

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DE LOS
EXTRACTOS FENÓLICOS DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.)
Y CAÑIHUA (*Chenopodium pallidicaule* Aellen)”**

**Presentada por:
JORGE CORONADO OLANO**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Lima - Perú

2024

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DE LOS EXTRACTOS FENÓLICOS DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) Y CAÑIHUA (*Chenopodium pallidicaule* Aellen)”

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

7%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

1%

★ purl.org

Fuente de Internet

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Apagado

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DE LOS
EXTRACTOS FENÓLICOS DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.)
Y CAÑIHUA (*Chenopodium pallidicaule* Aellen)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:
JORGE CORONADO OLANO**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

**Dr. Eduardo Morales Soriano
PRESIDENTE**

**Dra. Ritva Repo de Carrasco
ASESOR**

**Dr. Ivan Karlos Best Cuba
CO-ASESOR**

**Dra. Rosana Chirinos Gallardo
MIEMBRO**

**Mg.Sc. Elva Rios Rios
MIEMBRO**

DEDICATORIA

Con mucho cariño, para mis padres, mis hermanos y amigos por el apoyo incondicional que han tenido para conmigo.

A mi familia quien siempre me ha motivado a crecer y me ha enseñado a ser un buen ser humano.

“Caminante no hay camino, se hace camino al andar”

Antonio Machado

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi agradecimiento especial al Fondo Nacional para el Desarrollo de la Innovación Científica, Tecnológica y Tecnológica (FONDECYT) y Hersil S.A. Laboratorios Industriales Farmacéuticos por darme la oportunidad de participar en este importante proyecto: ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE Y ANTIOXIDANTE DE ALIMENTOS NUTRACEUTICOS Y PLANTAS MEDICINALES DE LA REGION ALTOANDINA Y AMAZONICA DEL PERU COMO COADYUVANTES EN EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2: IDENTIFICACION DE COMPUESTOS BIOACTIVOS.

También expreso mi agradecimiento a la Universidad Científica del Sur, y el Ing Oscar Reategui quien fue mi mentor en dicha Casa de Estudios de igual manera a Katherine Grabiell y Claudia Plasencia.

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Peruana Cayetano Heredia y el Ing. Julio Hidalgo, quien fue un guía para el desarrollo de estudio pre-clínico.

Un profundo agradecimiento a mi Patrocinadora, Dra. Ritva Repo-Carrasco Valencia por orientarme y apoyarme, siendo un modelo a seguir profesionalmente.

Al Dr. Iván Best, por guiarme y orientarme en el proceso del desarrollo de la tesis, siendo siempre una fuente consulta.

A Raúl Yuca, de Laboratorios Hersil, quien fue el responsable de hacer el seguimiento y apoyo logístico de la investigación como entidad ejecutora.

A mis docentes y amigos de la Universidad Nacional Agraria La Molina, quien cada uno de ellos inculco, interés y pasión a la ciencia e investigación de alimentos.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1.	GRANOS ANDINOS.....	3
2.2.	QUINUA (Chenopodium quinoa Willd.).....	3
2.2.1.	Quinua Negra Collana	5
2.2.2.	Quinua Salcedo INIA	6
2.3.1.	Cañihua Cupi	8
2.3.2.	Cañihua ILLPA INIA (INIA 406-ILLPA).....	9
2.4.	COMPUESTOS FENÓLICOS.....	10
2.4.1.	Compuestos Fenólicos de quinua y cañihua.....	13
2.5.	COMPUESTOS ANTIOXIDANTES.....	14
2.6.	ENZIMA α -AMILASA	15
2.7.	ENZIMA α -GLUCOSIDASA	16
2.8.	DIABETES MELLITUS 2 (DM2)	17
2.9.	EXTRACCIÓN EN FASE SOLIDA (SPE).....	19
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN	21
3.2.	MATERIA PRIMA E INSUMOS.....	21
3.3.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	22
3.3.1	Materiales	22
3.3.2	Equipos	22
3.3.3	Reactivos	23
3.3.4	Estándares	25
3.3.5	Materiales para estudio pre-clínico (in-vivo).....	25
3.4.	MÉTODOS DE ANÁLISIS	26
3.4.1.	Obtención y purificación de compuestos fenólicos	26
a.	Obtención de harina.....	26
b.	Maceración etanólica y purificación	26
3.4.2.	Determinación de polifenoles totales	27
3.4.3.	Determinación de flavonoides totales	27

3.4.4.	Determinación de actividad antioxidante (in-vitro)	27
3.4.5.	Actividad hipoglucemiante in-vitro	27
a.	Ensayo de inhibición enzimática de α -amilasa	27
b.	Ensayo de inhibición enzimática de α -glucosidasa	28
3.4.6.	Determinación y cuantificación de compuestos fenólicos.....	29
3.4.7.	Estudio pre-clínico (in-vivo)	29
3.4.8.	Ensayo de tolerancia de glucosa oral (TGO)	31
3.4.9.	Cortes histológicos de páncreas e hígado.....	31
3.5.	Metodología experimental.....	31
3.6.	Análisis estadístico	32
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1	OBTENCIÓN Y PURIFICACIÓN DE EXTRACTOS	34
4.2	DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, FLAVONOIDEOS TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (<i>IN-VITRO</i>).....	37
4.3	ACTIVAD HIPOGLUCEMIANTE	40
4.3.1	Ensayo de inhibición de α -amilasa	40
4.4	IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	44
	Cuadro 17: Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos	44
V.	CONCLUSIONES	67
VI.	RECOMENDACIONES	69
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
VIII.	ANEXOS	79

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Características morfológicas Quinoa Negra Collana	5
Cuadro 2: Análisis bromatológico de Quinoa Negra Collana	6
Cuadro 3: Características del grano de quinua Salcedo INIA	6
Cuadro 4: Valor nutricional de quinua Salcedo INIA	7
Cuadro 5: Composición química de cañihua Cupi	9
Cuadro 6: Valor nutricional de cañihua ILLPA INIA	10
Cuadro 7: Diseño de experimentación para estudio pre-clínico	29
Cuadro 8: Información Nutricional de Dieta Purificada (DP).....	30
Cuadro 9: Información Nutricional de Dieta Rica en Grasa (DRG)	30
Cuadro 10: Esquema experimental para la obtención, análisis fitoquímicos y actividad hipoglucemiante de los extractos.....	33
Cuadro 11. Rendimientos de los extractos secos purificados.....	36
Cuadro 12. Polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante *	37
Cuadro 13. Porcentaje de inhibición de α -Amilasa	40
Cuadro 14: Extractos con mejores porcentajes de inhibición de α -Amilasa *	41
Cuadro 15: Porcentaje de inhibición de α -Glucosidasa*.....	42
Cuadro 16: extractos con mayor porcentaje de inhibición de α -Glucosidasa *	43
Cuadro 17: Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos	44
Cuadro 18: Inducción a Diabetes, individuos, pesos y niveles de glucosa	47
Cuadro 19: Análisis de tolerancia a la glucosa, antes de la ingesta.....	49
Cuadro 20: Control de peso y niveles de Glucosa.....	51
Cuadro 21. Control de peso y niveles de Glucosa durante la ingesta*	52
Cuadro 22. Resultado de los análisis de cortes histológicos de páncreas e Hígado	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Flavonoides: estructura básica y tipos.....	12
Figura 2: Representación esquemática de la actividad pancreática α -amilasa y α -glucosidasa	16
Figura 3: Cañihua ILLPA INIA (CII), Cañihua Cupi (CCC),.....	21
Figura 4: Obtención de harina de Quinuas y Cañihuas	26
Figura 5: Muestras en grano y harina	34
Figura 6: Muestras en grano y harina	35
Figura 7: Homogenizado y filtrado	35
Figura 8. Purificación de extractos mediante colector SPE.....	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Graficas De Tolerancia A La Glucosa	79
Anexo 2. Graficas de Inhibición enzimática de α -amilasa y α -glucosidasa	81
Anexo 3. Cromatogramas De Extractos	82
Anexo 4. Análisis De Varianza (Anva)	84
Anexo 5. Comparaciones Por Parejas De Tukey Y Dunnett	103
Anexo 6. Certificación de comida para ratas	121
Anexo 7. Toxicidad Agua Oral (D150)	123

LISTA DE SÍMBOLOS

- DM2: Diabetes mellitus tipo 2
- SPE: Extracción en fase solida
- HPLC/DAD: Cromatografía liquida de calidad con arreglo de diodos
- DMSO: Dimetilsulfóxido
- CII: Cañihua ILLPA INIA
- CCC: Cañihua Cupi
- QNC Quinoa Negra Collana
- QSI: Quinoa Salcedo INIA
- TEAC: Capacidad antioxidante equivalente al Trolox
- DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo
- ESP: extracto seco purificado

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue extraer compuestos fenólicos de dos variedades de: quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y dos variedades cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) mediante extractos etanólicos y técnica de extracción en fase sólida (SPE). Así como cuantificación de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante (*in-vitro*), Determinar la actividad hipoglucemiante (*in-vitro*) en enzimas α -amilasa y α -glucosidasa; Identificar y cuantificar compuestos fenólicos, mediante cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de arreglo de diodos HPLC/DAD, Además, se seleccionó dos extractos con mejores resultados en compuestos en fenólicos y flavonoides totales, actividad antioxidante (*in-vitro*) y que presenten resultado de inhibición enzimática de α -amilasa y α -glucosidasa para evaluar los efectos en un modelo pre-clínico *in-vivo* con Ratas *Sprague-Dawley* (machos) para evaluar si tiene un efecto en la reducción de glucosa. Los granos fueron molidos y se realizó una extracción con etanol (80 por ciento p/v) y luego los extractos se purificaron mediante extracción en fase sólida con una columna de empaque ENVITM-18. Las variedades de cañihua presentaron aproximadamente 1,46; 1,57 y 3,90 veces más contenido de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante (*in vitro*), respectivamente; en comparación con las variedades de quinua. En cuanto a la actividad hipoglucémica (*in vitro*), enzima α -glucosidasa fue de 42,92 por ciento a 500 μ g de ESP/ml en quinua Negra Collana; 25,26 por ciento a 500 μ g de ESP/ml en cañihua Cupi y 21,13 por ciento a 250 μ g de ESP/ml en cañihua ILLPA INIA. Mientras que la inhibición de la enzima α -amilasa en Cañihua ILLPA (CII) fue de 27,04 por ciento a de 50 μ g de ESP/ml; en quinua de Salcedo (QSI) fue de 21,62 por ciento a de 500 μ g de ESP/ml y de cañihua Cupi (CCC) fue de 21,39 por ciento a 250 μ g de ESP/ml. los ensayos de inhibición revelan que, tanto de la α -amilasa como de la α -glucosidasa revelan mejores resultados para la cañihua ILLPA INIA y cañihua Cupi. Durante la identificación de compuestos bioactivos por HPLC/DAD, se observó la presencia de ácido gálico, rutina y ácido clorogénico, siendo este último el más relevante ya que su contenido era 4,5 veces más en las variedades de cañihua en comparación con las variedades de quinua. La actividad antioxidante presentó una correlación significativa con el contenido de polifenoles totales, flavonoides totales y ácido clorogénico ($r = 0,97$; $r = 0,93$ y $r = 0,91$ respectivamente; $P < 0,01$). La actividad hipoglucemiante medida por la inhibición de la α -glucosidasa y la α -amilasa no mostró correlación con ninguna de las variables evaluadas. En el estudio pre-clínico, las ratas fueron inducidas a obesidad con comida alta en grasa e inducidas a diabetes

con estreptozotocina. Posteriormente, se evaluó la tolerancia a la glucosa, una vez inducidas a diabetes, se procedió a dar ingesta con los extractos de cañihua ILLPA INIA y Cupi por un período de 28 días, dando como resultado con la ingesta del extracto CII, 3 de 5 individuos redujeron sus niveles de glucosa y con la ingesta del extracto Cañihua Cupi (CCC), 2 de 5 individuos redujeron sus niveles de glucosa. Dichos resultados sugieren que se requieren más estudios para identificar los compuestos bioactivos presentes en los extractos de quinua y cañihua responsables de la actividad hipoglucémica *in vitro*, así como usar una dosis más alta de extractos en la ingesta.

Palabras clave: Diabetes Mellitus 2, α -amilasa, α -glucosidasa, actividad antioxidante, quinua, cañihua.

ABSTRACT

The aim of the present research was to extract phenolic compounds of two varieties of: quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and two varieties cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) using ethanolic extracts and solid phase extraction technique (SPE). As well as quantification of total polyphenols, total flavonoids and antioxidant activity (in-vitro), Determine the hypoglycemic activity (in-vitro) in α -amylase and α -glucosidase enzymes; Identify and quantify phenolic compounds, using high efficiency liquid chromatography with HPLC / DAD diode array detector. In addition, two extracts with better results in compounds in total phenolic and flavonoids, antioxidant activity (in-vitro) and showing results were selected. of enzyme inhibition of α -amylase and α -glucosidase to evaluate effects in an in-vivo pre-clinical model with Sprague-Dawley Rats (males) to evaluate whether it has an effect on glucose reduction. The grains were ground and extracted with ethanol (80 percent w/v) and then the extracts were purified by solid phase extraction with an ENVITM-18 packing column. The varieties of cañihua presented approximately 1.46; 1.57- and 3.90-times higher content of total polyphenols, total flavonoids and antioxidant activity (in vitro), respectively; compared to quinoa varieties. Regarding hypoglycemic activity (in vitro), α -glucosidase enzyme was 42.92 percent at 500 μ g ESP / ml in Quinoa Negra Collana; 25.26 percent at 500 μ g ESP / ml in Cupi hemp and 21.13 percent at 250 μ g ESP / ml in ILLPA INIA hemp. While inhibition of the enzyme α -amylase in Cañihua ILLPA (CII) was 27.04 percent to 50 μ g ESP / ml; in Salcedo quinoa (QSI) it was 21.62 percent to 500 μ g of ESP / ml and of Cañihua Cupi (CCC) it was 21.39 percent to 250 μ g of ESP / ml. Inhibition assays reveal that both α -amylase and α -glucosidase reveal better results for ILLPA INIA and Cupi cannabis. During the identification of bioactive compounds by HPLC / DAD, the presence of gallic acid, rutin and chlorogenic acid was observed, the latter being the most relevant as its content was 4.5 times higher in the varieties of cañihua compared to the varieties of quinoa. Antioxidant activity showed a significant correlation with the content of total polyphenols, total flavonoids and chlorogenic acid ($r = 0.97$; $r = 0.93$ and $r = 0.91$ respectively; $P < 0.01$). The hypoglycemic activity measured by the inhibition of α -glucosidase and α -amylase showed no correlation with any of the variables evaluated. In the pre-clinical study, rats were induced to obesity with high-fat food and induced to diabetes with streptozotocin. Subsequently, glucose tolerance was evaluated, once induced to diabetes, ingested with the cannabis extracts ILLPA INIA and Cupi for a period of 28 days, resulting in the intake of the extract CII, 3 of 5 individuals reduced their glucose levels and

with the intake of Cañihua Cupi extract (CCC), 2 out of 5 individuals reduced their glucose levels. These results suggest that more studies are required to identify the bioactive compounds present in quinoa and cane extract responsible for hypoglycemic activity in vitro, as well as to use a higher dose of extracts in the intake.

Keywords: Diabetes mellitus 2, α -amylase, α -glucosidase, antioxidant activity, quinoa, cañihua.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se han identificado en algunos recursos vegetales, inhibidores naturales de la enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, lo cual ofrece una buena estrategia para controlar la hiperglucemia postprandial, una etapa previa al desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) de manera natural sin los efectos secundarios asociados al tratamiento convencional tales como distensión abdominal, flatulencia y diarrea (Mirmiran *et al.* 2014; Bahadoran *et al.* 2013; Dragan *et al.* 2015; Bussmann *et al.* 2013; Tabatabaei-Malazy *et al.* 2015; Hung *et al.* 2012; Pinto *et al.* 2009; Ranilla *et al.* 2010; Ranilla *et al.* 2009).

Tener niveles elevados de azúcar en la sangre, también conocidos como glucemia, es una enfermedad crónica conocida como diabetes mellitus. Esto puede ser el resultado de un funcionamiento incorrecto del páncreas, la glándula que normalmente produce la hormona insulina, o de una respuesta inadecuada del cuerpo a esta hormona. (INEI 2019).

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) consiste en una variación de la secreción y actividad de la insulina o una falla de las células β pancreáticas, por tanto, la resistencia a la insulina conduce a un incremento en los niveles de glucosa en sangre con el resultado de hiperglucemia posprandial. Esta afecta el metabolismo de grasas, carbohidratos y proteínas, asimismo, es la principal causa de trastornos neurológicos, cardiovasculares, insuficiencia renal, ceguera y amputación de extremidades inferiores (Vilcacundo *et al.* 2017).

Actualmente, se vienen utilizando diferentes estrategias para la prevención y el tratamiento, tales como los cambios en la dieta que evitan los alimentos procesados y aumentan la ingesta de frutas y verduras, el ejercicio físico regular y el uso de diferentes fármacos antidiabéticos. Sin embargo, debido a los efectos secundarios adversos y la durabilidad limitada a largo plazo asociados con la insulina y los agentes antihiper-glucemiantes orales convencionales, es necesario explorar enfoques naturales y seguros para prevenir una mayor progresión de la DM2 y sus trastornos relacionados (Vilcacundo *et al.* 2017).

En los últimos años, han surgido inhibidores enzimáticos específicos como una alternativa para el tratamiento de la DM2. La inhibición de enzimas hidrolizantes de carbohidratos

como la α -amilasa y la α -glucosidasa es una opción en el control de la homeostasis de la glucosa en pacientes diabéticos. Se sabe que los inhibidores de la α -amilasa pancreática y salival evitan la hidrólisis de almidones complejos a oligosacáridos e impiden que los remanentes de almidón y glucosa sean absorbidos en el sistema digestivo. Además, la inhibición de enzimas de la α -glucosidasa evitan la hidrólisis de carbohidratos a glucosa en el intestino delgado. Por lo tanto, la inhibición de ambas enzimas disminuye la celeridad de digestión de los carbohidratos y como resultado se absorbe y se transporta menos glucosa en la sangre (Richardson 1991; Johnson *et al.* 2011; El Abed *et al.* 2017; Vilcacundo *et al.* 2017).

Hemalatha *et al.* (2016) mencionan que la acumulación excesiva de glucosa libre en sangre es un síntoma de diabetes mellitus, lo que está relacionado con la aparición de complicaciones diabéticas vasculares y provoca la generación de radicales libres y daños relacionados con la oxidación en varios órganos. En el intestino delgado, las enzimas alfa-amilasa y alfa-glucosidasa son esenciales para la digestión de carbohidratos. Se ha demostrado que los compuestos fenólicos de varias fuentes vegetales, como los granos alimenticios y las semillas de leguminosas, inhiben las actividades de la alfa-amilasa y la alfa-glucosidasa, además de permitir un mejor control de los niveles sanguíneos de glucosa. Como resultado, estos fitoquímicos brindan una forma atractiva de controlar las actividades enzimáticas involucradas en la degradación del almidón y la absorción intestinal de glucosa.

El objetivo de la presente investigación fue extraer compuestos fenólicos de dos variedades de: quinua y dos variedades cañihua mediante extractos etanólicos y técnica de extracción en fase sólida (SPE). Así como cuantificación de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante (*in-vitro*), Determinar la actividad hipoglucemiante (*in-vitro*) en enzimas α -amilasa y α -glucosidasa; Identificar y cuantificar compuestos fenólicos, mediante cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de arreglo de diodos HPLC/DAD. Además, se seleccionó dos extractos con mejores resultados en compuestos en fenólicos y flavonoides totales, actividad antioxidante (*in-vitro*) y que presenten resultado de inhibición enzimática de α -amilasa y α -glucosidasa para evaluar los efectos en un modelo pre-clínico in-vivo con Ratas Sprague-Dawley (machos) para evaluar si tiene un efecto en la reducción de glucosa, que fueron inducidas a diabetes experimental. Luego, se administró los extractos por 28 días, buscando ver el efecto positivo que puedan tener estos extractos en la reducción de los niveles de glucosa.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. GRANOS ANDINOS

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) son granos nutritivos que se cultivan en las tierras altas de los Andes. Estos cultivos fueron utilizados por las culturas precolombinas en América del Sur durante siglos. Eran muy importantes para los incas junto con el maíz y las papas. Estas plantas son tolerantes al frío y la sequía y pueden cultivarse en montañas altas, especialmente cañihua, que se pueden cultivar a más de 4000 msnm. La variabilidad genética de la quinua y cañihua es enorme, ya que los cultivares se adaptan al crecimiento desde el nivel del mar hasta las montañas altas, y desde los climas fríos de las tierras altas hasta las condiciones subtropicales. Se suelen denominar pseudocereales ya que no son miembros de la familia de las gramíneas, pero producen semillas que se pueden moler en harina y utilizar como un cultivo de cereales. La quinua se usa principalmente en sopas y también en lugar de arroz en los platos principales. El cañihua se suele tostar, moler y consumir como harina (kañiwako). Estos granos no tienen gluten y pueden ser utilizados por personas que padecen la enfermedad celíaca (Repo-Carrasco-Valencia *et al.* 2010).

2.2. QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.)

La quinua es un grano que los pueblos indígenas andinos de la Región Andina de América del Sur han domesticado, protegido y preservado (Repo-Carrasco-Valencia 2014). Su principal origen y conservación se encuentra en el Altiplano alrededor del lago Titicaca del Perú y Bolivia, a una altitud de 3800 metros sobre el nivel del mar (Tapia *et al.* 2014).

La quinua es un pseudocereal tradicionalmente consumido por las culturas andinas que atrae la atención mundial como alimento funcional. Debido a su aguante a condiciones ambientales extremas y sus propiedades biológicas y nutricionales, la quinua se ha definido como "uno de los granos del siglo XXI". Además de su alto contenido en lípidos, proteínas, fibra, minerales y vitaminas, y su perfecto equilibrio de aminoácidos esenciales, se ha encontrado que la quinua posee numerosos fitoquímicos como las saponinas, péptidos bioactivos, fitoesteroles y fenólicos. Estos compuestos logran ejercer efectos beneficiosos

sobre la salud cardiovascular, metabólica y gastrointestinal. Esta revisión resume el papel funcional y nutricional de la quinua haciendo ahínco en la evidencia demostrada por estudios en animales y clínicos (Vilcacundo y Hernández-Ledesma 2017).

Para entender los métodos de producción de la quinua, es importante tener en cuenta su gran adaptabilidad y adaptabilidad a diversas condiciones climáticas y de suelo en las zonas agroecológicas donde se cultiva. En Perú, se puede cultivar desde el nivel del mar hasta los 3900 metros sobre el nivel del mar, con la mayor concentración entre los 2500 y 3900 metros sobre el nivel del mar. En general, se desarrolla en un clima templado a frío con heladas frecuentes y dependiendo de las precipitaciones pluviales (Bazile *et al.* 2014).

Mujica y Canahua (1989) citados por Estrada *et al.* (2014) refieren que La maleabilidad genética de la quinua ha permitido su cultivo desde los niveles del mar como cultivo único, en conjunto con maíz en las zonas quechua (2500-3500 msnm), como cultivo rotativo con la papa en la zona suni (3600 a 3800 msnm) , y como cultivo único en las áreas más altas de los Andes alrededor del Lago Titicaca (3810 msnm), en el propio Altiplano (3900 msnm) y en los salares del sur de Bolivia . Como resultado, una de las características más cruciales para el desarrollo de su industria es el estudio de la conducta fenológica de la quinua y cómo se adapta a las diversas condiciones climáticas de los Andes para desarrollar su industria.

Tapia (1982) citado por Estrada *et al.* (2014) ha catalogado LA quinua se clasifica en cinco variedades según su capacidad para adaptarse a diversas condiciones agroecológicas: i) Las quinuas cultivadas a nivel del mar en el centro y sur de Chile; ii) las quinuas de los yungas, o el área subtropical en la parte oriental de los Andes En el Altiplano sur de Bolivia, se encuentran las quinuas de los salares, que tienen un mayor tamaño de grano y se adaptan a los suelos salinos. También se encuentran las quinuas en áreas mesotérmicas, como los valles interandinos. También se encuentran las quinuas en el Altiplano norte del lago Titicaca, que comparten el Perú y Bolivia y tienen un corto período de crecimiento. Los agricultores han obtenido y cultivado variedades tradicionales de quinuas durante muchos siglos. y nuevas selecciones, producto del progreso encaminado por las instituciones de investigación, que se han probado en diferentes medios con resultados variables.

