactivas de oxígeno en el organismo. De manera experimental, este radical es generado por la degradación de

AAPH, el cual disminuye la fluorescencia del agente de contraste, siendo este proceso retardado por los antioxidantes. Por lo que un contenido alto de polifenoles, es indicativo de una alta capacidad antioxidante presente en el extracto, el cual es expresado en unidades de equivalentes Trolox (Goyeneche et al., 2015). Si bien ambos procesos de extracción (ELP y EAU) favorecieron la recuperación de polifenoles, no hubo diferencia significativa entre ambas tecnologías alternativas de extracción en la capacidad antioxidante evaluada por el método ORAC.

Tabla 11: Capacidad antioxidante por ORAC en extractos obtenidos por ELP y EAU.

T (°C)	Extracción líquida presurizada			Extracción asistida por ultrasonido		
	Agua pura	Etanol 15%	Glicerol 15%	Agua pura	Etanol 15%	Glicerol 15%
50	154,15 ^{b,A}	288,55 ^{c,A}	114,27 ^{a,A}	104,42 ^{a,A}	266,48 ^{c,A}	242,11 ^{b,A}
	± 1,34	± 18,17	± 8,59	± 3,37	± 5,36	± 3,68
70	402,53 ^{a,B}	454,09 ^{b,B}	500,26 ^{c,B}	199,82 ^{a,B}	306,68 ^{b,B}	488,09 ^{c,B}
	± 21,06	± 12,85	± 15,41	± 10,92	± 8,62	± 32,27

T (°C): Temperatura. La capacidad antioxidante por ORAC esta expresado como micromol equivalente a trolox por gramo de solido seco ($\mu\text{mol ET/gss}$). La tabla presenta el promedio \pm la desviación estándar ($n = 3$). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre los solventes de extracción; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre la variación de temperatura para cada proceso de extracción.

4.1.3. Cuantificación del perfil de polifenoles específicos

4.1.3.1. Ácidos fenólicos

Para ELP, un incremento de temperatura de 50 a 70 °C combinado con agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% permitió recuperar 35%, 38% y 52% mayor contenido de ácido vanílico, respectivamente (Tabla 12). La mayor recuperación de ácido vanílico (5,37 $\mu\text{g/gss}$) fue a 70°C con glicerol al 15%. En general, algunos autores han reportado en hojas de olivo la presencia de ácido gálico, p-hidroxibenzoico, clorogénico, cafeico y vanílico (Dobrinčić et al., 2020; Palmeri et al., 2022).

Similarmente, los extractos obtenidos por EAU se vieron favorecidos con el incremento de temperatura. Cuando glicerol al 15% fue usado como solvente de extracción a 70°C se recuperó la mayor cantidad de ácido vanílico (5,94 $\mu\text{g/gss}$). Ben Mohamed et al., (2018) bajo extracción por ultrasonido cuantificaron la presencia de este ácido fenólico en un rango de 3,13 a 256,57 $\mu\text{g/gss}$ dependiendo de la variedad evaluada.

4.1.3.2. Estilbenos

Bajo condiciones subcríticas (ELP), el uso de glicerol (15%) combinado con un incremento de 50 a 70°C presento la mayor recuperación (17%) de este compuesto, obteniendo 20,14 µg/gss (Tabla 12). Rivera-Tovar et al., (2021) reportaron la presencia de resveratrol (130 µg/gss) en hojas de maqui mediante ELP; mientras que, bajo condiciones atmosféricas, Guex et al., (2019) identificaron la presencia de este estilbeno en hojas de olivo de forma minoritaria (0,048 µg/mL). Similar al comportamiento de ácidos fenólicos, en EAU, un cambio de temperatura de 50 a 70°C mejoró la recuperación de resveratrol en 3%, 2% y 11% para agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%, respectivamente.

4.1.3.3. Flavanoles

En el presente estudio, los compuestos de esta familia de polifenoles identificados fueron catequina, epicatequina y procianidina A2. Los extractos obtenidos por ELP presentaron un contenido de 29,74 a 42,37 µg/gss de flavanoles totales (Tabla 12). Cada flavanol específico tuvo un comportamiento particular. Por ejemplo, el contenido de catequina mejoro 3 veces con un incremento de temperatura de 50 a 70°C cuando etanol al 15% fue usado. Contrariamente, el uso de glicerol al 15% redujo en 53% la recuperación de estos compuestos bajo las mismas condiciones (Tabla 12). Al respecto, Cuevas-Valenzuela et al. (2014) bajo condiciones atmosféricas, reportaron que un incremento de temperatura y el uso de mezclas agua/etanol mejora la solubilidad de catequina.

Con respecto a la procianidina A2, independientemente del solvente de extracción, su recuperación se vio favorecida con un incremento de la temperatura. Por ejemplo, cuando se usó glicerol al 15%, un cambio de temperatura de 50 a 70°C permitió recuperar 2,7 veces más contenido de este flavanol específico (Tabla 12). Comportamiento similar fue reportado por Huamán-Castilla et al., (2020) reportando que un incremento en la temperatura de 90 a 150°C usando glicerol al 15% permite recuperar 10 veces más el contenido de flavanoles totales.

En la EAU, un cambio en la temperatura de 50 a 70°C mejoró 25%, 15% y 30% la recuperación de flavanoles totales cuando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% fueron usados como solventes de extracción respectivamente (Tabla 12). Por ejemplo, en procianidina A2, un incremento en la temperatura de 50 a 70°C permitió recuperar 11%, 28% y 77% más contenido de este compuesto usando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%, estableciendo glicerol al 15% a 70°C como la mejor condición de operación. Con

respecto a epicatequina, la mejor condición para su recuperación fue establecida con agua pura a 70°C al lograr recuperar 87% más contenido de epicatequina (Tabla 12).

4.1.3.4. Flavonoles

kaempferol, quercitrina y rutina fueron cuantificados en los extractos de hojas de olivo. La sumatoria de estos compuestos (flavonoles totales) se vio favorecida con el incremento de temperatura respecto a cada uno de los solventes usados (Tabla 12). Individualmente, kaempferol presento la mayor recuperación usando etanol al 15% a 50°C (2,93 µg/gss). No obstante, el uso de 70°C redujo en 15% su recuperación. Por otro lado, la extracción de quercitrina cuando la temperatura aumento de 50 a 70°C, mejoró 1,35, 1,05 y 2,56 veces más cuando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% fueron usados como solventes de extracción, respectivamente (Tabla 12). La recuperación de rutina se logró usando etanol al 15%, donde el cambio de temperatura de 50 a 70°C permitió recuperar 32 veces más contenido (Tabla 12).

Los extractos obtenidos mediante EAU presentaron un comportamiento particular, donde un incremento de 50 a 70°C pudo recuperar 41% y 96% más contenido de flavonoles totales usando etanol al 15% y glicerol al 15% respectivamente (Tabla 12). Contrariamente, se observó una pérdida del 27% del contenido de flavonoles totales cuando agua pura fue usado como solvente de extracción bajo las mismas condiciones (Tabla 12). La mayor recuperación de kaempferol y rutina se obtuvo usando etanol al 15% a 70°C, recuperando 1,31 y 19,23 veces más contenido cada flavonol específico respectivamente. Similar al proceso ELP, el aumento de temperatura de 50 a 70°C usando glicerol al 15% recupero 33% (118,24 µg/gss) más contenido de quecitrina (Tabla 12). Similar comportamiento fue reportado por Kowalska et al., (2021) quienes bajo condiciones atmosféricas determinaron que un incremento en la temperatura de 50 a 80 °C mejoro 65,40% y 74,19% la recuperación de flavonoides de hojas de menta usando glicerol al 30% en comparación con agua pura a las mismas condiciones.

Tabla 12: Perfil de polifenoles de los extractos de hojas de olivo

Descripción		Extracción por líquidos presurizados			Extracción asistida por ultrasonido		
		Agua pura	Etanol 15%	Glicerol 15%	Agua pura	Etanol 15%	Glicerol 15%
Ácido fenólico (µg/gss)		Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE
Ácido vanílico	50°C	3,59 ^{a,A} ± 0,17	3,65 ^{a,A} ± 0,15	3,53 ^{a,A} ± 0,09	3,00 ^{a,A} ± 0,15	3,08 ^{a,A} ± 0,18	2,70 ^{a,A} ± 0,21
	70°C	4,85 ^{a,B} ± 0,23	5,04 ^{a,B} ± 0,11	5,37 ^{a,B} ± 0,52	3,94 ^{a,B} ± 0,39	3,58 ^{a,B} ± 0,18	5,94 ^{b,B} ± 0,43
Estilbeno (µg/gss)							
Resveratrol	50°C	18,26 ^{b,A} ± 0,09	18,11 ^{b,B} ± 0,08	17,04 ^{a,A} ± 0,17	17,21 ^{a,A} ± 0,67	17,70 ^{a,A} ± 0,93	17,19 ^{a,A} ± 0,83
	70°C	19,41 ^{b,B} ± 0,27	17,64 ^{a,A} ± 0,38	20,14 ^{c,B} ± 0,24	17,69 ^{a,B} ± 0,16	18,10 ^{a,B} ± 0,21	19,15 ^{a,B} ± 0,29
Flavanoles (µg/gss)							
Catequina	50°C	8,60 ^{b,A} ± 0,51	3,39 ^{a,A} ± 0,17	7,99 ^{b,B} ± 0,10	5,92 ^{b,B} ± 0,29	4,34 ^{a,B} ± 0,35	6,90 ^{c,B} ± 0,32
	70°C	9,71 ^{b,B} ± 0,38	10,20 ^{b,B} ± 0,86	4,24 ^{a,A} ± 0,38	5,41 ^{b,A} ± 0,42	4,13 ^{a,A} ± 0,12	6,12 ^{c,A} ± 0,45
Epicatequina	50°C	9,14 ^{b,A} ± 0,65	3,09 ^{a,A} ± 0,15	8,18 ^{b,A} ± 0,60	4,64 ^{b,A} ± 0,28	3,56 ^{a,A} ± 0,35	7,49 ^{c,A} ± 0,35
	70°C	8,38 ^{b,A} ± 0,56	2,96 ^{a,A} ± 0,24	8,94 ^{b,A} ± 0,88	8,68 ^{c,B} ± 0,78	3,09 ^{a,A} ± 0,21	7,00 ^{b,A} ± 0,67
Procianidina A2	50°C	12,95 ^{a,A} ± 0,63	21,94 ^{b,A} ± 2,06	10,99 ^{a,A} ± 0,64	6,71 ^{a,A} ± 0,44	15,50 ^{c,A} ± 0,92	12,04 ^{b,A} ± 0,81
	70°C	15,23 ^{a,A} ± 1,20	22,40 ^{b,A} ± 0,89	29,19 ^{c,B} ± 2,05	7,47 ^{b,A} ± 0,13	19,77 ^{a,B} ± 0,92	21,34 ^{a,B} ± 1,22
Subtotal	50°C	30,69 ± 0,90	28,43 ± 1,96	27,15 ± 1,12	17,28 ± 0,93	23,40 ± 1,08	26,42 ± 0,81
	70°C	33,31 ± 2,08	35,57 ± 1,52	42,37 ± 3,30	21,56 ± 0,43	26,99 ± 1,24	34,45 ± 0,19
Flavonoles (µg/gss)							
Kaempferol	50°C	2,15 ^{a,A} ± 0,06	2,93 ^{b,B} ± 0,08	2,26 ^{a,A} ± 0,07	1,90 ^{a,A} ± 0,06	2,16 ^{b,A} ± 0,07	2,06 ^{ab,A} ± 0,04
	70°C	2,27 ^{a,A} ± 0,15	2,48 ^{a,A} ± 0,13	2,39 ^{a,A} ± 0,14	1,89 ^{a,A} ± 0,04	2,82 ^{c,B} ± 0,17	2,27 ^{b,B} ± 0,10
Quercitrina	50°C	64,86 ^{a,A} ± 5,78	108,10 ^{c,A} ± 2,28	81,23 ^{b,A} ± 1,45	28,58 ^{a,B} ± 1,59	100,21 ^{c,B} ± 0,87	88,86 ^{b,A} ± 1,29
	70°C	87,60 ^{a,B} ± 1,93	113,76 ^{b,B} ± 1,40	207,76 ^{c,B} ± 2,29	18,96 ^{a,A} ± 0,44	82,53 ^{b,A} ± 0,85	118,24 ^{c,B} ± 2,17
Rutina	50°C	ND	1,68 ^A ± 0,16	ND	ND	3,29 ^A ± 0,16	ND
	70°C	ND	53,08 ^B ± 2,38	ND	1,45 ^a ± 0,11	63,26 ^{c,B} ± 0,37	57,43 ^b ± 1,04
Subtotal	50°C	67,01 ± 5,83	112,70 ± 2,51	83,48 ± 1,49	30,48 ± 1,58	105,67 ± 0,87	90,92 ± 1,29
	70°C	89,86 ± 1,88	169,33 ± 1,65	210,15 ± 2,43	22,31 ± 0,57	148,60 ± 1,31	177,94 ± 1,22
Flavona (µg/gss)							
Apigenina	50°C	2,58 ^{a,A} ± 0,18	7,15 ^{c,A} ± 0,16	4,94 ^{b,A} ± 0,10	2,66 ^{a,B} ± 0,19	8,58 ^{c,B} ± 0,38	6,66 ^{b,A} ± 0,26
	70°C	3,53 ^{a,B} ± 0,11	16,42 ^{c,B} ± 0,70	12,99 ^{b,B} ± 0,71	0,29 ^{a,A} ± 0,03	2,97 ^{b,A} ± 0,19	11,52 ^{c,B} ± 0,85
Feniletanoides (µg/gss)							
Hidroxitirosol	50°C	7,70 ^{b,B} ± 0,33	6,39 ^{a,A} ± 0,37	5,87 ^{a,A} ± 0,80	4,89 ^{a,A} ± 0,44	6,40 ^{a,A} ± 0,57	6,70 ^{a,A} ± 0,24
	70°C	6,87 ^{b,A} ± 0,46	8,63 ^{a,B} ± 0,14	9,44 ^{a,B} ± 0,43	28,78 ^{a,B} ± 1,92	30,05 ^{a,B} ± 0,19	41,95 ^{b,B} ± 0,94
Tirosol	50°C	12,76 ^{b,B} ± 0,67	13,4 ^{b,B} ± 0,12	10,41 ^{a,B} ± 0,58	12,28 ^{b,B} ± 0,14	13,49 ^{a,B} ± 0,26	11,84 ^{c,A} ± 0,19
	70°C	17,21 ^{b,A} ± 0,29	11,92 ^{a,A} ± 0,47	17,79 ^{b,A} ± 0,66	4,72 ^{b,A} ± 0,25	2,81 ^{a,A} ± 0,19	6,49 ^{c,B} ± 0,16
Subtotal	50°C	20,47 ± 0,35	19,80 ± 0,30	16,28 ± 1,38	17,17 ± 0,31	19,89 ± 0,51	18,54 ± 0,22
	70°C	24,08 ± 0,74	20,54 ± 0,33	27,23 ± 0,49	33,50 ± 2,16	32,86 ± 0,19	48,44 ± 1,09
Secoiridoide (µg/gss)							
Oleuropeína	50°C	78,19 ^{a,A} ± 2,69	93,63 ^{c,A} ± 0,64	87,49 ^{b,A} ± 1,00	104,82 ^{a,A} ± 4,02	132,80 ^{c,A} ± 5,66	115,00 ^{b,A} ± 1,39
	70°C	100,19 ^{a,B} ± 1,87	146,87 ^{b,B} ± 2,85	171,48 ^{c,B} ± 3,72	182,79 ^{a,B} ± 3,38	226,85 ^{b,B} ± 2,44	246,70 ^{c,B} ± 2,41

El contenido de polifenoles específicos esta expresado como microgramos equivalente del polifenol específico por gramo de sólido seco (µg PE/gss). DE representa la desviación estándar (n = 3). ND: No detectado. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre los solventes de extracción; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre la variación de temperatura para cada proceso de extracción. Todos los tratamientos presentaron un coeficiente de variación menor al 10%.

4.1.3.5. Flavona

La mayor recuperación de apigenina fue observada en los extractos obtenidos mediante ELP, donde un incremento de temperatura de 50 a 70°C favoreció su recuperación en 1,37, 2,30 y 2,36 veces cuando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% fueron usados para su extracción, respectivamente (Tabla 12). Por ello, la mejor condición fue establecida con etanol al 15% a 70°C, permitiendo recuperar 16,42 µg/gss de esta flavona. Algunos estudios han reportado la presencia de apigenina entre 38 – 66 µg/gss además de luteolina, y sus formas glucosiladas como flavonas presentes en hojas de olivo (Mechri et al., 2020; Talhaoui et al., 2014; Wang et al., 2018).

Con respecto a EAU, los cambios de temperatura de 50 a 70°C redujeron la recuperación de apigenina en 89,10% y 65,38% con el uso de agua pura y etanol al 15% respectivamente (Tabla 12). Comportamiento similar fue reportado por Poureini et al., (2020) quienes observaron que un incremento de temperatura de 40 a 60°C produce una disminución del 12% cuando etanol fue usado como solvente de extracción. Probablemente, esto puede ser causado por la disminución en la formación, crecimiento y colapso de las burbujas producto de la cavitación acústica a causa del incremento de la temperatura. Por otro lado, el uso de glicerol al 15% a 70°C logro la mayor recuperación de apigenina, alcanzando un contenido de 11,52 µg/gss (Tabla 12).

4.1.3.6. Feniletanoides

Bajo la ELP, el incremento de temperatura de 50 a 70°C favoreció la recuperación de feniletanoides totales, mejorando en 17,64%, 3,73% y 67,26% su extracción con agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%, respectivamente (Tabla 12). Por ello, las mejores condiciones de recuperación fueron determinadas a 70°C con glicerol al 15%, permitiendo recuperar de hidroxitirosol (9,44 µg/gss) y tirosol (17,79 µg/gss) (Tabla 12). En condiciones atmosféricas, Ghomari et al., (2019) reportaron la presencia de 0,34 mg/gss de hidroxitirosol y 1,95 mg/gss de tirosol con el uso de etanol. No obstante, esta diferencia podría atribuirse a la polaridad del solvente, esto debido a la formación de puentes de hidrógeno por parte de los grupos OH del etanol y estos feniletanoides, además, también pueden presentarse interacciones no polares entre la cadena alifática del alcohol y los grupos no polares del hidroxitirosol y tirosol (Aydi et al., 2021).

En cuanto a los extractos obtenidos por EAU, una variación en la temperatura favoreció la extracción de hidroxitirosol, mostrando la mejor condición para su recuperación a 70°C usando glicerol al 15% (41,95 µg/gss). Sin embargo, con el incremento de la temperatura de 50 a 70°C, tirosol registro una disminución de 61,56%,

79,19% y 45,19% cuando agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15% fueron usados como solventes de extracción (Tabla 12). Ben Mohamed et al., (2018) reportaron la presencia entre 5,40 a 290,19 $\mu\text{g/gss}$ de hidroxitirosol y 2,1 a 174,62 $\mu\text{g/gss}$ para tirosol en un proceso de extracción asistida por ultrasonido. Asimismo, Yao et al., (2019) informaron en EAU que el incremento de temperatura de 48°C a 71°C mejoró en 35% la recuperación de hidroxitirosol. Además, se debe tener en cuenta que existen diversos factores que pueden contribuir con la presencia de determinados polifenoles, siendo el genotipo uno de los más importantes (Petridis et al., 2012).

4.1.3.7. Secoiridoides

El compuesto mayoritario presente en las hojas de olivo es la oleuropeína (Cho et al., 2020). En ELP, el cambio de temperatura de 50 a 70°C favoreció la recuperación de este compuesto, obteniéndose la mayor contenido (171,48 $\mu\text{g/gss}$) a 70°C con glicerol al 15%, logrando recuperar 71,15% más contenido en comparación con agua pura a la misma temperatura (Tabla 12). Si bien no se ha reportado extracciones con glicerol mediante condiciones subcríticas, Herrero et al., (2011), informaron bajo ELP que el uso de etanol (50%) mejora en 97,56% la recuperación de oleuropeína en comparación con agua pura a las mismas condiciones. Cabe indicar que se ha reportado que la variedad y el solvente de extracción influyen en el contenido de compuestos, registrándose valores entre 0,79 a 49,65 mg/gss para oleuropeína (Can et al., 2018).

En la EAU, el incremento de temperatura de 50 a 70°C mejoró en 1,74, 1,71 y 2,15 veces, la recuperación de oleuropeína con agua pura, etanol al 15% y glicerol al 15%, respectivamente (Tabla 12). Este efecto fue reportado por Sucharitha et al., (2019) quienes informaron que la extracción mediante EAU de este compuesto aumentó 1,34 veces más al usar glicerol al 70% como solvente de extracción.

4.1.4. Inhibición de enzimas relacionadas con la DM2

4.1.4.1. Inhibición de la actividad de α -amilasa

Los extractos obtenidos mediante ELP mostraron actividad inhibitoria de α -amilasa con el incremento de la temperatura de 50 a 70°C (Figura 6A). El extracto obtenido con etanol al 15% a 70°C presentó una inhibición del 24% en la actividad de α -amilasa a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 6A). Sin embargo, este porcentaje de inhibición fue significativamente menor comparado con acarbosa (fármaco de referencia), el cual mostró una capacidad de inhibición del 73% a la misma concentración. Por otro lado, los extractos obtenidos a partir de agua pura y glicerol al 15% a una temperatura de

70°C mostraron una inhibición del 15% y 8% en la actividad de α -amilasa a la misma concentración (Figura 6A).

En un estudio realizado por Mogole et al., (2020) la capacidad de inhibición de α -amilasa a partir de hojas de níspero fue menor en 25% comparado con esta droga comercial. La enzima α -amilasa es la encargada de hidrolizar los carbohidratos ingeridos en la dieta (almidón), convirtiéndolos en oligosacáridos o disacáridos, por lo que acarbosa es usado como fármaco para retardar este proceso (Kamble et al., 2022). Probablemente, los polifenoles al presentar grupos OH en su estructura química formen enlaces de hidrogeno con las cadenas laterales de los aminoácidos presentes en la enzima (Aps197, Glu223 y Asp300) (Ćorković et al., 2022).

Por otro lado, los extractos obtenidos mediante la EAU mostraron una capacidad menor al 17% para inhibir α -amilasa (Figura 6B). Por ejemplo, los extractos obtenidos a 70°C a partir de etanol al 15% y glicerol al 15% con una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$ mostraron una inhibición del 17% y 6% de la actividad de α -amilasa (Figura 6B), mientras que el extracto obtenido con agua no mostró poder inhibir esta enzima bajo las mismas condiciones (Figura 6B). Sin embargo, Chigurupati et al., (2021) mediante una extracción convencional, reportaron una inhibición del 95,16% en la actividad de α -amilasa a partir extractos de hojas de olivo a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$. No obstante, este comportamiento podría estar influenciado por las condiciones de operación como la relación soluto/solvente (1:3 p/v) y concentración del solvente, lo cual está relacionado con la solubilidad de los compuestos de interés.

La capacidad de inhibición es el resultado de las interacciones de la estructura molecular de α -amilasa y de los polifenoles, siendo está posible a través de los enlaces de hidrógeno (entre grupos hidroxilo y sitio catalítico activo de la enzima) y la fuerza hidrofóbica (entre los anillos aromáticos de los polifenoles y los residuos de triptófano de la α -amilasa) (Sun et al., 2019). Sin embargo, se debe tomar en consideración que una elevada inhibición de las enzimas relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 presenta efectos adversos en la salud al alterar la homeostasis glucémica (dos Reis Araujo et al., 2022).