En Perú, existen ocho bancos de germoplasma donde se mantienen 6302 accesiones de quinua, los cuales se encuentran en las Estaciones Experimentales del INIA, en Illpa (Puno-Banco Nacional), Andenes (Cusco), Canaán (Ayacucho), Santa Ana (Huancayo), Baños del

Inca (Cajamarca), y en la Universidad Agraria La Molina de Lima, la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y la Universidad Nacional del Altiplano de Puno. La Universidad Nacional Agraria La Molina, la Universidad Nacional del Altiplano y el INIA Puno son las colecciones con las mayores accesiones, con 2089, 1910 y 1029, respectivamente (Bazile *et al.* 2014).

Para el estudio a realizarse se usaron dos variedades provenientes de estación INIA Puno: Quinoa Negra Collana (INIA 420) y Quinoa Salcedo INIA.

2.2.1. Quinoa Negra Collana

La variedad INIA 420 - Negra Collana tiene una amplia base genética, ya que se compone de 13 accesiones de 12 localidades conocidas como "quytujiwras". Se le ha dado el nombre comercial de INIA420 - Negra Collana y ha sido el resultado de pruebas de identificación, adaptación y eficiencia realizadas en colaboración con productores de las comunidades campesinas de Collana, Collpa, Cieneguilla, Vizcachani, Ilave, Mañazo y Pilcuyo. La región agroecológica Suni en el altiplano, con una altitud de 3815 a 3900 metros sobre el nivel del mar, una precipitación de 400 a 550 mm y una temperatura de 4 a 15°C, es donde se desarrolla mejor (INIA 2013a).

Cuadro 1: Características morfológicas Quinoa Negra Collana

Aspecto del grano: Opaco
Color del perigonio: Púrpura
Color del pericarpio: Plomo claro
Color del perisperma: Blanco
Forma del borde del grano: Afilado
Uniformidad del color del grano: Bastante uniforme
Diámetro y forma del grano: 2.10 mm - Cilíndrico
Rendimiento de semillas por planta: 32.00 a 34.00 g
Peso de 1 000 granos (g): 3,51 a 3,72 g

Fuente: Adaptado de Apaza *et al.* (2013)

Cuadro 2: Análisis bromatológico de Quinoa Negra Collana en porcentaje

Humedad: 10,00
Proteínas: 17,85 N x 6,25
Fibra: 1,89
Cenizas: 2,20
Grasa: 9,82
Energía: 385,46 Kcal/100 g
Saponina: 0,015

Fuente: Adaptado de INIA (2013a)

2.2.2. Quinoa Salcedo INIA

La quinoa Salcedo INIA se obtuvo mediante selección surco-panoja utilizando material genético de la mezcla de las variedades "Real Boliviana" y "Sajama" cultivadas en Patacamaya. El Programa Nacional de Cultivos Andinos introdujo material genético en 1989. Al principio, se eligieron plantas apropiadas para las condiciones agroecológicas de las zonas dedicadas al cultivo de quinoa en el departamento de Puno. Entre 1989 y 1995, se realizaron pruebas de rendimiento, estabilidad fenotípica, comprobación y producción de semilla básica. Se adapta a las condiciones del altiplano, valles interandinos y costa, con una altitud comprendida entre 1 284 y 3 950 metros sobre el nivel del mar (INIA 2013b).

Cuadro 3: Características del grano de quinoa Salcedo INIA

Aspecto del grano: Opaco
Color del pericarpio: Crema
Color de la episperma y perisperma: Blanco
Uniformidad del color del grano: Bastante uniforme
Diámetro y forma del grano: 2,00 mm - Cilíndrico
Rendimiento de semillas por planta: 40,00 a 48,73 g en el altiplano
Peso de 1 000 granos (g): 3,10 a 3,70 g

Fuente: Adaptado de Apaza *et al.* (2013)

Cuadro 4: Valor nutricional de quinua Salcedo INIA en porcentaje

Humedad: 8,66
Proteínas: 16,23
Fibra: 1,84
Cenizas: 2,00
Grasa: 5,20
Energía (Kcal/100 g): 372,19
Contenido de saponina: 0,02
Eflusión de saponina: Dulce

Fuente: Adaptado de Apaza *et al.* (2013)

2.3. CAÑIHUA (*Chenopodium pallidicaule* Aellen)

También llamado kañiwa o cañahua, perteneciente a la familia *Chenopodiaceae*, la misma familia que la quinua, ambos son granos nativos de la Región Andina de América del Sur. Cañihua se cultiva en climas semidesérticos a 3600–4400 m de altitud. Por lo general, se cultiva como un cultivo secundario de siembra espontánea en los campos de quinua del sistema agrícola tradicional, por lo tanto, requiere un cuidado mínimo (Peñarrieta *et al.* Durante cientos de años, la cañihua es una especie andina que se ha destacado en la alimentación humana por su alta calidad de proteínas y una mejor composición química. Además de ser una fuente importante de nutrientes como magnesio y calcio, la cañihua también puede ser una fuente importante de componentes funcionales o nutraceuticos como compuestos fenólicos y fibra dietética. Sin embargo, hay pocos estudios que demuestren el verdadero potencial de esta especie en la industria alimentaria. Se cultiva en las zonas montañosas de Arequipa, Cusco y el Altiplano de la Región Puno, a una altitud de 3812 a 4100 metros sobre el nivel del mar. Aunque el Altiplano Perú-Bolivia es el lugar de origen de esta especie y tiene una gran variedad morfológica y genética, no hay especies que cumplan con las expectativas de los agricultores y la agroindustria. La producción de cañihua se realiza utilizando criterios y tecnología tradicionales, lo que resulta en rendimientos bajos y genera ingresos económicos mínimos para los agricultores (Apaza 2010).

La cañihua, un cultivo similar a la quinua, se adapta a condiciones climáticas extremas y puede desarrollarse en suelos salobres y de baja fertilidad, así como en condiciones de

precipitaciones bajas (150 mm/anuales). La alta variabilidad genética en la tolerancia y la adaptación se evidencia en una amplia gama de fenotipos, lo que permite el cultivo para una amplia gama de usos industriales y culinarios. Debemos destacar que este cultivo es altamente adaptable al cambio climático y se cultiva principalmente por la agricultura familiar en las regiones mencionadas. Tiene un alto valor nutricional y se convierte en un producto importante para la soberanía y la seguridad alimentaria. Tiene un gran potencial, pero también problemas en manejo, cosecha, productividad, postcosecha y mercado. En ese sentido, se pudo evidenciar que existen conocimientos que aún subsisten en algunos agricultores. En los últimos diez años, el cultivo ha vuelto a ser importante, varias comunidades han cultivado áreas significativas y se han realizado investigaciones sobre la recuperación de variedades. El ámbito académico y científico también se enfocó en investigar las diversas facetas del cultivo de la cañihua. Estas investigaciones preservaron la genética de esta especie y promovieron el aprovechamiento sostenible y los beneficios de este cultivo (Giménez *et al.* 2017).

La cañihua es resistente a la sequía, los intensos helados y las bajas temperaturas. Es el cultivo de grano más resistente a las temperaturas bajas (-3 °C) sin afectar su producción. El grano de cañihua tiene una alta proporción de aminoácidos azufrados y un alto contenido de proteínas (15-19 por ciento), así como una alta concentración de isoleucina, lisina y triptófano. Esta calidad proteica, junto con su contenido de carbohidratos del 60 por ciento y aceites vegetales del 8 por ciento, la hace extremadamente nutritiva. Es rica en lípidos y con muchos ácidos grasos insaturados y tocoferoles (Repo-Carrasco y Encina 2008).

2.3.1. Cañihua Cupi

Apaza (2010), menciona que las principales características de esta variedad Hábito de crecimiento: Saiwa

- Altura de planta 60 cm.
- Diámetro del tallo central medido en la parte media del tercio inferior de la planta en madurez fisiológica: 4,0 mm.
- Color de estrías: púrpura pálida.
- Color del tallo en madurez fisiológica de la planta: púrpura pálida.
- Color de la hoja a la madurez fisiológica: púrpura pálida.
- Grado de dehiscencia cuando alcanza a la madurez fisiológica: regular.
- Aspecto del perigonio la madurez fisiológica: cerrado.

- Color del perigonio registrado a la madurez fisiológica: gris crema suave.
- Color del epispermo: café claro.
- desde la base hasta el segundo tercio de la planta: nueve.
- Ancho máximo de la lámina foliar del tercio medio de la planta en floración: 1,40 cm.
- Diámetro del grano sin considerar el perigonio: 1,0 a 1,1 mm.
- Peso de 1000 granos 0,5510 g promedio.
- Número de ramas primarias Cobertura vegetativa medida en madurez fisiológica, considerando la cobertura más ancha de la planta: 24 cm.
- Forma de la lámina foliar del tercio medio de la planta en plena floración: ancha ovada.
- Número de dientes de la lámina foliar del tercio medio de la planta en floración: 5 a 6.

Cuadro 5: Composición química de cañihua Cupi en porcentaje

Humedad	8,45
Proteína (Nx6,25)	13,48
Fibra	10,28
Cenizas	4,10
Grasa	3,88
Carbohidratos	59,81
Energía (Kcal/100 g)	325,36

Fuente: Adaptado de Apaza (2010)

2.3.2. Cañihua ILLPA INIA (INIA 406-ILLPA)

Apaza (2010), menciona las principales características de esta variedad son:

- Hábito de crecimiento de la planta: Saiwa.
- Altura de planta: 67 cm.
- Diámetro del tallo central: 5,0 mm.
- Color de estrías: rojo.
- Color del tallo en madurez fisiológica: anaranjado.
- Longitud máxima de la lámina foliar del tercio medio de la planta en floración: 2,40 cm.
- Ancho máximo de lámina foliar del tercio medio de la planta en floración: 1,73 cm.
- Color de la hoja a la madurez fisiológica: anaranjado.

- Grado de dehiscencia cuando alcanza la madurez fisiológica: ligera.
- Aspecto del perigonio en la madurez fisiológica: Cerrado.
- Color del perigonio registrado a la madurez fisiológica: crema suave.
- Número de ramas primarias desde la base hasta el segundo tercio de la planta: 33.
- Forma de lámina foliar del tercio medio de la planta en plena floración: ancha ovada.
- Número de dientes de la lámina foliar del tercio medio de la planta en floración 5 a 7.
- Longitud del peciolo de hojas del tercio medio de la planta en plena floración: 12 mm.
- Color del epispermo: café claro.
- Diámetro del grano sin considerar el perigonio: 1.0 a 1.1 mm.
- Peso de 1000 granos: 0,511 g promedio.

Cuadro 6: Valor nutricional de cañihua ILLPA INIA en porcentaje

Humedad	8,36
Proteína (Nx6,25)	13,82
Fibra	11,00
Cenizas	4,16
Grasa	3,92
Carbohidratos	58,74
Energía (Kcal/100 g)	322,68

Fuente: Adaptado de Apaza (2010)

2.4. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los polifenoles son metabolitos bioactivos secundarios de los alimentos de origen vegetal. Los taninos, los flavonoides y los ácidos fenólicos son los tres tipos de polifenoles más notables, que funcionan como potentes antioxidantes *in vitro*. Estos compuestos son considerados debido a su potencial beneficioso para la salud, incluida la reducción del riesgo de diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis y enfermedades neurodegenerativas (Repo-Carrasco *et al.* 2010).

Los compuestos fenólicos más comunes de las plantas son los flavonoides. Estas sustancias tienen actividad hepatoprotectora, antiviral, antibacteriana, antiinflamatoria y anticancerígena (*in-vitro*). Los flavonoides, un amplio grupo de sustancias que tienen un

gamma-benzo-pireno en su distribución, están presentes en las plantas. Son sintetizados a través del proceso de fenilpropanoide. Estos compuestos hidroxilados se producen cuando las plantas se infectan con microorganismos. El grupo hidroxilo realiza su trabajo al reaccionar con los radicales libres y/o al quelar iones metálicos (Kumar y Pandey 2013).

La rutina fue el primer compuesto identificado. Actualmente se han identificado más de 4000 compuestos. Estos incluyen flavonas (quercetina, kaempferol, miricetina y fisetina), flavonas (flavona, heperetina y naringenina), flavonas (flavona, apigenina y luteolina). El anillo C es donde se encuentran las diferencias entre los grupos, mientras que los anillos A y B son donde se encuentran las diferencias entre los compuestos del mismo grupo. Estos elementos también se pueden encontrar como derivados metilados, agliconas y glicosidos (Kumar y Pandey 2013).

Los compuestos fenólicos tienen en su estructura química uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilos. De igual manera, se clasifican como ácidos fenólicos, cumarina, taninos, estilbenos y flavonoides. Los ácidos fenólicos son derivados de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos. Las frutas con los compuestos fenólicos más altos son las ciruelas, el arándano, la granada frambuesa y las fresas, seguidas por las frutas como los *blueberrys* y *blackberrys* salvajes (Dasgupta y Klein 2014).

Uno de los componentes fenólicos más grandes encontrados en los alimentos vegetales son los flavonoides. Esta categoría compleja de compuestos generalmente se compone de dos anillos aromáticos (anillo A y B) unidos por tres carbonos en otro anillo heterocíclico. Estos compuestos se conocen como flavonas, flavonolas, antocianidinas e isoflavonoides, y normalmente se encuentran en forma conjugada glicosilada o esterificada. Los flavonoides se han relacionado con más de ochenta azúcares. Algunas frutas y vegetales tienen antocianinas que los hacen rojo y azul. Los flavonoides, que también son pigmentos, son responsables de la coloración de las frutas y vegetales (Dasgupta y Klein 2014).

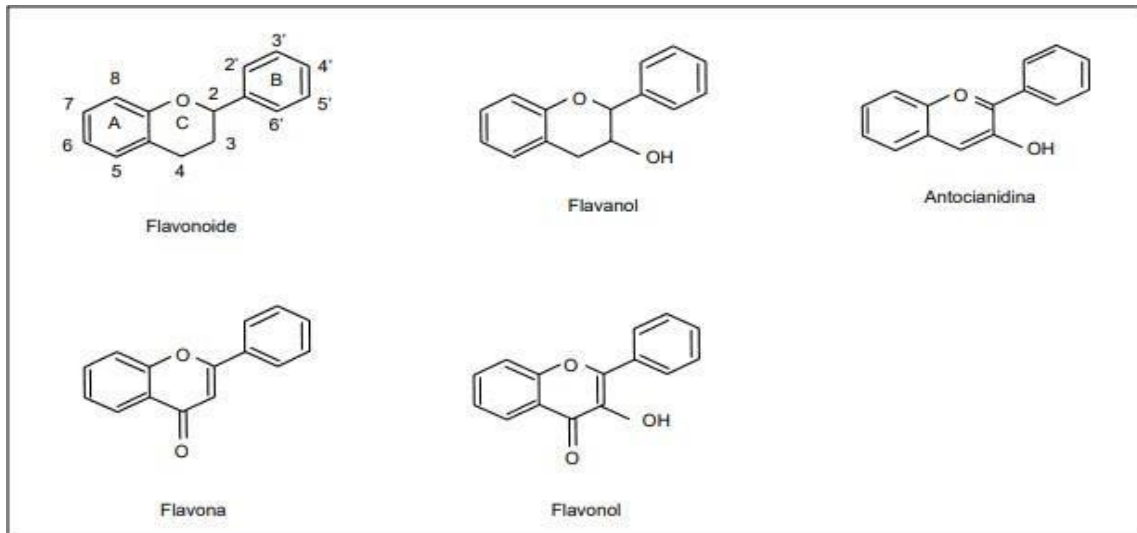


Figura 1: Flavonoides: estructura básica y tipos

Fuente: Martínez-Flores *et al.* 2002)

La mayoría de los flavonos y flavonoles se absorben en dos bandas: 320-385 y 250-285 nm. Los picos de absorción adicionales pueden ser proporcionados por los grupos funcionales, como el 367 para Kaempferol, el 371 para Quercetina y el 374 para Miricetina. La mayoría de las flavanonas tienen una absorción máxima entre 270 y 295 nm. Por ejemplo, naringenina se encuentra en 288 y taxifolin en 285. El pico de absorción de las antocianinas oscila entre 450 y 560 nm y entre 240 y 380 nm (Kumar y Pandey 2013).

Los compuestos fenólicos son grupos diversos y ampliamente presentes de fitoquímicos en alimentos vegetales que tienen efectos beneficiosos para la salud. Son de considerable interés debido a sus propiedades antioxidantes y su capacidad para eliminar los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno. Estos pueden prevenir enfermedades degenerativas como enfermedades cardiovasculares, cánceres, obesidad, diabetes y enfermedad de Alzheimer a través de la acción antioxidativa y/o la modulación de diferentes actividades enzimáticas (Hemalatha *et al.* 2016).

Según Vasconcellos (2005), Los fenoles hacen lo mismo que las plantas, protegiéndolas de los daños oxidativos. Los fenoles también actúan como antioxidantes y protegen a los radicales libres de que se acoplen y dañan las moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN), un paso crucial en el inicio de los procesos carcinogénicos.

2.4.1. Compuestos Fenólicos de quinua y cañihua

Repo-Carrasco y Encina (2008) Se realizaron extracciones de compuestos hidrófilos y lipófilos en muestras de cañihua y quinua para evaluar los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante (in-vitro) en los granos coloreados. Se descubrió que la variedad de cañihua Cupi tenía un mayor contenido de compuestos lipofílicos (como carotenos y luteínas) y un menor contenido de compuestos hidrofílicos (como betalainas y polifenoles).

La harina de quinua negra Collana tiene fibra soluble y la capacidad de volverse algo viscosa, lo que retrasa la evacuación gástrica, lo que mejora la digestión y absorción de alimentos, lo que aumenta la sensación de saciedad. Además, ayuda a la microflora del colon donde se fermenta al producir ácidos grasos de cadena corta que son favorables para las células intestinales. (Sánchez 2009).

Los granos de quinua contienen varios fenólicos como quercetina, kaempferol y rutina y sus derivados, ácido vanílico, ácido ferúlico y ácido ferúlico-4-glucósido. Además, se demostró que la quinua integral en la dieta reduce la mayoría de los efectos adversos ejercidos por la alta fructosa en el perfil lipídico y los niveles de glucosa en ratas. Además, el consumo de quinua en lugar de productos típicos con o sin gluten redujo significativamente los niveles de azúcar en sangre, insulina y triglicéridos en pacientes normales y celíacos estos estudios sugieren el potencial de la quinua en la prevención del estrés oxidativo y en el control de las actividades de las enzimas involucradas en la regulación de la homeostasis de la glucosa (Hemalatha et al. 2016).

Las semillas de quinua tienen actividad antioxidante (in-vitro) que se ha asociado con su alto contenido de compuestos fenólicos. Se han encontrado más de 20 compuestos fenólicos en forma libre o conjugada (liberada por hidrólisis alcalina, ácida y/o enzimática). Principalmente, son ácidos fenólicos que consisten en ácidos vanílico y ferúlico y sus derivados, así como los flavonoides quercetina, kaempferol y sus glucósidos, Además de sus propiedades antioxidantes, se ha informado que estos componentes de la quinua ejercen actividad inhibidora de la α -glucosidasa y la lipasa pancreática. Los fitoecdisteroides son esteroides polihidroxiados implicados en la defensa de las plantas debido a su relación estructural con las hormonas de muda de insectos. también, se ha demostrado una amplia gama de beneficios para la salud de estos componentes, que incluyen funciones anabólicas, que optimizan el rendimiento, antiosteoporótica, antidiabética, antiobesidad y curativas de heridas. La quinua es una de las fuentes comestibles con mayor contenido de

fitoecdisteroides, con un contenido que oscila entre 138 y 570 $\mu\text{g/g}$ con 13 variedades diferentes de fitoecdisteroides. Entre ellos, el más común es la 20-hidroxiecdisona (20HE) que constituye el 62-90 por ciento del total de fitoecdisteroides de quinua. Se demostró que un extracto enriquecido en 20HE derivado de la quinua reduce la glucosa en sangre en ayunas en ratones hiperglucémicos y obesos (Vilcacundo y Hernández-Ledesma 2017).

2.5. COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

Además, su función principal es detectar la formación de radicales libres en cantidades perjudiciales para el cuerpo y estimular los mecanismos de reparación endógena para corregir el daño causado por el ataque de radicales libres. Hay antioxidantes sintéticos y naturales (fisiológicos) en nuestro organismo. Los antioxidantes pueden ser enzimas que aumentan la velocidad de ruptura de los radicales libres o impiden que los iones de metales de transición colaboren en la producción de radicales libres y los inactivadores o barredores, protegiendo las células de las infecciones, el envejecimiento precoz y posiblemente el cáncer (Aruoma 2000).

Algunas personas toman vitaminas, antioxidantes y suplementos alimenticios para mejorar su salud porque se sabe mucho sobre los antioxidantes. Se estima que más del 40 por ciento de los hombres y 50 por ciento de las mujeres de 60 años o más consumen al menos un mineral o suplemento vitamínico al día. Una dieta balanceada rica en frutas y vegetales y un estilo de vida saludable son las principales recomendaciones para combatir el estrés oxidativo. En los últimos años, se ha demostrado que un consumo elevado de alimentos ricos en antioxidantes está claramente relacionado con una buena salud y una longevidad prolongada. Hay una seguridad convincente de que al incluir en la dieta alimentos ricos en antioxidantes, hierbas y bebidas de origen natural, se promueve una buena salud y disminuye el riesgo de enfermedades producto de la longevidad (Dasgupta y Klein 2014).

Se puede determinar el contenido de ciertos antioxidantes en los alimentos, como la vitamina C, pero los antioxidantes individuales no han sido analizados, por lo que se determina el "contenido total de antioxidantes". Los fitoquímicos son químicos de origen vegetal que contienen componentes bioactivos en una dieta convencional. La mayoría de fitoquímicos son también antioxidantes, y funcionan como dispositivos individuales in-vivo para desempeñar su función antioxidante neutralizando el oxígeno reactivo o los componentes activos del nitrógeno. Esto ayuda a proteger el cuerpo contra los efectos antioxidantes, mantener las células y reparar el ADN. (Bartolo 2014).

La cañihua ha desarrollado una defensa natural contra la oxidación porque crece en condiciones climáticas extremas (soportando heladas y temperaturas bajas en la zona de siembra del Altiplano). Este efecto natural ha llevado a investigaciones sobre su composición de antioxidantes. El alto contenido de compuestos fenólicos de la cañihua refleja su alta acción antioxidante (in-vitro). (Bartolo 2014).

2.6. ENZIMA α -AMILASA

La amilasa, nombrada también ptialina o tialina, es un enzima hidrolasa que tiene la función específica de digerir el glucógeno y el almidón para crear azúcares simples, se produce en mayor cantidad en las glándulas salivares (sobre todo en las glándulas parótidas) y en el páncreas. Cuando uno de estas glándulas se inflama aumenta la producción de amilasa y aparece un elevado nivel en sangre. Fue la primera enzima en ser reconocida y aislada por Anselme Payen en 1833, quien la nombro en un principio con el nombre de diastasa. Composición Química: La amilasa pancreática está constituida de una sola cadena peptídica, con un peso molecular de 54,000 Dalton, cuya actividad óptima se encuentra a un pH de 6,9 y 7,9 (Polo y Quituisaca 2010).

En el páncreas, las glándulas salivares y en menor cantidad, en las trompas de Falopio, el musculo esquelético, el intestino, el ovario y la próstata. Se elimina mediante la orina. Se pueden determinar las isoenzimas de la amilasa para distinguir de donde puede venir: pancreático (isoenzima P, con subfracciones P1, P2 y P3) o salivar (isoenzima S, con subfracciones S1, S2, S3, S4), aunque es poco usado en la practica. El páncreas al ser una glándula mixta, tiene dos funciones, una función exocrina y otra endócrina. La función endócrina que se encarga de producir y segregar dos hormonas importantes, entre otras, la insulina y el glucagón a partir de unas estructuras citadas islotes de Langerhans. En ellas, las células alfa producen glucagón, que hace subir el nivel de glucosa en la sangre; las células beta producen insulina, que baja los niveles de glucosa sanguínea; y las células delta cream somatostatina. La función exócrina se basa en la producción del jugo pancreático que se da en la segunda porción del duodeno a través de dos conductos excretores: uno principal conocido como conducto de Wirsung y otra vía llamado conducto de Santorini (se desprende del principal). Además, uniforma el metabolismo de la grasa. El jugo pancreático está hecho por agua, bicarbonato, y numerosas enzimas digestivas, como la tripsina y quimotripsina (digieren proteínas), amilasa (digiere polisacáridos), lipasa (digiere triglicéridos o lípidos), ribonucleasa (digiere ARN) y desoxirribonucleasa (digiere ADN) (Polo y Quituisaca 2010).

La α -amilasa también llamada 1,4- α -D-glucano-glucanohidrolasa o glucogenasa, son metaloenzimas de calcio, completamente funcionales en sin la presencia de este mineral. Dado que puede trabajar en cualquier parte de la cadena del almidón y glucógeno es más rápida que la β -amilasa. En los animales es una enzima digestiva mayor y su pH óptimo está entre 6,7 y 7,0. En fisiología humana tanto la procedente de la saliva como la pancreática son α -amilasas y puede también encontrarse en bacterias, algunas plantas y hongos (Polo y Quituisaca 2010).

2.7. ENZIMA α -GLUCOSIDASA

Las α -glucosidasas son enzimas que se encargan de la degradación de los carbohidratos a monosacáridos. Se encuentran situadas en el intestino delgado, específicamente en las microvellosidades del epitelio, generando un rompimiento de los disacáridos y carbohidratos complejos, facilitando su absorción. Entre los principales medicamentos de este grupo se encuentran el miglitol, la acarbosa y el voglibose, aunque la que más se ha investigado en busca de propiedades benéficas es la acarbosa. Es un inhibidor de las α -glucosidasas y puede utilizarse como terapia única o en terapia en combinación. Tiene un efecto comprobado en la clínica ya que se ha confirmado que disminuye los picos de hiperglucemia posprandial, y ha sido efectivo en el tratamiento de las etapas prediabéticas para demorar el inicio de la DM 2 y reducir la periodicidad de eventos cardiovasculares (Hernández *et al.* 2011).

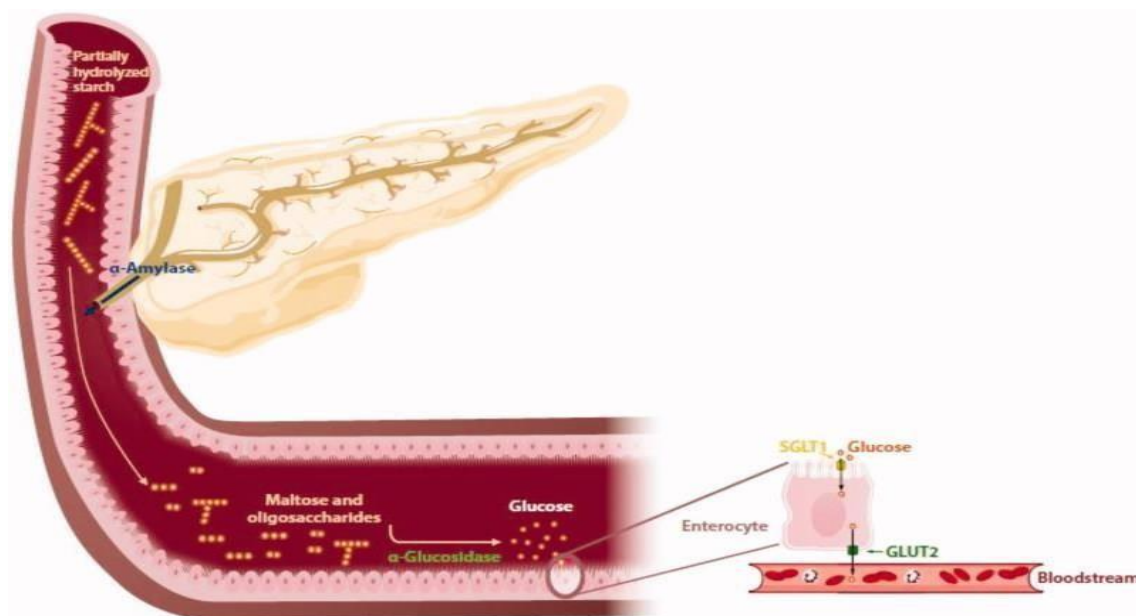


Figura 2: Representación esquemática de la actividad pancreática α -amilasa y α - glucosidasa

Fuente: Proença *et al.* (2019)

Según Proença *et al.* (2019), mencionan que después de una comida, la α -amilasa sintetizada en el páncreas y liberada en el duodeno, cataliza la hidrólisis de los enlaces α -1,4 glicosídicos en almidón parcialmente hidrolizado (Amilopectina y amilosa). A partir de esta reacción, se forman oligosacáridos intermedios no ramificados, como maltosa y maltotriosa, y ramificados (dextrinas de límite α). La α -glucosidasa presente en el borde en cepillo del epitelio intestinal (enterocitos) es responsable del paso final de la digestión de los carbohidratos, antes de su absorción. Esta enzima convierte los disacáridos y oligosacáridos en glucosa, que luego es transportada por el cotransportador de sodio-glucosa 1 (SGLT1) desde el lumen intestinal al citosol de los enterocitos. A su vez, el transportador de glucosa 2 (GLUT2).

2.8. DIABETES MELLITUS 2 (DM2)

La diabetes es un padecimiento crónico que es causa cuando el páncreas no genera suficiente insulina o cuando el organismo no puede usar efectivamente la insulina que se produce en el páncreas. La insulina es una hormona que regula el azúcar en la sangre. La hiperglucemia, o aumento del azúcar (glucosa) en la sangre, efecto causado por la diabetes no controlada y con el pasar del tiempo esta provoca daños graves en muchos de los sistemas del organismo humano, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos (OMS 2018).

La diabetes tipo 2 (anteriormente llamada no dependiente de insulina o de inicio en adultos) es consecuencia del uso poco eficaz de insulina por parte del organismo. La diabetes tipo 2 comprende en su mayoría a las personas a nivel mundial con padecimiento de la diabetes, y es en su mayor parte las consecuencias del sobrepeso y obesidad, además, de la poca actividad física. Los síntomas pueden ser similares a los de la diabetes tipo 1, pero a menudo son menos adversos. Como resultado, el padecimiento puede diagnosticarse varios años después de tener esta enfermedad, una vez que ya hay efectos secundarios muy notables. Hasta hace poco, este tipo de diabetes se evidenciaba solo en adultos, pero ahora también ocurre mucho en niños en niños (OMS 2018).

Está relacionada con el sobrepeso y la obesidad, la poca actividad física y la alimentación poco saludable (ingesta de alimentos altamente calóricos con alto contenido en azúcar, sodio y en grasas saturadas). además, casi siempre está relacionado a la resistencia a la insulina. Las personas con hipertensión arterial son muy propensas a este padecimiento, dislipidemia (colesterol sanguíneo anormal) y obesidad en la zona abdominal; incluye un componente de

«síndrome metabólico». Tiene una tendencia a mostrarse en familias, pero es una perturbación compleja provocada por alteraciones de varios genes (calpaína 10 “CAPN10” y factor nuclear de hepatocitos 4 alfa “HNF4A”), y también por factores ambientales (OMS 2016).

Las personas que padecen esta enfermedad a veces no presentan síntomas notables o estas son mínimas por varios años antes del diagnóstico. Pueden presentar extensión de la frecuencia urinaria (poliuria), hambre (polifagia), sed (polidipsia) y baja de peso sin motivo alguno. También pueden padecer adormecimiento de las extremidades, dolores (disestesias) de los pies y problemas como la visión borrosa. Pueden sufrir infecciones recurrentes y graves. A veces la enfermedad se manifiesta por pérdida del conocimiento y coma (OMS 2016).

Diagnostico. Se determina por la presencia de los signos principales de hiperglucemia y una prueba sanguínea fuera de los parámetros: una concentración plasmática de glucosa ≥ 7 mmol/L (o 126 mg/dL) o bien $\geq 11,1$ mmol/L (o 200 mg/dL) 2 horas después de beber una solución con 75 g de glucosa. Si no aparecen las manifestaciones clínicas clásicas, el diagnóstico se puede verificar cuando hay repetidas pruebas sanguíneas anormales en dos días diferentes. Aunque no siempre se puede verificar en los países en vías de desarrollo, la prueba de la hemoglobina glucosilada (HbA1C) se practica para conocer aproximadamente el control metabólico del azúcar en la sangre en los dos o tres meses anteriores, a fin de orientar el posible tratamiento a llevar. Esta prueba se puede usar también para determinar la DM2. En algunos pacientes que no presentan síntomas el diagnóstico se establece mediante el «tamizaje oportunista» de grupos de riesgo elevado; es decir, en una visita normal al médico o control anual, este puede reconocer que el paciente tiene un riesgo elevado de contraer la diabetes y recomendar que se le haga una prueba de tamizaje. Por ejemplo, tener 45 años o más de edad, presentar un índice de masa corporal de >25 kg/m², pertenecer a determinado grupo étnico o con el diagnóstico de hipertensión arterial pueden llevar a recomendar la prueba de tamizaje (OMS 2016).

Tratamiento. El objetivo mundial del procedimiento es disminuir las concentraciones sanguíneas de glucosa a los valores normales para calmar los síntomas y signos para prevenir o retrasar las complicaciones que esta provoca. Los pacientes reciben tratamientos con dieta y ejercicio solos o añadiendo algún antidiabético oral; con una combinación de insulina y medicamentos orales; o solo con insulina. Glucómetros de mano para la vigilancia de la

glucosa sanguínea por el propio enfermo. Detección temprana y tratamiento a tiempo de las complicaciones, a intervalos recomendados por las directrices internacionales y nacionales que se establece según ministerio: Análisis de los ojos, de orina, cuidado de los pies y consulta con el especialista siempre que sea necesario; Educación del paciente en prevención y vigilancia para dar la razón de los signos y síntomas de la hipoglucemia (como hambre, palpitaciones, temblores, sudores, somnolencia y mareo) y la hiperglucemia; Educación del paciente en una alimentación saludable, ejercicio responsable y cuidado de los pies (OMS 2016).

La posibilidad de que desarrolle diabetes se da de una combinación de factores de riesgo, el estilo de vida y como los genes. Aunque no se pueden cambiar ciertos factores de riesgo como los antecedentes familiares, el origen étnico o la edad, sí se pueden cambiar los que tienen que ver con la alimentación, la actividad física, malos hábitos y el peso. Todos estos cambios en nuestro estilo pueden generar cambios en ser propensos a adquirir diabetes tipo 2 (Funes 2012).

2.9. EXTRACCIÓN EN FASE SOLIDA (SPE)

La extracción de fase sólida es un método que utiliza una fase sólida estacionaria para concentrar y separar un analito, catiónico o aniónico de una matriz compleja. Como resultado, la matriz interferente, no retenida, se elimina y el analito se puede analizar con la mayor sensibilidad posible, evitando el riesgo de interferencias de matriz.

La retención de componentes matriz ha ganado popularidad en los últimos años. En este caso, el adsorbente seleccionado se utiliza para retener elementos no deseados de una matriz sin afectar a los analitos de interés. De nuevo, eliminamos especies potencialmente interferentes, mejorando la sensibilidad del análisis de muestra. Esta estrategia se emplea principalmente en el sector alimentario. En ambos escenarios. Un método SPE consta generalmente de cuatro etapas:

- Etapa 1 Acondicionamiento Preparación del adsorbente para procesar la muestra.
- Etapa 2 Retención Filtrar los analitos deseados o los componentes no deseados.
- Etapa 3 Aclarado Arrastre por lavado de cualquier elemento no deseado que haya sido retenido simultáneamente.
- Etapa 4 Elución Desorción selectiva y recogida del analito de interés.

2.10. ESTUDIO PRE-CLÍNICO (*IN-VIVO*)

Investigación que se realiza utilizando animales para revelar si un medicamento, una forma o un tratamiento tiene condiciones de ser útil o tiene efectos adversos. Los estudios preclínicos se llevan a cabo antes de realizar cualquier prueba en seres humanos.

Durante la experimentación animal resulta necesario contar con rangos normales de referencia de los parámetros funcionales de los animales, porque permiten evaluar el estado higiénico sanitario y fisiológico de los animales en una etapa determinada del experimento, acompañado de un control que a la vez que ayudan a conocer la incidencia o alteraciones sobre el organismo animal que producen las sustancias de ensayo (León *et al.* 2011).

Ratas Sprague-Dawley

La rata *Sprague-Dawley* es un híbrido albino que tiene cabezas largas y estrechas. Son muy prolíficos y tienen una tasa baja de tumores espontáneos. Su tranquilidad y facilidad de manejo son ventajas para los científicos y los técnicos de laboratorio. (Johnson 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se realizó en:

- Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).
- Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Científica del Sur.
- Laboratorio de Bioinformática y Biología Molecular de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Bioterio del Servicio de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.2. MATERIA PRIMA E INSUMOS

- Dos variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): Quinoa Salcedo INIA (QSI) y Quinoa Negra Collana (QNC).
- Dos variedades de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen): Cañihua ILLPA INIA (CII) y Cañihua Cupi (CCC).



Figura 3: Cañihua ILLPA INIA (CII), Cañihua Cupi (CCC), Quinoa Negra Collana (QNC) and Quinoa Salcedo INIA (QSI)

La quinua y el cañihua que se usó son de origen y están certificados por la Estación Experimental Agrícola ILLPA - INIA, ubicada en el distrito de Paucarcolla, región de Puno, Perú.

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1 Materiales

- Probetas graduadas de 50, 100, 1000 mL.
- Vaso precipitado de 50, 250, 500 y 1000 mL.
- Embudo de vidrio
- Pipetas graduadas de 1,5 y 10 mL.
- Micropipetas 100 μ L y 1 mL
- Filtros en trompo de 0,22 μ m, 045 μ m PVDF
- Tubos falcón de 15 y 50 mL.
- Tubos Eppendorf de 1,5 mL.
- Placas de cultivo de 96 pozos
- Puntas con filtro de 10, 200 y 1000 μ L.
- Jeringas de 1mL y 5 mL.
- Papel Whatman n°1
- Papel Whatman n°2
- Columna ENVI™ -18 SPE 10 g, volumen 60 mL.

3.3.2 Equipos

- Molino de rotor Beater Mill SR 300 con un tamiz de 0,2 mm
- Balanza analítica, Ohaus pionner.
- Baño de temperatura regulable, Shel Lab – H2O bath series.
- Potenciómetro, Orión

- Espectrofotómetro de Placas – Spectramax 190
- Espectrofotómetro Spectroquant® Pharo 300
- Cabina de seguridad Biológica, clase II, Nuair
- Cabina estéril Labconco Incubadora, Nuair – NU 51482E
- Homogenizer Motor Drives - Glas Col
- Agitadores digitales Thermo Scientific™ con calefacción Cimarec™
- Estufa VENTICELL 111 - ECO line
- Rotavapor R-II BUCHI
- Cromatograma HPLC/DAD Chromaster 600 HITACHI®
- Bomba de vacío AIT-2B BARRETO 1,8 CFM 1/4 HP 110V
- Colector de vacío SPE Visiprep™

3.3.3 Reactivos

- α -amilasa de páncreas porcino tipo 1-a (Sigma Chemical Company)
- α -glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* tipo 1 polvo liofilizado (Sigma Chemical Company)
- Etanol 95 por ciento (FYAREPSA)
- Acetonitrilo grado HPLC (Merck, Alemania)
- Metanol grado HPLC (Merck, Alemania)
- Ácido acético glacial (Merck, Alemania)
- Ácido clorhídrico 1N (Merck, Alemania)
- Folin-Ciocalteu (Merck, Alemania)
- Nitrato de sodio (Merck, Alemania)
- Cloruro de sodio (Merck, Alemania)
- Almidón (Merck, Alemania)
- Maltosa (Merck, Alemania)

- Bicarbonato de Sodio–(Sigma Chemical Company)
- Hidróxido de sodio 1N (Merck, Alemania)
- Dimetil sulfoxido (DMSO) (Sigma Chemical Company)
- Agua destilada
- Agua ultra pura
- Agua miliQ estéril
- Sustrato pPNG (p-nitrofenol-glucósido)
- Carbonato de Calcio
- Isopropanol
- Fosfato monopotásico 4, 5 mM
- Sulfato de magnesio, 1 mM
- Cloruro de calcio, 1 mM
- Cloruro de Sodio, 136 mM
- Cloruro de potasio 7,4 mM
- Ácido Dinitrosalicílico
- Estreptozotocina 75 por ciento alfa base 98 por ciento HPLC (Sigma Chemical Company)
- D-glucosa (Sigma Chemical Company)
- Tampón acetato
- Buffer Fosfato Salino
- Buffer de fosfato de sodio 20 mM con 6,5 mM NaCl
- Buffer citrato sódico 0,1M
- DPPH 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
- Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico) (Sigma Aldrich, India)

3.3.4 Estándares

- Ácido gálico (Merck, Alemania)
- Ácido Cafeico (Sigma Chemical Company)
- Rutina (Merck, Alemania)
- Ácido Clorogénico (Merck, Alemania)
- Quercetina (Merck, Alemania)
- Apigenina (Merck, Alemania)
- Kaempferol (Sigma Chemical Company)

3.3.5 Materiales para estudio pre-clínico (in-vivo)

- Ratas *Sprague-Dawley* (Bioterio del Servicio de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia)
- Jaulas para ratas
- Bebederos para ratas
- Dieta purificada para roedores, ENVIGO™
- Dieta calórica para roedores, ENVIGO™
- Tiras reactivas Accu-check
- Tubos capilares rojos
- Sondas gástricas para ratas (Acero quirúrgico)
- Clorhidrato de Metformina (Sigma-Aldrich)
- Glucómetro Accu-check

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1. Obtención y purificación de compuestos fenólicos

a. Obtención de harina

Para fines de una mejor extracción con el solvente (etanol) se procedió a moler los granos, previamente a las variedades de quinuas se le eliminara la saponina con papel abrasivo N° 210 para evitar interferencias en los ensayos posteriores. Luego, se procedió a moler individualmente en un molino de rotor Beater Mill SR 300 con un tamiz de 0,2 mm y se envasaran en bolsas Zipplast®.

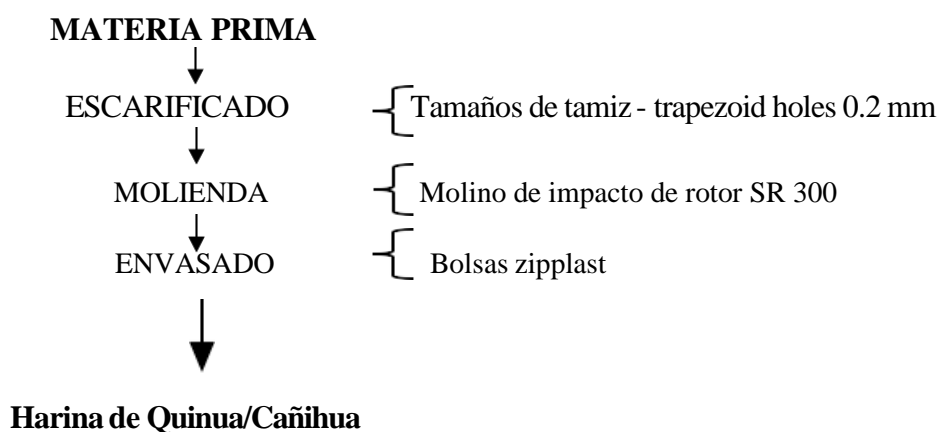


Figura 4: Obtención de harina de Quinuas y Cañihuas

Fuente: propia

b. Maceración etanólica y purificación

La harina obtenida de cada muestra se maceró en una proporción de 1:7 (p/v) con etanol al 80 por ciento, en una primera etapa se acondicionó a agitación constante en baño maría a una temperatura de 50°C por un tiempo de 2 horas, la maceración continuó por un tiempo de tres días, agitando manualmente una vez por día. Luego, del proceso de maceración se procedió con un homogenizado (50 mL por un periodo de cinco min), se filtró con papel whatman n°2 (Hemalatha *et al.* 2016) con modificaciones. No se desgrasó las harinas, que el hexano podía afectar el resultado de inhibición enzimática, así como, la extracción se realizó con etanol al 80 por ciento 1:7 p/v.

El filtrado se procedió a pasar por el colector al vacío para SPE, con una columna ENVI™-18 Paking 60 mL, 10 g, con una primera fase de lavado con etanol y agua acidulada (pH: 2), segunda fase de hacer pasar el macerado previamente homogenizado-filtrado, y una última fase de elución con etanol acidificado con ácido acético glacial al 1 por ciento, cada fase a un flujo constante de 80 gotas por minuto. El líquido colectado en la elución es concentrado con un rotavapor y posteriormente secado en estufa, estas últimas dos etapas se trabajan a una temperatura de 40 °C (Irakli *et al.* 2012).

3.4.2. Determinación de polifenoles totales

Los polifenoles totales se determinaron mediante el método Folin-Ciocalteu y carbonato de calcio, y se midió a una absorbancia de 725 nm, expresados en miligramos de Acido Gálico Equivalente (AGE) por gramo de Extracto Seco Purificado (ESP) (Singleton y Rossi 1965; descrito por Naczki y Shahidi 2004).

3.4.3. Determinación de flavonoides totales

Los flavonoides totales se determinaron mediante método colorimétrico de cloruro de aluminio, nitrato de sodio, agua destilada e hidróxido de sodio, la lectura se midió a una absorbancia de 510 nm. Expresados en miligramos de Catequina Equivalentes (CE) por gramo de Extracto Seco Purificado (ESP) (Wolfe *et al.* 2003).

3.4.4. Determinación de actividad antioxidante (in-vitro)

La actividad antioxidante se determinó por inhibición del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), metanol y tampón acetato, se midió a una absorbancia de 515 nm. y ajustado a curva de calibración de Trolox equivalente (TEAC), expresado en μmol de Trolox por gramo de extracto (Ozgen *et al.* 2006).

3.4.5. Actividad hipoglucemiante in-vitro

a. Ensayo de inhibición enzimática de α -amilasa

La actividad inhibidora de α -amilasa se determinó preparando un stock de 1000 mg/mL de cada uno de los extractos, utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) para su total disolución.

Luego, se preparó las diluciones de los extractos secos purificados: 50, 75, 100, 250 y 500 mg/mL para cada extracto. La reacción se llevó a cabo en tubos Eppendorf de 1,5 mL por triplicado. Un volumen de 50 μ L de la cada dilución de la muestra se mezcló con 50 μ L de la solución de la enzima α -amilasa pancreática, previamente disuelta en tampón salino fosfato 0,1 M (pH 6,9) hasta una concentración de 5 U/mL. La mezcla se incubó a 25 °C por 60 min, luego, se adicionó 50 μ L de una solución de almidón (0,5 por ciento p/v) disuelto en tampón salino fosfato 0,1 M y se incubó a 25°C por 5 min. A la reacción se le adicionó 50 μ L del cromógeno DNS (ácido dinitrosalicílico), a una concentración de 96 mM (Sigma Aldrich Chemical), seguido de la incubación en agua a 100 °C por 5 min, dejar enfriar por 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente se colocó 100 μ L de la reacción en placas de microtitulación de polipropileno de 96 pozos para la lectura de la absorbancia de la muestra (*A540 extracto*) a una longitud de onda de 540 nm en el lector de placas Spectra max 190, Molecular Devices®, para la muestra control se usó DMSO. El porcentaje de inhibición se calculó mediante la siguiente ecuación 1. Estos procedimientos son descritos por Adisakwattana *et al.* (2012); Worthington y Worthington (2011a).