4.1.4.2. Inhibición de la actividad de α -glucosidasa

Bajo ELP, los extractos obtenidos con etanol (15%) presentaron una reducción en la actividad de α -glucosidasa hasta el 36 y 29% a 50 y 70°C a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 6C), mientras que en los extractos con agua pura y glicerol al 15% la reducción de la actividad de α -glucosidasa fue hasta el 76 y 74% a las mismas

condiciones, respectivamente (Figura 6C). La temperatura de 70°C en conjunto con etanol mostró una efectividad similar que acarbose para inhibir esta enzima bajo las mismas condiciones (Figura 6C). Por otro lado, los extractos obtenidos mediante EAU con etanol (15%) a 50 y 70°C a una concentración de 1000 µg/mL disminuyeron la actividad enzimática hasta un 52 y 45%, respectivamente (Figura 6D). Asimismo, una menor inhibición de la actividad de α -glucosidasa fue registrada en los extractos a partir agua pura y glicerol (15%), al inhibir el 16 y 18% de la actividad de esta enzima a una concentración de 1000 µg/mL a 70°C (Figura 6D).

Algunos estudios han reportado la capacidad de inhibición de α -glucosidasa a partir de matrices vegetales. En extracción asistida por ultrasonido a 75°C a partir de hojas de olivo con etanol (70%) se determinó que la inhibición de α -glucosidasa a una concentración de 3,85 mg/mL fue de 81,34% (AlShaal et al., 2020). Por otro lado, en un proceso de extracción convencional a 45°C con agua pura en 3 variedades egipcias de hojas de olivo, presentaron un alto poder de inhibición a una concentración de 100 µg/mL, con 92,59%, 92,46% y 91,48% para los cultivares de picual, shemali y tofahi, respectivamente (Mansour et al., 2023). Al respecto, Bilgin y Şahin (2013) informaron que presencia de compuestos fenólicos en los extractos de hojas de olivo depende de distintos factores como: edad del cultivo, estado de madurez, ubicación geográfica, etapa fenológica durante el muestreo, proporción de ramas del árbol y proceso de extracción, por tanto, la presencia de sus compuestos mayoritarios difieren, resultando en la variación de su actividad inhibitoria. Posiblemente, la interacción de los polifenoles con la enzima puede ser un factor determinante sobre su efecto inhibitorio, esto debido a las grupos hidroxilo que forman enlaces de hidrógeno intermoleculares con los aminoácidos presentes en α -glucosidasa en su sitio activo cambiando la composición del complejo sustrato-enzima (Gong et al., 2020).

La enzima α -glucosidasa se encarga de hidrolizar oligosacáridos y disacáridos convirtiéndolos en glucosa, la cual es asimilada luego del proceso de digestión; los inhibidores de esta enzima retardan este proceso, por lo que en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 ayuda a regular la hiperglucemia posprandial (Hao et al., 2017). En ese sentido, diferentes estudios se han enfocado en búsqueda de alternativas para sustituir el uso de acarbose, voglibosa y miglitol, debido a su alta capacidad inhibitoria de las enzimas relacionadas a la diabetes mellitus tipo 2, por los efectos secundarios producidos como trastornos intestinales, daño hepáticos, entre otros (Hao et al., 2017).

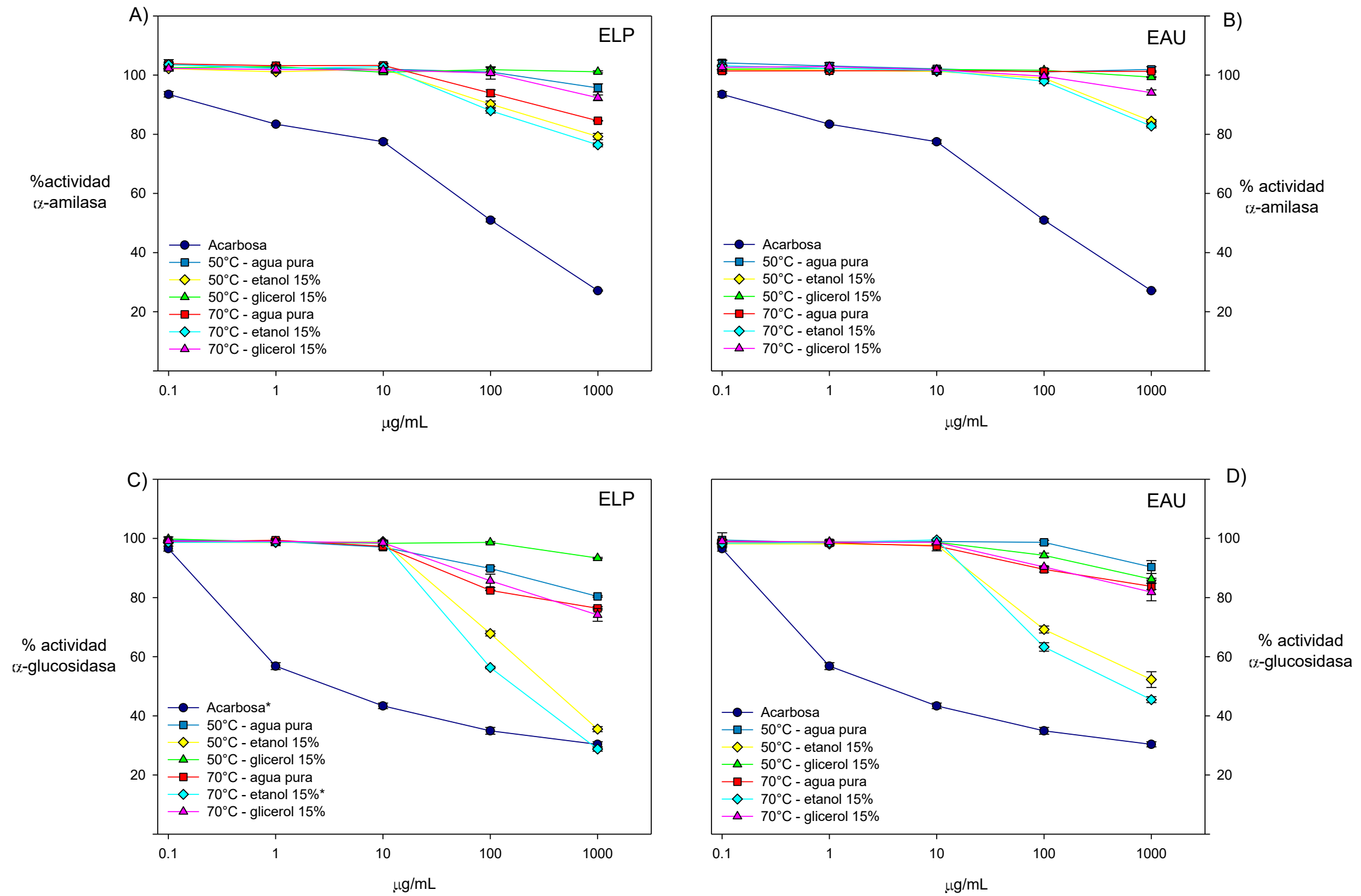


Figura 6: Actividad enzimática de α -amilasa en los extractos obtenidos por A) ELP y B) EAU. Actividad enzimática de α -glucosidasa en los extractos obtenidos por C) ELP y D) EAU.

* Comportamiento similar ente tratamiento y control a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Dunnett, $p > 0,05$).

V. CONCLUSIONES

El uso de ambas tecnologías (ELP y EAU) combinadas con glicerol (15%) a 70°C favoreció la mayor recuperación de compuestos antioxidantes. Durante la ELP el contenido de polifenoles totales, DPPH y ORAC fueron de 19,46 mg EAG/gss, IC_{50} :4,11 mg/mL y 500,26 μ mol ET/gss, respectivamente. Mientras en la EAU, recuperó 17,59 mg EAG/gss de polifenoles totales, IC_{50} de 4,35 mg/mL y 488,84 μ mol ET/gss, respectivamente.

Con respecto al contenido de polifenoles específicos, la ELP a 70°C combinado con glicerol (15%) presentó los mayores rendimientos en la recuperación de ácidos fenólicos (5,37 μ g/gss), estilbenos (20,14 μ g/gss), flavanoles (42,37 μ g/gss), flavonoles (210,15 μ g/gss), feniletanoides (27,23 μ g/gss) y secoiridoides (171,48 μ g/gss), mientras que para flavonas (16,42 μ g/gss) el uso de etanol al 15% fue más efectivo para su recuperación. Por otro lado, en EAU el uso glicerol a 70°C, recuperó el mayor contenido de ácidos fenólicos (5,94 μ g/gss), estilbenos (19,15 μ g/gss), flavanoles (34,48 μ g/gss), flavonas (11,52 μ g/gss), flavonoles (177,94 μ g/gss), feniletanoides (48,44 μ g/gss) y secoiridoides (246,70 μ g/gss).

El uso de ambas tecnologías (ELP y EAU) combinados con etanol al 15% a 70°C mostraron capacidad para inhibir la actividad de las enzimas relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2. El extracto obtenido mediante ELP logro inhibir el 24% de la actividad de α -amilasa y el 71% de la actividad de α -glucosidasa. Por otro lado, para EAU el extracto mostro inhibir el 17% y 55% de la actividad de α -amilasa y α -glucosidasa respectivamente. Por tanto, los extractos de hojas de olivo a partir de tecnologías alternativas pueden considerarse como una fuente potencial para el desarrollo de productos hipoglucemiantes en beneficio de personas con diabetes mellitus tipo 2.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar la concentración de muestra por medio de inyección de nitrógeno con la finalidad de evaporar los solventes utilizados en el proceso de extracción, esto con la finalidad de realizar la evaluación de inhibición de la actividad enzimática.

Se recomienda realizar estudios que impliquen el desarrollo de un alimento con la adición de extractos ricos en compuestos fenólicos y evaluar su capacidad para reducir la respuesta glucémica en un proceso de digestión in vitro.

VII. REFERENCIAS

- Acar-Tek, N., & Ağagündüz, D. (2020). Olive Leaf (*Olea europaea* L. *folium*): Potential Effects on Glycemia and Lipidemia. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 76(1), 10–15. <https://doi.org/10.1159/000505508>
- Adetunji, L. R., Adekunle, A., Orsat, V., & Raghavan, V. (2017). Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. *Food Hydrocolloids*, 62, 239–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.015>
- Ahmad-Qasem, M. H., Ahmad-Qasem, B. H., Barrajon-Catalán, E., Micol, V., Cárcel, J. A., & García-Pérez, J. V. (2016). Drying and storage of olive leaf extracts. Influence on polyphenols stability. *Industrial Crops and Products*, 79, 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.006>
- Al-Laith, A. A., Alkhuzai, J., & Freije, A. (2019). Assessment of antioxidant activities of three wild medicinal plants from Bahrain. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 2365–2371. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.03.004>
- Alam, F., Shafique, Z., Amjad, S. T., & Bin Asad, M. H. H. (2019). Enzymes inhibitors from natural sources with antidiabetic activity: A review. *Phytotherapy Research*, 33(1), 41–54. <https://doi.org/10.1002/ptr.6211>
- AlShaal, S., Karabet, F., & Daghestani, M. (2020). Evaluation the antioxidant activity of syrian ficus and olive leaf extracts and their inhibitory effects on α -glucosidase in vitro. *Moroccan Journal of Chemistry*, 8(1), 235–243.
- Altıok, E., Bayçın, D., Bayraktar, O., & Ülkü, S. (2008). Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology*, 62(2), 342–348. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.01.022>
- Alvarez-Rivera, G., Bueno, M., Ballesteros-Vivas, D., Mendiola, J. A., & Ibañez, E. (2020). Pressurized Liquid Extraction. In *Liquid-Phase Extraction* (pp. 375–398). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00013-X>
- Apostolakis, A., Grigorakis, S., & Makris, D. P. (2014). Optimisation and comparative kinetics study of polyphenol extraction from olive leaves (*Olea europaea*) using heated water/glycerol mixtures. *Separation and Purification Technology*, 128, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.03.010>

- Ashcroft, F. M., & Rorsman, P. (2012). Diabetes mellitus and the β cell: The last ten years. *Cell*, 148(6), 1160–1171. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.010>
- Aydi, A., Dali, I., Ghachem, K., Al-Khazaal, A. Z., Delgado, D. R., & Kolsi, L. (2021). Solubility of Hydroxytyrosol in binary mixture of ethanol + water from (293.15 to 318.15) K: Measurement, correlation, dissolution thermodynamics and preferential solvation. *Alexandria Engineering Journal*, 60(1), 905–914. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2020.10.019>
- Bao, N., Wang, D., Fu, X., Xie, H., Gao, G., & Luo, Z. (2021). Green extraction of phenolic compounds from lotus seedpod (*Receptaculum nelumbinis*) assisted by ultrasound coupled with glycerol. *Foods*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/foods10020239>
- Ben Mohamed, M., Guasmi, F., Ben Ali, S., Radhouani, F., Faghim, J., Triki, T., Kammoun, N. G., Baffi, C., Lucini, L., & Benincasa, C. (2018). The LC-MS/MS characterization of phenolic compounds in leaves allows classifying olive cultivars grown in South Tunisia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 78(July 2017), 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.04.005>
- Ben Salah, M., & Abdelmelek, H. (2012). Study of Phenolic Composition and Biological Activities Assessment of Olive Leaves from different Varieties Grown in Tunisia. *Medicinal Chemistry*, 2(5), 107–111. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000124>
- Bilgin, M., & Şahin, S. (2013). Effects of geographical origin and extraction methods on total phenolic yield of olive tree (*Olea europaea*) leaves. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(1), 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2012.08.008>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bunaciu, A. A., Danet, A. F., Fleschin, Ş., & Aboul-Enein, H. Y. (2016). Recent Applications for in Vitro Antioxidant Activity Assay. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(5), 389–399. <https://doi.org/10.1080/10408347.2015.1101369>
- Can, A., Ayvaz, H., Pala, Ç. U., Condelli, N., Galgano, F., & Tolve, R. (2018). The potential of near and mid-infrared spectroscopy for rapid quantification of oleuropein, total phenolics, total flavonoids and antioxidant activity in olive tree (*Olea europaea*) leaves. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4),

2747–2757. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9892-3>

- Carrillo-Larco, R. M., & Bernabé-Ortiz, A. (2019). Diabetes mellitus tipo 2 en el Perú: Una revisión sistemática sobre la prevalencia e incidencia en población general. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 36(1), 26–36. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.361.4027>
- Chatterjee, S., Khunti, K., & Davies, M. J. (2017). Type 2 diabetes. *The Lancet*, 389(10085), 2239–2251. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30058-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2)
- Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, 172, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110>
- Chew, S. C. (2020). Cold-pressed rapeseed (*Brassica napus*) oil: Chemistry and functionality. *Food Research International*, 131(September 2019), 108997. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108997>
- Chigurupati, S., Alharbi, F. S., Almahmoud, S., Aldubayan, M., Almoshari, Y., Vijayabalan, S., Bhatia, S., Chinnam, S., & Venugopal, V. (2021). Molecular docking of phenolic compounds and screening of antioxidant and antidiabetic potential of *Olea europaea* L. Ethanolic leaves extract. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(11), 103422. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103422>
- Chirinos, R., Pedreschi, R., Rogez, H., Larondelle, Y., & Campos, D. (2013). Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products*, 47, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.025>
- Cho, W.-Y., Kim, D.-H., Lee, H.-J., Yeon, S.-J., & Lee, C.-H. (2020). Journal of Food Quality Evaluation of Effect of Extraction Solvent on Selected Properties of Olive Leaf Extract. *Journal of Food Quality*, 2020, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2020/3013649>
- Clodoveo, M. L., Crupi, P., Annunziato, A., & Corbo, F. (2021). Innovative Extraction Technologies for Development of Functional Ingredients Based on Polyphenols from Olive Leaves. *Foods*, 11(1), 103. <https://doi.org/10.3390/foods11010103>
- Ćorković, I., Gašo-Sokač, D., Pichler, A., Šimunović, J., & Kopjar, M. (2022). Dietary Polyphenols as Natural Inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase. *Life*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/life12111692>

- Cuevas-Valenzuela, J., González-Rojas, Á., Wisniak, J., Apelblat, A., & Pérez-Correa, J. R. (2014). Solubility of (+)-catechin in water and water-ethanol mixtures within the temperature range 277.6–331.2K: Fundamental data to design polyphenol extraction processes. *Fluid Phase Equilibria*, 382, 279–285. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2014.09.013>
- da Costa Silva, T., Justino, A. B., Prado, D. G., Koch, G. A., Martins, M. M., Santos, P. de S., Morais, S. A. L. de, Goulart, L. R., Cunha, L. C. S., Sousa, R. M. F. de, Espindola, F. S., & de Oliveira, A. (2019). Chemical composition, antioxidant activity and inhibitory capacity of α -amylase, α -glucosidase, lipase and non-enzymatic glycation, in vitro, of the leaves of *Cassia bakeriana* Craib. *Industrial Crops and Products*, 140(June), 111641. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111641>
- da Silva, S. M., Koehnlein, E. A., Bracht, A., Castoldi, R., de Morais, G. R., Baesso, M. L., Peralta, R. A., de Souza, C. G. M., de Sá-Nakanishi, A. B., & Peralta, R. M. (2014). Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. *Food Research International*, 56, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.004>
- Dasgupta, A., & Wahed, A. (2014). Carbohydrate Metabolism, Diabetes, and Hypoglycemia. In *Clinical Chemistry, Immunology and Laboratory Quality Control* (pp. 107–126). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407821-5.00007-3>
- Dobrinčić, A., Repajić, M., Garofulić, I. E., Tuđen, L., Dragović-Uzelac, V., & Levaj, B. (2020). Comparison of Different Extraction Methods for the Recovery of Olive Leaves Polyphenols. *Processes*, 8(9), 1008. <https://doi.org/10.3390/pr8091008>
- dos Reis Araujo, T., Lubaczeuski, C., & Carneiro, E. M. (2022). Effects of double burden malnutrition on energetic metabolism and glycemic homeostasis: A narrative review. *Life Sciences*, 307(August). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120883>
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., & Ma, H. (2020). The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, 35(June 2019), 100547. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>
- Ebrahimi, P., & Lante, A. (2022). Environmentally Friendly Techniques for the Recovery of Polyphenols from Food By-Products and Their Impact on Polyphenol Oxidase: A Critical Review. *Applied Sciences*, 12(4), 1923. <https://doi.org/10.3390/app12041923>

- El, S. N., & Karakaya, S. (2009). *Olive tree (Olea europaea) leaves : potential beneficial effects on human health*. 67(11), 632–638. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00248.x>
- Fan, J., Johnson, M. H., Lila, M. A., Yousef, G., & De Mejia, E. G. (2013). Berry and citrus phenolic compounds inhibit dipeptidyl peptidase IV: Implications in diabetes management. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/479505>
- FAO. (2019). *FAOSTAT - estadísticas olivo*.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Florian Chhabra, N., Amend, A., Bastidas-Ponce, A., Sabrautzki, S., Tarquis-Medina, M., Sachs, S., Rubey, M., Lorenz-Depiereux, B., Feuchtinger, A., Bakhti, M., Lickert, H., Przemeck, G. K. H., & Hrabě de Angelis, M. (2021). A point mutation in the Pdia6 gene results in loss of pancreatic β -cell identity causing overt diabetes. *Molecular Metabolism*, 54(September), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101334>
- Fred-Jaiyesimi, A., Kio, A., & Richard, W. (2009). α -Amylase inhibitory effect of 3 β -olean-12-en-3-yl (9Z)-hexadec-9-enoate isolated from Spondias mombin leaf. *Food Chemistry*, 116(1), 285–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.047>
- Gajbhiye, R., Ganapathy, A., & Jaisankar, P. (2018). A Review of A-Glucosidase and A-Amylase Inhibitors for Type 2 Diabetes Isolated From Some Important Indian Medicinal Plants. *Annals of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1(1), 1003.
- Ganeshpurkar, A., & Saluja, A. K. (2017). The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(2), 149–164. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.04.025>
- Ghomari, O., Sounni, F., Massaoudi, Y., Ghanam, J., Drissi Kaitouni, L. B., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2019). Phenolic profile (HPLC-UV) of olive leaves according to extraction procedure and assessment of antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, 23, e00347. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00347>
- Giacometti, J., Žauhar, G., & Žuvić, M. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of major phenolic compounds from olive leaves (*Olea europaea* L.) using response surface methodology. *Foods*, 7(9), 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods7090149>

- Glisor, O., Mocan, A., Moldovan, C., Locatelli, M., Crişan, G., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Enzyme-assisted extractions of polyphenols – A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 88(September 2018), 302–315. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.029>
- Gong, T., Yang, X., Bai, F., Li, D., Zhao, T., Zhang, J., Sun, L., & Guo, Y. (2020). Young apple polyphenols as natural α -glucosidase inhibitors: In vitro and in silico studies. *Bioorganic Chemistry*, 96(January), 103625. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103625>
- Gorzynik-Debicka, M., Przychodzen, P., Cappello, F., Kuban-Jankowska, A., Gammazza, A. M., Knap, N., Wozniak, M., & Gorska-Ponikowska, M. (2018). Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3). <https://doi.org/10.3390/ijms19030686>
- Goyeneche, R., Roura, S., Ponce, A., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., & Di Scala, K. (2015). Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots. *Journal of Functional Foods*, 16, 256–264. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.049>
- Grand View Research. (2019). *Polyphenols Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Grape Seed, Green Tea, Cocoa), By Application (Beverages, Food, Feed, Dietary Supplements, Cosmetics), And Segment Forecasts, 2019 - 2025*. Grand View Research.
- Grigorakis, S., Halahlah, A., & Makris, D. P. (2020). Hydroglycerolic solvent and ultrasonication pretreatment: A green blend for high-efficiency extraction of *Salvia fruticosa* polyphenols. *Sustainability (Switzerland)*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/SU12124840>
- Guex, C. G., Reginato, F. Z., de Jesus, P. R., Brondani, J. C., Lopes, G. H. H., & Bauermann, L. de F. (2019). Antidiabetic effects of *Olea europaea* L. leaves in diabetic rats induced by high-fat diet and low-dose streptozotocin. *Journal of Ethnopharmacology*, 235(February), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.02.001>
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gullón, B., Gullón, P., Eibes, G., Cara, C., De Torres, A., López-Linares, J. C., Ruiz, E., & Castro, E. (2018). Valorisation of olive agro-industrial by-products as a source of bioactive compounds. *Science of the Total Environment*, 645, 533–542.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.155>