Ecuación 1:

$$\% \text{ Inhibición } \alpha\text{-amilasa} = [(A540 \text{ control} - A540 \text{ extracto}) / A540 \text{ control}] \times 100$$

b. Ensayo de inhibición enzimática de α -glucosidasa

La actividad inhibidora de α -glucosidasa se determinó. Se prepara un stock de 1000 mg/mL de cada uno de los extractos, utilizando DMSO para su total disolución. Luego, se procedió preparar las diluciones los extractos secos purificados: 50, 75, 100, 250 y 500 mg/mL para cada extracto. Se utilizó una placa de microtitulación de polipropileno de 96 pozos con un volumen de 300 μ L para cada pozo y las muestras se procesaron por triplicado; se mezcló de la siguiente forma: 50 μ L buffer de fosfato de sodio 20 mM con 6,5 mM NaCl, pH 6,9; 50 μ L de la enzima α -glucosidasa de origen bacteriano (*Saccharomyces cerevisiae*) a 0,5 U/mL. La mezcla fue incubada a 25°C por 30 min. 50 μ L de sustrato pPNG (0,150 mg/mL) se adicionó e incubó a 25°C por otros 5 min. Para detener la reacción se agregó 50 μ L de Carbonato de Calcio (Na_2CO_3) incubando por 5 min. Después de esto la absorbancia fue leída en el lector de placas Spectra max 190, Molecular Devices® a una longitud de onda de 415 nm (*A415 extracto*), la muestra control se realizó con DMSO. El porcentaje de inhibición de α -glucosidasa se calculó mediante la ecuación 2 (McCue *et al.* 2005; Worthington and Worthington 2011b).

Ecuación 2:

$$\% \text{ Inhibición } \alpha\text{-glucosidasa} = [(A415 \text{ control} - A415 \text{ extracto}) / A415 \text{ control}] \times 100$$

3.4.6. Determinación y cuantificación de compuestos fenólicos

Se usó un HPLC/DAD Chromaster 600 HITACHI® con una columna C-18 y detector de gradiente, A: 1 por ciento de ácido acético (fase móvil), B: Acetonitrilo, Flujo 0,7 mL/min, una inyección de muestra de 20 µL temperatura de 28 °C, tiempo de 45 min, se usó software de cromatografía OpenLAB®CDS EZChrom™ para la realizar la curva estándar y leer los resultados de los extractos, los extractos se disolvieron en DMSO, luego, fueron filtrados con PVDF Syringe Filters, 0,45 µm, el análisis se hizo por triplicado (Seal 2016).

3.4.7. Estudio pre-clínico (in-vivo)

- Ratas cepa: *Sprague–Dawley*, machos de un mes de edad y con un peso entre 120 a 150 g fueron obtenidas del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Los animales fueron puestos en fase de cuarentena por el periodo de 7 días y criados en el Bioterio certificado del Servicio de Calidad de la UPCH
- Condiciones ambientales de laboratorio con temperatura 20°C - 22°C, en ciclos de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad y humedad relativa entre 50 y 60 por ciento.
- Se evaluó el efecto de dos extractos con un mayor contenido de compuestos fenólicos y de flavonoides, actividad antioxidante (*in-vitro*) y actividad hipoglucemiante (*in-vitro*). Los extractos fueron administrados a través de una sonda gástrica durante 28 días continuos en una relación 200 mg/kg de rata. se controló las lecturas de glucosa, se evaluó como resultado el porcentaje de aumento o disminución de los niveles de glucosa.

Cuadro 7: Diseño de experimentación para estudio pre-clínico

Grupo N°	Controles y tratamientos	Número de individuos	Tipo de alimentación
1	Control no diabético (CND)	6	Dieta Purificada
2	Control Diabético (CD)	5	Dieta Rica en Grasa
3	Control Diabético + Metformina (CDM)	5	Dieta Rica en Grasa
4	Extracto 1 (EE1)	5	Dieta Rica en Grasa
5	Extracto 2 (EE2)	5	Dieta Rica en Grasa

- Los extractos seleccionados fueron evaluados previamente para medir su toxicidad agua total (DL₅₀). Análisis que fueron realizados por Laboratorios de Ensayo de Universidad Peruana Cayetano Heredia. Acreditados por INCAL.
- Edad inicial de la experimentación de 4 semanas, se empezó con la alimentación por separado el grupo 1 recibió una dieta purificada (DP) y los grupos 2, 3, 4, 5 recibieron una dieta rica en grasas (DRG), con la finalidad de inducir a la obesidad, todos los grupos tuvieron acceso a agua de manera suficiente.

Cuadro 8: Información Nutricional de Dieta Purificada (DP)

	Porcentaje en peso	Porcentaje en kcal
Proteínas	12,4	13,7
Carbohidratos	68,3	75,9
Grasas	4,1	10,3
Kcal/g 3,6		

Cuadro 9: Información Nutricional de Dieta Rica en Grasa (DRG)

	Porcentaje en peso	Porcentaje en kcal
Proteínas	21,7	19,0
Carbohidratos	41,4	36,2
Grasas	22,7	44,8
Kcal/g 4,6		

- Los grupos 2, 3, 4, 5 a los 4 meses y con un peso aproximado de 500 g por individuo fueron inducidas a diabetes con Estreptozocina, a estos animales se les inyectó vía intraperitoneal una dosis alta de Estreptozocina (STZ) (120 mg/kg de peso del individuo) diluido en buffer citrato 0,01 M, pH 4,5.
- El grupo 1 fueron inyectados con buffer citrato (1 mL, vía intraperitoneal) como control
- Animales con glucosa en niveles normales (≤ 120 mg/dL).
- Animales con glucosa en niveles normales (≥ 200 mg/dL) se considera diabéticos.
- Animales con glucosa en niveles entre (120 mg/dL y 200 mg/dL) se considera pre- diabéticos.

3.4.8. Ensayo de tolerancia de glucosa oral (TGO)

El propósito de esta prueba fue evaluar la tolerancia a la glucosa de administración oral controlada. Se mantuvo un rango de ayuno de 10 a 12 horas realizada de manera nocturna. Para evitar la ingesta de viruta o la coprofagia para esto se colocó una rejilla de apoyo dentro de las jaulas.

La concentración de D-glucosa que se administró vía oral fue de 3g/kg del peso corporal del individuo. La toma de muestra de sangre se realizó por punción de la vena caudal de la cola a diferentes tiempos: antes de la ingesta y aun tiempo de 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos después de la ingesta de glucosa. La administración de la glucosa fue con una jeringa para que la dosis sea completa. Esta prueba se realizó después de la inducción a diabetes para determinar una correcta inducción.

3.4.9. Cortes histológicos de páncreas e hígado

Una vez terminado el estudio pre-clínico (*in-vivo*) se procedió al sacrificio de los animales mediante dislocación cervical. Para luego, realizar una autopsia y ver como se encuentran los órganos internos de cada grupo de individuos. Se extrajo cuidadosamente en páncreas e hígado de cada animal. Luego, estos son lavados en agua destilada pura y almacenado en recipientes con formol al 40 por ciento para la preparación de láminas histológicas y examinar cada órgano a nivel celular más detalladamente. Además, se podría examinar si hubo daños a nivel tisular en los órganos por la administración de diversos fármacos y reactivos. El diagnóstico histopatológico fue realizado por el Departamento de Histopatología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.5. Metodología experimental

- **Etapa 1:** la obtención compuestos fenólicos de extractos etanólicos seco purificados se considera una primera etapa con cuatro fases: obtención de harinas, maceración y purificación y secado a partir de los granos de quinuas y cañihuas con diseño experimental completamente al azar (DCA) para el rendimiento de extracción.
- **Etapa 2:** determinación y cuantificación de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante (*in-vitro*) con diseño experimental completamente al azar (DCA).
- **Etapa 3:** determinación de actividad hipoglucemiante *in-vitro*; ensayos de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa con diseño experimental completamente al azar (DCA).

- **Etapa 4:** identificación y cuantificación de compuestos fenólicos mediante HPLC/DAD con diseño experimental completamente al azar (DCA)
- **Etapa 5:** Elaboración de estudio pre-clínico (in-vivo) para lo cual se seleccionó dos extractos con mejores resultados en compuestos en fenólicos y flavonoides totales, actividad antioxidante (in-vitro) y que presenten resultado de inhibición enzimática de α -amilasa y α -glucosidasa para evaluar los efectos en un modelo pre-clínico in-vivo con ratas Sprague-Dawley, con diseño experimental completamente al azar (DCA) para la reducción de glucosa después de los 28 días ingesta.

En el Cuadro 10 se muestra el esquema experimental con la descripción y variables respuesta.

3.6. Análisis estadístico

Los análisis se realizaron por triplicado y Los resultados se mostraron en forma de medias y desviaciones estándar. Los resultados se evaluaron utilizando el análisis de varianza (ANVA) para evaluar las diferencias entre las muestras. Se consideró que sus diferencias eran significativas si el p valor era inferior a 0,05. Adicionalmente, se realizaron pruebas de significancias según Tukey a p valor $\leq 0,05$, lo que significa que las letras que eran significativamente diferentes se mostraban con una letra diferente. La correlación de Pearson a un nivel de significancia de p valor $\leq 0,05$ se utilizó para determinar la relación entre las distintas variables.

Para el estudio pre-clínico, se evaluó por individuo de cada grupo para comparar la reducción o aumento de los niveles de glucosa.

Los análisis estadísticos se realizaron en el programa estadístico Minitab 17 y Windows versión 10.0.

Cuadro 10: Esquema experimental para la obtención, análisis fitoquímicos y actividad hipoglucemiante de los extractos

	Muestras	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	Etapa 4	Etapa 5
Descripción	<ul style="list-style-type: none"> • Cañihua ILLPA INIA (CII). • Cañihua Cupi (CCC). • Quinoa Negra Collana (QNC) • Quinoa Salcedo INIA (QSI) 	<ul style="list-style-type: none"> • Obtención de harinas con un tamaño de partícula menor a 0,2 mm. • Maceración (1:7 p/v) EtOH 80 por ciento • Purificación (SPE con columnas ENVI™-18 10 g, volumen 60 mL, • Secado en rotavapor y estufa a 40°C 	<p>Determinación:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Polifenoles totales • Flavonoides totales • Actividad antioxidante <p>(<i>in-vitro</i>)</p>	<p>Determinación de la actividad hipoglucemiante (<i>in-vitro</i>):</p> <ul style="list-style-type: none"> – Ensayo de inhibición de α-amilasa – Ensayo de inhibición de α-glucosidasa 	<p>Identificación y cuantificación de compuestos Fenólicos HPLC/DAD de:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Ácido gálico – Ácido Cafeico – Rutina – Ácido Clorogénico – Quercetina – Apigenina – Kaempferol 	<p>Estudio pre-clínico (<i>in-vivo</i>) con ratas <i>Sprague-Dawley</i> en cinco grupos (descritas en la Cuadro 7)</p> <p>Se seleccionará dos de los 4 extractos para el presente estudio.</p>
Variables respuesta		<ul style="list-style-type: none"> – Porcentaje de rendimiento (por ciento de rendimiento de los extractos secos purificados). – Diseño experimental: Diseño completamente al azar (DCA) 	<ul style="list-style-type: none"> • mg AGE/g ESP • mg CE/g ESP • μmol Trolox/g ESP • Diseño experimental: Diseño completamente al azar (DCA) 	<ul style="list-style-type: none"> • Porcentaje de inhibición de α-amilasa • Porcentaje de inhibición de α-glucosidasa • Diseño experimental: Diseño completamente al azar (DCA) 	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración (mg/100g de harina de cada muestra) de cada estándar en estudio. • Diseño experimental: Diseño completamente al azar (DCA) 	<ul style="list-style-type: none"> – Niveles de glucosa (antes, durante y después de 28 días de ingesta de cada grupo, (Diseño experimental: Diseño completamente al azar (DCA)) – Tolerancia a la Glucosa – Cortes histológicos de páncreas e hígado

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 OBTENCIÓN Y PURIFICACIÓN DE EXTRACTOS

En la primera fase de la etapa 1 de la experimentación, se molieron 5 kg de cada muestra, en el molino de rotor y luego envasadas en bolsas Ziplast.



Figura 5: Muestras en grano y harina

* CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi; QNC = Quinoa Negra Collana; QSI = Quinoa Salcedo INIA

Las harinas se maceraron con etanol al 80 por ciento 1:7 p/v, en una primera fase se llevaron a baño maría en agitación constante a una temperatura de 50 °C por un periodo de dos horas, luego la maceración a temperatura ambiente por un periodo de tres días, agitándose manualmente una vez al día. Todo el proceso se llevó a cabo en botellas ámbar de un litro de capacidad como se muestra en la Figura 6

Sánchez (2009), menciona que la harina de quinua Negra Collana contiene fibra soluble que puede volverse viscosa, lo que retrasa la expulsión gástrica y mejora la digestión y absorción de alimentos, lo que aumenta la sensación de saciedad. Además, ayuda a la microflora del colon donde se fermenta al producir ácidos grasos de cadena corta que son favorables para las células intestinales.



Figura 6: Muestras en grano y harina

A continuación, los macerados pasaron por un homogenizado en tubos de 50 mL por un periodo de 5 min. Seguidamente fueron filtrados en un embudo de vidrio acondicionado con papel Whatman n°2. Como se puede observar en la figura 7, los líquidos filtrados fueron de color amarillento, estos se volvieron a colocar en botellas ámbar para luego ser purificadas el colector de extracción en fase sólida (SPE).



Figura 7: Homogenizado y filtrado

La purificación mediante un colector SPE con una bomba de vacío con columnas ENVI™ - 18 SPE 10 g, volumen 60 mL, se realizó con una primera fase de lavado de columnas con etanol 80 por ciento y acondicionado con agua acidulada (pH 2), segunda fase de hacer pasar el filtrado y una última fase de elución con etanol acidificado con ácido acético glacial al 1 por ciento, cada fase a un flujo constante de 80 gotas por minuto.

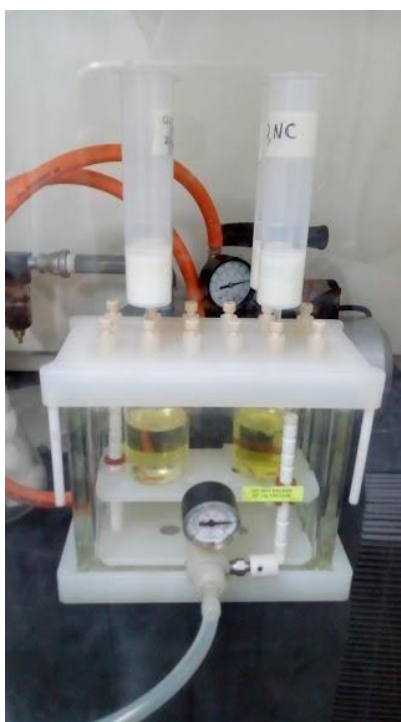


Figura 8. Purificación de extractos mediante colector SPE

El extracto purificado es concentrado en un rotavapor para eliminar el etanol y luego secado en una estufa por 12 horas, ambas etapas se realizaron a una temperatura de 40°C. Luego son envasadas en diales y envueltos con papel aluminio y refrigerados para su conservación y posterior uso, el producto que se obtuvo se conoce como Extracto Seco Purificado.

Cuadro 11. Rendimientos de los extractos secos purificados

Extracto	Rendimiento (porcentaje)
QNC	1,74 ± 0,15a
QSI	1,56 ± 0,18a
CII	1,85 ± 0,12a
CCC	1,96 ± 0,17a

* CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi; QNC = Quinua Negra Collana; QSI = Quinua Salcedo INIA

Los resultados muestran rango de rendimiento entre 1,56 hasta 1,96 por ciento, estos resultados comparando con rendimientos de extracción descritos por Lozano *et al.* (2012). varían desde 36,0 hasta 39,4 por ciento p/p de 8 quinuas de diferentes empresas en estudio, con la diferencia que en este proceso no hubo una purificación de extractos,

4.2 DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, FLAVONOIDES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (IN-VITRO)

En el Cuadro 12 se muestran los resultados de la cuantificación de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante de los extractos secos purificados de las muestras en estudio, siguiendo la metodología descrita anteriormente, realizando una prueba de comparación para analizar cuáles de los extractos muestra mejores resultados.

Cuadro 12. Polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante *

EXTRACTO	POLIFENOLES TOTALES	FLAVONOIDES TOTALES	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
	mg AGE/g ESP	mg CE/g ESP	μMOL TROLOX/G ESP
CII	3,3264 ± 0,0491a	2,8748 ± 0,0699a	1,9605 ± 0,0450A
CCC	3,0156 ± 0,0313b	2,3836 ± 0,2947b	2,1067 ± 0,0594A
QNC	2,3155 ± 0,0225c	1,8575 ± 0,1014c	0,8453 ± 0,0546B
QSI	2,0342 ± 0,0482D	1,4874 ± 0,0778C	0,2234 ± 0,0402C

* Medias ± desviaciones estándar, letras diferentes en la misma columna significan diferencias significativas entre muestras (P <0,05 por la prueba de Tukey; n = 3). CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi; QNC = Quinoa Negra Collana; QSI = Quinoa Salcedo INIA; AGE = ácido gálico equivalente; CE =Catequina equivalente, ESP = extracto seco purificado.

Repo-Carrasco *et al.* (2010) mencionan que los polifenoles son metabolitos bioactivos secundarios que se encuentran en los alimentos de origen vegetal. Los flavonoides, los ácidos fenólicos y los taninos son los tres tipos de polifenoles más notables, que actúan como potentes antioxidantes in-vitro. Estos compuestos reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares, cánceres, enfermedades neurodegenerativas, diabetes y osteoporosis., los niveles más altos de estos valores se encontraron en el CII (3,33 ± 0,05 mg AGE/g ESP de

extracto, $2,87 \pm 0,07$ mg CE / g de extracto y $2,07 \pm 0,06$ μ mol Trolox / g extracto) para el contenido de polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante (*in-vitro*), respectivamente; $P < 0,05$, Cuadro 12). Hemalatha *et al.* (2016) informaron el contenido total de flavonoides para el grano blanco de quinua molida de la India con un valor de $1,09 \pm 0,04$ mg AGE/g de extracto, que es inferior a los obtenidos en este estudio. Según Mendoza (2015), el contenido de compuestos fenólicos de los cultivares Negra Collana es 1,36 mg AGE/g de extracto y Salcedo INIA 0,99 mg AGE/g de extracto, valores inferiores a los reportados en este estudio, posiblemente debido a diferentes métodos de extracción. Entonces, de acuerdo a lo manifestado, los resultados son variables en función a la extracción en fase sólida realizada en los diferentes ecotipos en estudio.

Huamaní-Huamán (2018) plantea que, las muestras de cañihua se caracterizaron por tener un contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales entre 1,4 - 1,9 mg AGE/g y 1,5 - 2,0 mg CE/g, respectivamente. Estos valores fueron inferiores a los reportados en el presente estudio, posiblemente debido a la homogenización y extracción en fase sólida que se le hace los macerados.

Es importante comprender que existen escasos estudios que relacionen diversas variedades de cañihua con la quinua, de allí la transcendencia del estudio; sin embargo, se realizó una revisión de diversas investigaciones que pudieran aportar datos significativos de ambas variables en estudio o en forma individualizadas. Los resultados permitieron evidencias, ciertos aspectos significativos, en cuanto al contenido total de polifenoles y flavonoides, un estudio en 15 variedades de quinua y 11 variedades de cañihua de la Región Puno, Perú, informó que el contenido de polifenoles totales en las variedades de quinua y cañihua oscilaron entre 0,35 y 1,40 mg AGE/g de extracto y 0,67 a 0,85 mg AGE/g de extracto respectivamente (Repo-Carrasco y Encina 2008), mientras que en la variedad de cañihua "Cupi" del Antiplano Peruano, el contenido total de polifenoles fue de 2,5 mg AGE/g extracto (Abderrahim *et al.* 2012).

Estudios realizados por Valencia *et al.* (2017), en 24 accesiones de quinua de la colección nacional del Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria (INIA) del Perú, mostraron que el contenido total de polifenoles osciló entre 0,78 y 3,34 mg AGE/g extracto, mientras que el contenido total de flavonoides osciló entre 0,12 y 1,03 mg CE/g extracto. Otro estudio en 13 semillas de quinua coloreada del Altiplano peruano informó que los niveles totales de

polifenoles oscilaron entre 1,23 y 3,24 mg de AGE / g de extracto (Abderrahim *et al.* 2015). Mientras que nuestros contenidos en polifenoles totales son distintos oscilan entre 3,3264 y 2,0342 en mg AGE/g ESP, presentando mejores resultados las dos ecotipos de cañihua, así mismo para flavonoides totales nuestros resultados oscilan entre 2,8748 y 1,4874 de mgCE/g ESP, cabe mencionar que al igual que en polifenoles totales los mejores resultados fueron para los dos ecotipos de cañihua de acuerdo al cuadro 12. Por último, la actividad antioxidante oscila entre 2,1067 y 0,2234 μmol trolox/g ESP de actividad antioxidante, por lo consiguiente se especifica que son muy distintos que los autores arriba mencionados.

Quispe-Colquehuanca (2016) reporta el contenido de compuestos fenólicos para la quinua Salcedo INIA de Puno de 0,67 mg AGE/g de extracto y una capacidad de 5,97 μmol Trolox / g de extracto, valores superiores a los obtenidos en nuestra investigación en antioxidantes capacidad (*in vitro*), y en compuestos fenólicos valores mucho más bajos, de acuerdo con nuestros resultados expresados en el Cuadro 12.

De La Riva (2010) evaluó la variedad de grano de quinua desaponificada cruda Salcedo INIA, el contenido total de polifenoles fue de 0,70 mg AGE/g de extracto y la actividad antioxidante (*in vitro*) fue de 5,99 μmol Trolox/g de extracto. En comparación con los resultados del Cuadro 12, los valores son inferiores para los polifenoles totales y superiores para la actividad antioxidante (*in-vitro*). esta ocurre de acuerdo a las diferentes variedades de la quinua y cañihua en estudio de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante del producto.

Con respecto a la actividad antioxidante (*in-vitro*) evaluada por el ensayo de captación de radicales DPPH, Repo-Carrasco y Encina (2008), reportaron que en las 15 variedades de quinua y 11 variedades de cañihua de la Región Puno, Perú, la actividad antioxidante (*in-vitro*) estuvo en un rango de 0,47 a 9,58 μmol de TE/g de extracto y 0,37 a 5,44 μmol de TE / g de extracto, respectivamente. Estudios previos sobre accesiones de quinua coloreada de Perú también encontraron que la actividad antioxidante (*in-vitro*) variaba de 4.86 a 11.96 mmol de extracto de TE/g (Valencia *et al.* 2017) y de 119,8 a 335,9 mmol de TE/g de extracto (Abderrahim *et al.* 2015). Estos valores fueron superiores a los encontrados en el presente estudio, posiblemente debido a las diferencias en el método de purificación de compuestos bioactivos. Sin embargo, en las variedades de quinua (CII y CC) evaluadas en el presente estudio, la actividad antioxidante (*in-vitro*) mostró una correlación significativa con el contenido total de polifenoles y flavonoides y los niveles de ácido clorogénico ($r = 0.973$; r

= 0.906 y $r = 0.998$, respectivamente, $p < 0,05$). En las variedades de cañihua (CII yCCC), no se encontró una correlación significativa entre la actividad captadora de radicales DPPH con el contenido de compuestos bioactivos evaluados.

Comparando los resultados con otros autores, los valores de polifenoles y flavonoides totales obtenidos en la presente investigación son más altos debido al proceso de purificación llevado y extracción de saponina de la quinua. Por otro lado, los valores de actividad antioxidante obtenidos son más bajos en comparación con investigaciones anteriores citadas, posiblemente porque la actividad antioxidante se ve afectada por el proceso de purificación, concentración y secado, ya que durante estas etapas las muestras están expuestas a la luz y la temperatura, lo que afecta la actividad antioxidante para su mayor conservación.

4.3 ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE

4.3.1 Ensayo de inhibición de α -amilasa

Cuadro 13. Porcentaje de inhibición de α -Amilasa

μg de ESP/ml	CII	CCC	QNC	QSI
50	27,04 \pm 2,05a	7,50 \pm 2,93ab	15,00 \pm 1,62a	1,34 \pm 1,09b
75	16,53 \pm 3,78ab	3,45 \pm 1,39b	13,64 \pm 3,30a	0,45 \pm 2,57b
100	17,13 \pm 10,55ab	3,61 \pm 0,77b	12,84 \pm 1,76a	1,31 \pm 2,45b
250	8,38 \pm 1,99b	21,39 \pm 10,11a	17,37 \pm 0,82a	15,39 \pm 4,54a
500	4,13 \pm 1,96b	17,62 \pm 10,15ab	15,57 \pm 2,12a	21,62 \pm 4,71a

* Medias \pm desviaciones estándar, letras diferentes en la misma columna significan diferencias significativas entre muestras ($P < 0,05$ por la prueba de Tukey; $n = 3$). CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi; QNC = Quinua Negra Collana; QSI = Quinua Salcedo INIA, ESP = extracto seco purificado.

En la evaluación de la actividad hipoglucémica (*in-vitro*), las variedades de cañihua y quinua mostraron actividad inhibitoria de las enzimas y α -amilasa. Como se describe en la metodología, el porcentaje de inhibición de estas enzimas se evaluó a diferentes concentraciones: 50, 75, 100, 250 y 500 mg /ml para cada extracto dando los mejores resultados en inhibición de la enzima α -amilasa en Cañihua ILLPA (CII) fue de 27,04 por ciento a de 50 μg de ESP/ml; en quinua de Salcedo (QSI) fue de 21,62 por ciento a de 500

µg de ESP/ml, en cañihua Cupi (CCC) fue de 21,39 por ciento a 250 µg de ESP/ml y en quinua negra Collana (QNC) fue de 17,37 por ciento a 250 µg de ESP/ml.

Los ensayos de inhibición revelan que, tanto de la α-amilasa como de la α-glucosidasa los mejores resultados fueron para la cañihua ILLPA INIA y cañihua Cupi, en comparación con las otras muestras evaluadas, los autores Hemalatha *et al.* (2016) informaron sobre α-amilasa y α-glucosidasa del grano de quinua blanca molida con un máximo de 60 por ciento y 80 por ciento respectivamente para una concentración de 50 µg / ml, que se comparó con los valores obtenidos en nuestra investigación de 21,62 por ciento y 18,72 por ciento (Cuadro 13) a una concentración de 500 µg / ml. Por consiguiente, la variación se puede deber a una serie de factores como ecotipos, métodos de extracción, el solvente hexano que se usó en la metodología de obtención de extractos de Hemalatha *et al.* (2016), el porcentaje de peso/volumen en la maceración.

Cuadro 14: Extractos con mejores porcentajes de inhibición de α-Amilasa *

µg de ESP/ml	Porcentaje de inhibición α-Amilasa
CII-50	27,04 ± 2,05a
CCC-250	21,39 ± 10,11a
QNC 250	17,37 ± 0,82a
QSI 500	21,62 ± 4,71a

* Medias ± desviaciones estándar, letras diferentes en la misma columna significan diferencias significativas entre muestras (P <0,05 por la prueba de Tukey; n = 3). CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi; QNC = Quinua Negra Collana; QSI = Quinua Salcedo INIA, ESP = extracto seco purificado.

De acuerdo a los resultados obtenidos de comparación entre extractos para el porcentaje de inhibición de α-Amilasa µg de ESP/ml que podemos mencionar que no existe diferencia significativas entre estos valores de inhibición enzimática, Polo y Quituisaca (2010) mencionan que la amilasa pancreática está constituida de una sola cadena peptídica, con un peso molecular de 54 000 Dalton, cuya actividad óptima se encuentra a un pH de 6,9 y 7,9 respectivamente, lo que hace suponer que al cambiar el pH del medio en el que trabaja la enzima, podría dar como resultado la no degradación de las cadenas de carbohidratos.

4.3.2 Ensayo de inhibición de α - Glucosidasa

Cuadro 15: Porcentaje de inhibición de α -Glucosidasa*

μg de ESP/ml	CII	CCC	QNC	QSI
50	14,79 \pm 1,98a	9,29 \pm 2,93b	16,14 \pm 1,89d	15,73 \pm 2,33a
75	16,60 \pm 2,04a	12,20 \pm 2,08b	19,96 \pm 2,02cd	17,81 \pm 0,31a
100	14,30 \pm 1,52a	13,81 \pm 1,85b	25,79 \pm 4,33c	15,963 \pm 3,44a
250	21,13 \pm 2,24a	17,00 \pm 4,65b	34,80 \pm 3,10b	15,52 \pm 4,49a
500	15,46 \pm 5,77a	25,26 \pm 2,11a	42,92 \pm 1,61a	18,72 \pm 3,10a

* Medias \pm desviaciones estándar, letras diferentes en la misma columna significan diferencias significativas entre muestras ($P < 0,05$ por la prueba de Tukey; $n = 3$). CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi; QNC = Quinoa Negra Collana; QSI = Quinoa Salcedo INIA, ESP = extracto seco purificado.

Hernández *et al.* (2011) mencionan que las α -glucosidasas son enzimas que se encargan de la degradación hasta monosacáridos de los carbohidratos que consumimos. Se encuentran ubicadas en las microvellosidades del epitelio del intestino delgado, y producen una ruptura de los disacáridos y carbohidratos complejos, lo que facilita su absorción. De esta manera logrando inhibir esta enzima evitaremos que parte de los carbohidratos consumidos sean degradados a glucosa y luego absorbidos, evitando así elevar y/o mantener el nivel de glucosa en la sangre.

Los ensayos de inhibición revelan que, tanto de α -glucosidasa obteniendo los mejores resultados para la enzima α -glucosidasa, la cual fue de 42,92 por ciento a 500 μg de ESP/ml en quinua Negra Collana de 25,26 por ciento a 500 μg de ESP/ml; en cañihua Cupi de 21,13 por ciento a 250 μg de ESP/ml en cañihua ILLPA INIA y en quinua salcedo INIA de 18,72 por ciento a 500 μg de ESP/ml.

Cuadro 16: extractos con mayor porcentaje de inhibición de α -Glucosidasa *

μg de ESP/ml	Porcentaje inhibición α-Glucosidasa
CII 250	21,13 \pm 2,24bc
CCC 500	25,26 \pm 2,11b
QNC 500	42,92 \pm 1,61a
QSI 500	18,72 \pm 3,10c

* Medias \pm desviaciones estándar, letras diferentes en la misma columna significan diferencias significativas entre muestras ($P < 0,05$ por la prueba de Tukey; $n = 3$). CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi; QNC = Quinoa Negra Collana; QSI = Quinoa Salcedo INIA.

Estudios previos muestran la actividad inhibidora de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa en quinua (*C. quinoa* Willd) y cañihua (*C. pallidicaule* Aellen). Con 5 mg de peso de muestra, la actividad inhibidora de la α -glucosidasa en la quinua roja (*C. quinoa* Willd) y cañihua (*C. pallidicaule* Aellen) fue del 30 por ciento y el 15 por ciento, respectivamente. Al evaluar la actividad inhibidora de la α -amilasa, no se detectó actividad inhibidora de esta enzima en ninguno de los granos evaluados (Ranilla *et al.* 2009). Otro estudio, en quinua integral y sus fracciones molidas, evaluó la composición de compuestos fenólicos y sus efectos inhibidores sobre la actividad de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa. En las fracciones de salvado en comparación con el grano entero, se observó una alta y baja actividad inhibidora de la α -glucosidasa y la α -amilasa. En la fracción de salvado se encontró un alto contenido de ácido ferúlico, rutina y quercetina que presentó una alta actividad inhibitoria sobre la α -glucosidasa (Hemalatha *et al.* 2016). Estos hallazgos fueron similares a nuestro estudio donde se observó una mayor actividad inhibidora de la α -glucosidasa en la quinua “Negra Collana (QNC) mientras que la cañihua “INIA 406-ILLPA” (CCI) y la quinua “Salcedo INIA” (QSI) mostraron una mayor actividad inhibidora sobre la enzima α -amilasa.

Las comparaciones entre extractos para porcentaje de inhibición de α -glucosidasa porcentualmente podemos especificar según cuadro 16, a 500 μ g de ESP/ml la quinua negra Collana (QNC) es de 42,92 por ciento y para cañihua Cupi es de 25,26 por ciento, y a 250 μ g de ESP/ml la cañihua ILLPA INIA (CII) tiene una inhibición 21,13 por ciento, no mostrando diferencias significativas entre los ecotipos de cañihua

4.4 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

Cuadro 17: Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos

Estándar	Concentración (mg/100g de harina)						
	Ácido gálico	Ácido Cafeico	Rutina	Ácido Clorogénico	Quercetina	Apigenina	Kaempferol
Tiempo de retención (min)	6,01	13,96	15,78	18,67	29,02	33,16	34,23
CII	7,78 ± 0,09a	NP	33,15 ± 0,05b	75,67 ± 0,02a	trazas	trazas	trazas
CCC	5,23 ± 0,07b	NP	32,78 ± 0,04c	71,53 ± 0,03b	trazas	trazas	trazas
QNC	4,48 ± 0,05c	NP	29,18 ± 0,04d	18,48 ± 0,04c	trazas	trazas	trazas
QSI	4,51 ± 0,07c	NP	33,89 ± 0,03a	14,21 ± 0,03d	trazas	trazas	trazas
p valor	0,000	-	0,000	0,000	-	-	-

* Medias ± desviaciones estándar, letras diferentes en la misma columna significan diferencias significativas entre muestras ($P < 0,05$ por la prueba de Tukey; $n = 3$). CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi; QNC = Quinua Negra Collana; QSI = Quinua Salcedo INIA.

En las variedades quinua y cañihua se obtuvo el análisis HPLC-DAD de los niveles de ácido gálico, ácido cafeico, rutina, ácido clorogénico, quercetina, apigenina y kaempferol (picos no detectados – trazas), obteniendo valores detectables para ácido clorogénico, rutina y ácido gálico. Como se muestra en el Cuadro 17, las variedades de cañihua (CII y CCC) presentaron un contenido significativamente mayor de ácido clorogénico en comparación con las variedades de quinua ($p < 0,05$), siendo la cañihua ILLA INIA (CII), el grano que presentó mayores niveles (75,67 mg / 100 g de harina).

El análisis y cuantificación por HPLC / DAD se realizó para ácido gálico, ácido cafeico, rutina, ácido Clorogénico, quercetina, apigenina y kaempferol, obteniendo resultados significativos para ácido clorogénico, rutina y ácido gálico. Según el Cuadro 17 las variedades de cañihua (CII y CCC) presentaron un contenido significativamente mayor de ácido clorogénico en comparación con las variedades de quinua ($P < 0,05$, Cuadro 17), con la cañihua CII presentando el valor más alto ($75,67 \pm 0,02a$ mg / 100 g de harina) de todas las muestras evaluadas resulta quedando en seguida la CCC ($71,53 \pm 0,03b$ mg / 100 g de harina), entonces Hemalatha *et al.* (2016) especifican que los granos de quinua y cañihua

contienen varios fenólicos como quercetina, kaempferol y rutina y sus derivados, ácido vanílico, ácido ferúlico y ácido ferúlico-4-glucósido. Además, demostraron que los cereales mencionados en la dieta reducen la mayoría de los efectos adversos ejercidos por la alta fructosa en el perfil lipídico y los niveles de glucosa en ratas.

La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos de los resultados según la estandarización de CII = Cañihua ILLPA INIA según en función al tiempo de retención se dio 75.67 ± 0.02^a de Ácido Clorogénico de 18.67 min. que realizando una diferencia con CCC = Cañihua Cupi en $71.53 \pm 0.03b$ $71.53 \pm 0.03b$ de 18.67 min. en concentración de (mg/100g de harina) esta variación de resultados está en función a los componentes aminoácidos que contienen los diferentes ecotipos del producto para un tratamiento de este tipo de estudios.

En cuanto al ácido gálico y los niveles de rutina, no se observaron diferencias importantes entre las variedades de quinua y cañihua. Los niveles de ácido gálico oscilaron entre 4,43 y 7,86 mg/100 g de harina, mientras que los niveles rutina oscilaron entre 29,14 y 33,91 mg/100 g de harina.

Un estudio previo muestra que los compuestos fenólicos como el ácido cafeico y el ácido clorogénico inhiben las enzimas hidrolizantes de carbohidratos asociadas con la diabetes tipo 2 (α -glucosidasa y α -amilasa), de manera dosis-dependiente, y también pueden conducir a una reducción en azúcares en el tracto gastrointestinal (Oboh *et al.* 2015). Asimismo, otros compuestos como el ácido gálico y la rutina también han mostrado efectos inhibidores frente a las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa (Li *et al.* 2009; Oboh *et al.* 2014; Oboh *et al.* 2016).

En el presente estudio, en las variedades de cañihua (CII y CCC), los niveles de ácido gálico y ácido clorogénico se correlacionaron significativamente con la actividad inhibidora de la α -glucosidasa ($r = 0,817$ y $r = 0,814$, respectivamente, $p < 0,05$), mientras que los niveles de ácido gálico, rutina y ácido clorogénico se correlacionaron significativamente con la actividad inhibidora de la α -glucosidasa ($r = 0,987$; $r = 0,972$ y $r = 0,988$ respectivamente, $p < 0,01$). En las variedades de quinua (QNC y QSI), los niveles de rutina y ácido clorogénico se correlacionaron significativamente con la actividad inhibidora de la α -glucosidasa ($r = 0,985$ y $r = 0,987$, respectivamente, $p < 0,01$).

No se observó una correlación significativa entre los niveles de compuestos bioactivos analizados por HPLC-DAD con la actividad inhibidora de la enzima α -glucosidasa. Oboh *et al.* (2015) mencionan que la esterificación del ácido cafeico con ácido quínico, que produce ácido clorogénico, reduce su capacidad de inhibir las actividades de la α -amilasa y la α -glucosidasa. Por lo tanto, la inhibición de las actividades de la α -amilasa y la α -glucosidasa por los ácidos fenólicos podría ser parte del posible mecanismo por el cual los ácidos fenólicos ejercen sus efectos antidiabéticos. Según el Cuadro 17, el ácido clorogénico es el compuesto con mayor presencia; también sería responsable del porcentaje de inhibición de la α -amilasa. Oboh *et al.* (2015) también mencionan que el compuesto que tiene mayores atributos de inhibición de la α -amilasa y la α -glucosidasa es el ácido cafeico, que no está presente en los extractos.

4.5 ESTUDIO – PRECLÍNICO (IN-VIVO)

Para seleccionar los mejores extractos tomamos en cuenta los resultados de compuestos fenólicos y flavonoides totales, actividad antioxidante (*in-vitro*) e inhibición enzimática, dando como mejores resultados: extracto 1 (Cañihua ILLPA INIA: CII) y extracto 2 (Cañihua Cupi: CCC). Posterior, a los 4 meses al inicio de la dieta según su grupo (dieta pura y dieta alta en grasa). Se indujo a los individuos de los grupos 2, 3, 4 y 5 a diabetes con estreptozotocina, se realizaron varios pilotos para poner a punto la dosis adecuada determinándose en 150 mg/kg, dosis que se da en ayunas (12 horas), con inyecciones intraperitoneales. Luego de 7 días se registra la glucosa en ayunas.

Cuadro 18: Inducción a Diabetes, individuos, pesos y niveles de glucosa

Controles y grupos de tratamiento	Individuo	Peso (g)	Glucosa (mg/dL) antes de inducción (en ayunas)	Glucosa (mg/dL) después de inducción (en ayunas)
Control no diabético	RT01	465,21	82	90
	RT02	406,58	85	83
	RT03	408,14	78	100
	RT04	433,32	100	101
	RT05	400,97	85	103
	RT06	415,76	82	102
Control Diabético	RT09	496,10	107	234
	RT10	472,19	95	190
	RT16	452,79	104	268
	RT20	507,89	103	399
	RT28	454,50	98	300
Control Diabético + Metformina	RT12	472,19	109	199
	RT15	441,47	89	278
	RT22	418,14	92	206
	RT30	458,34	108	233
	RT35	466,63	111	271
Ingesta con Extracto 1 (CII)	RT17	438,64	89	182
	RT18	411,47	96	177
	RT26	505,20	93	180
	RT31	460,80	100	191
	RT34	502,30	96	186
Ingesta con Extracto 2 (CCC)	RT07	471,15	97	178
	RT11	441,47	101	189
	RT24	401,80	99	173
	RT27	486,12	96	182
	RT33	518,66	85	199

El Cuadro 18 muestra los resultados de la Inducción a Diabetes, individuos, pesos y niveles de glucosa en función a los controles y grupos de tratamientos. La toma de sangre para medir la glucosa después de la inducción fue de 7 días después.

En el Control no diabético, los individuos RT01; RT02; RT03; RT04; RT05 y RT06, con un peso entre 400,97 g y 645,21, con una glucosa entre 78 y 100 mg/dL, antes de inducción y en ayunas) y en la glucosa entre 83 y 103 mg/dL. después inducción en ayunas (grupo control negativo se le inyectó con buffer citrato).

En el Control diabético, los individuos RT09; RT10; RT16; RT20 y RT28, con pesos entre 452,79 y 507,89 g, con una glucosa entre 95 y 107 mg/dL, antes de inducción en ayunas y con una glucosa entre 190 y 399 mg/dL. después de inducción en ayunas.

Control Diabético + Metformina, los individuos RT12; RT15; RT22; RT30 y RT35, con pesos entre 411,47 y 505,20 g, con una glucosa entre 89 y 111 mg/dL, antes de inducción en ayunas y con una glucosa entre 199 y 278 mg/dL. después de inducción en ayunas.

Ingesta con Extracto 1 (CII), los individuos RT17; RT18; RT26; RT31 y RT34, con pesos entre 452,79 y 507,89 g, con una glucosa entre 93 y 100 mg/dL, antes de inducción en ayunas y con una glucosa entre 177 y 191 mg/dL. después de inducción en ayunas.

Ingesta con Extracto 2 (CCC), los individuos RT07; RT11; RT24; RT27 y RT33, con pesos entre 401,80 y 518,66 g, con una glucosa entre 85 y 101 mg/dL, antes de inducción en ayunas y con una glucosa entre 173 y 199 mg/dL. después de inducción en ayunas.

Después de haber inducido con Estreptozocina en ayudas, se dejó que haga efecto el fármaco que se encarga de evitar el correcto funcionamiento del páncreas, evitando la producción de insulina lo que como consecuencia eleva la glucosa en la sangre en los individuos tratados con dicho fármaco.

Los individuos que se fueron con el fármaco mostraron algunos efectos secundarios como olores fuertes en sus secreciones y pérdida de peso, así también el consumo de agua se incrementó de 1 a 3 veces de cambio de sus bebederos, el grupo control que fue tratado el placebo (buffer citrato), no mostro un incremento notable de la glucosa, no mostrando efectos secundarios.

Cuadro 19: Análisis de tolerancia a la glucosa, antes de la ingesta

Grupo de tratamiento o controles	Individuo	Tiempo (min)						
		0	30	60	90	120	150	180
		Glucosa (mg/dL)						
Control no diabético	RT01	76	154	201	192	154	119	87
	RT02	71	158	256	210	172	132	103
	RT03	92	178	249	222	165	121	90
	RT04	89	155	183	243	188	154	100
	RT05	73	145	185	196	152	102	88
	RT06	84	165	196	263	174	133	107
Control Diabético	RT09	162	242	330	357	380	472	492
	RT10	121	286	364	388	397	433	465
	RT16	136	268	333	378	402	448	501
	RT20	102	274	376	424	476	502	542
	RT28	110	278	333	359	401	431	472
Control Diabético + Metformina	RT12	172	242	264	267	299	375	482
	RT15	201	276	278	290	342	376	473
	RT22	178	232	253	267	284	338	432
	RT30	152	204	229	234	276	375	464
	RT35	182	222	275	303	367	458	501
Ingesta con Extracto 1 (CII)	RT17	132	348	345	389	482	511	567
	RT18	167	220	309	375	462	502	534
	RT26	143	258	330	368	422	432	472
	RT31	123	287	312	382	452	463	503
	RT34	162	303	348	394	381	444	523
Ingesta con Extracto 2 (CCC)	RT07	183	227	353	375	400	453	498
	RT11	172	276	302	376	476	477	482
	RT24	189	267	309	375	398	448	486
	RT27	176	268	324	362	451	477	507
	RT33	199	259	286	306	378	402	444

De las comparaciones realizadas de análisis de tolerancia a la glucosa, antes de la ingesta de los grupos de tratamiento y controles en función al individuo y tiempo según cuadro 19 se tiene de la siguiente manera:

los individuos RT01; RT02; RT03; RT04; RT05 y RT06, con una glucosa entre 71 y 92 mg/dL al inicio del estudio, entre los 60 y 90 minutos llegan a su pico máximo de glucosa, para luego empezar a disminuir hasta llegar a valores normal a los 180 min. Esto quiere decir que estos animales no tienen indicios de diabetes o prediabetes según este análisis.

Control diabético. Los individuos RT09; RT10; RT16; RT20 y RT28, se tiene glucosa inicial entre 102 y 162 mg/dL, para luego de 180 minutos la glucosa sigue incrementando 461-542 mg/dL, manteniéndose la glucosa alta, lo que indicaría que dichos individuos presentan un cuadro de diabetes inducida.

Control diabético + Metformina. Los individuos RT12; RT15; RT22; RT30 y RT35, se tiene glucosa inicial entre 152 y 201 mg/dL, para luego de 180 minutos la glucosa sigue incrementando 432-501 mg/dL, manteniéndose la glucosa alta, lo que indicaría que dichos individuos presentan un cuadro de diabetes inducida.

Ingesta con Extracto 1 (CII), Los individuos RT17; RT18; RT26; RT31 y RT34, se tiene glucosa inicial entre 123 y 167 mg/dL, para luego de 180 minutos la glucosa sigue incrementando 472-567 mg/dL, manteniéndose la glucosa alta, lo que indicaría que dichos individuos presentan un cuadro de diabetes inducida.

50

Ingesta con Extracto 2 (CCC), Los individuos RT07; RT11; RT24; RT27 y RT33, se tiene glucosa inicial entre 172 y 199 mg/dL, para luego de 180 minutos la glucosa sigue incrementando 444-507 mg/dL, manteniéndose la glucosa alta, lo que indicaría que dichos individuos presentan un cuadro de diabetes inducida.

Entonces podemos interpretar cada uno de los individuos varía totalmente en función al tiempo de acuerdo al cuadro 19, además que se podría estimar que los individuos que no reducen su glucosa durante el tiempo se les consideraría como individuos diabéticos.

Las curvas de tolerancia a la glucosa se muestran en el Anexo 1.