- Gullón, B., Lú-Chau, T. A., Moreira, M. T., Lema, J. M., & Eibes, G. (2017). Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 220–235. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.008>
- Hannachi, H., Benmoussa, H., Saadaoui, E., Saanoun, I., Negri, N., & Elfalleh, W. (2019). Optimization of ultrasound and microwave-assisted extraction of phenolic compounds from olive leaves by response surface methodology. *Research Journal of Biotechnology*, 14(7), 28–37.
- Hao, W., Wang, M., & Lv, M. (2017). The Inhibitory Effects of Yixing Black Tea Extracts on A-Glucosidase. *Journal of Food Biochemistry*, 41(1), 1–6. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12269>
- Herbst, G., Hamerski, F., Errico, M., & L. Corazza, M. (2021). Pressurized liquid extraction of brewer's spent grain: Kinetics and crude extracts characterization. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 102, 370–383. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.07.020>
- Herrero, M., Temirzoda, T. N., Segura-Carretero, A., Quirantes, R., Plaza, M., & Ibañez, E. (2011). New possibilities for the valorization of olive oil by-products. *Journal of Chromatography A*, 1218(42), 7511–7520. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.04.053>
- Huamán-Castilla, N. L., Campos, D., García-Ríos, D., Parada, J., Martínez-Cifuentes, M., Mariotti-Celis, M. S., & Pérez-Correa, J. R. (2021). Chemical properties of vitis vinifera carménère pomace extracts obtained by hot pressurized liquid extraction, and their inhibitory effect on type 2 diabetes mellitus related enzymes. *Antioxidants*, 10(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/antiox10030472>
- Huamán-Castilla, N. L., Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., & Pérez-Correa, J. R. (2020). Glycerol as Alternative Co-Solvent for Water Extraction of Polyphenols from Carménère Pomace: Hot Pressurized Liquid Extraction and Computational Chemistry Calculations. *Biomolecules*, 10(3), 474. <https://doi.org/10.3390/biom10030474>
- Huaman-Castilla, N. L., Mariotti-Celis, M. S., & Perez-Correa, J. R. (2017). Polyphenols of Carménère Grapes. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 14(3), 176–186. <https://doi.org/10.2174/1570193X14666170206151439>

- Hui, X., Wu, G., Han, D., Stipkovits, L., Wu, X., Tang, S., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2020). The effects of bioactive compounds from blueberry and blackcurrant powders on the inhibitory activities of oat bran pastes against α -amylase and α -glucosidase linked to type 2 diabetes. *Food Research International*, 138(PA), 109756. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109756>
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821–1835. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- Instituto Nacional de Salud. (2019). *Cerca del 70% de adultos peruanos padecen de obesidad y sobrepeso*. Instituto Nacional de La Salud. <https://web.ins.gob.pe/es/prensa/noticia/cerca-del-70-de-adultos-peruanos-padecen-de-obesidad-y-sobrepeso>
- International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas 10TH edition*. International Diabetes Federation. <https://www.diabetesatlas.org>
- Irakli, M., Chatzopoulou, P., & Ekateriniadou, L. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 124(August), 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.070>
- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556–567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.013>
- Jeong, H.-J., Yoou, M.-S., Han, N.-R., Hwang, S. Y., Yoon, K. W., & Kim, H.-M. (2018). The new therapeutic herbal drug HM0601 and its bioactive compound rutin exert potent antiproliferative activities in mast cells. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 32(3), 279–287. <https://doi.org/10.1111/fcp.12350>
- Jessop, P. G., Jessop, D. A., Fu, D., & Phan, L. (2012). Solvatochromic parameters for solvents of interest in green chemistry. *Green Chemistry*, 14(5), 1245. <https://doi.org/10.1039/c2gc16670d>
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 119(July 2021), 579–591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>

- Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J., & Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology*, 4, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-4-5>
- Kalita, D., Holm, D. G., Labarbera, D. V., Petrash, J. M., & Jayanty, S. (2018). Aldose Reductase By Potato Polyphenolic Compounds. *PLoS ONE*, 13(1), 1–21.
- Kamble, R. P., Ghosh, P., & Kulkarni, A. A. (2022). Identification of α -amylase inhibitory compounds from leaves of *Careya arborea* Roxb. and in silico docking studies. *South African Journal of Botany*, 151, 493–503. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.018>
- Karakashov, B., Grigorakis, S., Loupassaki, S., & Makris, D. P. (2015). Optimisation of polyphenol extraction from *Hypericum perforatum* (St. John's Wort) using aqueous glycerol and response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2014.11.002>
- Kehrer, J. P., Robertson, J. D., & Smith, C. V. (2010). Free Radicals and Reactive Oxygen Species. In C. A. McQueen (Ed.), *Comprehensive Toxicology* (second edi, pp. 277–307). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-046884-6.00114-7>
- Kennedy, J. A. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 35(2), 77–90. <https://doi.org/10.4067/S0718-16202008000200001>
- Khoddami, A., Wilkes, M., & Roberts, T. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Kitada, M., Zhang, Z., Mima, A., & King, G. L. (2010). Molecular mechanisms of diabetic vascular complications. *Journal of Diabetes Investigation*, 1(3), 77–89. <https://doi.org/10.1111/j.2040-1124.2010.00018.x>
- Kırbaşlar, Ş. İ., & Şahin, S. (2021). Recovery of bioactive ingredients from biowaste of olive tree (*Olea europaea*) using microwave-assisted extraction: a comparative study. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01194-y>
- Kowalska, G., Baj, T., Kowalski, R., & Szymańska, J. (2021). Optimization of glycerol–water extraction of selected bioactive compounds from peppermint and common nettle. *Antioxidants*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antiox10050817>

- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70(August 2020), 105325. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., & Prakash, O. (2011). α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 19–29. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79096>
- Leitner, D. R., Frühbeck, G., Yumuk, V., Schindler, K., Micic, D., Woodward, E., & Toplak, H. (2017). Obesity and type 2 diabetes: Two diseases with a need for combined treatment strategies - EASO can lead the way. *Obesity Facts*, 10(5), 483–492. <https://doi.org/10.1159/000480525>
- Leyva-López, N., Lizárraga-Velázquez, C. E., Hernández, C., & Sánchez-Gutiérrez, E. Y. (2020). Exploitation of Agro-Industrial Waste as Potential Source of Bioactive Compounds for Aquaculture. *Foods*, 9(7), 843. <https://doi.org/10.3390/foods9070843>
- Li, L., Luo, W., Qian, Y., Zhu, W., Qian, J., Li, J., Jin, Y., Xu, X., & Liang, G. (2019). Luteolin protects against diabetic cardiomyopathy by inhibiting NF- κ B-mediated inflammation and activating the Nrf2-mediated antioxidant responses. *Phytomedicine*, 59(July 2018), 152774. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.11.034>
- Li, R., Zhang, Y., Rasool, S., Geetha, T., & Babu, J. R. (2019). Effects and underlying mechanisms of bioactive compounds on type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8165707>
- Lin, D., Kuang, G., Wan, J., Zhang, X., Li, H., Gong, X., & Li, H. (2017). Luteolin suppresses the metastasis of triple-negative breast cancer by reversing epithelial-to-mesenchymal transition via downregulation of β -catenin expression. *Oncology Reports*, 37(2), 895–902. <https://doi.org/10.3892/or.2016.5311>
- Lin, Y., Shi, R., Wang, X., & Shen, H.-M. (2008). Luteolin, a Flavonoid with Potential for Cancer Prevention and Therapy. *Current Cancer Drug Targets*, 8(7), 634–646. <https://doi.org/10.2174/156800908786241050>

- Lopez-Lazaro, M. (2009). Distribution and Biological Activities of the Flavonoid Luteolin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(1), 31–59. <https://doi.org/10.2174/138955709787001712>
- Maldonado, I., Vega Quispe, A. P., Merma Chacca, D., & Zirena Vilca, F. (2022). Optimization of the elimination of antibiotics by *Lemna gibba* and *Azolla filiculoides* using response surface methodology (RSM). *Frontiers in Environmental Science*, 10(August), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.940971>
- Mansour, H. M. M., Zeitoun, A. A., Abd-rabou, H. S., Ali, H., Enshasy, E., Dailin, D. J., Zeitoun, M. A. A., & El-sohaimy, S. A. (2023). *Antioxidant and Anti-Diabetic Properties of Olive (Olea europaea) Leaf Extracts : In Vitro and In Vivo Evaluation*. 1–21.
- Markhali, F. S., Teixeira, J. A., & Rocha, C. M. R. (2020). Olive Tree Leaves—A Source of Valuable Active Compounds. *Processes*, 8(9), 1177. <https://doi.org/10.3390/pr8091177>
- Martín-García, B., Pimentel-Moral, S., Gómez-Caravaca, A. M., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2020). Box-Behnken experimental design for a green extraction method of phenolic compounds from olive leaves. *Industrial Crops and Products*, 154(June), 112741. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112741>
- Mechri, B., Tekaya, M., Hammami, M., & Chehab, H. (2020). Effects of drought stress on phenolic accumulation in greenhouse-grown olive trees (*Olea europaea*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 92(July), 104112. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104112>
- MIDAGRI. (2023). *Boletín Estadístico Mensual “EL AGRO EN CIFRAS” - 2022*. <https://www.gob.pe/institucion/midagri/informes-publicaciones/2826318-boletin-estadistico-mensual-el-agro-en-cifras-2022>
- Milionis, C., Ilias, I., Venaki, E., & Koukkou, E. (2023). Glucose Homeostasis, Diabetes Mellitus, and Gender-Affirming Treatment. *Biomedicines*, 11(3), 670. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030670>
- Mlcek, J., Jurikova, T., Skrovankova, S., & Sochor, J. (2016). Quercetin and its anti-allergic immune response. *Molecules*, 21(5), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules21050623>

- Mogole, L., Omwoyo, W., & Mtunzi, F. (2020). Phytochemical screening, anti-oxidant activity and α -amylase inhibition study using different extracts of loquat (*Eriobotrya japonica*) leaves. *Heliyon*, 6(8), e04736. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04736>
- Mwakalukwa, R., Amen, Y., Nagata, M., & Shimizu, K. (2020). Postprandial Hyperglycemia Lowering Effect of the Isolated Compounds from Olive Mill Wastes – An Inhibitory Activity and Kinetics Studies on α -Glucosidase and α -Amylase Enzymes. *ACS Omega*, 5(32), 20070–20079. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01622>
- Navas, C. S., Reboredo, M. M., & Granados, D. L. (2015). Comparative Study of Agroindustrial Wastes for their use in Polymer Matrix Composites. *Procedia Materials Science*, 8, 778–785. <https://doi.org/10.1016/j.mspro.2015.04.135>
- Nediani, C., Ruzzolini, J., Romani, A., & Calorini, L. (2019). Oleuropein, a Bioactive Compound from *Olea europaea* L., as a Potential Preventive and Therapeutic Agent in Non-Communicable Diseases. *Antioxidants*, 8(12), 578. <https://doi.org/10.3390/antiox8120578>
- Nikolaidis, M. G., & Margaritelis, N. V. (2023). Free radicals and antioxidants: appealing to magic. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.06.001>
- Nouri, L., Mohammadi Nafchi, A., & Karim, A. A. (2014). Phytochemical, antioxidant, antibacterial, and α -amylase inhibitory properties of different extracts from betel leaves. *Industrial Crops and Products*, 62, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.015>
- Obrique-Slier, E., Peña-Neira, Á., & López-Solís, R. (2011). Precipitation of low molecular weight phenolic compounds of grape seeds cv. Carménère (*Vitis vinifera* L.) by whole saliva. *European Food Research and Technology*, 232(1), 113–121. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1365-9>
- Oliveira, A. L. S., Gondim, S., Gómez-García, R., Ribeiro, T., & Pintado, M. (2021). Olive leaf phenolic extract from two Portuguese cultivars –bioactivities for potential food and cosmetic application. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106175>

- Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of Polyphenols From Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters. In *Polyphenols in Plants* (2nd ed., pp. 243–259). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00025-6>
- Ouazzane, H., Laajine, F., El Yamani, M., El Hilaly, J., Rharrabti, Y., Amarouch, M. Y., & Mazouzi, D. (2017). Olive mill solid waste characterization and recycling opportunities: A review. *Journal of Materials and Environmental Science*, 8(8), 2632–2650.
- Özkaya, D., Naziroğlu, M., Armağan, A., Demirel, A., Köroğlu, B. K., Çolakoğlu, N., Kükner, A., & Sönmez, T. T. (2011). Dietary vitamin C and E modulates oxidative stress induced-kidney and lens injury in diabetic aged male rats through modulating glucose homeostasis and antioxidant systems. *Cell Biochemistry and Function*, 29(4), 287–293. <https://doi.org/10.1002/cbf.1749>
- Pacheco, L. V., Parada, J., Pérez-Correa, J. R., Mariotti-Celis, M. S., Erpel, F., Zambrano, A., & Palacios, M. (2020). Bioactive Polyphenols from Southern Chile Seaweed as Inhibitors of Enzymes for Starch Digestion. *Marine Drugs*, 18(7), 1–12. <https://doi.org/10.3390/md18070353>
- Pagano, I., Campone, L., Celano, R., Piccinelli, A. L., & Rastrelli, L. (2021). Green non-conventional techniques for the extraction of polyphenols from agricultural food by-products: A review. *Journal of Chromatography A*, 1651, 462295. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462295>
- Palmeri, R., Siracusa, L., Carrubba, M., Parafati, L., Proetto, I., Pesce, F., & Fallico, B. (2022). Olive Leaves, a Promising Byproduct of Olive Oil Industry: Assessment of Metabolic Profiles and Antioxidant Capacity as a Function of Cultivar and Seasonal Change. *Agronomy*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/agronomy12092007>
- Panja, P. (2018). Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. *Current Opinion in Food Science*, 23, 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.11.012>
- Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M. C., Brunton, N., Gibney, E. R., & Lyng, J. (2021). Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review. *Food Chemistry*, 338(September 2020), 128119. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128119>

- Peršuric, Ž., Saftic, L., Klisovic, D., & Pavelic, S. K. (2019). Polyphenol-based design of functional olive leaf infusions. *Food Technology and Biotechnology*, 57(2), 171–182. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.5921>
- Petridis, A., Therios, I., & Samouris, G. (2012). Genotypic Variation of Total Phenol and Oleuropein Concentration and Antioxidant Activity of 11 Greek Olive Cultivars (*Olea europaea* L.). *HortScience*, 47(3), 339–342. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.3.339>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pivovarov-Ramich, O., Markova, M., Weber, D., Sucher, S., Hornemann, S., Rudovich, N., Raila, J., Sunaga-Franze, D., Sauer, S., Rohn, S., Pfeiffer, A. F. H., & Grune, T. (2020). Effects of diets high in animal or plant protein on oxidative stress in individuals with type 2 diabetes: A randomized clinical trial: High protein diet and oxidative stress. *Redox Biology*, 29(October 2019). <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101397>
- Plaza, M., & Turner, C. (2015). Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 71, 39–54. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.022>
- Poureini, F., Mohammadi, M., Najafpour, G. D., & Nikzad, M. (2020). Comparative study on the extraction of apigenin from parsley leaves (*Petroselinum crispum* L.) by ultrasonic and microwave methods. *Chemical Papers*, 74(11), 3857–3871. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01208-z>
- Putnik, P., Barba, F. J., Španić, I., Zorić, Z., Dragović-Uzelac, V., & Bursać Kovačević, D. (2017). Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (*Olea europaea*). *Food and Bioproducts Processing*, 106, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.08.004>
- Quaresma, D. M. O., Justino, A. B., Sousa, R. M. F., Munoz, R. A. A., de Aquino, F. J. T., Martins, M. M., Goulart, L. R., Pivatto, M., Espindola, F. S., & de Oliveira, A. (2020). Antioxidant compounds from *Banisteriopsis argyrophylla* leaves as α -amylase, α -glucosidase, lipase, and glycation inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 105(September). <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104335>

- Quirantes-Piné, R., Lozano-Sánchez, J., Herrero, M., Ibáñez, E., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2013). HPLC-ESI-QTOF-MS as a Powerful Analytical Tool for Characterising Phenolic Compounds in Olive-leaf Extracts. *Phytochemical Analysis*, 24(3), 213–223. <https://doi.org/10.1002/pca.2401>
- Ragheb, S. R., El Wakeel, L. M., Nasr, M. S., & Sabri, N. A. (2020). Impact of Rutin and Vitamin C combination on oxidative stress and glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Clinical Nutrition ESPEN*, 35, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2019.10.015>
- Rasouli, H., Hosseini-Ghazvini, S. M. B., Adibi, H., & Khodarahmi, R. (2017). Differential α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: A virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Food and Function*, 8(5), 1942–1954. <https://doi.org/10.1039/c7fo00220c>
- Reboredo-Rodríguez, P., Varela-López, A., Forbes-Hernández, T. Y., Gasparri, M., Afrin, S., Cinciosi, D., Zhang, J., Manna, P. P., Bompadre, S., Quiles, J. L., Battino, M., & Giampieri, F. (2018). Phenolic compounds isolated from olive oil as nutraceutical tools for the prevention and management of cancer and cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 1–21. <https://doi.org/10.3390/ijms19082305>
- Rivera-Tovar, P. R., Torres, M. D., Camilo, C., Mariotti-Celis, M. S., Domínguez, H., & Pérez-Correa, J. R. (2021). Multi-response optimal hot pressurized liquid recovery of extractable polyphenols from leaves of maqui (*Aristotelia chilensis* [Mol.] Stuntz). *Food Chemistry*, 357(October 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129729>
- Rodríguez, G., Lama, A., Rodríguez, R., Jiménez, A., Guillén, R., & Fernández-Bolaños, J. (2008). Olive stone an attractive source of bioactive and valuable compounds. *Bioresource Technology*, 99(13), 5261–5269. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.027>
- Rosa, A. D., Junges, A., Fernandes, I. A., Cansian, R. L., Corazza, M. L., Franceschi, E., Backes, G. T., & Valduga, E. (2019). High pressure extraction of olive leaves (*Olea europaea*): bioactive compounds, bioactivity and kinetic modelling. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3864–3876. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03856-w>

- Ruzzolini, J., Peppicelli, S., Bianchini, F., Andreucci, E., Urciuoli, S., Romani, A., Tortora, K., Caderni, G., Nediani, C., & Calorini, L. (2020). Cancer Glycolytic Dependence as a New Target of Olive Leaf Extract. *Cancers*, 12(2), 317. <https://doi.org/10.3390/cancers12020317>
- Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., & Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 512–531. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330>
- Sarian, M. N., Ahmed, Q. U., Mat So'Ad, S. Z., Alhassan, A. M., Murugesu, S., Perumal, V., Syed Mohamad, S. N. A., Khatib, A., & Latip, J. (2017). Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoids: A structure-activity relationship based study. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8386065>
- Sato, H., Genet, C., Strehle, A., Thomas, C., Lobstein, A., Wagner, A., Mioskowski, C., Auwerx, J., & Saladin, R. (2007). Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 362(4), 793–798. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.06.130>
- Segundo, S. (2015). Diabetes Mellitus en el Perú: hacia dónde vamos. *Revista Medica Herediana*, 26(1), 3. <https://doi.org/10.20453/rmh.2015.2340>
- Selim, S., Albqmi, M., Al-Sanea, M. M., Alnusaie, T. S., Almuhayawi, M. S., AbdElgawad, H., Al Jaouni, S. K., Elkelish, A., Hussein, S., Warrad, M., & El-Saadony, M. T. (2022). Valorizing the usage of olive leaves, bioactive compounds, biological activities, and food applications: A comprehensive review. *Frontiers in Nutrition*, 9(November). <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1008349>
- Shang, Y. F., Kim, S. M., & Um, B. H. (2014). Optimisation of pressurised liquid extraction of antioxidants from black bamboo leaves. *Food Chemistry*, 154, 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.050>
- Shi, G.-J., Shi, G.-R., Zhou, J., Zhang, W., Gao, C., Jiang, Y., Zi, Z.-G., Zhao, H., Yang, Y., & Yu, J.-Q. (2018). Involvement of growth factors in diabetes mellitus and its complications: A general review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101(December 2017), 510–527. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.105>
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in Grape Seeds - Biochemistry and Functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291–299. <https://doi.org/10.1089/109662003772519831>

- SIEA. (2022). *Anuario estadístico de producción agrícola 2021*. Boletines Agrícolas. <https://siea.midagri.gob.pe/portal/publicacion/boletines-anuales/4-agricola>
- SIGMA ALDRICH. (2023). *Catalog Products*. <https://www.sigmaaldrich.com/PE/es>
- Silva, P. S., Giopato, F. L., Ineu, R., Bona, E., Dias, M. I., Ferreira, I., Barros, L., Gonçalves, O. H., Leimann, F. V., & Filho, L. C. (2022). Determination of an Optimum Extraction Region for the Recovery of Antioxidants From Olive Leaves (*Olea Europaea L.*) Using Dynamic Ple With Water / ethanol Mixtures. *Research Square*, 1–18. <https://doi.org/https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1498856/v1>
- Singh, S., Singh, D. K., Meena, A., Dubey, V., Masood, N., & Luqman, S. (2019). Rutin protects t-butyl hydroperoxide-induced oxidative impairment via modulating the Nrf2 and iNOS activity. *Phytomedicine*, 55(November 2017), 92–104. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.07.009>
- Singh, V., Al-Malki, F., Sadat Ali, M., Sheikha, S. I., Fletcher, P., Guizani, N., Al-Saidi, O., Al-Hanaai, R., Al-bahri, R., Al-Ghdani, S., Hasan, S. S., & Shah, H. H. (2016). *Rhus aucheri* Boiss, an Omani herbal medicine: Identification and in-vitro antioxidant and antibacterial potentials of its leaves' extracts. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(4), 334–339. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2016.11.002>
- Singleton, V. L., Rossi Jr., J. A., & Rossi J A Jr. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.12691/ijebb-2-1-5>
- Soquetta, M. B., Terra, L. de M., & Bastos, C. P. (2018). Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 400–412. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1411978>
- Striegel, L., Kang, B., Pilkenton, S. J., Rychlik, M., & Apostolidis, E. (2015). Effect of Black Tea and Black Tea Pomace Polyphenols on α -Glucosidase and α -Amylase Inhibition, Relevant to Type 2 Diabetes Prevention. *Frontiers in Nutrition*, 2(February), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fnut.2015.00003>
- Sucharitha, P., Satyanarayana, S., & Reddy, Kb. (2019). Pretreatment and optimization of processing conditions for extraction of oleuropein from olive leaves using central composite design. *Pharmacognosy Research*, 11(2), 178. https://doi.org/10.4103/pr.pr_179_18

- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B., Stein, C., Basit, A., Chan, J. C. N., Mbanya, J. C., Pavkov, M. E., Ramachandaran, A., Wild, S. H., James, S., Herman, W. H., Zhang, P., Bommer, C., Kuo, S., Boyko, E. J., & Magliano, D. J. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 183, 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
- Sun, L., Warren, F. J., & Gidley, M. J. (2019). Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. *Trends in Food Science & Technology*, 91(July), 262–273. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.009>
- Sun, W., Frost, B., & Liu, J. (2017). Oleuropein, unexpected benefits! *Oncotarget*, 8(11), 17409. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6119>.Oncotarget
- Taamalli, A., Arráez-Román, D., Barrajón-Catalán, E., Ruiz-Torres, V., Pérez-Sánchez, A., Herrero, M., Ibañez, E., Micol, V., Zarrouk, M., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2012). Use of advanced techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: Phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 1817–1825. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.090>
- Talhaoui, N., Gómez-Caravaca, A. M., León, L., De la Rosa, R., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2014). Determination of phenolic compounds of “Sikitita” olive leaves by HPLC-DAD-TOF-MS. Comparison with its parents “Arbequina” and “Picual” olive leaves. *Lwt*, 58(1), 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.014>
- Tian, C., Guo, Y., Chang, Y., Zhao, J., Cui, C., & Liu, M. (2019). Dose-effect relationship on anti-inflammatory activity on LPS induced RAW 264.7 cells and antioxidant activity of rutin in vitro. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 76(3), 511–522. <https://doi.org/10.32383/appdr/102677>
- Tian, J., Si, X., Wang, Y. H., Gong, E. S., Xie, X., Zhang, Y., Li, B., & Shu, C. (2021). Bioactive flavonoids from *Rubus corchorifolius* inhibit α -glucosidase and α -amylase to improve postprandial hyperglycemia. *Food Chemistry*, 341. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128149>
- Vergara-Barberán, M., Navarro-Huerta, J. A., Torres-Lapasió, J. R., Simó- Alfonso, E. F., & García-Alvarez, M. C. (2020). Classification of olive leaves and pulp extracts by comprehensive two-dimensional liquid chromatography of polyphenolic fingerprints. *Food Chemistry*, 320(August).