Cuadro 20: Control de peso y niveles de Glu

Grupo de tratamiento o controles	Individuo	Día 0		Día 7			Día 14			Día 21			Día 28		
		Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)		Glucosa (mg/dL)	Peso (g)		Glucosa (mg/dL)	Peso (g)		Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	
Control no diabético	RT01	105	538,8	102	530,15	-2,86	97	526,17	-7,62	98	519,18	-6,67	102	509,77	-2,86
	RT02	99	477,01	105	465,77	6,06	116	455,38	17,17	117	462,2	18,18	115	429,31	16,16
	RT03	110	508,02	107	495,76	-2,73	100	486,97	-9,09	100	492,03	-9,09	120	475,47	9,09
	RT04	111	526,15	103	516,13	-7,21	105	511,23	-5,41	118	503,45	6,31	107	494,02	-3,60
	RT05	103	446,12	107	438,78	3,88	114	433,8	10,68	117	432,40	13,59	120	420,18	16,50
	RT06	109	491,85	112	487,36	2,75	116	478,12	6,42	121	461,71	11,01	109	449,95	0,00
Control Diabético	RT09	490	475,09	485	477,75	-1,02	499	478,75	1,84	482	454,24	-1,63	502	433,91	2,45
	RT10	485	412,85	487	415,35	0,41	498	416,35	2,68	513	359,79	5,77	495	366,38	2,06
	RT16	398	417,7	397	415,75	-0,25	405	415,75	1,76	392	418,36	-1,51	407	407,1	2,26
	RT20	543	392,54	545	413,96	0,37	599	423,18	10,31	591	364,72	8,84	555	343,73	2,21
	RT28	499	278,85	525	288,31	5,21	534	297,08	7,01	Murió por coma diabético					
Control Diabético + Metformina	RT12	203	415,63	197	403,55	-2,96	172	396,21	-15,27	169	365,53	-16,75	182	367,24	-10,34
	RT15	284	482,75	195	487,23	-31,34	186	499,9	-34,51	172	504,55	-39,44	195	493,7	-31,34
	RT22	209	418,14	207	422,15	-0,96	200	429,49	-4,31	202	447,12	-3,35	203	441,77	-2,87
	RT30	187	458,34	179	461,22	-4,28	175	464,81	-6,42	170	471,76	-9,09	172	453,34	-8,02
	RT35	258	466,63	215	470,01	-16,67	180	471,33	-30,23	206	477,87	-20,16	218	474,37	-15,50

Cuadro 21. Control de peso y niveles de Glucosa durante la ingesta*

Grupo de tratamiento o controles	Individuo	Día 0		Día 7			Día 14			Día 21			Día 28		
		Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)		Glucosa (mg/dL)	Peso (g)		Glucosa (mg/dL)	Peso (g)		Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	
Ingesta con Extracto 1 (CII)	RT17	350	420,6	363	418,26	3,71	363	415,77	3,71	359	407,32	2,57	337	386,61	-3,71
	RT18	247	415,61	245	418,16	-0,81	245	425,69	-0,81	196	436,23	-20,65	165	424,1	-33,20
	RT26	546	446,55	552	420,32	1,10	HI	409,46	Murió por coma diabético						
	RT31	340	458,29	337	460,22	-0,88	255	468,25	-25,00	245	458,25	-27,94	236	466,48	-30,59
	RT34	300	492,5	270	498,01	-10,00	253	500,17	-15,67	224	506,37	-25,33	203	505,9	-32,33
Ingesta con Extracto 2 (CCC)	RT07	301	375,36	315	362,87	4,65	311	353,48	3,32	289	333,57	-3,99	279	305,35	-7,31
	RT11	549	330,89	550	337,18	0,18	542	342,93	-1,28	536	343,73	-2,37	522	338,41	-4,92
	RT24	422	339,06	416	343,23	-1,42	410	348,56	-2,84	394	349,07	-6,64	377	346,65	-10,66
	RT27	301	496,29	285	495,78	-5,32	277	493,66	-7,97	263	481,05	-12,62	252	481,65	-16,28
	RT33	195	535,15	181	533,27	-7,18	170	531,72	-12,82	171	525,84	-12,31	147	539,21	-24,62

* ($P < 0,05$ por la prueba de Dunnett para control diabético y para control diabético con Metformina). CII = Cañihua ILLPA INIA; CCC = Cañihua Cupi.

Se mostró diferencias significativas en la comparación con el control diabético, los individuos mostraron diferencia significativa para la ingesta con el extracto 1 (CII), con control diabético con Metformina no se mostró diferencias significativas, como se puede evidenciar en el anexo.

En el Cuadro 21 se reporta los resultados del Control de peso y niveles de Glucosa de acuerdo al grupo de tratamiento o controles todo esto en función al tiempo (días):

Primero, con el grupo de tratamiento o controles del individuo RT01 con 105 mg/dL de glucosa a cero (0) días, llegando a los 28 días con 102 mg/dL de glucosa con un peso de 509.77g, así manteniéndose el nivel de glucosa durante el tiempo de estudio.

Seguidamente se tiene al control diabético del individuo RT28 iniciando con 499 mg/dL de glucosa a un tiempo de cero (0) días, llegando a 21 días murió por coma diabético no llegando a los 28 días perdiendo peso durante los días y mostrando olores fuertes es su orina.

Para el Control Diabético + Metformina, los individuos mostraron una reducción de glucosa durante la primera semana, manteniéndose durante los demás días, lográndose reducir entre un 31 y 8 por ciento el nivel de su glucosa.

En el tratamiento de ingesta con extracto 1 (Cañihua ILLPA INIA: CII) el individuo RT26, empezando con 546 mg/dL de glucosa a cero (0) días y a los 18 días de tratamiento, murió por coma diabético, tres individuos lograron reducir aproximadamente 30 por ciento mientras que uno solo 3 por ciento aproximadamente.

Y por último en la ingesta con extracto 2 con Cañihua Cupi (CCC), los individuos en estudio lograron reducir su glucosa entre 5 y 25 por ciento, siendo el individuo RT33 a cero (0) días empezó con 195 mg/dL de glucosa, así concluyendo a los 28 días con 147 mg/dL de glucosa.

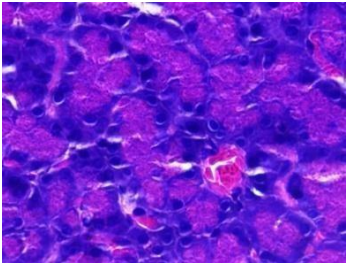
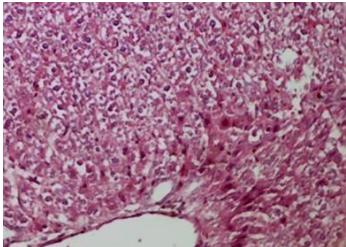
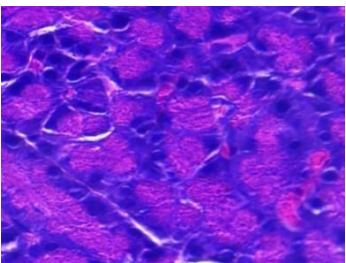
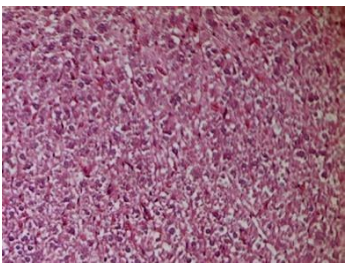
En relación a los resultados del estudio pre-clínico (*in-vivo*) las ratas fueron inducidas a obesidad con comida alta en grasa e inducidas a diabetes con estreptozotocina luego se evaluó la tolerancia a la glucosa, una vez inducidas a diabetes se procedió a dar ingesta con los extractos de cañihua ILLPA INIA y Cupi por un periodo de 28 días, dando como resultado con la ingesta del extracto CII, 3 de 5 individuos redujeron sus niveles de glucosa y con la ingesta del extracto CCC, 2 de 5 individuos redujeron sus niveles de glucosa, la histología de páncreas y hígado. Estos resultados coinciden con los presentados por Hemalatha *et al.* (2016), los cuales evidenciaron que la quinua contiene fenólicos como quercetina, kaempferol y rutina y sus derivados, ácido vanílico, ácido ferúlico y ácido ferúlico-4-glucósido. Los autores resaltan que, al ser consumido como parte de la dieta, disminuye en su mayoría los efectos adversos producidos por los altos niveles de fructuosa dentro del perfil lípido, adicionalmente el consumo de quinua disminuyó los niveles de azúcar en sangre,

insulina y triglicéridos en pacientes normales y celíacos estos estudios sugieren el potencial de la quinua en la prevención del estrés oxidativo y en el control de las actividades de las enzimas involucradas en la regulación de la homeostasis de la glucosa. Sin embargo, Bernuy *et al.* (2018). reportan que se han observado diferentes resultados al evaluar la eficacia de la quinua, resaltando que existiría un beneficio en el consumo de quinua con respecto al ratas que fueron sometidas a comidas obesogénicas.

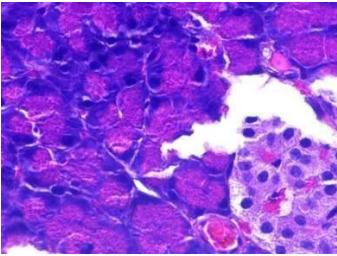
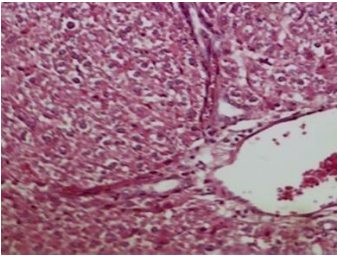
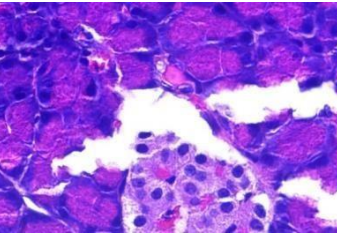
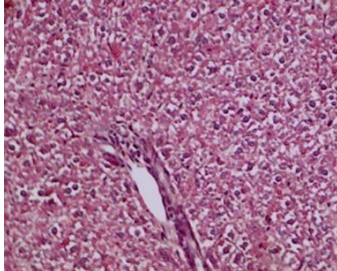
Asimismo, los resultados concuerdan con lo encontrados por Vilcacundo y Hernández (2017), quienes han demostrado una amplia gama de beneficios para la salud de estos componentes, que incluyen propiedades anabólicas, que mejoran el rendimiento, antiosteoporótica, antidiabética, antiobesidad y curativas de heridas. Se debe enfatizar que, la quinua es una de las fuentes comestibles más ricas de fitoecdisteroides, con un contenido que oscila entre 138 y 570 $\mu\text{g/g}$ de 13 tipos diferentes de fitoecdisteroides. Entre ellos, el más común es la 20- hidroxiecdisona (20HE) que constituye el 62-90 por ciento del total de fitoecdisteroides de quinua. Se demostró que un extracto enriquecido en 20HE obtenido de la quinua reduce la glucosa en sangre en ayunas en ratones obesos e hiperglucémicos.

Debe señalarse que Jaimes *et al.* (2013) confirman los resultados de los estudios preclínicos, al expresar que el índice glucémico de la quinua resultó $52 \pm 1,2$ por ciento, entrando a la clasificación de alimentos con índice glucémico bajo. Además, dicho autor también concluye que la quinua puede ser incluida como alimento dietoterapéutico en trastornos metabólicos de la glucosa, regímenes especiales e incluso en la dieta de individuos sanos. Reafirma también que, en diversos meta-análisis se determinó que una dieta con valores bajos de IG ayuda al control glucémico, en pacientes con diabetes tipo 1 y 2, puede en gran medida reducir los riesgos.

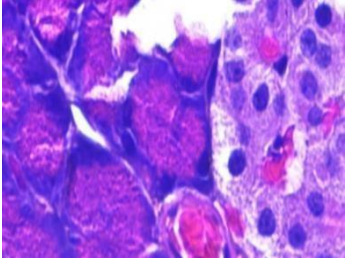
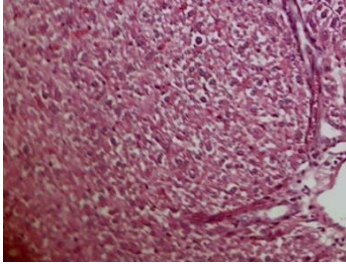
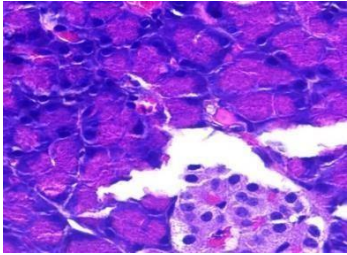
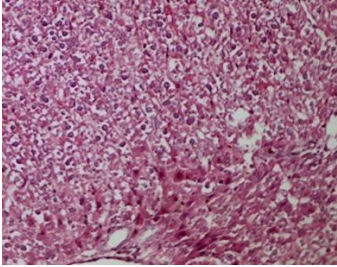
Cuadro 22. Resultado de los análisis de cortes histológicos de páncreas e hígado

CONTROL NO DIABETICAS: ÓRGANO PÁNCREAS			CONTROL NO DIABETICAS: ÓRGANO HÍGADO	
RATA C1		Estructura histológica conservada en acinos pancreáticos e islotes de Langerhans, sin alteraciones, con características normales.		Estructura parenquimatosa conformada por cordones de células hepáticas (hepatocitos) en óptimas condiciones, del mismo modo se encuentran las venas centrolobulillares y estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares).
RATA C2		Estructura histológica conservada en acinos pancreáticos e islotes de Langerhans, sin alteraciones, con características normales.		Estructura parenquimatosa conformada por cordones de células hepáticas (hepatocitos) en óptimas condiciones, del mismo modo se encuentran las venas centrolobulillares y estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares).

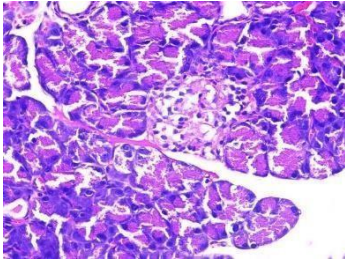
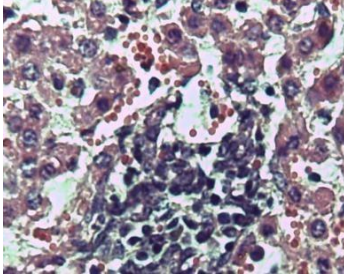
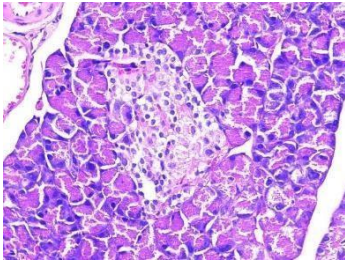
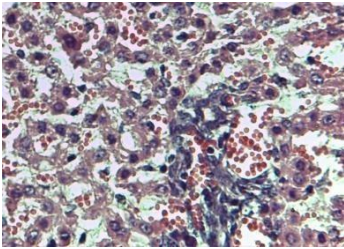
<<Continuación>>

CONTROL NO DIABETICAS: ÓRGANO PÁNCREAS			CONTROL NO DIABETICAS: ÓRGANO HÍGADO	
RATA C3		Estructura histológica conservada en acinos pancreáticos e islotes de Langerhans, sin alteraciones, con características normales.		Estructura parenquimatosa conformada por cordones de células hepáticas (hepatocitos) en óptimas condiciones, del mismo modo se encuentran las venas centrolobulillares y estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares).
RATA C4		Estructura histológica conservada en acinos pancreáticos e islotes de Langerhans, sin alteraciones, con características normales		Estructura parenquimatosa conformada por cordones de células hepáticas (hepatocitos) en óptimas condiciones, del mismo modo se encuentran las venas centrolobulillares y estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares).

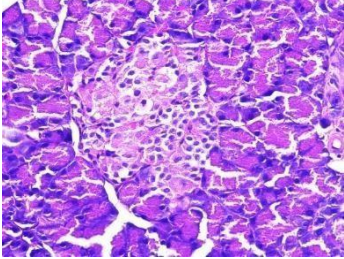
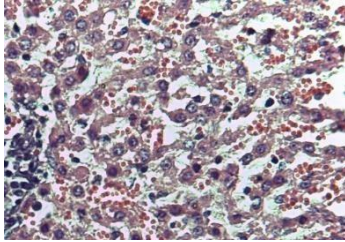
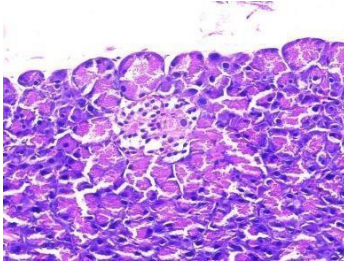
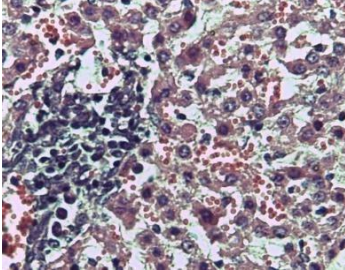
<<Continuación>>

CONTROL NO DIABETICAS: ÓRGANO PÁNCREAS			CONTROL NO DIABETICAS: ÓRGANO HÍGADO	
RATA C5		Estructura histológica conservada en acinos pancreáticos e islotes de Langerhans, sin alteraciones, con características normales		Estructura parenquimatosa conformada por cordones de células hepáticas (hepatocitos) en óptimas condiciones, del mismo modo se encuentran las venas centrolobulillares y estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares).
RATA C6		Estructura histológica conservada en acinos pancreáticos e islotes de Langerhans, sin alteraciones, con características normales		Estructura parenquimatosa conformada por cordones de células hepáticas (hepatocitos) en óptimas condiciones, del mismo modo se encuentran las venas centrolobulillares y estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares).

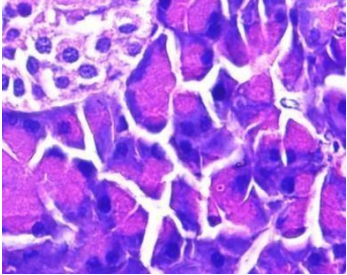
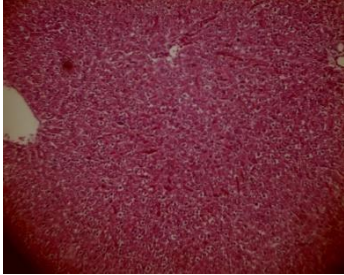
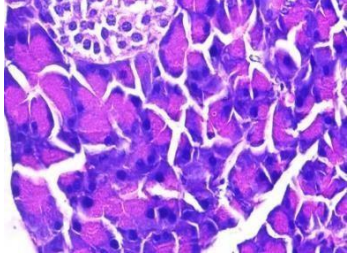
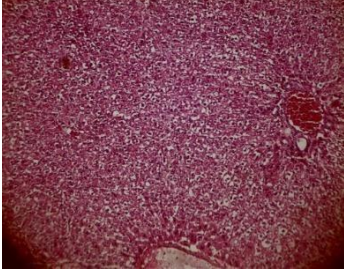
<<Continuación>>

CONTROL DIABETICO: ÓRGANO PÁNCREAS			CONTROL DIABETICO: ÓRGANO HÍGADO	
RATA 09		Necrosis focal en acinos e islotes de Langerhans, elevada congestión en los vasos sanguíneos. Presencia de hemorragia y elevada infiltración grasa.		Necrosis moderada. Elevada congestión e infiltración en el parénquima.
RATA 10		Ligero foco de necrosis en acinos e islotes de Langerhans. Ligera hemorragia.		Necrosis moderada. Elevada congestión e infiltración en el parénquima.

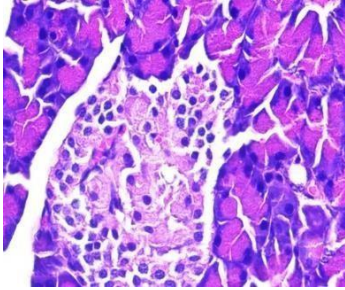
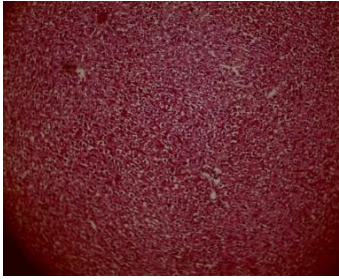
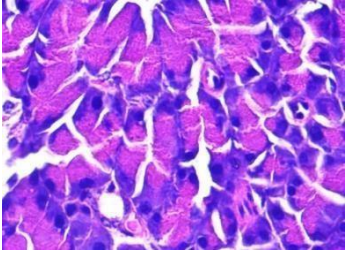
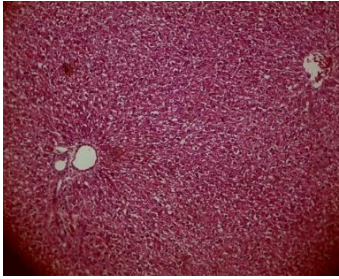
<<Continuación>>

CONTROL DIABETICO: ÓRGANO PÁNCREAS			CONTROL DIABETICO: ÓRGANO HÍGADO	
RATA 16		Necrosis focal en acinos e islotes de Langerhans, elevada congestión en los vasos sanguíneos. Presencia de hemorragia y elevada infiltración grasa.		Ligera congestión en el parénquima, no necrosis ni hemorragia.
RATA 20		Necrosis focal en acinos e islotes de Langerhans, elevada congestión en los vasos sanguíneos. Presencia de hemorragia y elevada infiltración grasa.		Necrosis moderada. Elevada congestión e infiltración en el parénquima.

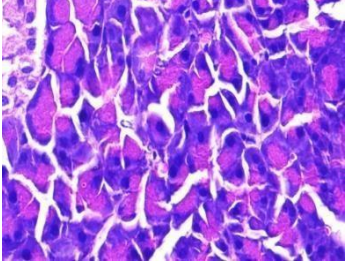

<<Continuación>>

CONTROL DIAB + METFORMINA: ÓRGANO PÁNCREAS			CONTROL DIAB + METFORMINA: ÓRGANO HÍGADO	
RATA 22		Acinos pancreáticos conservados, ligeras zonas de necrosis en islotes de Langerhans, escasa hemorragia. No necrosis. Liger a congestión de los vasos sanguíneos.		Hiperemia moderada. Liger a congestión e infiltrado en el parénquima. Acumulación de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos. Espacio portal normal.
RATA 30		Acinos pancreáticos conservados, ligeras zonas de necrosis en islotes de Langerhans, escasa hemorragia. No necrosis		Hiperemia moderada. Liger a congestión e infiltrado en el parénquima. Acumulación de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos. Espacio portal normal.

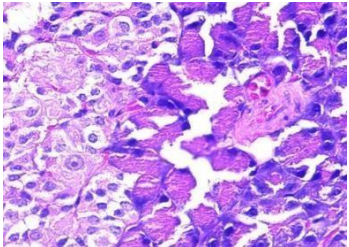
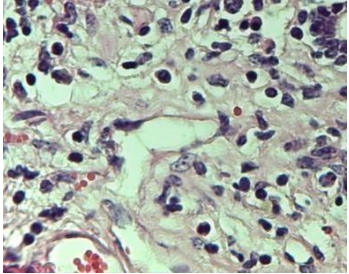
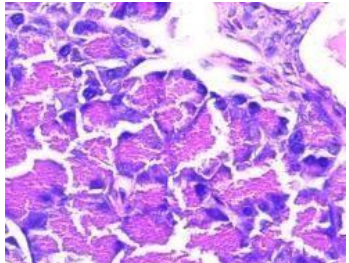
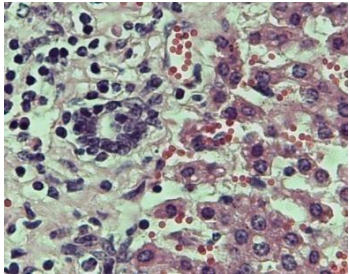
<<Continuación>>

CONTROL DIAB + METFORMINA: ÓRGANO PÁNCREAS			CONTROL DIAB + METFORMINA: ÓRGANO HÍGADO	
RATA 35		Acinos pancreáticos conservados, ligeras zonas de necrosis en islotes de Langerhans, escasa hemorragia. No necrosis. Ligera congestión de los vasos sanguíneos.		Hiperemia moderada. Ligera congestión e infiltrado en el parénquima. Acumulación de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos. Espacio portal normal.
RATA 12		Acinos pancreáticos conservados, ligeras zonas de necrosis en islotes de Langerhans, escasa hemorragia. No necrosis		Hiperemia moderada. Ligera congestión e infiltrado en el parénquima. Acumulación de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos. Espacio portal normal.

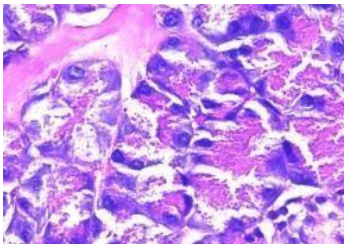
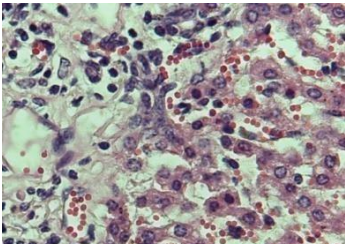
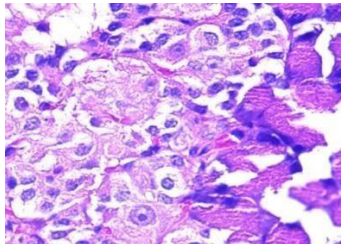
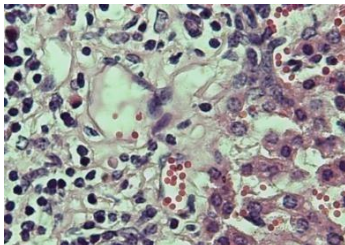
<<Continuación>>

CONTROL DIAB + METFORMINA: ÓRGANO PÁNCREAS		CONTROL DIAB + METFORMINA: ÓRGANO HÍGADO		
RATA 15		Acinos pancreáticos conservados, ligeras zonas de necrosis en islotes de Langerhans, escasa hemorragia. No necrosis. Ligeramente congestión de los vasos sanguíneos		Hiperemia moderada. Ligeramente congestión e infiltrado en el parénquima. Acumulación de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos. Espacio portal normal.

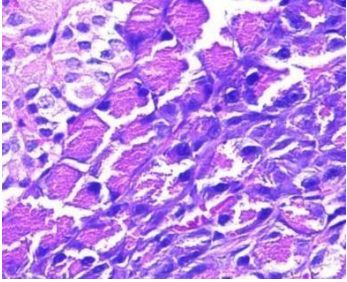
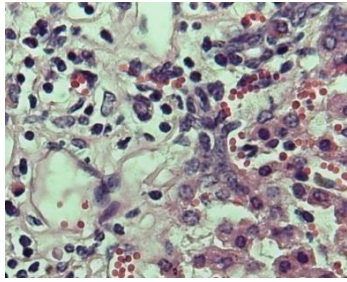
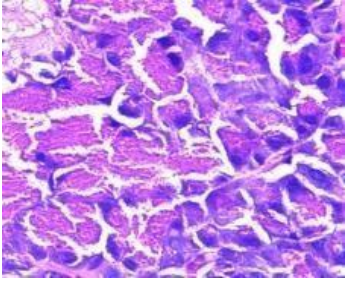
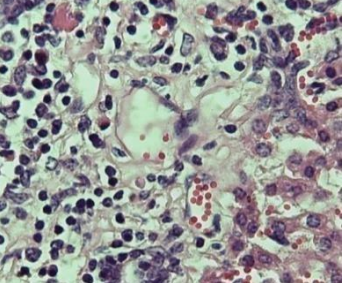
<<Continuación>>

RATAS TRATADAS EXTRACTO 1 (CII): ÓRGANO PÁNCREAS			RATAS TRATADAS EXTRACTO 1 (CII): ÓRGANO HÍGADO	
RATA 34		Acinos pancreáticos poco conservados, ligera zona de necrosis en islotes de Langerhans, sin hemorragia.		Ligera congestión en el parénquima hepático, poca alteración en la estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares). No necrosis, no hemorragia.
RATA 17		Acinos pancreáticos poco conservados, ligera zona de necrosis en islotes de Langerhans, sin hemorragia.		Ligera congestión en el parénquima hepático, poca alteración en la estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares). No necrosis, no hemorragia.

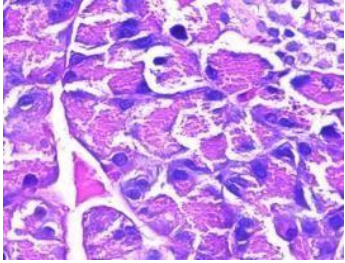
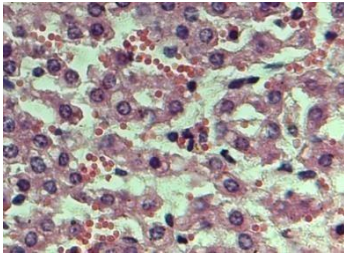
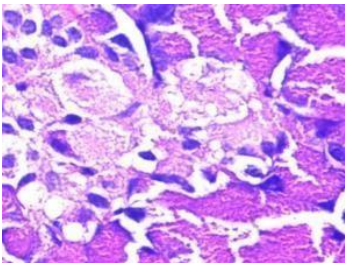
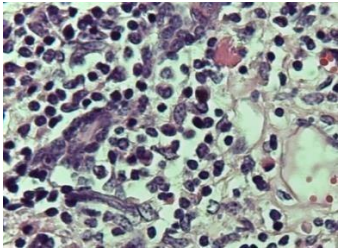
<<Continuación>>

RATAS TRATADAS EXTRACTO 1 (CII): ÓRGANO PÁNCREAS			RATAS TRATADAS EXTRACTO 1 (CII): ÓRGANO HÍGADO	
RATA 18		Acinos pancreáticos poco conservados, ligera zona de necrosis en islotes de Langerhans, sin hemorragia.		Ligera congestión en el parénquima hepático, poca alteración en la estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares). No necrosis, no hemorragia.
RATA 31		Acinos pancreáticos poco conservados, ligera zona de necrosis en islotes de Langerhans, sin hemorragia.		Ligera congestión en el parénquima hepático, poca alteración en la estructura del espacio porta (vasos sanguíneos y conductos biliares). No necrosis, no hemorragia.

<<Continuación>>

RATAS TRATADAS CON EXT 2 (CCC): ÓRGANO PÁNCREAS			RATAS TRATADAS CON EXT 2 (CCC): ÓRGANO HÍGADO	
RATA 33		Necrosis focal en acinos e islotes e islotes de Langerhans, ligera congestión de vasos sanguíneos y hemorragia.		Elevada congestión y ligero infiltrado inflamatorio en el parénquima. Ligera necrosis con retención de pigmentos, acumulación de líquidos en el citoplasma de los hepatocitos.
RATA 11		Necrosis focal en acinos e islotes e islotes de Langerhans, ligera congestión de vasos sanguíneos y hemorragia.		Elevada congestión y ligero infiltrado inflamatorio en el parénquima. Ligera necrosis con retención de pigmentos, acumulación de líquidos en el citoplasma de los hepatocitos.

<<Continuación>>

RATAS TRATADAS CON EXT 2 (CCC): ÓRGANO PÁNCREAS			RATAS TRATADAS CON EXT 2 (CCC): ÓRGANO HÍGADO	
RATA 24		Necrosis focal en acinos e islotes e islotes de Langerhans, ligera congestión de vasos sanguíneos y hemorragia.		Elevada congestión y ligero infiltrado inflamatorio en el parénquima. Ligera necrosis con retención de pigmentos, acumulación de líquidos en el citoplasma de los hepatocitos.
RATA 27		Necrosis focal en acinos e islotes e islotes de Langerhans, ligera congestión de vasos sanguíneos y hemorragia.		Elevada congestión y ligero infiltrado inflamatorio en el parénquima. Ligera necrosis con retención de pigmentos, acumulación de líquidos en el citoplasma de los hepatocitos.

V. CONCLUSIONES

1. Se logró obtener extractos secos purificados de dos variedades de quinua y dos variedades de cañihua mediante maceración etanólica de harinas y purificación con extracción en fase sólida.
2. Al evaluar el contenido de polifenoles y flavonoides totales, se evidenció que, el contenido de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante (*in-vitro*), las variedades de cañihua tenían mayores valores aproximadamente 1,46; 1,57 y 3,90 veces más en comparación con las variedades de quinua. Asimismo, la actividad antioxidante (*in-vitro*) presenta una correlación con los polifenoles totales y los flavonoides totales de 0,97 y 0,93 respectivamente, sin embargo, los resultados presentan variabilidad con respecto a otros estudios similares, la exposición a la luz y temperatura serían aspectos a considerar.
3. Al evaluar los ensayos de inhibición tanto de la α -amilasa y α -glucosidasa, las variedades de cañihua revelan mejores resultados para la cañihua ILLPA INIA y cañihua Cupi en la inhibición de la enzima α -amilasa y la variedad de quinua negra Collana presentó un mayor resultado para la inhibición de la enzima α -glucosidasa, sin embargo, las cañihuas también presentaron un valor de inhibición media en α -glucosidasa. Adicionalmente, los ensayos de inhibición revelan que, en conjunto para ambas enzimas la α -amilasa como la α -glucosidasa revelan mejores resultados para la cañihua ILLPA INIA, seguida de la cañihua Cupi y quinua Negra Collana.

4. Al identificar y cuantificar compuestos fenólicos de extractos etanólicos de las muestras se pudo detectar picos para tres compuestos fenólicos, ácido gálico, rutina y ácido clorogénico, el contenido de ácido clorogénico puede ser el principal inhibidor, ya que su presencia en ambos extractos de cañihua es 4,5 veces más en comparación con los extractos de quinua, además, y presenta una correlación de 0,97 con polifenoles totales, de 0,91 con flavonoides totales y de 0,97 actividad antioxidante (*in-vitro*), para el ácido gálico presenta una correlación de 0,85 con polifenoles totales, de 0,86 con flavonoides totales y de 0,72 actividad antioxidante (*in-vitro*).

5. Estudio pre-clínico (*in-vivo*) con ratas Sprague-Dawley, demostró que con la ingesta del extracto CII, 3 de 5 individuos redujeron sus niveles de glucosa marcadamente reduciéndose hasta en un 30 por ciento a los 28 días de ingesta. Además, con la ingesta del extracto CCC, 2 de 5 individuos redujeron sus niveles de glucosa moderadamente (16 y 25 por ciento), la histología de páncreas e hígado mostraron necrosis,

VI. RECOMENDACIONES

- Para identificar los compuestos bioactivos presentes en los extractos de quinua y cañihua responsables de la actividad hipoglucémica *in vitro*, se requieren más estudios, además de utilizar dosis más alta de extractos en la ingesta.
- En los cromatogramas realizados, se trabajó con siete estándares de flavonoides, pero adicional a eso se pudieron evidenciar una mayor cantidad de picos en distintos tiempos de retención, en una futura investigación se evaluará una mayor cantidad de estándares de flavonoides
- Realizar un estudio pre-clínico, con mayor cantidad de individuos para evaluar si hay efecto en la dosis por kg y en el tiempo de ingesta, una mayor dosis por mayor tiempo podría arrojar mejores resultados.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abderrahim, F; Huanatico, E; Repo-Carrasco-Valencia, R; Arribas, SM; Gonzalez, MC; Condezo-Hoyos, L. 2012. Effect of germination on total phenolic compounds, total antioxidant capacity, Maillard reaction products and oxidative stress markers in canihua (*Chenopodium pallidicaule*). Journal of Cereal Science, 56, 410-417.

Abderrahim, F; Huanatico, E; Segura, R; Arribas, S; Gonzalez, MC; Condezo-Hoyos, L. 2015. Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. Journal Food Chemistry, 183, 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.029>.

Adisakwattana, S; Ruengsamran, T; Kampa, P; Sompong, W. 2012. In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylas. Journal BMC Complementary Medicine and Therapies Med 12, 110 <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-110>

Apaza, V. 2010. Manejo y Mejoramiento de Kañiwa. Convenio Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA-Puno, Centro de Investigación de Recursos Naturales y Medio Ambiente-CIRNMA, Bioversity International y el InternationalFund for Agricultural Development-IFAD. Puno, Perú.

Apaza, V; Cáceres, G; Estrada, R; Pinedo, R. 2013. Catálogo de variedades comerciales de quinua en el Perú. Lima: Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA; Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO, 79 p.

Aruoma, O. 2000. Conceptualization of the prooxidant and antioxidant actions of plant food chemicals, phytochemicals and phythopharmaceuticals. AOCS, Press, Champaign, Illinois. pp. 32-46.

Bahadoran, Z; Mirmiran, P; Azizi, F. 2013. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders 2013; 12: 43.

Bartolo, DB. 2014. Influencia de la temperatura de tostado sobre el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante de la Cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) variedad Cupi. tesis presentada como requerimiento para optar el título profesional de Ingeniero de Alimentos. Universidad Peruana Unión. 94p.

Bazile, D; Bertero, D; Nieto, C. 2014. “Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia), 724p.

Benzie, IF; Choi, SW. 2014. Antioxidants in Food: Content, Measurement, Significance, Action, Cautions, Caveats, and Research Needs. In: Jeyakumar Henry, Editor(s), Advances in Food and Nutrition Research, Academic Press. Volume 71, Pp. 1-53.

Bernuy, N; Villanueva, ME; Suárez, S; Vílchez, C. 2018. Influencia del consumo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) sobre la acumulación del tejido adiposo y actividad antioxidante en tejidos de ratas obesas. Archivos Latinoamericanos de Nutrición Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición 68 (2): 122-131.

Bussmann, RW; Paniagua-Zambrana, N; Rivas, M; Molina, N; Cuadros, MLR; Olivera, J. 2013. Peril in the market-classification and dosage of species used as anti-diabetics in Lima, Peru. Journal Ethnobiol Ethnomed 2013; 9(1): 37. doi: 10.1186/1746-4269-9-37

Dasgupta, A; Klein, K. 2014. Fruits, Vegetables, and Nuts: Good Sources of Antioxidants. Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements, Prevention and Treatment of Disease. Pp. 209-235. ISBN 9780124058729. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-405872-9.00012-4>.

De La Riva, DF. 2010. Comparación del contenido de fitatos, polifenoles y actividad antioxidante de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) cruda y procesada. variedad salcedo INIA. Tesis presentada por: para optar el Título de: Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional del Altiplano.

Dragan, S; Andrica, F; Serban, MC; Timar, R. 2015. Polyphenols-rich natural products for treatment of diabetes. Journal Current Medicinal Chemistry; pp. 14-22 (9)

El Abed, H; Chakroun, M; Fendri, I; Makni, M; Bouaziz, M; Drira, N; Mejdoub, H; Khemakhem, B. 2017. Extraction optimization and in vitro and in vivo anti-postprandial hyperglycemia effects of inhibitor from Phoenix dactylifera L. parthenocarpic fruit (en línea). *Biomedicine & Pharmacotherapy* 88:835-843. doi:

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.129>.

Escobar-Blanco, M. 2010. Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México. Tesis para obtener el título de maestra en Ciencias en Alimentos. 114p.

Estrada, R; Apaza, V; Delgado, P. 2014. Tecnología de Producción de quinua para el mercado interno y externo, curso modular virtual del Instituto Nacional de Innovación Agraria. 250p.

Giménez, T; Mamani, Félix; Canaviri, W. 2017. El Arte de Cultivar Cañahua - Bolivia IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura), Bolivia- 34p.

Hemalatha, P; Bomzan, DP; Sathyendra Rao, BV; Sreerama, YN. 2016. Distribution of phenolic antioxidants in whole and milled fractions of quinoa and their inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase activities (en línea). *Journal Food Chemistry* 199:330-338. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.025>.

Hernández, A; Torres, O; Carrasco, B; Nasiff, A; Castelo, L; Pérez, L; Fernández, F. 2011. Tratamiento farmacológico de la prediabetes. *Revista Cubana de Endocrinología*, 22(1), 36–45.

https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1734/cap01

Huamaní-Huamán, FM. 2018. Evaluación del perfil químico - nutricional y actividad antioxidante de tres ecotipos de Cañihua (*Chenopodium Pallidicaule* AELLEN) procedentes de Puno. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 40p.

<http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/5954>

Hung, H-Y; Qian, K; Morris-Natschke, SL; Hsu, C-S; Lee, K-H. 2012. Recent discovery of plant-derived anti-diabetic natural products (en línea). *Journal Natural Product Reports* 29(5):580. DOI: <https://doi.org/10.1039/c2np00074a>.

INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). 2019. Perú: Enfermedades No Transmisibles y Transmisibles, 2019, Instituto Nacional de Estadística e Informática. Disponible en:

INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). 2013a. Quinoa INIA 420 - Negra Collana, Estación Experimental Agraria Illpa – Puno, Plegable. N°1 – 2013.

INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). 2013b. Quinoa Salcedo INIA - Negra Collana, Estación Experimental Agraria Illpa – Puno, Plegable. N°2 – 2013.

Irakli, MN; Samanidou, VF; Biliaderis, CG; Papadoyannis, IN. 2012. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in rice using solid-phase extraction and RP-HPLC with photodiode array detection (en línea). *Journal of Separation Science* 35(13):1603-1611. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201200140>.

Jaimes, A; Carrasquel, D; Castillo, V y Hernández, Pablo. 2013. Índice glucémico de la Quínoa (*Chenopodium Quinoa*) En sujetos sanos de Venezuela. Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 104p.

Johnson, M. 2012. Ratones y ratas de laboratorio – Materiales y metodos, Synatom Research, Princeton, New Jersey, United States.

Johnson, MH; Lucius, A; Meyer, T; Gonzalez de Mejia, E. 2011. Cultivar Evaluation and Effect of Fermentation on Antioxidant Capacity and *In Vitro* Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Highbush Blueberry (*Vaccinium corombosum*) (en línea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(16):8923-8930. doi: <https://doi.org/10.1021/jf201720z>.

Kumar, S; Pandey, AK. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview (en línea). *The Scientific World Journal* 2013:1-16. doi: <https://doi.org/10.1155/2013/162750>.

León, GAC; Blanco, D; Peña, A; Ronda, M; González, BO; Arteaga, ME; Bada, AM; González, Y; Mancebo, A. 2011. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB, Cenp: SPRD. *Revista Electronica de Veterinaria*, 12(11).

Li, YQ; Zhou, FC; Gao, F; Bian, JS; Shan, F. 2009. Comparative Evaluation of Quercetin, Isoquercetin and Rutin as Inhibitors of α -Glucosidase (en línea). Journal of Agricultural and Food Chemistry 57(24):11463-11468. doi: <https://doi.org/10.1021/jf903083h>.

López-Martínez, LX; Aguilar-Cisneros, LM; Dublán-García, O. 2014. Actividad antioxidante e inhibidora de α -glucosidasa y α -amilasa de tres variedades de cebolla (*Allium cepa* L.) (en línea). Nova Scientia 6(12):234. DOI: <https://doi.org/10.21640/ns.v6i12.51>.

Lozano, M; Tícona, E; Carrasco, C; Flores, Y; Almanza, GR. 2012. CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS EN RESIDUOS DE QUINUA REAL CHENOPODIUM QUINOA WILLD. Revista Boliviana de Química, 29(2), 131-138. de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602012000200002&lng=es&tlng=es.

Martínez-Flórez, S; González-Gallego, J; Culebras, JM; Tuñón, MJ. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. España: Revista Nutrición Hospitalaria 17 (6): pp. 271-278. ISSN 0212-1611

Mccue, P; Kwon, Y-I; Shetty, K. 2005. Anti-amylase, anti-glucosidase and anti-angiotensin I-converting enzyme potential of selected foods (en línea). Journal of Food Biochemistry 29(3):278-294. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2005.00020.x>.

Mendoza, JR. 2015. Compuestos fenólicos ácidos grasos y actividad antioxidante en quinua (*Cheponium quinoa* Willd). Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa Facultad de Ingeniería de procesos escuela profesional de ingeniería de Industrias Alimentarias, Tesis para optar el título de ingeniero en industrias alimentarias: pp 1-75.

Mirmiran, P; Bahadoran, Z; Azizi, F. 2014. Functional foods-based diet as a novel dietary approach for management of type 2 diabetes and its complications: A review (en línea). World Journal of Diabetes. June 15; 5(3): 267-281, <https://doi.org/10.4239/wjd.v5.i3.267>.

Naczka, M; Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food (en línea). Journal of Chromatography A 1054(1-2):95-111. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(04\)01409-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(04)01409-8).

Oboh, G; Ademosun, AO; Ayeni, PO; Omojokun, OS; Bello, F. 2014. Comparative effect of quercetin and rutin on α -amylase, α -glucosidase, and some pro-oxidant-induced lipid peroxidation in rat pancreas (en línea). *Comparative Clinical Pathology* 24(5):1103–1110. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00580-014-2040-5>.

Oboh, G; Agunloye, OM; Adefegha, SA; Akinyemi, AJ; Ademiluyi, AO. 2015. Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (*in vitro*): a comparative study (en línea). *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 26(2) :165-70. Doi: <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2013-0141>.

Oboh, G; Ogunsuyi, OB; Ogunbadejo, MD; Adefegha, SA. 2016. Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose (en línea). *Journal of Food and Drug Analysis* 24(3):627–634. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.03.003>.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2016. Hoja informativa sobre diabetes. https://www.who.int/diabetes/action_online/basics/es/index1.html

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2018. Hoja informativa sobre diabetes. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.

Ozgen, M; Reese, RN; Tulio, AZ; Scheerens, JC; Miller, AR. 2006. Modified 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of Selected Small Fruits and Comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods (en línea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(4):1151–1157. Doi: <https://doi.org/10.1021/jf051960d>.

Peñarrieta, JM; Alvarado, JA; Åkesson, B; Bergenståhl, B. 2008. Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean pseudocereal (en línea). *Molecular Nutrition & Food Research* 52(6):708–717. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700189>.

Pinto, MDS; Ranilla, LG; Apostolidis, E; Lajolo, FM; Genovese, MI; Shetty, K. 2009. Evaluation of Antihyperglycemia and Antihypertension Potential of Native Peruvian Fruits Using *In-Vitro* Models (en línea). *Journal of Medicinal Food* 12(2):278–291. Doi: <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0113>.

Polo, CD; Quituisaca, MA. 2010. Amilasa pancreática sérica en personas de 23 a 42 años de la ciudad de Cuenca-Ecuador 2009-2010. Tesis previa a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico. Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Médicas Escuela de Tecnología Médica.

Proença, C; Freitas, M; Ribeiro, D; Tomé, SM; Oliveira, EFT; Viegas, MF; Araújo, AN; Ramos, MJ; Silva, AMS; Fernandes, PA; Fernandes, E. 2019. Evaluation of a flavonoids library for inhibition of pancreatic α -amylase towards a structure–activity relationship (en línea). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 34(1):577–588. Doi: <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1558221>.

Quispe-Colquehuanca, WE. 2016. Evaluación comparativa del contenido proteico, compuestos fenólicos y actividad antioxidante de dos variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) orgánica y convencional. Tesis presentada por: para optar el Título de: Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional del Altiplano.

Ranilla, LG; Apostolidis, E; Genovese, MI; Lajolo, FM; Shetty, K. 2009. Evaluation of Indigenous Grains from the Peruvian Andean Region for Antidiabetes and Antihypertension Potential Using *in-vitro* Methods (en línea). *Journal of Medicinal Food* 12(4):704–713. Doi: <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0122>.

Ranilla, LG; Kwon, YI; Apostolidis, E; Shetty K. 2010. Phenolic compounds, antioxidant activity and *in vitro* inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresour Technol*; 101: 4676-89.

Ranilla, LG; Kwon, Y-I; Apostolidis, E; Shetty, K. 2010. Phenolic compounds, antioxidant activity and *in vitro* inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America (en línea). *Bioresource Technology* 101(12):4676–4689. Doi:

Repo-Carrasco, R; Acevedo de La Cruz, A; Icochea Alvarez, JC; Kallio, H. 2009. Chemical and Functional Characterization of Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) Grain, Extrudate and Bran (en línea). *Plant Foods for Human Nutrition* 64(2):94–101. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11130-009-0109-0>.

Repo-Carrasco, R; Encina, C. 2008. Determinación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Revista de la Sociedad Química del Perú, 74(2), 85-99

Repo-Carrasco, R; Espinoza, C; Jacobsen, S-E. 2003. Nutritional Value and Use of the Andean Crops Quinoa (*Chenopodium quinoa*) and Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) (en línea). Food Reviews International 19(1–2):179–189. Doi: <https://doi.org/10.1081/fri-120018884>.

Repo-Carrasco, R; Hellström, JK; Pihlava, J-M; Mattila, PH. 2010. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*) (en línea). Food Chemistry 120(1):128–133. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.087>.

Repo-Carrasco-Valencia, R. 2014. Valor Nutricional y Compuestos Bioactivos en los Cultivos Andinos. Re-descubriendo los tesoros olvidados. Universidad Nacional Agraria La Molina. Fondo Editorial. Lima, Perú. 112p.

Richardson, M. 1991. Seed storage proteins: The enzyme inhibitors. L.J. Rogers (Ed.) Methods in Plant Biochemistry. Academic Press, New York. 5, pp 259–305.

Seal, T. 2016. Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India (en línea). Journal of Applied Pharmaceutical Science :157–166. DOI: <https://doi.org/10.7324/japs.2016.60225>.

Tabatabaei-Malazy, O; Larijani, B; Abdollahi, M. 2015. Targeting metabolic disorders by natural products (en línea). Journal of Diabetes & Metabolic Disorders 14: 57. doi: <https://doi.org/10.1186/s40200-015-0184-8>.

Tapia, M; Canahua, A; Ignacio, S. 2014. Razas de quinuas del Perú. ANPE y CONCYTEC. Lima, Perú, 173p.

Valencia, Z; Cámara, F; Ccapa, K; Catacora, P; Quispe, F. 2017. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de semillas de quinua peruana (*Chenopodium quinoa* W.). Revista de Sociedad Química del Perú, 83, 16-29.

Vargas-Uricoechea, H; Casas-Figueroa, ALA. 2015. Un análisis epidemiológico de la diabetes en Colombia. *Anales de la salud global*, 81(6):742-753.

Vasconcellos, A. 2005. *Alimentos Funcionales. Conceptos y Beneficios para la Salud*. Departamento de Ciencia de Alimentos y Nutrición. California: Universidad de Chapman.

Vilcacundo, R; Hernández-Ledesma, B. 2017. Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) (en línea). *Current Opinion in Food Science* 14:1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.11.007>.