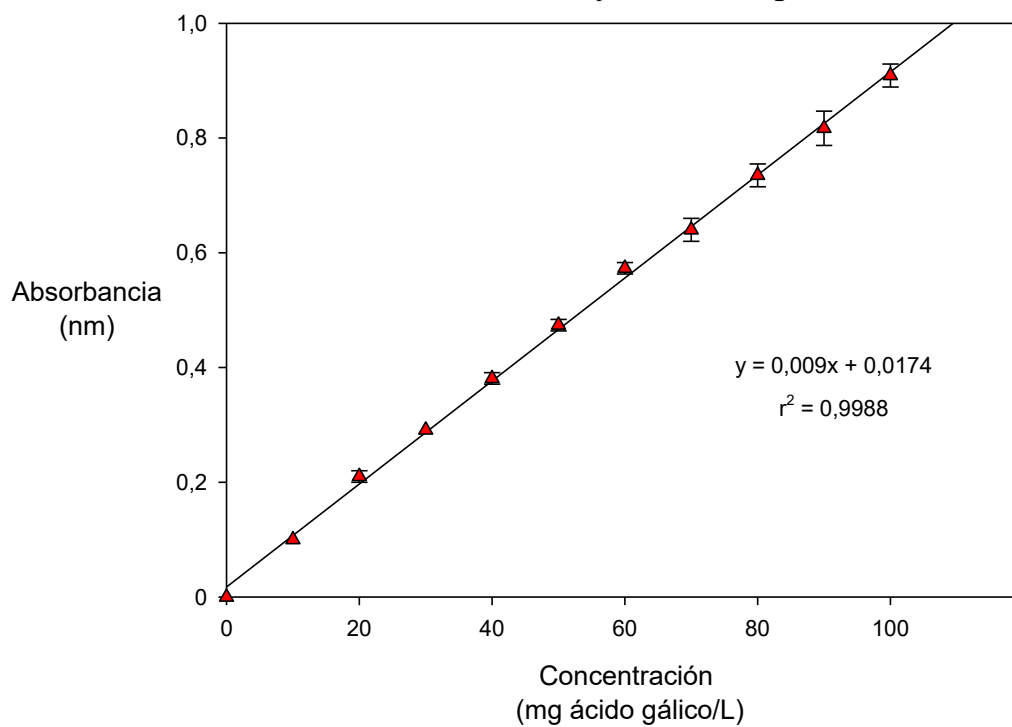
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126630>

- Wang, B., Qu, J., Luo, S., Feng, S., Li, T., Yuan, M., Huang, Y., Liao, J., Yang, R., & Ding, C. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of flavonoids from olive (*Olea europaea*) leaves, and evaluation of their antioxidant and anticancer activities. *Molecules*, 23(10). <https://doi.org/10.3390/molecules23102513>
- Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300–312. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>
- Wang, S., Li, Y., Huang, D., Chen, S., Xia, Y., & Zhu, S. (2022). The inhibitory mechanism of chlorogenic acid and its acylated derivatives on α -amylase and α -glucosidase. *Food Chemistry*, 372(August 2021), 131334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131334>
- Xu, Z., Hao, N., Li, L., Zhang, Y., Yu, L., Jiang, L., & Sui, X. (2019). Valorization of Soy Whey Wastewater: How Epigallocatechin-3-gallate Regulates Protein Precipitation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, acssuschemeng.9b03208. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b03208>
- Xynos, N., Papaefstathiou, G., Psychis, M., Argyropoulou, A., Aliogiannis, N., & Skaltsounis, A. L. (2012). Development of a green extraction procedure with super/subcritical fluids to produce extracts enriched in oleuropein from olive leaves. *Journal of Supercritical Fluids*, 67, 89–93. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2012.03.014>
- Yao, Q., Shen, Y., Bu, L., Yang, P., Xu, Z., & Guo, X. (2019). Ultrasound-assisted aqueous extraction of total flavonoids and hydroxytyrosol from olive leaves optimized by response surface methodology. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 49(9), 837–845. <https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1630648>
- Yilmazer-Musa, M., Griffith, A. M., Michels, A. J., Schneider, E., & Frei, B. (2012). Grape seed and tea extracts and catechin 3-gallates are potent inhibitors of α -amylase and α -glucosidase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 8924–8929. <https://doi.org/10.1021/jf301147n>
- Yu, J., & Ahmedna, M. (2013). Functional components of grape pomace: Their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(2), 221–237. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x>

- Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>
- Žuntar, I., Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Nutrizio, M., Šupljika, F., Poljanec, A., Dubrović, I., Barba, F., & Režek Jambrak, A. (2019). Phenolic and Antioxidant Analysis of Olive Leaves Extracts (*Olea europaea* L.) Obtained by High Voltage Electrical Discharges (HVED). *Foods*, 8(7), 248. <https://doi.org/10.3390/foods8070248>

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Curva de calibración a partir de ácido gálico



Punto de calibración	Concentración (mg ácido gálico/L)	Absorbancia (nm)
	x	Y
1	0	0,000
2	10	0,100
3	20	0,210
4	30	0,291
5	40	0,381
6	50	0,474
7	60	0,573
8	70	0,640
9	80	0,735
10	90	0,817
11	100	0,909

Anexo 2. Contenido de polifenoles totales de los extractos de hojas de olivo

Tratamiento			Absorbancia a 765 nm			Concentración (mg EAG/L)			Corrección con FD (mg EAG/L)			Concentración (mg EAG/gss)			Promedio (mg EAG/gss)
Tecnología de extracción	Solvente	T (°C)	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Extracción por líquidos presurizados	Agua pura	50	0,610	0,618	0,620	65,99	66,87	67,11	1319,90	1337,72	1342,17	13,84	14,03	14,08	13,98
		70	0,690	0,702	0,712	74,90	76,24	77,35	1498,08	1524,80	1547,07	15,74	15,99	16,22	15,97
	Etanol 15%	50	0,780	0,783	0,777	84,93	85,26	84,59	1698,52	1705,20	1691,84	17,81	17,88	17,74	17,81
		70	0,791	0,807	0,815	86,151	87,93	88,82	1723,02	1758,66	1776,47	18,07	18,44	18,63	18,38
	Glicerol 15 %	50	0,416	0,411	0,426	44,39	43,84	45,51	1887,83	876,70	910,10	9,31	9,19	9,54	9,35
		70	0,840	0,854	0,858	91,61	93,17	93,61	1832,15	1863,33	1872,24	19,21	19,54	19,63	19,46
Extracción asistida por ultrasonido	Agua pura	50	0,322	0,324	0,330	33,92	34,15	34,82	678,48	682,48	696,29	7,12	7,16	7,30	7,19
		70	0,498	0,500	0,501	53,52	53,75	53,86	1070,46	1047,91	1077,14	11,23	11,27	11,30	11,26
	Etanol 15%	50	0,664	0,668	0,662	72,01	72,54	71,79	1440,17	1449,08	1435,72	15,10	15,20	15,06	15,12
		70	0,677	0,686	0,687	73,46	74,46	74,57	1469,12	1489,17	1491,40	15,41	15,62	15,64	15,56
	Glicerol 15 %	50	0,597	0,593	0,609	64,55	64,10	65,88	1290,95	1282,04	1317,68	13,54	13,44	13,82	13,60
		70	0,767	0,772	0,772	83,48	84,04	84,04	1669,57	1680,70	1680,70	17,51	17,63	17,63	17,59

T: temperatura, R: repetición, FD: factor de dilución

Anexo 3. Capacidad antioxidante por DPPH de los extractos de hojas de olivo

Tratamiento			Absorbancia a 517 nm			% de inhibición			IC ₅₀ (mg/mL)			Promedio IC ₅₀ (mg/mL)
Tecnología de extracción	Solvente	T (°C)	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Extracción por líquidos presurizados	Agua pura	50	0,187	0,189	0,183	55,33	54,86	56,29	15,20	15,34	14,95	15,16
			0,327	0,329	0,325	21,90	21,42	22,37				
			0,349	0,352	0,350	16,64	15,92	16,40				
		70	0,198	0,200	0,196	52,71	52,23	53,19	10,37	10,32	10,19	10,30
			0,283	0,264	0,275	32,40	36,94	34,32				
			0,302	0,290	0,300	27,87	30,73	28,34				
	Etanol 15%	50	0,155	0,147	0,151	63,36	65,25	64,30	7,25	7,03	7,13	7,14
			0,286	0,291	0,288	32,39	31,21	31,92				
			0,325	0,319	0,321	23,17	24,59	24,11				
		70	0,125	0,118	0,130	70,50	72,10	69,27	6,54	6,33	6,64	6,50
			0,294	0,285	0,290	30,50	32,62	31,44				
			0,319	0,321	0,323	24,59	24,11	23,64				
	Glicerol 15 %	50	0,131	0,110	0,122	71,63	76,17	73,57	21,14	19,47	20,30	20,30
			0,226	0,217	0,221	51,05	53,00	52,13				
			0,336	0,321	0,328	27,22	30,47	28,95				
		70	0,172	0,165	0,171	59,34	61,00	59,57	4,20	4,00	4,13	4,11
			0,257	0,244	0,250	39,24	42,32	40,90				
			0,303	0,295	0,299	28,37	30,26	29,31				
Extracción asistida por ultrasonido	Agua pura	50	0,214	0,197	0,204	53,65	57,33	55,81	30,30	28,30	29,13	29,24
			0,294	0,283	0,288	36,32	38,70	37,62				
			0,391	0,379	0,385	15,31	17,91	16,61				
		70	0,152	0,135	0,142	63,70	67,76	66,08	7,36	7,08	7,19	7,21
			0,227	0,215	0,220	45,78	48,65	47,45				
			0,258	0,267	0,264	38,38	36,23	36,94				
	Etanol 15%	50	0,178	0,174	0,180	57,48	58,44	57,01	7,14	7,02	7,23	7,13
			0,253	0,252	0,259	39,57	39,81	38,14				
			0,271	0,268	0,266	35,27	35,99	36,47				
		70	0,207	0,204	0,205	50,56	51,27	51,04	5,46	5,41	5,39	5,42
			0,231	0,231	0,228	44,83	44,83	45,54				
			0,267	0,259	0,260	36,23	38,14	37,90				
	Glicerol 15 %	50	0,159	0,157	0,160	62,02	62,50	61,78	9,68	9,74	9,70	9,71
			0,229	0,235	0,232	45,30	43,87	44,59				
			0,289	0,290	0,284	30,97	30,73	32,17				
		70	0,149	0,142	0,145	64,78	66,43	65,72	4,31	4,40	4,35	4,35
			0,234	0,241	0,237	44,68	43,03	43,97				
			0,273	0,284	0,279	35,46	32,86	34,04				

T(°C): temperatura. R: repetición.

Anexo 4. Transformación de datos DPPH correspondiente al análisis estadístico

Tratamiento			DPPH IC ₅₀ (mg/mL)			Transformación Ln (DPPH)			Promedio Ln (DPPH)	Promedio e ^{Ln(DPPH)} (mg/mL)
Tecnología de extracción	Solvente	T (°C)	R1	R2	R3	R1	R2	R3		
Extracción por líquidos presurizados	Agua pura	50	15,20	15,34	14,95	2,7213	2,7305	2,7047	2,7188	15,16
		70	10,37	10,32	10,19	2,3389	2,3341	2,3214	2,3315	10,29
	Etanol 15%	50	7,25	7,03	7,13	1,9810	1,9502	1,9643	1,9652	7,14
		70	6,54	6,33	6,64	1,8779	1,8453	1,8931	1,8721	6,50
	Glicerol 15 %	50	21,14	19,47	20,30	3,0512	2,9689	3,0106	3,0102	20,29
		70	4,20	4,00	4,13	1,4351	1,3863	1,4183	1,4132	4,11
Extracción asistida por ultrasonido	Agua pura	50	30,30	28,30	29,13	3,4111	3,3429	3,3718	3,3753	29,23
		70	7,36	7,08	7,19	1,9961	1,9573	1,9741	1,9758	7,21
	Etanol 15%	50	7,14	7,02	7,23	1,9657	1,9488	1,9782	1,9642	7,13
		70	5,46	5,41	5,39	1,6974	1,6882	1,6845	1,6900	5,42
	Glicerol 15 %	50	9,68	9,74	9,70	2,2701	2,2762	2,2721	2,2728	9,71
		70	4,31	4,40	4,35	1,4609	1,4816	1,4702	1,4709	4,35

T(°C): Temperatura. R: repetición.

Anexo 5. Capacidad antioxidante por ORAC de los extractos de hojas de olivo

Tecnología de extracción	Tratamiento		Concentración (μM)			Corrección con FD (μM)			Concentración (μmol ET/gss)			Promedio (μmol ET/gss)
	Solvente	T (°C)	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Extracción por líquidos presurizados	Agua pura	50	14,67	14,59	14,84	14670	14590	14840	153,84	153,00	155,62	154,15
		70	20,11	19,35	18,12	40220	38700	36240	421,75	405,81	380,02	402,53
	Etanol 15%	50	12,76	14,18	14,33	25520	28360	28660	267,64	297,43	300,57	288,55
		70	7,07	7,13	7,45	42420	42780	44700	444,86	448,64	468,77	454,09
	Glicerol 15 %	50	10,30	10,56	11,83	10300	10560	10830	108,01	110,74	124,06	114,27
		70	12,35	11,96	11,74	49400	46760	46960	518,02	490,33	492,43	500,26
Extracción asistida por ultrasonido	Agua pura	50	20,53	19,98	19,25	10265	9990	9625	107,65	104,77	100,94	104,46
		70	9,90	8,94	9,77	19800	17880	19540	207,64	187,51	204,92	200,02
	Etanol 15%	50	12,97	12,46	12,69	25940	24920	25380	272,02	261,33	266,15	266,50
		70	7,10	7,33	7,51	28400	29320	30040	297,81	307,45	315,00	306,75
	Glicerol 15 %	50	11,36	11,71	11,56	22720	23420	23120	238,28	245,62	242,47	242,12
		70	10,78	11,95	12,23	43120	47800	48920	452,20	501,28	513,02	488,84

T(°C): temperatura. R: repetición. FD: factor de dilución.

Anexo 6. Transformación de datos ORAC de extracción asistida por ultrasonido correspondiente al análisis estadístico

Tecnología de extracción	Tratamiento		ORAC ($\mu\text{mol ET/gss}$)			Transformación Ln (ORAC)			Promedio Ln (ORAC)	Promedio $e^{\text{Ln(ORAC)}}$ ($\mu\text{mol ET/gss}$)
	Solvente	T (°C)	R1	R2	R3	R1	R2	R3		
Extracción asistida por ultrasonido	Agua pura	50	107,65	104,77	100,94	4,6789	4,6518	4,6145	4.6484	104,42
		70	207,64	187,51	204,92	5,3358	5,2338	5,3226	5,2974	199,82
	Etanol 15%	50	272,02	261,33	266,15	5,6059	5,5658	5,5841	5,5853	266,48
		70	297,81	307,45	315,00	5,6965	5,7283	5,7526	5,7258	306,68
	Glicerol 15 %	50	238,28	245,62	242,47	5,4734	5,5038	5,4909	5,4894	242,11
		70	452,20	501,28	513,02	6,1141	6,2172	6,2403	6,1905	488,09

T (°C): temperatura, R: repetición.

Anexo 7. Parámetros para la identificación de polifenoles específicos mediante UHPLC-DAD

Polifenol específico	Longitud de onda (nm)	Ecuación lineal	r²
Hidroxitirosol	280	$y = 22,656x - 2,214$	0,9993
Tirosol	270	$y = 15,075x + 1,372$	0,9998
Catequina	280	$y = 25,251x - 0,531$	0,9999
Epicatequina	280	$y = 43,395x + 2,155$	0,9999
A. vanílico	280	$y = 141,992x + 5,457$	0,9998
Rutina	270	$y = 6,615x + 1,780$	0,9992
Procianidina A2	280	$y = 59,280x - 0,796$	0,9999
Quercitrina	270	$y = 24,462x + 2,283$	0,9997
Oleuropeína	280	$y = 9,512x - 2,997$	0,9972
Resveratrol	324	$y = 78,810x + 31,358$	0,9985
Apigenina	324	$y = 71,169x + 0,871$	0,9998
Kaempferol	373	$y = 38,023x - 1,536$	0,9997

Polifenol específico	Tiempo de retención (min)	Límite de detección (ng/mL)	Límite de cuantificación (ng/mL)
Hidroxitirosol	3,66	1,7	5,1
Tirosol	5,412	0,2	0,7
Catequina	5,877	2,9	8,7
Epicatequina	7,149	0,9	2,6
Ácido vanílico	7,678	0,3	0,8
Rutina	8,960	0,1	0,3
Procianidina A2	9,638	0,5	1,4
Quercitrina	10,328	0,5	1,6
Oleuropeína	11,403	1,8	5,5
Resveratrol	11,891	7,6	22,9
Apigenina	14,920	0,7	2,2
Kaempferol	15,335	4,9	14,7

Anexo 8. Perfil de polifenoles presentes en los extractos de hojas de olivo

Polifenol específico	Extracción por líquidos presurizados																							
	50°C												70°C											
	Agua pura				Etanol 15%				Glicerol 15%				Agua pura				Etanol 15%				Glicerol 15%			
	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}
A. vanílico	3,41	3,63	3,74	3,59	3,68	3,78	3,48	3,65	3,44	3,54	3,61	3,53	4,61	5,07	4,87	4,85	4,95	5,15	5,03	5,04	5,96	5,19	4,96	5,37
Resveratrol	18,16	18,34	18,29	18,26	18,13	18,02	18,17	18,11	17,22	16,89	17,02	17,04	19,10	19,59	19,55	19,41	17,77	17,21	17,94	17,64	19,89	20,37	20,17	20,14
Catequina	8,05	9,05	8,69	8,59	3,40	3,22	3,56	3,39	8,08	8,01	7,88	7,99	9,36	10,11	9,65	9,71	10,84	9,22	10,54	10,20	3,99	4,68	4,06	4,24
Epicatequina	8,59	9,86	8,96	9,14	2,93	3,21	3,14	3,09	7,53	8,71	8,29	8,18	8,17	9,02	7,96	8,38	2,73	3,21	2,94	2,96	8,29	9,93	8,59	8,94
Procianidina A2	13,64	12,80	12,41	12,95	21,51	24,18	20,14	21,94	10,27	11,23	11,47	10,99	14,23	16,56	14,89	15,22	22,82	21,38	23,01	22,40	27,73	31,53	28,31	29,19
Quercitrina	67,29	69,03	58,27	64,86	105,70	110,24	108,36	108,10	79,74	82,64	81,30	81,23	85,43	89,14	88,22	87,60	112,43	115,21	113,65	113,76	205,18	209,54	208,55	207,76
Kaempferol	2,17	2,20	2,09	2,15	2,87	3,02	2,89	2,93	2,26	2,33	2,19	2,26	2,29	2,11	2,40	2,27	2,35	2,61	2,48	2,48	2,23	2,50	2,45	2,39
Rutina	0,00	0,00	0,00	0,00	1,53	1,84	1,66	1,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	55,79	52,14	51,32	53,08	0,00	0,00	0,00	0,00
Apigenina	2,38	2,74	2,61	2,58	7,01	7,32	7,12	7,15	4,84	4,96	5,03	4,94	3,56	3,62	3,41	3,53	15,86	17,20	16,21	16,42	12,33	13,74	12,89	12,99
Hidroxitirosol	7,44	8,07	7,59	7,70	5,98	6,70	6,49	6,39	5,02	6,62	5,98	5,87	6,45	7,36	6,79	6,87	8,74	8,46	8,67	8,63	9,64	8,95	9,74	9,44
Tirosol	13,39	12,06	12,84	12,76	13,52	13,41	13,29	13,41	9,80	10,95	10,47	10,41	17,03	17,54	17,06	17,21	11,48	12,41	11,87	11,92	17,07	18,36	17,94	17,79
Oleuropeína	79,34	80,12	75,12	78,20	92,94	94,22	93,74	93,63	87,20	88,61	86,67	87,49	101,81	98,14	100,61	100,19	144,38	149,98	146,26	146,88	168,46	175,63	170,36	171,48

R: repetición. \bar{X} : promedio expresado en microgramos por gramo de solido seco (µg/gss).

Polifenol específico	Extracción asistida por ultrasonido																							
	50°C												70°C											
	Agua pura				Etanol 15%				Glicerol 15%				Agua pura				Etanol 15%				Glicerol 15%			
	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}
A. vanílico	3,13	3,05	2,83	3,00	3,12	3,23	2,88	3,08	2,80	2,46	2,84	2,70	3,54	4,31	3,97	3,94	3,41	3,57	3,76	3,58	5,60	5,80	6,42	5,94
Resveratrol	17,97	16,69	16,98	17,21	18,52	16,69	17,9	17,70	18,14	16,69	16,74	17,19	17,51	17,81	17,76	17,69	18,01	17,94	18,34	18,10	18,91	19,48	19,07	19,15
Catequina	5,68	6,25	5,84	5,92	4,09	4,74	4,20	4,34	7,13	6,54	7,03	6,90	4,94	5,77	5,51	5,41	4,03	4,26	4,10	4,13	6,63	5,95	5,78	6,12
Epicatequina	4,34	4,71	4,89	4,64	3,21	3,92	3,56	3,56	7,08	7,16	8,24	7,49	9,51	8,58	7,96	8,68	2,88	3,31	3,08	3,09	7,40	7,36	6,22	7,00
Procianidina A2	6,21	7,05	6,87	6,71	16,29	15,72	14,48	15,50	11,72	12,96	11,43	12,03	7,45	7,36	7,61	7,47	19,09	20,82	19,41	19,77	20,22	21,15	22,64	21,34
Quercitrina	27,08	30,25	28,4	28,58	99,54	99,89	101,20	100,21	88,97	87,52	90,1	88,86	18,50	19,02	19,37	18,96	81,92	83,49	82,17	82,53	116,09	120,43	118,20	118,24
Kaempferol	1,88	1,86	1,97	1,90	2,19	2,21	2,08	2,16	2,11	2,04	2,03	2,06	1,86	1,88	1,94	1,89	2,87	2,96	2,63	2,82	2,17	2,36	2,28	2,27
Rutina	0,00	0,00	0,00	0,00	3,12	3,45	3,31	3,29	0,00	0,00	0,00	0,00	1,33	1,54	1,49	1,45	62,93	63,65	63,19	63,26	58,47	56,39	57,43	57,43
Apigenina	2,63	2,87	2,49	2,66	8,31	8,41	9,01	8,58	6,84	6,37	6,78	6,66	0,26	0,31	0,29	0,29	2,78	3,16	2,97	2,97	10,86	12,48	11,23	11,52
Hidroxitirosol	5,33	4,44	4,89	4,89	6,42	6,96	5,82	6,40	6,96	6,64	6,49	6,70	26,93	30,77	28,65	28,78	30,25	29,89	30,01	30,05	41,00	42,88	41,97	41,95
Tirosol	12,15	12,42	12,28	12,28	13,75	13,24	13,48	13,49	11,69	12,05	11,79	11,84	4,44	4,92	4,80	4,72	2,78	3,01	2,64	2,81	6,36	6,67	6,43	6,49
Oleuropeína	103,33	109,38	101,76	104,82	127,28	138,60	132,51	132,80	113,43	116,09	115,49	115,01	186,00	179,27	183,11	18,79	227,13	224,29	229,14	226,85	246,98	248,96	244,16	246,70

R: repetición. \bar{X} : promedio expresado en microgramos por gramo de solido seco (µg/gss).

Anexo 9. Ficha técnica de acarbosa - medicamento

1. Nombre del medicamento

Acarbosa Milán 100 mg comprimidos.

2. Composición cualitativa y cuantitativa

Cada comprimido contiene 100 mg de acarbosa. Para lista completa de excipientes, ver sección 6.1.

3. Forma farmacéutica

Comprimidos

Comprimido ovalado de color blanco a blanquecino, marcado con “AA” ranura “100” en una cara y “G” ranura en la otra cara, de aproximadamente 13 mm x 6,5 mm. El comprimido se puede dividir en dosis iguales.

4. DATOS CLÍNICOS

4.1. Indicaciones terapéuticas

Acarbosa está indicada en adultos y adolescentes mayores de 18 años.

Acarbosa está recomendada para el tratamiento de la diabetes mellitus no insulino-dependiente (NIDDM) cuando con dieta y ejercicio no se puede controlar la glucemia. Acarbosa se puede administrar en combinación con metformina, sulfonilurea o insulina.

4.2. Posología y forma de administración

Posología

El médico ajustará la dosis individualmente, ya que la eficacia y la tolerancia difiere de un paciente a otro.

Se puede aumentar la dosis en intervalos de 4 – 8 semanas, y siempre que el paciente muestre una respuesta clínica inadecuada, también en el curso más avanzado del tratamiento.

Adultos

La dosis inicial es de 3 x 1 comprimidos de acarbosa (50 mg) o 3 x ½ comprimido Acarbosa 100 mg (que se corresponde con una dosis diaria de 150 mg de acarbosa).

En algunos pacientes, un incremento gradual de la dosis de acarbosa ha ayudado a reducir los efectos adversos gastrointestinales, comenzando por una dosis de 1 a 2 x 1 comprimido Acarbosa 50 mg (correspondiente a de 50 a 100 mg de acarbosa por día). La dosis puede irse aumentando gradualmente dependiendo de los niveles de azúcar en sangre de los pacientes, así como si el tratamiento no es suficientemente efectivo se puede aumentar a 3 x 2 comprimidos de Acarbosa 50 mg o 3 x 1 comprimido de Acarbosa 100 mg (equivalente a 300 mg de acarbosa al día). Si son necesarias dosis altas se debería utilizar comprimidos de dosis altas.

La dosis media es de 150 a 300 mg de acarbosa al día dependiendo de los requisitos individuales del paciente. Puede ser necesario incrementar la dosis en casos excepcionales a 3 x 2 comprimidos de acarbosa 100 mg (correspondientes a 600 mg de acarbosa por día).

Si se presentan síntomas molestos a pesar del cumplimiento estricto de la dieta, no se debe aumentar más la dosis, reduciéndola si fuera necesario (ver sección 4.8).

Duración del tratamiento

Acarbosa 100 mg se utiliza normalmente en tratamientos de larga duración.

Pacientes de edad avanzada

No es necesario ningún ajuste de la dosis en función de la edad del paciente.

Población pediátrica

No se ha establecido la seguridad y eficacia de acarbosa en niños y adolescentes menores de 18 años.

Acarbosa 100 mg no está recomendada en niños y adolescentes menores de 18 años.

Forma de administración

El efecto máximo de Acarbosa 100 mg se alcanza si se tragan los comprimidos con un poco de líquido directamente al principio de la comida o se mastican con los primeros bocados de la comida.

4.3. Contraindicaciones

- Hipersensibilidad al principio activo o a alguno de los excipientes incluidos en la sección 6.1.
- Alteraciones intestinales crónicas asociadas con trastornos de la digestión y de la absorción.
- Enfermedad inflamatoria intestinal, úlcera de colon, obstrucción intestinal parcial o predisposición a obstrucción intestinal.
- Condiciones que pueden empeorar como resultado de un incremento de la acumulación de gases intestinales (p. ej. síndrome de Roemheld, hernias intestinales graves, estrechamiento y ulceración intestinal).
- Insuficiencia renal grave (aclaramiento de creatinina < 25 ml/min).
- Insuficiencia hepática grave (p.ej. cirrosis hepática).

4.4. Advertencias y precauciones especiales de empleo

Hipoglucemia

Acarbosa posee un efecto antihiper glucemiante pero, por sí solo, no origina hipoglucemia. Si acarbosa se prescribe como adición a otro medicamento para bajar los niveles de glucosa en sangre (p. ej. sulfonilureas, metformina o insulina), una bajada en los valores de glucosa en sangre en el rango de hipoglucemia puede requerir un ajuste de la dosis de estos medicamentos.

Dado que la acarbosa retrasa la absorción y digestión de sacarosa, se recomienda que, si se produce una hipoglucemia aguda como resultado de un requerimiento de insulina en pacientes tratados con insulina, sulfonilureas o metformina, se debe usar glucosa (no azúcar comercial [azúcar de caña]) para corregir rápidamente la hipoglucemia (ver sección 4.5). Si un paciente tiene información médica relacionada con su afección (p. ej. en una tarjeta, una muñequera o una cadena), se debe incluir el tratamiento con acarbosa.

Insuficiencia hepática

Se han notificado casos de hepatitis fulminante durante el tratamiento con acarbosa. El mecanismo es desconocido, sin embargo, acarbosa puede contribuir a una fisiopatología multifactorial de lesión hepática.

Se pueden producir elevaciones asintomáticas de los enzimas hepáticos en algunos casos, con cambios clínicos relevantes (hasta tres veces el valor normal).

El incremento de los enzimas hepáticos es generalmente reversible después de la interrupción del tratamiento. Si se observa incremento de los enzimas hepáticos, se puede indicar una reducción de la dosis o interrupción del tratamiento, particularmente si las elevaciones persisten. Por tanto, se recomienda hacer un control periódico de los enzimas hepáticos en los primeros 6-12 meses de tratamiento (ver sección 4.8).

Insuficiencia gastrointestinal

Si se sospecha de íleo o subíleo, el tratamiento debe interrumpirse inmediatamente (ver sección 4.8). En pacientes con resección gástrica la acarbosa puede ser liberada al intestino delgado más rápidamente de lo habitual cuando una respuesta farmacológica más rápida. No se han observado mayor incremento de efectos adversos en estos pacientes.

Población pediátrica

No se ha establecido la seguridad y eficacia de acarbosa en pacientes menores de 18 años.

Es esencial el cumplimiento estricto de una dieta cuando se está tomando acarbosa.

No se debe interrumpir la toma irregular de acarbosa sin consejo médico ya que podría producirse un incremento de glucosa en sangre.

4.5. Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

Azúcar común (azúcar de caña) y alimentos que contienen azúcar comercial

- La sacarosa (azúcar de mesa), así como los alimentos que contengan sacarosa, a menudo causan molestias abdominales o incluso diarrea como resultado del aumento de la fermentación de carbohidratos en el colon durante el tratamiento de acarbosa (ver sección 4.8).

Insulina o preparaciones con sulfonilurea o metformina

- Acarbosa posee un efecto antihiper glucemiante pero, por sí solo, no origina hipoglucemia. Si acarbosa se prescribe como adición a sulfonilureas, metformina o insulina, una bajada de glucosa en sangre dentro del rango de hipoglucemia puede ser necesario una disminución de la dosis de las sulfonilureas, metformina o insulina.
- Se han notificado casos aislados de choque hipoglucémico.
- En caso de hipoglucemia aguda se deberá tener en cuenta que la metabolización de la sacarosa en fructosa y glucosa es más lenta durante el tratamiento; por este motivo, la sacarosa no es adecuada para el alivio rápido de una hipoglucemia y en su lugar se deberá utilizar glucosa.

Digoxina

- Acarbosa puede afectar la biodisponibilidad de digoxina en algunos casos, haciendo necesario el ajuste de dosis de digoxina.

Colestiramina, adsorbentes intestinales y preparaciones con enzimas digestivas

- Se debe evitar la administración simultánea de antiácidos, colestiramina, adsorbentes intestinales (p.ej. carbón activo) y medicamentos con enzimas digestivos (p.ej. amilasa, pancreatina), puesto que existe la posibilidad de que influyan sobre la acción de acarbosa.
- Algunos agentes terapéuticos como tiazida y otros diuréticos, corticosteroides, fenotiazina, hormonas tiroideas, estrógenos, contraceptivos orales, fenitoína, ácido nicotínico, bloqueadores del canal de calcio e isoniazida pueden causar hiperglucemia, lo que puede atenuar los efectos farmacodinámicos de acarbosa. Los niveles de glucosa en sangre deben ser monitorizados si se administra alguno de estos componentes a un paciente junto a acarbosa o si se contempla que el paciente puede recibir uno de estos medicamentos.

Neomicina

- La administración concomitante de acarbosa y neomicina oral puede producir una reducción de glucosa en sangre postprandial y un aumento en la frecuencia y gravedad de los efectos adversos gastrointestinales. Si los

síntomas son severos, puede considerarse una reducción temporal de la dosis de acarbosa.

4.6. Fertilidad, embarazo y lactancia

Embarazo

Acarbosa no debe administrarse durante el embarazo puesto que no se dispone de información de estudios clínicos sobre su uso en mujeres embarazadas. Estudios en animales no indican daño directo o indirecto con respecto a la toxicidad reproductiva (ver sección 5.3).

Lactancia

Tras la administración de acarbosa marcada radioactivamente en ratas lactantes, se recuperó una pequeña cantidad de radioactividad en la leche. Hasta el momento no se dispone de hallazgos equivalentes en humanos. No obstante, dado que no se ha excluido la posibilidad de efectos inducidos por el fármaco en lactantes, no se recomienda la prescripción de acarbosa durante la lactancia materna.

Fertilidad

Los estudios realizados con animales no mostraron efectos perjudiciales directos o indirectos con respecto a la toxicidad para la función reproductora (ver sección 5.3). No se observaron trastornos de la fertilidad en animales.

4.7. Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas

No se dispone de datos sobre la alteración de la capacidad de conducir vehículos o manejar maquinaria durante el tratamiento con acarbosa.

Debido a que la monoterapia con acarbosa no provoca hipoglucemia, la influencia de la acarbosa sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas es nula o insignificante. Los pacientes deben ser informados que la combinación de acarbosa con sulfonilureas, metformina o insulina puede producir hipoglucemia.

4.8. Reacciones adversas

Las reacciones adversas con acarbosa halladas en los ensayos clínicos controlados con placebo y clasificadas según las categorías de frecuencia CIOMS III (estudios controlados con placebo en la base de datos de ensayos

clínicos: acarbosa N = 8595; placebo N = 7278; status: 10 de febrero de 2006) se enumeran a continuación.

En cada grupo de frecuencia, las reacciones adversas se presentan en orden decreciente de gravedad.

Las frecuencias se definen como muy frecuentes ($\geq 1/10$), frecuentes (de $\geq 1/100$ a $< 1/10$), poco frecuentes (de $\geq 1/1.000$ a $< 1/100$), raras (de $\geq 1/10.000$ a $< 1/1.000$) y frecuencia no conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles).

Las reacciones adversas identificadas durante la vigilancia post-comercialización (status: 31 de diciembre de 2005) y para las cuáles no se ha podido estimar la frecuencia, se clasificarán como frecuencia “no conocida”.

Clasificación de órganos del sistema	Muy frecuente ($\geq 1/10$)	Frecuentes ($\geq 1/100$, $< 1/10$)	Poco frecuentes ($\geq 1/1000$, $< 1/100$)	Raros ($\geq 1/10.000$, $< 1/1000$)	No conocida
Trastornos de la sangre y sistema linfático					Trombocitopenia
Trastornos del sistema inmune					Hipersensibilidad al medicamento e hipersensibilidad (erupción, ritema, exantema, urticaria)
Trastornos vasculares				Edema	
Trastornos gastrointestinales (1)	Flatulencia Borborismo Distensión abdominal	Diarrea Dolor abdominal y gastrointestinal	Náuseas Vómitos Dispepsia		Subíleo / Íleo Estreñimiento Neumatosis quística intestinal
Trastornos hepatobiliares (2)			Aumento de las transaminasas	Ictericia	Hepatitis
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo					Pustulosis exantemática aguda generalizada

(1) La diarrea y el dolor abdominal y gastrointestinal pueden suceder posteriormente a la ingestión de alimentos que contienen sacarosa. La falta de cumplimiento de la dieta prescrita puede dar lugar a una intensificación de los efectos adversos intestinales.

En caso de aparecer síntomas graves, a pesar de seguir la dieta diabética prescrita, se debe consultar al médico y se puede reducir la dosis temporal o permanentemente. Si la diarrea persiste, los pacientes deben estar controlados minuciosamente y se debe reducir la dosis o suspender el tratamiento, en caso de que sea necesario.

(2) En raras ocasiones se han observado pruebas anómalas de la función hepática clínicamente significativas (tres veces por encima del límite superior de los valores normales) en pacientes tratados con la dosis recomendada de 150 mg a 300 mg de acarbosa al día. Los valores anómalos pueden ser transitorios durante el tratamiento con acarbosa (ver sección 4.4).

Tras la comercialización se han notificado casos de trastornos de la función del hígado, función hepática anormal y daño hepático, especialmente en Japón.

En Japón se han observado casos aislados de insuficiencia hepática fulminante. No está claro que esto sea como resultado de la toma de acarbosa.

Si se sospecha de íleo o subíleo, se debe interrumpir el tratamiento inmediatamente.

Notificación de sospechas de reacciones adversas

Es importante notificar sospechas de reacciones adversas al medicamento tras su autorización.

Ello permite una supervisión continuada de la relación beneficio/riesgo del medicamento.

Se invita a los profesionales sanitarios a notificar las sospechas de reacciones adversas a través del sistema nacional de notificación, incluido en el Apéndice V.

4.9. Sobredosis

Cuando acarbosa se ingiere juntamente con bebidas y/o comidas que contienen carbohidratos (polisacáridos, oligosacáridos o disacáridos), la sobredosis puede dar lugar a meteorismo, flatulencia y diarrea. Sin embargo, en el caso de que acarbosa haya sido ingerido de forma separada de la comida, no son de esperar excesivos síntomas intestinales.

En caso de sobredosis, se evitará la ingestión de bebidas y/o comidas que contengan carbohidratos (polisacáridos, oligosacáridos y disacáridos) durante las 4-6 horas siguientes.

5. Propiedades farmacológicas

5.1. Propiedades farmacodinámicas

Grupo farmacoterapéutico: fármacos utilizados en la diabetes, inhibidores de la alfa glucosidasa, código ATC: A10BF01.

A través de la inhibición reversible de la α -glucosidasa, la acarbosa retrasa la degradación enzimática de disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos en el intestino delgado y esto da lugar a un retraso dependiente de la dosis en la digestión de estos hidratos de carbono. La glucosa derivada de los hidratos de carbono se libera y pasa a la sangre más lentamente. De esta forma, la acarbosa retrasa y reduce el aumento posprandial de glucosa en sangre. Acarbosa no estimula la secreción de insulina, pero alivia las células beta mediante la reducción del aumento de la glucemia. Se evita la hiperinsulinemia posprandial compensatoria.

El tratamiento con acarbosa no conduce a un aumento en el peso corporal. En pacientes con diabetes manifiesta se observó una sensibilidad insulínica mejorada. Durante el tratamiento con acarbosa, la glucemia en ayunas y la hemoglobina glucosilada (HbA1, HbA1c) disminuyeron significativamente.

La hora a la que se toma la acarbosa determina su efectividad: el efecto máximo se alcanza si se toma junto a los primeros bocados de la comida principal. Si se toma 30 minutos antes del comienzo de la comida se reduce la efectividad de la acarbosa significativamente. Sin embargo, tomar acarbosa 15 minutos después del comienzo de una comida casi no tiene ninguna repercusión en el efecto.

En estudios realizados durante varios años, la acarbosa mantuvo su efecto durante todo el periodo de tratamiento. Las enzimas del intestino delgado no disminuyen su actividad y por tanto se mantiene el efecto de la acarbosa.

En un metanálisis de 7 estudios doble ciegos controlados con placebo realizados en 2180 pacientes con diabetes de tipo 2 la acarbosa disminuyó significativamente los episodios cardiovasculares agudos, en especial el infarto de miocardio, en el curso del tratamiento durante 52 semanas como mínimo.

5.2. Propiedades farmacocinéticas

La farmacocinética de la acarbosa se investigó tras la administración oral de la sustancia marcada (200 mg) en voluntarios sanos.

Absorción

Dado que, de promedio, un 35% de la radiactividad total (suma de la sustancia inhibidora y de los productos de degradación) se excretó por vía renal en 96 horas, puede suponerse que el grado de absorción se sitúa como mínimo en este rango.

La evolución de la concentración de la radiactividad total en plasma registró dos máximos. El primer máximo, con una concentración media de equivalencia de la acarbosa de $52,2 \pm 15,7 \mu\text{g} / \text{l}$ tras $1,1 \pm 0,3 \text{ h}$, coincidió con los datos correspondientes a la evolución de la concentración de la sustancia inhibidora ($49,5 \pm 26,9 \mu\text{g} / \text{l}$ tras $2,1 \pm 1,6 \text{ h}$). El segundo máximo alcanzó $586,3 \pm 282,7 \mu\text{g} / \text{l}$ de media y se consiguió tras $20,7 \pm 5,2 \text{ h}$. El segundo máximo fue más alto tras aproximadamente 14-24 horas y esto se atribuye a la absorción de productos de degradación bacteriana en el intestino grueso. A diferencia de la radiactividad total, las concentraciones plasmáticas máximas de la sustancia inhibidora eran inferiores en un factor de entre 10 y 20.

Distribución

Se ha calculado un volumen de distribución relativo de $0,32 \text{ l/kg}$ de peso corporal en voluntarios sanos, a partir de la evolución de las concentraciones en plasma (dosis intravenosa de $0,4 \text{ mg/kg}$ de peso corporal).

Excreción

La semivida de eliminación plasmática de la sustancia inhibidora fue de $3,7 \pm 2,7 \text{ h}$ para la fase de distribución y de $9,6 \pm 4,4 \text{ h}$ para la fase de eliminación.

La proporción de la sustancia inhibidora excretada en orina fue de un 1,7% de la dosis administrada. Un 51% se eliminó a través de las heces en las 96 h siguientes a su administración.

Biodisponibilidad

La biodisponibilidad es del 1%-2%. Este porcentaje extremadamente bajo de la sustancia inhibidora en sangre es deseable y no influye en el efecto terapéutico.

5.3. Datos preclínicos sobre seguridad

Los datos de los estudios no clínicos no muestran riesgos especiales para los seres humanos según los estudios convencionales de farmacología de seguridad, toxicidad a dosis repetidas, genotoxicidad, toxicidad para la función reproductora y potencial cancerígeno, a parte de los riesgos descritos en otras secciones en esta ficha técnica.

Un aumento considerablemente reducido en el peso corporal en ratas y perros tras la administración repetida de acarbosa se consideró como un efecto farmacodinámico (pérdida de carbohidratos) y pudo compensarse mediante el aumento de complementos alimenticios o glucosa.

Se estudió la carcinogenia en ratas Sprague-Dawley, en ratas Wistar y en hámsters. Se observó un aumento de la incidencia tumoral en algunos tejidos (riñón, testículos) si no se corregía la disfunción nutricional provocada por la acarbosa. No se observó ningún aumento en el índice de tumoración, siempre que se mantuviera un aumento de peso normal mediante complementos alimenticios o de glucosa.

6. Datos farmacéuticos

6.1. Lista de excipientes

Celulosa microcristalina (E460)

Almidón de maíz

Sílice coloidal anhidra (E551)

Estearato de magnesio (E572)

6.2. Incompatibilidades

No se han descrito.

6.3. Periodo de validez

3 años

6.4. Precauciones especiales de conservación

No conservar a temperatura superior a 25°C. Conservar en el embalaje original para proteger de la humedad.

6.5. Naturaleza y contenido del envase

Blísteres de aluminio/aluminio que contienen 20, 21, 30, 40, 50, 90, 100, 105, 120, 180 comprimidos, y multienvases que contienen 105 (3 envases de 35) comprimidos.

Es posible que solamente estén comercializados algunos tamaños de envases.

6.6. Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones

Ninguna especial.

La eliminación del medicamento no utilizado y de todos los materiales que hayan estado en contacto con él se realizará de acuerdo con la normativa local.

7. Titular de la autorización de comercialización

Mylan Pharmaceuticals, S.L.C/ Plom 2-4, 5ª planta
08038 Barcelona
España

8. Número(s) de autorización de comercialización

71443

9. Fecha de la primera autorización/ renovación de la autorización

Fecha de la primera autorización: 02/octubre/2009


Fecha de la última renovación: 17/junio/2013

10. Fecha de la revisión del texto

Febrero 2018

Fuente: Ministerio de sanidad, política social e igualdad.
https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/71443/FT_71443.pdf

Anexo 10. Ficha técnica de acarbosa - reactivo

www.sigmaaldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD
de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 6.2
Fecha de revisión 07.04.2022
Fecha de impresión 20.07.2023
GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto
Nombre del producto : **Acarbosa**

Referencia : A8980
Marca : Sigma
REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior
No. CAS : 56180-94-0

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconejados
Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad
Compañía : Sigma-Aldrich Inc.
3050 SPRUCE ST
ST. LOUIS MO 63103
UNITED STATES

Teléfono : +1 314 771-5765
Fax : +1 800 325-5052

1.4 Teléfono de emergencia
Teléfono de Urgencia : 800-424-9300 CHEMTREC (USA) +1-703-527-3887 CHEMTREC (International) 24 Hours/day; 7 Days/week


SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla
No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) n ° 1272/2008

2.2 Elementos de la etiqueta
No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) n ° 1272/2008

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

Sigma- A8980
The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the US and Canada

Página 1 de 8

SECCIÓN 3. Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Sinónimos : 4",6"-Dideoxy-4"-([1S]-[1,4,6/5]-4,5,6-trihydroxy-3-hydroxymethyl-2-yclohexenylamino)-maltotriose

Formula : C₂₅H₄₃NO₁₈

Peso molecular : 645,60 g/mol

No. CAS : 56180-94-0

No. CE : 260-030-7

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4. Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua.

En caso de contacto con los ojos

Lavarle abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Por ingestión

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5. Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono

Óxidos de nitrógeno (NO_x)

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles



SECCIÓN 6. Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas.
Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7. Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Indicaciones para la protección contra incendio y explosión

Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo. Disposiciones normales de protección preventivas de incendio.

Medidas de higiene

Procedimiento general de higiene industrial.
Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Condiciones de almacenamiento

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Clase de almacenamiento

Clase de almacenamiento (TRGS 510): 13: Sólidos No Combustibles

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8. Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.



Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones del Reglamento (UE) 2016/425 y de la norma EN 374 derivada del mismo.

Sumerción

Material: Caucho nitrilo

espesura mínima de capa: 0,11 mm

Tiempo de penetración: 480 min

Material probado: Dermatrill® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

Salpicaduras

Material: Caucho nitrilo

espesura mínima de capa: 0,11 mm

Tiempo de penetración: 480 min

Material probado: Dermatrill® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

origen de datos: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Teléfono +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, Método de prueba: EN374

Si es utilizado en solución, o mezclado con otras sustancias, y bajo condiciones diferentes de la EN 374, ponerse en contacto con el proveedor de los guantes aprobados CE. Esta recomendación es meramente aconsejable y deberá ser evaluada por un responsable de seguridad e higiene industrial familiarizado con la situación específica de uso previsto por nuestros clientes. No debe interpretarse como una aprobación de oferta para cualquier escenario de uso específico.

Protección Corporal

Elegir la protección para el cuerpo según sus características, la concentración y la cantidad de sustancias peligrosas, y el lugar específico de trabajo. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Protección respiratoria no requerida. Donde la protección sea deseada Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

SECCIÓN 9. Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

- | | |
|--|-----------------------|
| a) Estado físico | sólido |
| b) Color | Sin datos disponibles |
| c) Olor | inodoro |
| d) Punto de fusión/
punto de congelación | Sin datos disponibles |
| e) Punto inicial de
ebullición e intervalo
de ebullición | Sin datos disponibles |
| f) Inflamabilidad
(sólido, gas) | Sin datos disponibles |
| g) Inflamabilidad
superior/inferior o | Sin datos disponibles |

Sigma- A8980

Página 4 de 8

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the US and Canada



límites explosivos	
h) Punto de inflamación	Sin datos disponibles
i) Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
j) Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
k) pH	Sin datos disponibles
l) Viscosidad	Viscosidad, cinemática: Sin datos disponibles Viscosidad, dinámica: Sin datos disponibles
m) Solubilidad en agua	soluble
n) Coeficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
o) Presión de vapor	Sin datos disponibles
p) Densidad	Sin datos disponibles
Densidad relativa	Sin datos disponibles
q) Densidad relativa del vapor	Sin datos disponibles
r) Características de las partículas	Sin datos disponibles
s) Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t) Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad

Sin datos disponibles

SECCIÓN 10. Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

En caso de incendio: véase sección 5

Sigma- A8980

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the US and Canada

Página 5 de 8



SECCIÓN 11. Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

DL50 Oral - Rata - 24.000 mg/kg

Observaciones: (RTECS)

Inhalación: Sin datos disponibles

Cutáneo: Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

Sin datos disponibles

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

11.2 Información Adicional

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12. Información ecológica

12.1 Toxicidad

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

La valoración de PBT / mPmB no está disponible ya que la evaluación de la seguridad química no es necesaria / no se ha realizado

12.6 Propiedades de alteración endocrina

Sin datos disponibles

Sigma- A8980

Página 6 de 8

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the US and Canada



12.7 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13. Consideraciones relativas a la eliminación

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14. Información relativa al transporte

14.1 Número ONU

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa

IMDG: Mercancía no peligrosa

IATA: Mercancía no peligrosa

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.4 Grupo de embalaje

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.5 Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no IMDG Contaminante marino: IATA: no
no

14.6 Precauciones particulares para los usuarios

Otros datos

Producto no peligroso según los criterios de la reglamentación del transporte.

SECCIÓN 15. Información reglamentaria

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

Convención Internacional sobre las Armas :
Químicas (CWC) Programas sobre los Productos
Químicos Tóxicos y los Precursores (Louisiana
Administrative Code, Title 33, Part V Section
10101 et. seq.)

Limitan la comercialización y el uso de :
determinadas sustancias y preparados peligrosos

Reglamento (CE) n o 649/2012 del Parlamento :
Europeo y del Consejo relativo a la exportación e

Sigma- A8980

Página 7 de 8

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in
the US and Canada



importación de productos químicos peligrosos
Lista de sustancias candidatas que suscitan :
especial preocupación para su Autorización

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16. Otra información

Otros datos

Copyright 2020 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega. La marca que aparece en el encabezado y/o el pie de página de este documento puede no coincidir visualmente con el producto adquirido mientras hacemos la transición de nuestra marca. Sin embargo, toda la información del documento relativa al producto permanece sin cambios y coincide con el producto solicitado. Para más información, póngase en contacto con mlsbranding@sial.com

Sigma- A8980

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the US and Canada

Página 8 de 8



Fuente: Sigma-Aldrich

<https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/sds/sigma/a8980>

Anexo 11. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para el contenido de polifenoles totales de extractos obtenidos mediante extracción por líquidos presurizados

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	47.35	23.67	573.2	1.24e-12
temperatura	1	80.31	80.31	1944.5	1.20e-14
solvente*temperatura	2	79.54	39.77	963.0	5.64e-14
Residuo	12	0.496	0.04		
Total	17	207.688			

CV = 1.28 %

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.4752 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.4661	0.7944 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H₀).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	80.30669	80.30669	1944.4719	0
solvente: 50°C	2	107.77007	53.88503	1304.7224	0
solvente: 70°C	2	19.11529	9.55764	231.42	0
Residuo	12	0.49560	0.04130		
Total	17	207.68764	12.21692		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	17.81
b	agua pura	13.98333
c	glicerol 15%	9.346667

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	19.46
b	etanol 15%	18.38
c	agua pura	15.97333

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	2	47.34528	23.67264	573.1874	0
temperatura: agua pura	1	5.94015	5.94015	143.8293	0
temperatura: etanol 15%	1	0.48735	0.48735	11.8002	0.0049
temperatura: glicerol 15%	1	153.41927	153.41927	3714.7522	0
Residuo	12	0.48560	0.04130		
Total	17	207.68764	12.21692		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	15.97333
b	50°C	13.98333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	18.38
b	50°C	17.81

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	19.46
b	50°C	9.346667

Anexo 12. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para capacidad antioxidante - DPPH de extractos obtenido mediante extracción por líquidos presurizados

Se realizó la transformación logarítmica para cumplir con las presuposiciones

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	1.1040	0.5520	975.7	5.21e-14
temperatura	1	2.1578	2.1578	3814.1	2.15e-16
solvente*temperatura	2	1.9059	0.9529	1684.4	2.00e-15
Residuo	12	0.0068	0.0006		
Total	17	5.1744			

CV = 1.07 %

Transformación Ln(DPPH)

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.9298 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.8425	0.545 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	2.15781	2.15781	3814.1483	0
solvente: 50°C	2	1.74505	0.87253	1542.2775	0
solvente: 70°C	2	1.26478	0.63239	1117.8106	0
Residuo	12	0.00679	0.00057		
Total	17	5.17442	0.30438		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	glicerol 15%	3.010221	20.29188
b	agua pura	2.718824	15.16248
c	etanol 15%	1.965166	7.136097

Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	agua pura	2.331469	10.29305
b	etanol 15%	1.872116	6.50204
c	glicerol 15%	1.413219	4.109162

Desdoblado temperatura dentro de cada nivel de solvente**Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	2	1.10693	0.55198	975.68	0
temperatura: agua pura	1	0.22507	0.22507	397.8255	0
temperatura: etanol 15%	1	0.01299	0.01299	22.9567	4e-04
temperatura: glicerol 15%	1	3.82562	3.82562	6762.1823	0
Residuo	12	0.00679	0.00057		
Total	17	5.17442	0.30438		

Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	50°C	2.718824	15.16248
b	70°C	2.331469	10.29305

Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	50°C	1.965166	7.136097
b	70°C	1.872116	6.50204

Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	50°C	3.010221	20.29188
b	70°C	1.413219	4.106162

Anexo 13. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para capacidad antioxidante – ORAC de extractos obtenido mediante extracción por líquidos presurizados.

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	27169	13585	65.11	3.610e-07
temperatura	1	319923	319923	1533.25	4.690e-14
solvente*temperatura	2	37197	18598	89.13	6.294e-08
Residuo	12	2504	209		
Total	17	386792			

CV = 4.53 %

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.7028615 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.4618	0.7974 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H₀).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	319922.671	319922.6713	1533.2518	0
solvente: 50°C	2	50024.605	25012.3024	119.8732	0
solvente: 70°C	2	14341.291	7170.6457	34.3658	0
Residuo	12	2503.876	208.6563		
Total	17	386792.443	22752.4967		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	288.5467
b	agua pura	154.1533
c	glicerol 15%	114.27

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	500.2567
b	etanol 15%	454.09
c	agua pura	402.5267

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	27169.145	13584.5727	65.105	0
temperatura: agua pura	1	92533.969	92533.9691	443.4755	0
temperatura: etanol 15%	1	41106.893	41106.8928	197.0077	0
temperatura: glicerol 15%	1	223478.560	223478.5603	1071.0366	0
Residuo	12	2503.876	208.6563		
Total	17	386792.443	22752.4967		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	402.5267
b	50°C	154.1533

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	454.09
b	50°C	288.5467

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	500.2567
b	50°C	114.27

Anexo 14. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para el contenido de polifenoles totales de extractos obtenidos mediante extracción asistida por ultrasonido.

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	155.78	77.89	6214.7	< 2e-16
temperatura	1	36.13	36.13	2882.3	1.15e-15
solvente*temperatura	2	12.93	6.46	515.8	2.31e-12
Residuo	12	0.15	0.01		
Total	17	204.986			

CV = 0.84 %

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.8495 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.5117	0.7626 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	36.12500	36.12500	2882.3138	0
solvente: 50°C	2	106.18782	53.09391	4236.2163	0
solvente: 70°C	2	62.52309	31.26154	2494.2722	0
Residuo	12	0.15040	0.001253		
Total	17	204.98631	12.05802		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	15.12
b	glicerol 15%	13.6
c	agua pura	7.193333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	17.59
b	etanol 15%	15.55667
c	agua pura	11.26667

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	2	155.78168	77.89084	6214.6946	0
temperatura: agua pura	1	24.88807	24.8887	1985.75	0
temperatura: etanol 15%	1	0.28602	0.28602	22.8205	5e-04
temperatura: glicerol 15%	1	23.88015	23.88015	1905.3311	0
Residuo	12	0.15040	0.01253		
Total	17	204.98631	12.05802		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	11.26667
b	50°C	7.19333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	15.55667
b	50°C	15.12

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	17.59
b	50°C	13.6

Anexo 15. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para capacidad antioxidante - DPPH de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido.

Se realizó la transformación logarítmica para cumplir con las presuposiciones.

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	2.7353	1.3676	4245	7.9e-18
temperatura	1	3.0641	3.0641	9510	9.0e-18
solvente*temperatura	2	0.9509	0.4755	1476	4.41e-15
Residuo	12	0.0039	0.0003		
Total	17	6.7541			

CV = 0.84 %

Transformación Ln(DPPH)

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.6429 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	1.4468	0.2271 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	3.06409	3.06406	9509.6468	0
solvente: 50°C	2	3.30159	1.65080	5123.3803	0
solvente: 70°C	2	0.38460	0.19230	596.8167	0
Residuo	12	0.00387	0.00032		
Total	17	6.75414	0.39730		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	agua pura	3.375259	29.23185
b	glicerol 15%	2.27281	9.706638
c	etanol 15%	1.964238	7.129478

Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	agua pura	1.975805	7.212423
b	etanol 15%	1.690081	5.41992
c	glicerol 15%	1.470906	4.353177

Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente**Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	2	2.73525	1.36763	4244.5394	0
temperatura: agua pura	1	2.93771	2.93771	9117.4199	0
temperatura: etanol 15%	1	0.11274	0.11274	349.908	0
temperatura: glicerol 15%	1	0.96457	0.96457	2993.634	0
Residuo	12	0.00387	0.00032		
Total	17	6.75414	0.39730		

Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	50°C	3.375259	29.23185
b	70°C	1.975805	7.212423

Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	50°C	1.964238	7.129478
b	70°C	1.690081	5.41992

Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(DPPH)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	50°C	2.27281	9.706638
b	70°C	1.470906	4.353177

Anexo 16. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para capacidad antioxidante – ORAC de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Se realizó la transformación logarítmica para cumplir con las presuposiciones.

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	2.5035	1.2517	746.52	2.57e-13
temperatura	1	1.1111	1.1111	662.67	7.20e-12
solvente*temperatura	2	0.2878	0.1439	85.82	7.79e-08
Residuo	12	0.0201	0.0017		
Total	17	3.9225			

CV = 0.75 %

Transformación Ln(ORAC)

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.2652 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.4519	0.8042 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	1.11115	1.11115	662.6716	0
solvente: 50°C	2	1.59412	0.79706	475.3523	0
solvente: 70°C	2	1.19716	0.59858	356.9843	0
Residuo	12	0.02012	0.00168		
Total	17	3.92255	0.23074		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(ORAC)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	etanol 15%	5.5853	266.4802
b	glicerol 15%	5.4894	242.1119
c	agua pura	4.648393	104.4171

Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(ORAC)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	glicerol 15%	6.1905	488.0901
b	etanol 15%	5.7258	306.6785
c	agua pura	5.297419	199.8204

Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente**Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	QC	Fc	Pr>Fc
solvente	2	2.50349	1.25174	746.5194	0
temperatura: agua pura	1	0.63185	0.63185	376.8266	0
temperatura: etanol 15%	1	0.02963	0.02963	17.6693	0.0012
temperatura: glicerol 15%	1	0.73746	0.73746	439.8101	0
Residuo	12	0.02012	0.00168		
Total	17	3.92255	0.23074		

Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(ORAC)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	70°C	5.297419	199.8204
b	50°C	4.648393	104.4171

Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(ORAC)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	70°C	5.7258	306.6785
b	50°C	5.5853	266.4802

Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%

Test de Tukey corrección exp^{Ln}(ORAC)

Grupos	Tratamientos	Medias	Medias
a	70°C	6.1905	488.0901
b	50°C	5.4894	242.1119

Anexo 17. Prueba de comparación de medias para determinar diferencias significativas entre las mejores condiciones de extracción para ELP y EAU

Polifenoles totales

Leyenda:

Muestra 1: ELP - glicerol 15% - 70°C

Muestra 2: EAU - glicerol 15% - 70°C

Prueba T para dos muestras

t = -13.977, df = 4, p-valor: 0.0001542 < 0.05

Medias: ELP = 19.46 EAU = 17.59

Según la prueba T con un nivel de significancia del 5%, se puede rechazar la idea que las medias son iguales.

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.5321 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	1	0.885	0.4001 > 0.05
	4		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H₀).

Capacidad antioxidante – Método DPPH

Leyenda:

Muestra 1: ELP - glicerol 15% - 70°C

Muestra 2: EAU - glicerol 15% - 70°C

Prueba T para dos muestras

t = 3.7951, df = 4, p-valor: 0.01918 < 0.05

Medias: ELP = 4.11 EAU = 4.353333

Según la prueba T con un nivel de significancia del 5%, se puede rechazar la idea que las medias son iguales.

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.9756 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	1	0.8176	0.417 > 0.05
	4		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Capacidad antioxidante – Método ORAC

Leyenda:

Muestra 1: ELP – glicerol 15% - 70°C

Muestra 2: EAU – glicerol 15% - 70°C

Prueba T para dos muestras

t = -0.55315, df = 4, p-valor: 0.6096 > 0.05

Medias: ELP = 500.2567 EAU = 488.8367

Según la prueba T con un nivel de significancia del 5%, no se puede rechazar la idea que las medias son iguales.

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.5517 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	1	0.4267	0.5492 > 0.05
	4		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Anexo 18. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para ácido vanílico de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	0.157	0.078	1.186	0.339
temperatura	1	10.095	10.095	152.762	3.48e-08
solvente*temperatura	2	0.278	0.139	2.105	0.165
Residuo	12	0.793	0.066		
Total	17	11.323			

CV = 5.92 %

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.2846 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.9266	0.497 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción no significativa: analizando efectos simples

Solvente

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	agua pura	4.221667
2	etanol 15%	4.34500
3	glicerol 15%	4.45000

Temperatura

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	5.087778
b	70°C	3.5959

Anexo 19. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para resveratrol de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	3.019	1.510	28.27	2.88e-15
temperatura	1	7.157	7.157	134.04	7.20e-08
solvente*temperatura	2	9.569	4.784	89.60	6.11e-08
Residuo	12	0.6407	0.053		
Total	17	20.3855			

CV = 1.25 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.5570 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.5224	0.7552 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	7.15681	7.15681	134.0365	0
solvente: 50°C	2	2.64362	1.32181	24.7556	0
solvente: 70°C	2	9.94429	4.97214	93.121	0
Residuo	12	0.64073	0.05339		
Total	17	20.38545	1.19914		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	agua pura	18.26333
a	etanol 15%	18.10667
b	glicerol 15%	17.04333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	20.14333
b	agua pura	19.41333
c	etanol 15%	17.64

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	3.01930	1.50965	28.2735	0
temperatura: agua pura	1	1.98375	1.98375	37.1527	1e-04
temperatura: etanol 15%	1	0.32667	0.32667	6.118	0.0293
temperatura: glicerol 15%	1	14.41500	14.41500	269.9719	0
Residuo	12	0.64073	0.05339		
Total	17	20.38545	1.19914		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	19.41333
b	50°C	18.26333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	18.10667
b	70°C	17.64

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	20.14333
b	50°C	17.04333

Anexo 20. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para catequina de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	30.439	15.22	68.88	2.65e-07
temperatura	1	8.694	8.68	39.35	4.11e-05
solvente*temperatura	2	83.706	41.85	189.40	8.38e-10
Residuo	12	2.652	0.22		
Total	17	125.491			

CV = 6.39 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.6623 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.6754	0.6502 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	8.69445	8.69445	39.3463	0
solvente: 50°C	2	48.57207	24.28603	109.9054	0
solvente: 70°C	2	65.57327	32.78663	148.3745	0
Residuo	12	2.65167	0.22097		
Total	17	125.49148	7.38185		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	agua pura	8.596667
a	glicerol 15%	7.99
b	etanol 15%	3.393333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	10.2
a	agua pura	9.736667
b	glicerol 15%	4.243333

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	30.43930	15.21965	68.8759	0
temperatura: agua pura	1	1.84815	1.84815	8.3637	0.0135
temperatura: etanol 15%	1	69.49607	69.49607	314.5014	0
temperatura: glicerol 15%	1	21.05627	21.05627	95.2892	0
Residuo	12	2.65167	0.22097		
Total	17	125.49145	7.38185		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	9.706667
b	50°C	8.596667

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	10.2
b	50°C	3.393333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	7.99
b	70°C	4.243333

Anexo 21. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para epicatequina de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	126.99	63.49	196.263	6.81e-10
temperatura	1	0.01	0.01	0.025	0.877
solvente*temperatura	2	1.74	0.87	2.684	0.109
Residuo	12	3.88	0.32		
Total	17	132.61			

CV = 8.39 %

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.4139 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.4874	0.7795 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción no significativa: analizando efectos simples

Solvente

Grupos	Tratamientos	Medias
a	agua pura	8.76
a	glicerol 15%	8.556667
b	etanol 15%	3.026667

Temperatura

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	6.802222
2	70°C	6.760000

Anexo 22. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para procianidina A2 de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	211.46	105.73	55.42	8.69e-07
temperatura	1	219.17	219.17	114.88	1.68e-07
solvente*temperatura	2	285.78	142.89	74.90	1.66e-07
Residuo	12	22.89	1.91		
Total	17	739.30			

CV = 7.35 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.4458 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.4975	0.7725 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	219.1720	219.17201	114.8801	0
solvente: 50°C	2	204.6972	102.34858	53.6465	0
solvente: 70°C	2	292.5381	146.26903	76.6676	0
Residuo	12	22.8940	1.90783		
Total	17	739.3012	43.48831		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	21.94333
b	agua pura	12.95
b	glicerol 15%	10.99

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	29.19
b	etanol 15%	22.40333
c	agua pura	15.22667

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	211.45501	105.72751	55.4176	0
temperatura: agua pura	1	7.77482	7.77482	4.0752	0.0135
temperatura: etanol 15%	1	0.31740	0.31740	0.1664	0.6905
temperatura: glicerol 15%	1	496.86000	496.86000	260.4316	0
Residuo	12	22.89400	1.90783		
Total	17	739.30123	43.48831		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	12.95000
2	70°C	15.22667

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	21.94333
2	70°C	22.40333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	29.19
b	50°C	10.99

Anexo 23. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para kaempferol de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	0.7977	0.3989	32.458	1.44e-05
temperatura	1	0.0200	0.0200	1.627	0.226193
solvente*temperatura	2	0.3252	0.1626	13.231	0.000922
Residuo	12	0.1475	0.0123		
Total	17	1.2904			

CV = 4.59 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.4704 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.3479	0.8739 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	0.02000	0.02000	1.6275	0.2262
solvente: 50°C	2	1.05387	0.52693	42.8788	0
solvente: 70°C	2	0.06907	0.03453	2.8101	0.0998
Residuo	12	0.14747	0.01229		
Total	17	1.29040	0.07591		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	2.926667
b	glicerol 15%	2.26
b	agua pura	2.153333

Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	agua pura	2.266667
2	etanol 15%	2.480000
3	glicerol 15%	2.393333

Desdoblado temperatura dentro de cada nivel de solvente**Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	0.79773	0.39887	32.4575	0
temperatura: agua pura	1	0.01927	0.01927	1.5678	0.2344
temperatura: etanol 15%	1	0.29927	0.29927	24.3526	3e-04
temperatura: glicerol 15%	1	0.02667	0.02667	2.17	0.1665
Residuo	12	0.14747	0.01229		
Total	17	1.29040	0.07591		

Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	2.153333
2	70°C	2.266667

Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	2.926667
b	70°C	2.48

Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	2.260000
2	70°C	2.393333

Anexo 24. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para quercitrina de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	13980	6990	813.3	1.54e-05
temperatura	1	12001	12001	1396.3	8.67e-14
solvente*temperatura	2	12837	6418	746.8	2.56e-13
Residuo	12	103	9		
Total	17	38921			

CV = 2.65 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.2496 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.5729	0.72 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	12001.136	12001.136	1396.3018	0
solvente: 50°C	2	2859.344	1429.672	166.3387	0
solvente: 70°C	2	23957.867	11978.933	1393.7185	0
Residuo	12	103.139	8.595		
Total	17	38921.486	2289.499		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	108.1
b	glicerol 15%	81.22667
c	agua pura	64.86333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	207.7567
b	etanol 15%	113.7633
c	agua pura	87.59667

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	13980.2688	6990.124	813.2844	0
temperatura: agua pura	1	775.2067	775.207	90.1933	0
temperatura: etanol 15%	1	48.1100	48.110	5.5975	0.0357
temperatura: glicerol 15%	1	24014.7635	24014.762	2794.06	
Residuo	12	0.14747	0.01229		
Total	17	1.29040	0.07591		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	87.59667
b	50°C	64.86333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	113.7633
b	50°C	108.1

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	207.7567
b	50°C	81.22667

Anexo 25. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para apigenina de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	238.36	119.18	670.9	4.85e-13
temperatura	1	116.90	116.90	939.4	9.13e-13
solvente*temperatura	2	60.50	30.25	170.3	1.55e-13
Residuo	12	2.13	0.18		
Total	17	467.89			

CV = 5.31 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.043 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	1.4065	0.29 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	166.89654	166.89645	939.4384	0
solvente: 50°C	2	31.38587	15.69293	88.3335	0
solvente: 70°C	2	267.47727	133.73863	752.7974	0
Residuo	12	2.13187	0.17766		
Total	17	467.89145	27.52303		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	7.15
b	glicerol 15%	4.943333
c	agua pura	2.576667

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	16.42333
b	glicerol 15%	12.98667
c	agua pura	3.53

-----**Desdoblado temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	238.36143	119.18072	670.8527	0
temperatura: agua pura	1	1.36327	1.36327	7.6737	0.017
temperatura: etanol 15%	1	128.99207	128.99207	729.0796	0
temperatura: glicerol 15%	1	97.04282	97.04282	546.2414	0
Residuo	12	2.13187	0.17766		
Total	17	467.89175	27.52303		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	3.53
b	50°C	2.576667

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	16.42333
b	50°C	7.15

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	12.98667
b	50°C	4.94333

Anexo 26. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para hidroxitirosol de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	0.427	0.214	0.977	0.405
temperatura	1	12.350	12.350	56.497	7.08e-06
solvente*temperatura	2	15.290	7.645	34.972	9.86e-06
Residuo	12	2.623	0.219		
Total	17	30.6910			

CV = 6.25 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.9958 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.6392	0.6745 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H₀).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	12.35045	12.35045	56.4965	0
solvente: 50°C	2	5.31976	2.65988	12.1675	0
solvente: 70°C	2	10.39749	5.199874	23.7814	0
Residuo	12	2.13187	0.17766		
Total	17	467.89145	27.52303		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	agua pura	7.7
b	etanol 15%	6.39
b	glicerol 15%	5.87333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	9.443333
a	etanol 15%	8.623333
b	agua pura	6.866667

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	0.42701	0.21351	0.9767	0.4046
temperatura: agua pura	1	1.04167	1.04167	4.7651	0.0496
temperatura: etanol 15%	1	7.48167	7.481678	34.2245	1e-04
temperatura: glicerol 15%	1	19.11735	19.111735	546.2414	0
Residuo	12	2.62327			
Total	17	30.69096	1.80535		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	7.7
b	70°C	6.866667

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	8.623333
b	50°C	6.39

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	9.443333
b	50°C	5.873333

Anexo 27. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para tirosol de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	16.492	8.25	32.41	1.45e-05
temperatura	1	53.492	53.49	210.27	5.72e-09
solvente*temperatura	2	61.253	30.63	120.39	1.14e-08
Residuo	12	3.053	0.25		
Total	17	134.290			

CV = 3.62 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.3355 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.6455	0.6725 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H₀).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	53.49227	53.49227	210.2684	0
solvente: 50°C	2	14.96776	7.48388	29.4178	0
solvente: 70°C	2	62.77740	31.38870	123.3833	0
Residuo	12	3.05280	0.25440		
Total	17	134.290			

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	13.40667
a	agua pura	12.76333
b	glicerol 15%	10.40667

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	17.19
a	agua pura	17.21
b	etanol 15%	11.92

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	16.49248	8.24624	32.4145	0
temperatura: agua pura	1	29.65927	29.65927	116.5852	0
temperatura: etanol 15%	1	3.31527	3.31527	13.0317	0.0036
temperatura: glicerol 15%	1	81.77042	81.77042	321.4246	0
Residuo	12	2.62327			
Total	17	30.69096	1.80535		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	17.21
b	50°C	12.76333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	13.40667
b	70°C	11.92

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	17.19
b	50°C	10.40667

Anexo 28. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para oleuropeína de extractos obtenido mediante extracción líquida presurizada

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	5348.3	2674	470.8	3.97e-12
temperatura	1	12676.0	12676	2231.6	5.29e-15
solvente*temperatura	2	2883.8	1441	253.7	1.52e-10
Residuo	12	68.2	6		
Total	17	20975.3			

CV = 2.11 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.8811 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.5676	0.7236 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	12676.0349	12676.03494	2231.5588	0
solvente: 50°C	2	362.5832	181.29160	31.9156	0
solvente: 70°C	2	7868.5116	3934.25581	692.608	0
Residuo	12	68.1642	5.68035		
Total	17	20975.294	1233.84082		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	93.63333
b	glicerol 15%	87.49333
c	agua pura	78.19333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	171.4833
b	etanol 15%	146.8733
c	agua pura	100.1867

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	5348.3431	2674.17157	470.7758	0
temperatura: agua pura	1	725.5601	725.5601	127.7316	0
temperatura: etanol 15%	1	4251.7464	4251.7464	748.5008	0
temperatura: glicerol 15%	1	10581.4801	10581.48015	1862.8219	0
Residuo	12	68.1642	5.68035		
Total	17	20975.2940	1233.84082		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	100.1867
b	50°C	78.1933

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	146.8733
b	50°C	93.6333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	171.4833
b	50°C	87.4933

Anexo 29. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para ácido vanílico de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	3.447	1.724	22.38	8.94e-05
temperatura	1	10.951	10.951	142.17	5.19e-08
solvente*temperatura	2	6.491	3.246	42.14	3.75e-06
Residuo	12	0.924	0.077		
Total	17	21.8410			

CV = 7.49 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.822 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.4917	0.7766 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	10.95120	10.95120	142.1721	0
solvente: 50°C	2	0.23927	0.11963	1.5531	0.2315
solvente: 70°C	2	9.69920	4.84960	62.9591	0
Residuo	12	0.92433	0.07703		
Total	17	21.81400	1.28318		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	agua pura	3.003333
2	etanol 15%	3.076667
3	glicerol 15%	2.700000

Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	5.94
b	agua pura	3.94
b	etanol 15%	3.58

Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	3.44723	1.72362	22.3766	1e-04
temperatura: agua pura	1	1.31602	1.31602	17.085	0.0014
temperatura: etanol 15%	1	0.38002	0.38002	4.9335	0.0463
temperatura: glicerol 15%	1	15.74640	15.74640	240.425	0
Residuo	12	0.92433	0.07703		
Total	17	21.81400	1.28318		

Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	3.94
b	50°C	3.003333

Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	3.58
b	50°C	3.076667

Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	5.94
b	50°C	2.7

Anexo 30. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para resveratrol de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	1.5786	0.789	2.201	0.15340
temperatura	1	4.0233	4.023	11.217	0.00579
solvente*temperatura	2	2.3363	1.168	3.257	0.07415
Residuo	12	4.3041	0.359		
Total	17	12.2424			

CV = 3.36 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.7009 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.5941	0.7053 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción no significativa: analizando efectos simples

Solvente

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	agua pura	17.45333
2	etanol 15%	17.90000
3	glicerol 15%	18.17167

Temperatura

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	18.31444
b	50°C	17.36889

Anexo 31. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para catequina de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	15.844	7.922	67.557	2.95e-07
temperatura	1	1.140	1.140	9.722	0.00889
solvente*temperatura	2	0.241	0.121	1.029	0.38700
Residuo	12	1.407	0.117		
Total	17	18.6329			

CV = 6.26 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.6968 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.2507	0.9314 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción no significativa: analizando efectos simples

Solvente

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	6.51
b	agua pura	5.665
c	etanol 15%	4.263337

Temperatura

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	5.722222
b	70°C	5.218889

Anexo 32. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para epicatequina de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	53.64	26.819	93.11	4.92e-08
temperatura	1	4.69	4.692	16.29	0.00165
solvente*temperatura	2	20.46	10.231	35.52	9.11e-06
Residuo	12	3.46	0.288		
Total	17	82.248			

CV = 9.34 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.8738 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.3438	0.8766 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	4.69201	4.69201	16.2892	0.0017
solvente: 50°C	2	24.72202	12.36101	42.9136	0
solvente: 70°C	2	49.37749	24.68878	85.7116	0
Residuo	12	3.54653	0.28804		
Total	17	82.24805	4.83812		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	7.493333
b	agua pura	4.646667
b	etanol 15%	3.563333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	agua pura	8.683333
b	glicerol 15%	6.993333
c	etanol 15%	3.09

-----**Desdoblado temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	53.63843	26.81922	93.1079	0
temperatura: agua pura	1	24.44202	24.44202	84.855	0
temperatura: etanol 15%	1	0.33607	0.33607	1.1667	0.3013
temperatura: glicerol 15%	1	0.37500	0.37500	1.3019	0.2761
Residuo	12	3.45653	0.28804		
Total	17	82.24805	4.83812		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	8.683333
b	50°C	4.646667

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	3.56333
2	70°C	3.09000

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	7.49333
2	70°C	6.99333

Anexo 33. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para procianidina A2 de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	408.25	204.13	301.22	5.55e-11
temperatura	1	102.82	102.82	151.72	3.61e-08
solvente*temperatura	2	55.23	27.61	40.75	4.47e-06
Residuo	12	8.13	0.68		
Total	17	574.43			

CV = 5.96 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.7944 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.5809	0.7144 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	102.81780	102.81780	151.7245	0
solvente: 50°C	2	117.55049	58.77524	86.7325	0
solvente: 70°C	2	345.92602	172.96301	255.2353	0
Residuo	12	8.13193	0.67766		
Total	17	574.42624	33.78978		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	15.49667
b	glicerol 15%	12.03667
c	agua pura	6.71

Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	21.33667
a	etanol 15%	19.77333
b	agua pura	7.47333

Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente**Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	408.25048	204.12524	301.2202	0
temperatura: agua pura	1	0.87402	0.87402	1.2898	0.2783
temperatura: etanol 15%	1	27.43482	27.43482	40.4846	0
temperatura: glicerol 15%	1	129.73500	129.73500	191.4452	0
Residuo	12	8.13193	0.67766		
Total	17	574.42624	33.78978		

Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	6.710000
2	70°C	7.473333

Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	19.77333
b	50°C	15.49667

Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	21.33667
b	50°C	12.03667

Anexo 34. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para quercitrina de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	22166.2	11083	6280.949	< 2e-16
temperatura	1	2.2	2	1.226	0.29
solvente*temperatura	2	1900	950	538.378	1.79e-12
Residuo	12	21.2			
Total	17	24089.5			

CV = 1.82 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.9664 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.7797	0.583 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	2.16320	2.16320	1.2259	0.2899
solvente: 50°C	2	8894.56347	4447.28173	2520.341	0
solvente: 70°C	2	15171.59607	1.76456		
Residuo	12	21.17467	1.76456		
Total	17	24089.49740	1417.02926		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	100.21
b	glicerol 15%	88.86333
c	agua pura	28.57667

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	118.24
b	etanol 15%	82.52667
c	agua pura	18.96333

-----**Desdoblado temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	22166.165	11083.082	6280.9485	0
temperatura: agua pura	1	138.624	138.624	78.5604	0
temperatura: etanol 15%	1	469.050	469.050	265.8179	0
temperatura: glicerol 15%	1	1294.483	1294.483	733.6028	0
Residuo	12	21.175	1.765		
Total	17	24089.497	1417.029		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	28.57667
b	70°C	18.96333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	100.21
b	70°C	82.52667

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	118.24
b	50°C	88.86333

Anexo 35. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para kaempferol de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	1.0536	0.5268	63.01	4.32e-07
temperatura	1	0.3698	0.3698	44.23	2.36e-05
solvente*temperatura	2	0.3499	0.1750	20.92	0.000122
Residuo	12	0.1003	0.0084		
Total	17	1.87364			

CV = 4.19 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.6701 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.7045	0.631 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	0.36980	0.36980	44.2286	0
solvente: 50°C	2	0.10042	0.05021	6.0053	0.0156
solvente: 70°C	2	1.30309	0.65154	77.9256	0
Residuo	12	0.10033	0.00836		
Total	17	1.87364	0.11021		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	2.16
ab	glicerol 15%	2.06
c	agua pura	1.90333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	2.82
b	glicerol 15%	2.27
c	agua pura	1.893333

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	1.05361	0.5268	62.0066	0
temperatura: agua pura	1	0.00015	0.00015	0.0179	0.8957
temperatura: etanol 15%	1	0.65340	0.65340	78.1475	0
temperatura: glicerol 15%	1	0.06615	0.06615	7.9116	0.0157
Residuo	12	0.10033	0.00836		
Total	17	1.87364	0.11021		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	50°C	1.903333
2	70°C	1.893333

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**
-----Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	2.82
b	50°C	2.16

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**
-----Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	2.27
b	50°C	2.06

Anexo 36. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para apigenina de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	175.07	87.54	523.62	2.11e-12
temperatura	1	4.88	4.88	29.18	0.00016
solvente*temperatura	2	86.18	43.09	257.74	1.39e-10
Residuo	12	2.01	0.17		
Total	17	268.14			

CV = 7.51 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.1336 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.9918	0.4624 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	4.87761	4.87761	29.1762	2e-04
solvente: 50°C	2	54.62836	27.31418	163.384	0
solvente: 70°C	2	206.62247	103.31123	617.9723	0
Residuo	12	2.00613	0.16718		
Total	17	268.13456	15.77262		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	8.576667
b	glicerol 15%	6.66333
c	agua pura	2.66333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	11.52333
b	etanol 15%	2.97
c	agua pura	0.286667

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	175.07414	87.537	523.6167	0
temperatura: agua pura	1	8.47282	8.473	50.6815	0
temperatura: etanol 15%	1	47.15207	47.152	282.0475	0
temperatura: glicerol 15%	1	35.42940	35.429	211.9265	
Residuo	12	2.00613	0.167		
Total	17	268.13456	15.773		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	2.663333
b	70°C	0.286667

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	8.576667
b	70°C	2.97

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	11.52333
b	70°C	6.663333

Anexo 37. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para hidroxitirosol de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	190.4	95	190.88	1.93e-08
temperatura	1	3428.9	3428	3956.74	< 2e-16
solvente*temperatura	2	131.8	66	76.09	1.52e-07
Residuo	12	10.4	76.1		
Total	17	2760.5			

CV = 4.7 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.1339 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	1.9	0.1681 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H₀).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	3427.920	3427.920	3953.738	0
solvente: 50°C	2	5.65429	2.827	3.2366	0.0738
solvente: 70°C	2	316.57556	158.588	182.7065	0
Residuo	12	10.39620	0.864		
Total	17	3760.54620	221.209		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C

De acuerdo con la prueba F, las medias de este factor son estadísticamente iguales

	Niveles	Medias
1	agua pura	4.886667
2	etanol 15%	6.400000
3	glicerol 15%	6.696667

Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	41.95
b	etanol 15%	30.05
b	agua pura	28.78333

Desdoblado temperatura dentro de cada nivel de solvente

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	190.3938	95.19691	109.8827	0
temperatura: agua pura	1	856.5760	856.57602	988.7182	0
temperatura: etanol 15%	1	838.9837	838.98375	968.412	0
temperatura: glicerol 15%	1	1864.1963	1864.19627	2151.7819	0
Residuo	12	10.3962	0.86635		
Total	17	3760.5460	211.20859		

Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	28.78333
b	50°C	4.886667

Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	30.05
b	50°C	6.4

Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%

Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	41.95
b	50°C	6.696667

Anexo 38. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para tirosol de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	3.19	1.59	39.58	5.20e-06
temperatura	1	278.48	278.48	6915.89	< 2e-16
solvente*temperatura	2	21.46	10.73	266.48	1.14e-10
Residuo	12	0.48	0.04		
Total	17	303.61			

CV = 2.33 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.3073 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.165	0.9707 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	278.480	278.480	6915.894	0
solvente: 50°C	2	4.361	2.181	54.153	0
solvente: 70°C	2	20.287	10.144	251.909	0
Residuo	12	0.483	0.040		
Total	17	303.611	17.860		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	13.49
b	agua pura	12.28333
c	glicerol 15%	11.84333

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	6.486667
b	agua pura	4.72
c	etanol 15%	2.81

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	3.18781	1.59391	39.5837	0
temperatura: agua pura	1	85.82602	85.80602	2130.9441	0
temperatura: etanol 15%	1	171.09360	171.0936	4249.0132	0
temperatura: glicerol 15%	1	43.04082	43.0408	1068.8945	0
Residuo	12	0.48320	0.0403		
Total	17	303.61144	17.8595		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	12.28333
b	70°C	4.72

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	13.49
b	70°C	2.81

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	50°C	11.84333
b	70°C	6.486667

Anexo 39. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para oleuropeína de extractos obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido

Leyenda:

FACTOR 1: solvente

FACTOR 2: temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	5341	2670	218.33	3.66e-10
temperatura	1	46124	46124	3770.98	2.30e-16
solvente*temperatura	2	2281	1141	93.25	4.88e-08
Residuo	12	147	12		
Total	17	53893			

CV = 2.08 %

Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.9823 < 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos no siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	F valor	Pr(>F)
grupo	5	0.5949	0.7048 > 0.05
	12		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H₀).

Interacción significativa: desdoblando la interacción

Desdoblando solvente dentro de cada nivel de temperatura

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
temperatura	1	46123.93	46123.93	3770.982	0
solvente: 50°C	2	1202.74	601.37	49.167	0
solvente: 70°C	2	6419.24	3209.62	262.41	0
Residuo	12	146.78	12.23		
Total	17	53892.69	2170.16		

Solvente dentro del nivel temperatura: 50°C-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	etanol 15%	132.7967
b	glicerol 15%	115.0033
c	agua pura	104.8233

-----**Solvente dentro del nivel temperatura: 70°C**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	glicerol 15%	246.7
b	etanol 15%	226.8533
c	agua pura	182.7933

-----**Desdoblando temperatura dentro de cada nivel de solvente****Cuadro de análisis de varianza**

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
solvente	2	5370.926	2670.463	218.33	0
temperatura: agua pura	1	9118.981	9118.981	745.55	0
temperatura: etanol 15%	1	13269.985	13269.985	1084.92	0
temperatura: glicerol 15%	1	26016.018	26016.018	2127.01	0
Residuo	12	146.775	12.231		
Total	17	53892.685	3170.158		

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: agua pura**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	182.7933
b	50°C	104.8233

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: etanol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	226.8533
b	50°C	132.7967

-----**Temperatura dentro del nivel solvente: glicerol 15%**-----
Test de Tukey

Grupos	Tratamientos	Medias
a	70°C	246.7
b	50°C	115.0033

Anexo 40. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para la capacidad de inhibición de α -amilasa en extractos obtenidos por extracción por líquidos presurizados

Análisis de varianza para la concentración 0.1 $\mu\text{g/mL}$

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	239.82	39.97	14.18	3.11e-05
Residuo	14	39.46	2.82		
Total	20	279.28			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.2413 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.2524	0.9502 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B-A	10.086667	6.089812	14.08352	9.6e-06
C-A	8.660000	4.663146	12.65685	8.6e-05
D-A	9.003333	5.006479	13.00019	6.1e-05
E-A	10.336667	6.339813	14.33352	9.9e-06
F-A	10.046667	6.049812	14.04352	5.1e-05
G-A	8.793333	4.786479	12.78019	8.0e-05

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A: acarbosa, B: agua pura a 50°C, C: etanol al 15% a 50°C, D: glicerol al 15% a 50°C, E; agua pura a 70°C, F: etanol al 15% a 70°C y G: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 1 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	924.5	154.08	81.88	4.3e-10
Residuo	14	26.3	1.88		
Total	20	950.8			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.8974 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.466	0.8222 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A1

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B1-A1	19.05000	15.78425	22.31575	3.3e-15
C1-A1	17.70333	14.43758	20.96908	6.3e-10
D1-A1	19.45000	16.18425	22.71575	4.4e-15
E1-A1	19.76333	16.49758	23.02908	< 2e-16
F1-A1	18.83333	15.56758	22.09908	3.0e-13
G1-A1	18.47000	15.20425	21.73575	1.8e-15

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A1: acarbosa, B1: agua pura a 50°C, C1: etanol al 15% a 50°C, D1: glicerol al 15% a 50°C, E1; agua pura a 70°C, F1: etanol al 15% a 70°C y G1: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 10 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	1547	257.84	120.4	3.12e-11
Residuo	14	30	2.14		
Total	20	1577			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.06689 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.1648	0.9822 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A10

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B10-A10	24.55333	21.06960	28.03706	8.9e-16
C10-A10	24.60667	21.12294	28.09040	< 2e-16
D10-A10	23.50667	20.02294	26.99040	< 2e-16
E10-A10	24.60667	21.12294	28.09040	< 2e-16
F10-A10	25.38667	21.90294	28.87040	< 2e-16
G10-A10	24.24333	20.75960	27.72706	< 2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A10: acarbosa, B10: agua pura a 50°C, C10: etanol al 15% a 50°C, D10: glicerol al 15% a 50°C, E10; agua pura a 70°C, F10: etanol al 15% a 70°C y G10: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 100 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	5697	949.4	249.5	2.07-13
Residuo	14	53	3.8		
Total	20	5750			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.6956 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.5334	0.7743 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A100

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B100-A100	50.10333	45.45965	54.74702	<2e-16
C100-A100	39.24333	34.59965	43.88702	<2e-16
D100-A100	50.87000	46.22632	55.51368	<2e-16
E100-A100	39.24333	34.59965	43.88702	<2e-16
F100-A100	39.01333	32.36965	41.65702	<2e-16
G100-A100	49.77667	45.13298	54.42035	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A100: acarbosa, B100: agua pura a 50°C, C100: etanol al 15% a 50°C, D100: glicerol al 15% a 50°C, E100; agua pura a 70°C, F100: etanol al 15% a 70°C y G100: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 1000 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	12583	2097	2003	<2e-16
Residuo	14	15	1		
Total	20	12598			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.07577 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.4246	0.8506 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A1000

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B1000-A1000	68.55667	64.85795	72.25539	<2e-16
C1000-A1000	52.11333	48.41461	55.81205	<2e-16
D1000-A1000	74.01333	70.31461	77.71205	<2e-16
E1000-A1000	52.11333	48.41461	55.81205	<2e-16
F1000-A1000	49.31000	45.61128	53.00872	<2e-16
G1000-A1000	65.22000	61.52128	68.91872	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A1000: acarbosa, B1000: agua pura a 50°C, C1000: etanol al 15% a 50°C, D1000: glicerol al 15% a 50°C, E1000; agua pura a 70°C, F1000: etanol al 15% a 70°C y G1000: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Anexo 41. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para la capacidad de inhibición de α -amilasa en extractos obtenidos por extracción asistida por ultrasonido

Análisis de varianza para la concentración 0.1 μ g/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	225.04	37.51	10.49	0.000168
Residuo	14	50.03	3.57		
Total	20	275.07			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.9362 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.4901	0.8053 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B-A	10.633333	6.132788	15.13388	3.3e-05
C-A	8.360000	3.859454	12.86055	0.00052
D-A	8.523333	4.022788	13.02388	0.00041
E-A	7.886667	3.386121	12.38721	0.00077
F-A	9.653333	5.152788	14.15388	0.00012
G-A	9.173333	4.672788	13.67388	0.00017

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A: acarbosa, B: agua pura a 50°C, C: etanol al 15% a 50°C, D: glicerol al 15% a 50°C, E; agua pura a 70°C, F: etanol al 15% a 70°C y G: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 1 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	919.30	153.22	59.17	3.81e-09
Residuo	14	36.30	2.59		
Total	20	955.60			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.693 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.2611	0.9462 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A1

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B1-A1	19.66667	15.83558	23.49776	3.9e-14
C1-A1	18.17333	14.34224	23.00442	1.4e-11
D1-A1	18.85333	15.02224	22.68442	1.1e-13
E1-A1	18.04000	14.20891	21.87109	1.5e-12
F1-A1	18.87333	15.04224	22.70442	7.8e-13
G1-A1	19.44667	15.61558	23.27776	1.5e-12

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A1: acarbosa, B1: agua pura a 50°C, C1: etanol al 15% a 50°C, D1: glicerol al 15% a 50°C, E1; agua pura a 70°C, F1: etanol al 15% a 70°C y G1: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 10 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	1510.50	251.75	145.60	8.52e-12
Residuo	14	24.50	1.73		
Total	20	1535.00			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.1639 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.2611	0.9814 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A10

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B10-A10	24.63667	21.50599	27.76735	<2e-16
C10-A10	23.77333	20.64265	26.90401	<2e-16
D10-A10	24.41667	21.28599	27.54735	<2e-16
E10-A10	24.07000	20.93932	27.20068	<2e-16
F10-A10	24.13000	20.99932	27.26068	<2e-16
G10-A10	24.32667	21.19599	27.45735	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A10: acarbosa, B10: agua pura a 50°C, C10: etanol al 15% a 50°C, D10: glicerol al 15% a 50°C, E10; agua pura a 70°C, F10: etanol al 15% a 70°C y G10: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 100 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	6240	1040	861.20	<2e-16
Residuo	14	17	1.2		
Total	20	6257			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.2282 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.1649	0.9821 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A100

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B100-A100	50.11333	47.49716	52.72950	<2e-16
C100-A100	48.02667	45.41050	50.64284	<2e-16
D100-A100	50.71000	48.09383	53.32617	<2e-16
E100-A100	50.27667	47.66050	52.86284	<2e-16
F100-A100	46.98667	44.37050	49.60284	<2e-16
G100-A100	48.69333	46.07716	51.30950	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A100: acarbosa, B100: agua pura a 50°C, C100: etanol al 15% a 50°C, D100: glicerol al 15% a 50°C, E100; agua pura a 70°C, F100: etanol al 15% a 70°C y G100: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 1000 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	12583	2097	2003	<2e-16
Residuo	14	15	1		
Total	20	12598			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.108 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.5355	0.7728 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A1000

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B1000-A1000	74.83000	72.39395	77.26605	<2e-16
C1000-A1000	57.29333	54.85729	59.72938	<2e-16
D1000-A1000	72.21333	69.77729	74.64938	<2e-16
E1000-A1000	74.18667	71.75062	76.62271	<2e-16
F1000-A1000	55.66333	53.22729	58.09938	<2e-16
G1000-A1000	66.96667	64.53062	69.40271	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A1000: acarbosa, B1000: agua pura a 50°C, C1000: etanol al 15% a 50°C, D1000: glicerol al 15% a 50°C, E1000; agua pura a 70°C, F1000: etanol al 15% a 70°C y G1000: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Anexo 42. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para la capacidad de inhibición de α -glucosidasa en extractos obtenidos por extracción por líquidos presurizados

Análisis de varianza para la concentración 0.1 μ g/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	19.609	3.268	5.438	0.00431
Residuo	14	8.414	0.601		
Total	20	28.023			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.2773 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.6597	0.6831 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B-A	2.803333	0.9577603	4.648906	0.00280
C-A	2.153333	0.3077603	3.998906	0.01990
D-A	3.303333	1.4577603	5.148906	0.00069
E-A	2.170000	0.3244269	4.015573	0.01988
F-A	2.106667	0.2610936	3.952240	0.02292
G-A	2.543333	0.6977603	4.388906	0.00619

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A: acarbosa, B: agua pura a 50°C, C: etanol al 15% a 50°C, D: glicerol al 15% a 50°C, E; agua pura a 70°C, F: etanol al 15% a 70°C y G: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 1 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	4558	759.6	503.7	1.58e-15
Residuo	14	21	1.5		
Total	20	4579			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.2379 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.8865	0.53 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A1

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B1-A1	42.20000	39.27631	45.12369	< 2e-16
C1-A1	41.78667	38.86298	44.71036	< 2e-16
D1-A1	41.91333	38.98964	44.83702	< 2e-16
E1-A1	42.57000	39.64631	45.49369	< 2e-16
F1-A1	41.92333	38.99964	44.84702	< 2e-16
G1-A1	42.18000	39.25631	45.10369	< 2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A1: acarbosa, B1: agua pura a 50°C, C1: etanol al 15% a 50°C, D1: glicerol al 15% a 50°C, E1; agua pura a 70°C, F1: etanol al 15% a 70°C y G1: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 10 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	7717	1286.1	854.8	< 2e-16
Residuo	14	21	1.5		
Total	20	7738			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.7709 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.3014	0.9259 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A10

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B10-A10	53.66667	50.74644	56.58690	< 2e-16
C10-A10	55.55333	52.63310	58.47356	< 2e-16
D10-A10	54.95333	52.03310	57.87356	< 2e-16
E10-A10	53.94333	51.02310	56.86356	< 2e-16
F10-A10	55.26667	52.34644	58.18690	< 2e-16
G10-A10	55.11667	52.19644	58.03690	< 2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A10: acarbosa, B10: agua pura a 50°C, C10: etanol al 15% a 50°C, D10: glicerol al 15% a 50°C, E10; agua pura a 70°C, F10: etanol al 15% a 70°C y G10: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 100 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	5697	949.4	249.5	2.07-13
Residuo	14	53	3.8		
Total	20	5750			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.08909 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.6279	0.7059 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A100

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B100-A100	54.89333	50.56266	59.22401	<2e-16
C100-A100	32.90000	28.56933	37.23067	<2e-16
D100-A100	63.72333	59.39266	68.05401	<2e-16
E100-A100	47.47667	43.14599	51.80734	<2e-16
F100-A100	21.41333	17.08266	25.74401	<2e-16
G100-A100	50.72333	46.39266	55.05401	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A100: acarbosa, B100: agua pura a 50°C, C100: etanol al 15% a 50°C, D100: glicerol al 15% a 50°C, E100; agua pura a 70°C, F100: etanol al 15% a 70°C y G100: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 1000 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	13349	2225	739.5	<2e-16
Residuo	14	42	3		
Total	20	13391			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.143 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	1.2985	0.32 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A1000

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B1000-A1000	50.016667	45.887519	54.145814	<2e-16
C1000-A1000	5.143333	1.014186	9.272481	0.0127
D1000-A1000	63.003333	58.784186	67.132481	<2e-16
E1000-A1000	46.010000	41.880852	50.139148	<2e-16
F1000-A1000	-1.590000	-5.719148	2.539148	0.7424*
G1000-A1000	43.763333	39.634186	47.892481	<2e-16

*El p-valor > 0.05 indica que el tratamiento F1000 tiene un comportamiento similar al control.

Leyenda:

A1000: acarbosa, B1000: agua pura a 50°C, C1000: etanol al 15% a 50°C, D1000: glicerol al 15% a 50°C, E1000; agua pura a 70°C, F1000: etanol al 15% a 70°C y G1000: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Anexo 43. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias para la capacidad de inhibición de α -glucosidasa en extractos obtenidos por extracción asistida por ultrasonido

Análisis de varianza para la concentración 0.1 $\mu\text{g/mL}$

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	225.04	37.51	10.49	0.000168
Residuo	14	50.03	3.57		
Total	20	275.07			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.9362 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.4901	0.8053 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B-A	10.633333	6.132788	15.13388	3.3e-05
C-A	8.360000	3.859454	12.86055	0.00052
D-A	8.523333	4.022788	13.02388	0.00041
E-A	7.886667	3.386121	12.38721	0.00077
F-A	9.653333	5.152788	14.15388	0.00012
G-A	9.173333	4.672788	13.67388	0.00017

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A: acarbosa, B: agua pura a 50°C, C: etanol al 15% a 50°C, D: glicerol al 15% a 50°C, E; agua pura a 70°C, F: etanol al 15% a 70°C y G: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 1 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	919.30	153.22	59.17	3.81e-09
Residuo	14	36.30	2.59		
Total	20	955.60			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.693 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.2611	0.9462 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A1

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B1-A1	19.66667	15.83558	23.49776	3.9e-14
C1-A1	18.17333	14.34224	23.00442	1.4e-11
D1-A1	18.85333	15.02224	22.68442	1.1e-13
E1-A1	18.04000	14.20891	21.87109	1.5e-12
F1-A1	18.87333	15.04224	22.70442	7.8e-13
G1-A1	19.44667	15.61558	23.27776	1.5e-12

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A1: acarbosa, B1: agua pura a 50°C, C1: etanol al 15% a 50°C, D1: glicerol al 15% a 50°C, E1; agua pura a 70°C, F1: etanol al 15% a 70°C y G1: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 10 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	1510.50	251.75	145.60	8.52e-12
Residuo	14	24.50	1.73		
Total	20	1535.00			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.1639 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.2611	0.9814 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A10

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B10-A10	24.63667	21.50599	27.76735	<2e-16
C10-A10	23.77333	20.64265	26.90401	<2e-16
D10-A10	24.41667	21.28599	27.54735	<2e-16
E10-A10	24.07000	20.93932	27.20068	<2e-16
F10-A10	24.13000	20.99932	27.26068	<2e-16
G10-A10	24.32667	21.19599	27.45735	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A10: acarbosa, B10: agua pura a 50°C, C10: etanol al 15% a 50°C, D10: glicerol al 15% a 50°C, E10; agua pura a 70°C, F10: etanol al 15% a 70°C y G10: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 100 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	6240	1040	861.20	<2e-16
Residuo	14	17	1.2		
Total	20	6257			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.2282 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.1649	0.9821 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A100

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B100-A100	50.11333	47.49716	52.72950	<2e-16
C100-A100	48.02667	45.41050	50.64284	<2e-16
D100-A100	50.71000	48.09383	53.32617	<2e-16
E100-A100	50.27667	47.66050	52.86284	<2e-16
F100-A100	46.98667	44.37050	49.60284	<2e-16
G100-A100	48.69333	46.07716	51.30950	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A100: acarbosa, B100: agua pura a 50°C, C100: etanol al 15% a 50°C, D100: glicerol al 15% a 50°C, E100; agua pura a 70°C, F100: etanol al 15% a 70°C y G100: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Análisis de varianza para la concentración de 1000 µg/mL

Leyenda:

FACTOR: Tratamiento

Cuadro de análisis de varianza

	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
tratamiento	6	12583	2097	2003	<2e-16
Residuo	14	15	1		
Total	20	12598			

Prueba de normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

p-valor: 0.108 > 0.05

Según la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 5%, se puede considerar que los residuos siguen una distribución normal.

Prueba de Levene para la homogeneidad de varianza
(centro = mediana)

	Df	valor F	Pr(>F)
grupo	6	0.5355	0.7728 > 0.05
	14		

Según la prueba de Levene con un nivel de significancia del 5%, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula (H_0).

Prueba de Dunnett para comparar varios tratamientos con un control: Nivel de confianza del 95% en términos de la familia de pruebas.

Control: A1000

Comparación	diff	lwr.ci	upr.ci	p-valor
B1000-A1000	74.83000	72.39395	77.26605	<2e-16
C1000-A1000	57.29333	54.85729	59.72938	<2e-16
D1000-A1000	72.21333	69.77729	74.64938	<2e-16
E1000-A1000	74.18667	71.75062	76.62271	<2e-16
F1000-A1000	55.66333	53.22729	58.09938	<2e-16
G1000-A1000	66.96667	64.53062	69.40271	<2e-16

El p-valor < 0.05 indica que ninguno de los tratamiento es similar al control.

Leyenda:

A1000: acarbosa, B1000: agua pura a 50°C, C1000: etanol al 15% a 50°C, D1000: glicerol al 15% a 50°C, E1000; agua pura a 70°C, F1000: etanol al 15% a 70°C y G1000: glicerol al 15% a 70°C. A la concentración indicada.

Anexo 44. Panel fotográfico

Fotografía 1.

Muestra recolectada de hojas de olivo



Fotografía 2.

Tamizado de la muestra (tamaño de partícula 0,5 mm – tamiz N°35)



Fotografía 3.

Recolección de muestra tamizada



Fotografía 4.

Determinación de humedad



Fotografía 5.
Pesado de muestra para la extracción



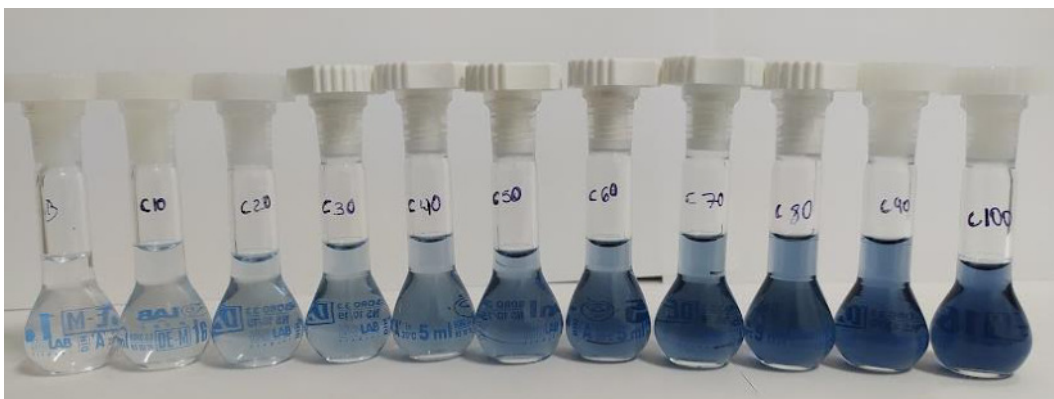
Fotografía 6.
Obtención de extractos a partir de tecnologías alternativas de extracción
Extracción por líquidos presurizados Extracción asistida por ultrasonido



Fotografía 7.
Proceso de dilución



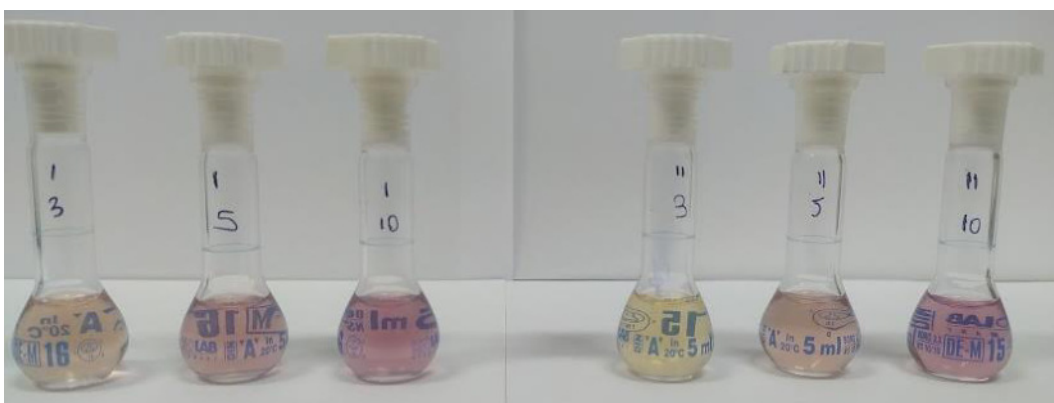
Fotografía 8.
Curva de calibración a partir de ácido gálico



Fotografía 9.
Análisis de polifenoles totales



Fotografía 10.
Análisis de capacidad antioxidante – Método DPPH



Fotografía 11.

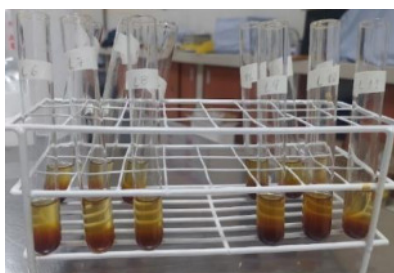
Análisis de capacidad antioxidante – Método ORAC



Fotografía 12.

Análisis para determinar el perfil de polifenoles de los diferentes extractos

Pretratamiento de los extractos (extracción SPE)



Determinación de polifenoles específicos mediante UHPLC-DAD

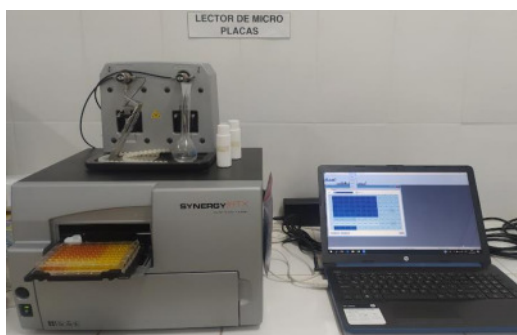


Fotografía 13.

Análisis de la capacidad inhibitoria de enzimas relacionadas a la diabetes mellitus tipo 2

α -amilasa

α -glucosidasa



FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL UNAM

Formulario de autorización para la publicación electrónica en la página web del Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua, de conformidad con la Ley N° 30035 Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto y Resolución de Comisión Organizadora N° 041-2022-UNAM que aprueba el Reglamento que regula el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

1. DATOS DEL AUTOR

Nombres y Apellidos : Luis Omar Mamani Apaza
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N° : 72489611
Correo electrónico : mluis1707@gmail.com
Teléfono/Celular : 977157801

2. GRADO, TÍTULO O ESPECIALIZACIÓN (Marque con una X)

Bachiller	Título Profesional	Magister	Doctor	Segunda Especialidad
	X			

3. TIPO DE PUBLICACIÓN (Marque con una X)

- a) Artículo ()
- b) Tesis de pregrado (X)
- c) Tesis de Maestría ()
- d) Tesis de Doctorado ()
- e) Monografía ()
- f) Reporte de caso científico o hallazgos ()
- g) Libro ()
- h) Parte de un libro ()
- i) Revisión ()
- j) Conferencia ()
- k) Presentación ()
- l) Artículo preliminar ()
- m) Artículo antes de ser publicado ()
- n) Artículo de prensa ()
- o) Documentos internos ()
- p) Imagen ()
- q) Documentos técnicos ()
- r) Ponencias presentadas en eventos científicos (Jornada, Congreso, Simposio Conferencias, etc.) ()
- s) Informes de suficiencia profesional ()
- t) Patentes producidas por académicos/as ()

4. TIPO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN (Marque con una X)

- a) Tesis (X)
- b) Trabajo de Investigación ()
- c) Trabajo de suficiencia profesional ()
- d) Trabajo académico ()

5. DATOS DE LA PUBLICACION

- a) Título : “Uso de tecnologías alternativas para la obtención de extractos con capacidad antioxidante y efecto inhibitorio de enzimas relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 a partir de hojas de olivo”
- b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra : https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html) : 2.11.02
- c) Fecha de publicación:

6. DATOS DEL ASESOR:

- a) Nombres y Apellidos : Nils Leander Huamán Castilla
- b) DNI/Pasaporte/Cédula : 41939181
- c) ORCID : 0000-0002-3748-0883

FIRMA

: 

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 72489611

NOMBRES Y APELLIDOS : Luis Omar Mamani Apaza

LICENCIAS

Licencia Estándar

Bajo los siguientes términos, autorizo el depósito de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

Con la autorización de depósito de mi trabajo de investigación, otorgo a la Universidad Nacional de Moquegua, una Licencia No Exclusiva para reproducir, distribuir, comunicar al público, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público mi trabajo de investigación (incluido el resumen), en formato físico o digital, en cualquier medio, conocido o por conocerse, a través de los diversos servicios provistos por la Universidad, creados o por crearse, tales como el Repositorio Institucional Digital de la UNAM, Colección de Tesis, entre otros, en el Perú y en el extranjero, por el tiempo y veces que considere necesarias, y libre de remuneraciones.

En virtud de dicha Licencia, la UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA, podrá reproducir mi trabajo de investigación en cualquier tipo de soporte y en más de un ejemplar, sin modificar su contenido, solo con los propósitos de seguridad, respaldo y preservación.


Declaro que el trabajo de investigación es una creación de mi autoría y exclusiva titularidad, o coautoría con titularidad compartida, y me encuentro facultado a conceder la presente licencia y, asimismo, garantizo que dicho trabajo de investigación no infringe derechos de autor de terceras personas.

La UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA consignará el nombre del/los autor/es del trabajo de investigación, y no le hará ninguna modificación más de la permitida en la presente licencia.

Autorizo el depósito (marque con una X).

☒ **SI autorizo que se deposite inmediatamente.**

FIRMA

: 

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 72489611

NOMBRES Y APELLIDOS : Luis Omar Mamani Apaza

FECHA : 24/07/2023



DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN / TESIS / TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

Yo, Luis Omar Mamani Apaza,
bachiller de la Escuela Profesional de: Ingeniería Agroindustrial

de la Universidad Nacional de Moquegua, identificado(a) con DNI N° 72489611, autor(a) del Trabajo de Investigación / Tesis / Trabajo de suficiencia profesional, denominado:

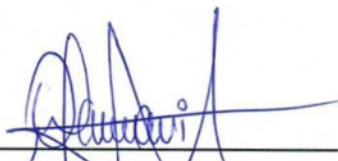
Uso de tecnologías alternativas para la obtención de extractos con capacidad antioxidante y efecto inhibitorio de enzimas relacionadas con la diabetes mellitus tipo 2 a partir de hojas de olivo

Declaro bajo juramento que:

1. El trabajo de investigación es auténtico, siendo resultado de mi trabajo personal, que no se ha copiado, que no se ha utilizado ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor. Por tanto, el trabajo de investigación no ha sido plagiado total ni parcialmente.
2. El trabajo de investigación no ha sido autoplagiado, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
3. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presentan en el trabajo de investigación constituirán aporte a la realidad investigada.

Soy consciente de que, el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones universitarias y/o legales, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en el trabajo de investigación, así como de los derechos sobre la obra presentada.

Moquegua, 24 de julio de 2023



Nombres y Apellidos: Luis Omar Mamani Apaza
DNI: 72489611






Huella digital

Document Information

Analyzed document	informe de tesis omar_final.docx (D172281878)
Submitted	2023-07-22 00:52:00
Submitted by	Elias
Submitter email	eescobedop@unam.edu.pe
Similarity	1%
Analysis address	eescobedop.unampe@analysis.arkund.com

Sources included in the report

SA	Universidad Nacional de Moquegua / Tesis Eduardo & Fiorella_NH.docx Document Tesis Eduardo & Fiorella_NH.docx (D171445212) Submitted by: nhuamanc@unam.edu.pe Receiver: nhuamanc.unampe@analysis.arkund.com	 6
SA	Universidad Nacional de Moquegua / INFORME-TESIS-NH2.docx Document INFORME-TESIS-NH2.docx (D171428647) Submitted by: nhuamanc@unam.edu.pe Receiver: nhuamanc.unampe@analysis.arkund.com	 1
SA	Universidad Nacional de Moquegua / Proyecto de tesis_Cecilia Copa Chipana.docx Document Proyecto de tesis_Cecilia Copa Chipana.docx (D110940112) Submitted by: ollallac@unam.edu.pe Receiver: ollallac.unampe@analysis.arkund.com	 1
SA	Universidad Nacional de Moquegua / TESIS PARA EMPASTAR 26 - 05 - 2023_Analisis.docx Document TESIS PARA EMPASTAR 26 - 05 - 2023_Analisis.docx (D171261167) Submitted by: nhuamanc@unam.edu.pe Receiver: nhuamanc.unampe@analysis.arkund.com	 1
SA	Universidad Nacional de Moquegua / INFORME FINAL. YPE 2023 16mayo para OURIGINAL.docx Document INFORME FINAL. YPE 2023 16mayo para OURIGINAL.docx (D171165983) Submitted by: eescobedop@unam.edu.pe Receiver: eescobedop.unampe@analysis.arkund.com	 1

Entire Document

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

USO DE TECNOLOGÍAS ALTERNATIVAS PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO INHIBITORIO DE ENZIMAS RELACIONADAS CON LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 A PARTIR DE HOJAS DE OLIVO

TESIS Presentado por: Bach. Luis Omar Mamani Apaza

Asesor: Dr. Nils Leander Huamán Castilla

Para optar el Título Profesional de: INGENIERO AGROINDUSTRIAL
 MOQUEGUA –