Vilcacundo, R; Martínez-Villaluenga, C; Hernández-Ledesma, B. 2017. Release of dipeptidyl peptidase IV, α -amylase and α -glucosidase inhibitory peptides from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during in vitro simulated gastrointestinal digestion (en línea). *Journal of Functional Foods* 35:531–539. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.06.024>.

Wild, S; Roglic, G; Green, A; Sicree, R; King, H. 2004. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030 (en línea). *Diabetes Care* 27(5):1047–1053. Doi: <https://doi.org/10.2337/diacare.27.5.1047>.

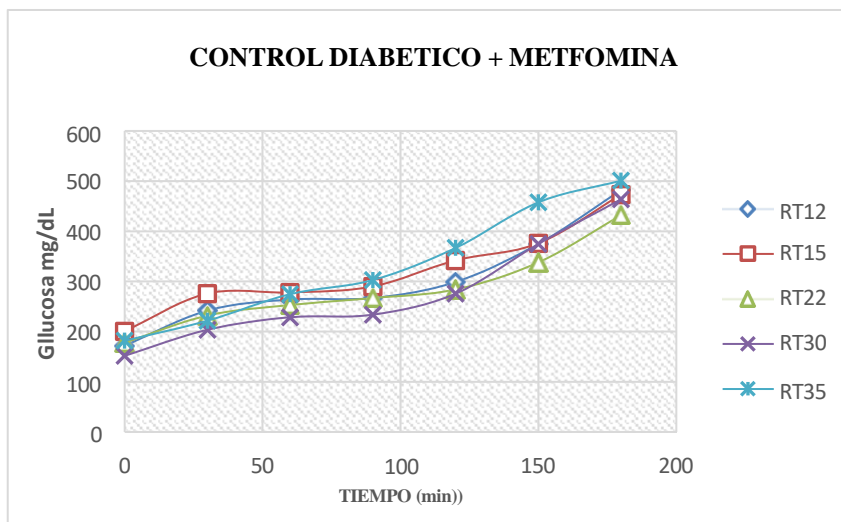
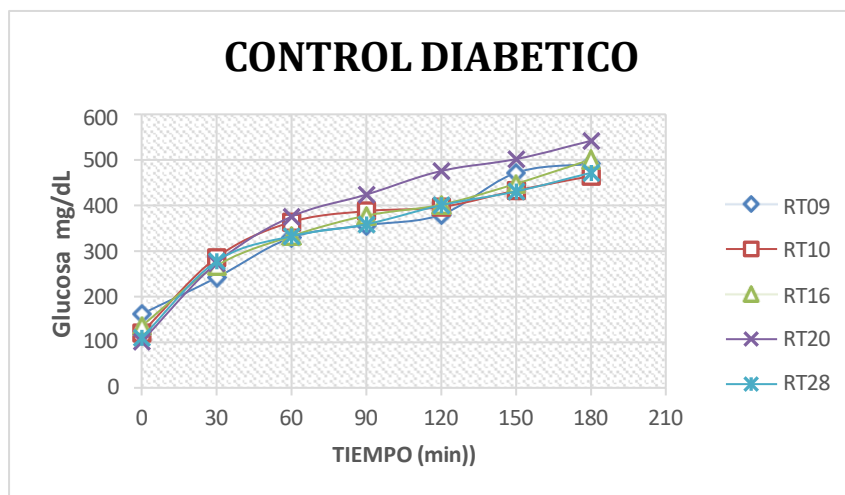
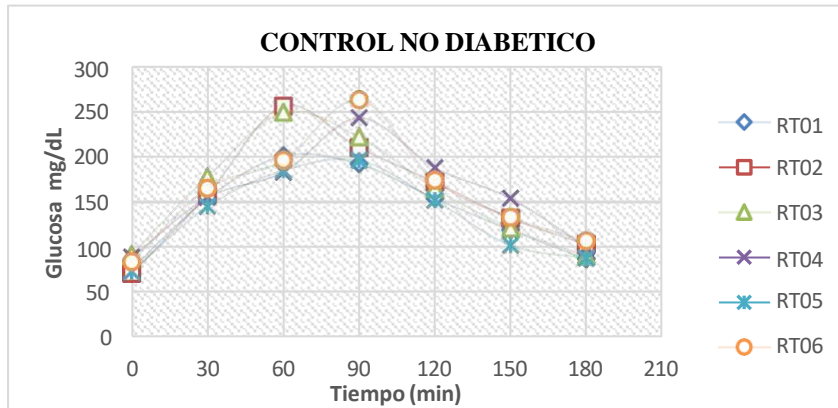
Wolfe, K; Wu, X; Liu, RH. 2003. Antioxidant Activity of Apple Peels (en línea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(3):609–614. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf020782a>.

Worthington, K. and Worthington, V. 2011a. *Worthington Enzyme Manual*, Worthington Biochemical Corporation. date of access: <http://www.worthington-biochem.com/MALT/assay.html>.

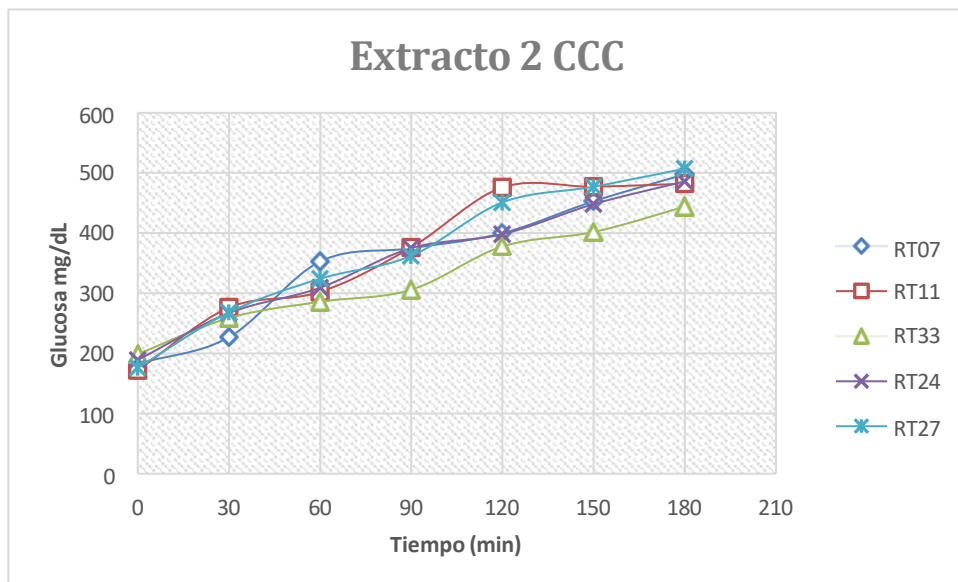
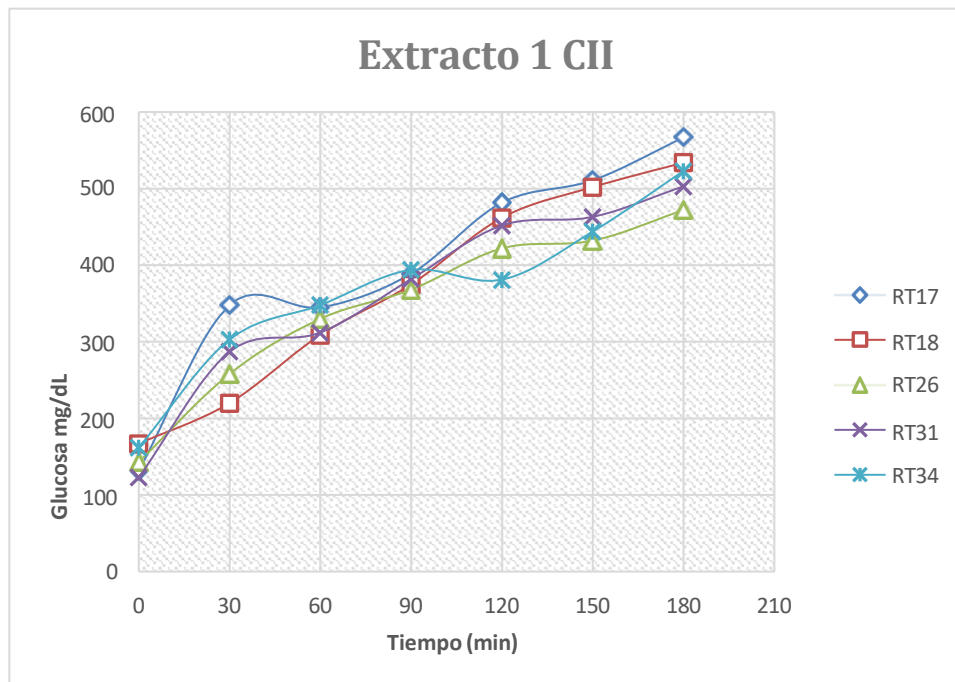
Worthington, K. and Worthington, V. 2011b. *Worthington Enzyme Manual*, Worthington Biochemical Corporation. date of access: <http://www.worthington-biochem.com/AA/default.html>.

VIII. ANEXOS

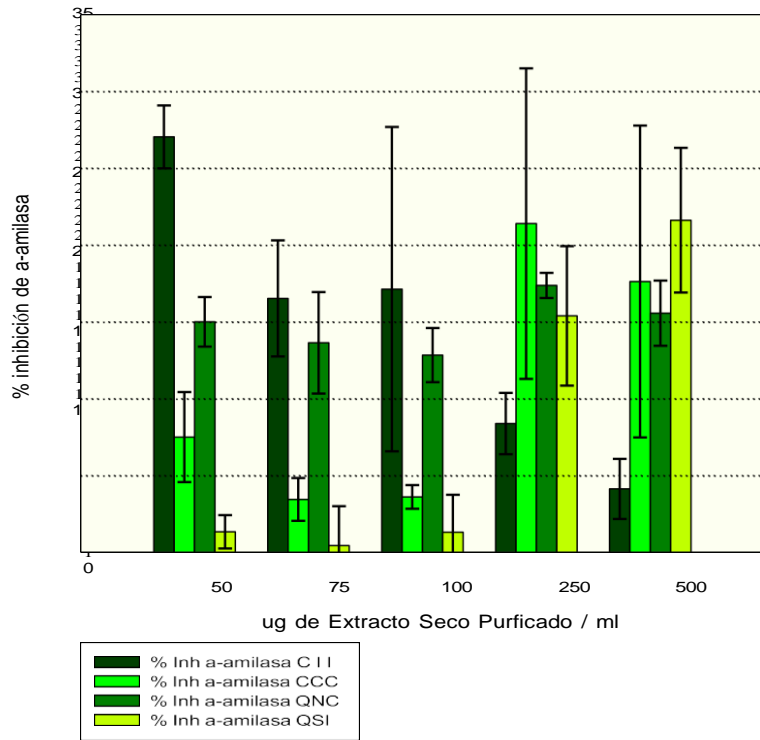
ANEXO 1. Graficas de tolerancia a la glucosa



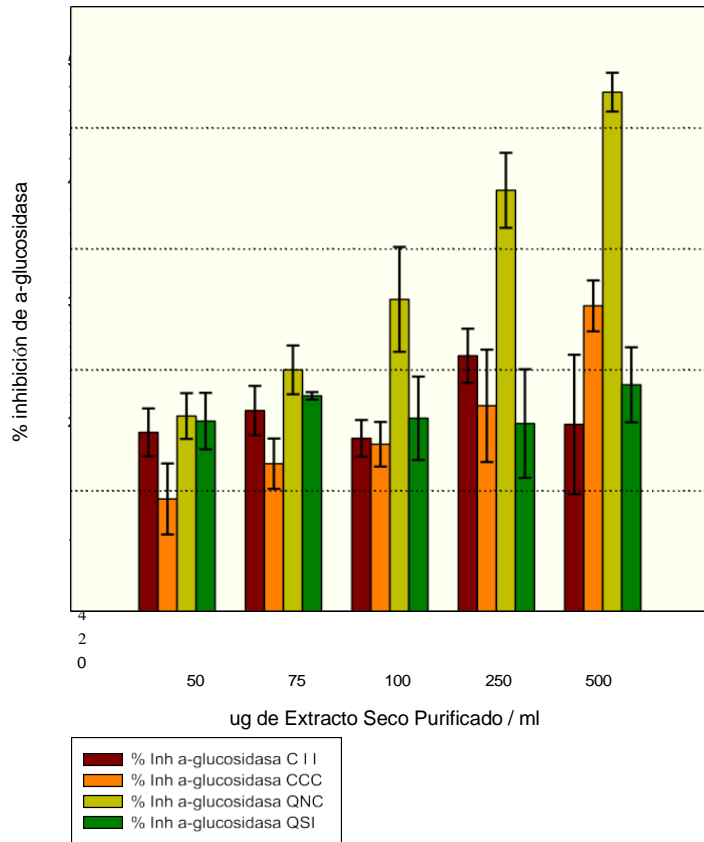
<<Continuación>>



ANEXO 2. Graficas de inhibición enzimática de α -amilasa y α -glucosidasa

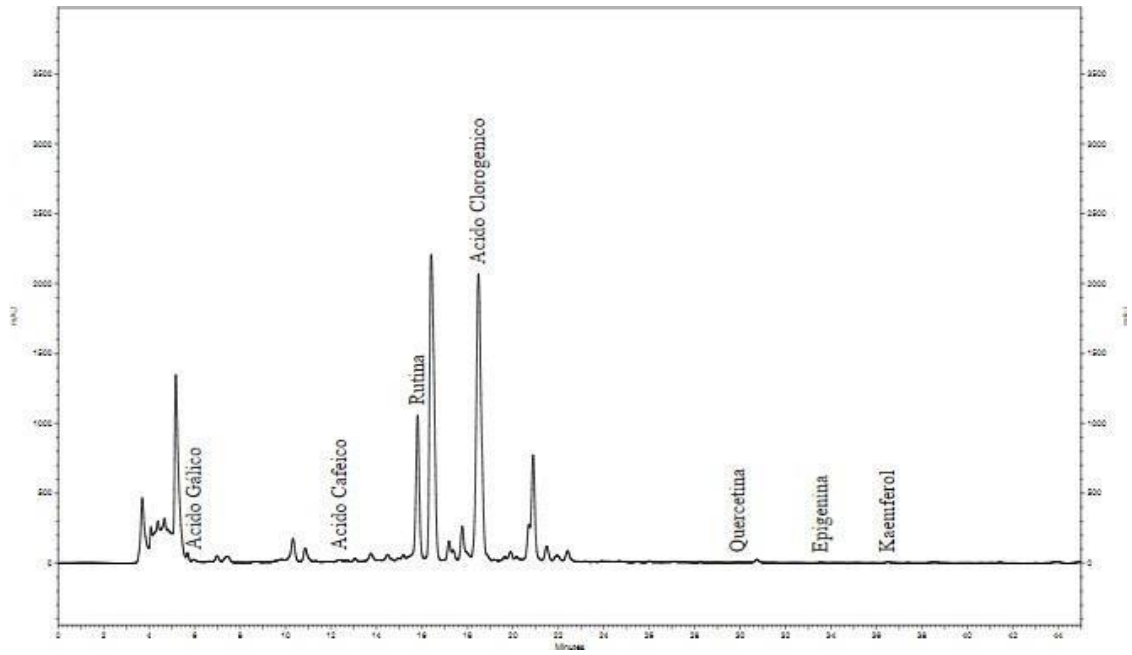


Porcentaje de inhibición de α -Amilasa

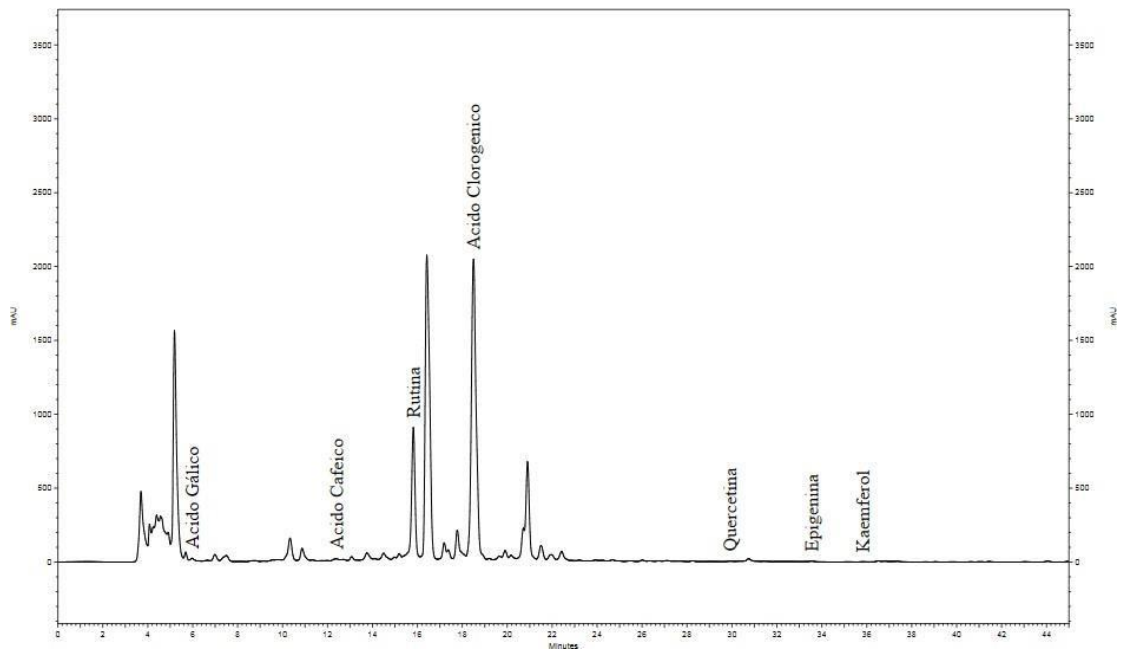


Porcentaje de inhibición de α -Glucosidasa

ANEXO 3. Cromatogramas de extractos

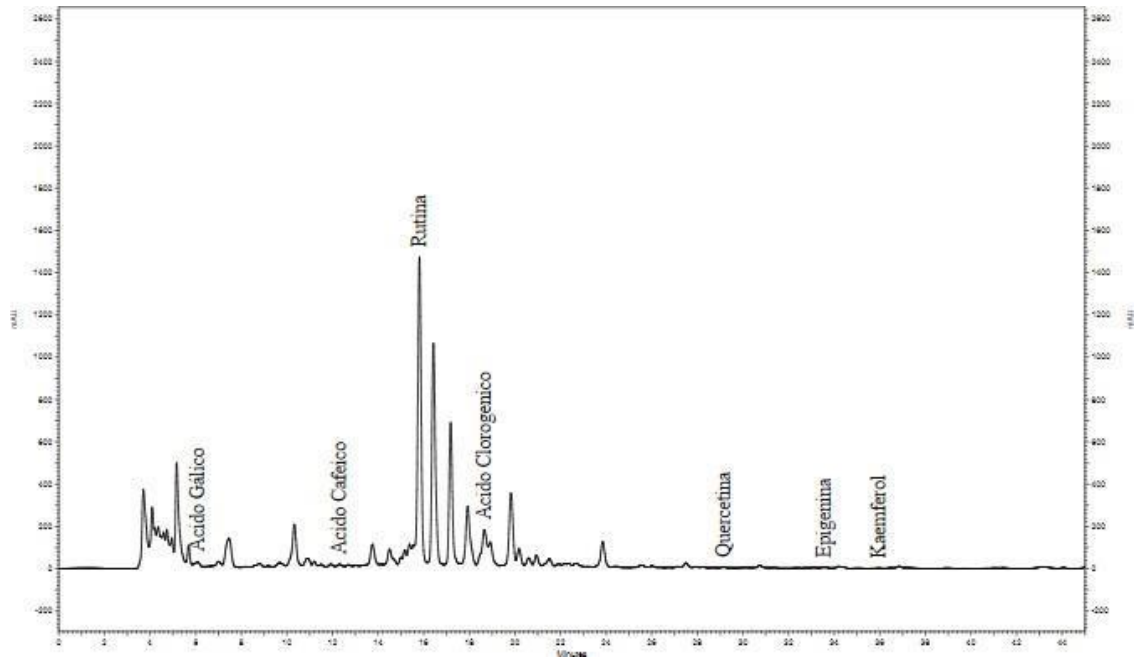


Cromatograma Cañihua ILLPA INIA.

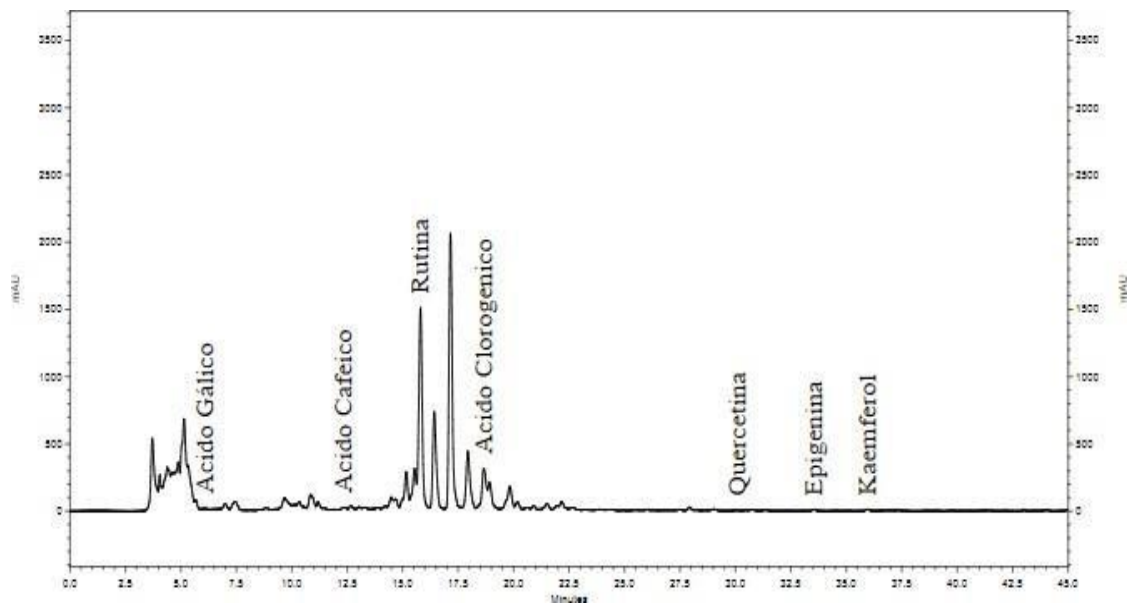


Cromatograma Cañihua Cupi.

<<Continuación>>



Cromatograma Quinoa Negra Collana



Cromatograma Quinoa Salcedo INIA

ANEXO 4. Análisis de varianza (ANVA)

Modelo lineal general: rendimiento vs. variedad

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
variedad	Fijo	4	CCC; CII; QNC; QSI

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
variedad	3	0.2597	0.08656	3.68	0.062
Error	8	0.1881	0.02352		
Total	11	0.4478			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)
0.153351	57.99%	42.24%	5.48%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	1.7775	0.0443	40.15	0.000	
variedad					
CCC	0.1792	0.0767	2.34	0.048	1.50
CII	0.0758	0.0767	0.99	0.352	1.50
QNC	-0.0375	0.0767	-0.49	0.638	1.50

Ecuación de regresión

rendimiento = 1.7775 + 0.1792 variedad _CCC + 0.0758 variedad _CII
- 0.0375 variedad _QNC
- 0.2175 variedad _QSI

Gráfica normal de residuos para rendimiento Histograma de residuos para

rendimiento Comparaciones para rendimiento

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = rendimiento, Término = vaiedad

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Variedad	N	Media	Agrupación
CCC	3	1.95667	A
CII	3	1.85333	A
QNC	3	1.74000	A
QSI	3	1.56000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey

Modelo lineal general: Polifenoles Totales vs. Extracto

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Extracto	Fijo	4	CCC; CII; QNC; QSI

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Extracto	3	3.24079	1.08026	694.76	0.000
Error	8	0.01244	0.00155		
Total	11	3.25323			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)
0.0394320	99.62%	99.47%	99.14%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	2.6729	0.0114	234.81	0.000	
Extracto					
CCC	0.3427	0.0197	17.38	0.000	1.50
CII	0.6535	0.0197	33.14	0.000	1.50
QNC	-0.3575	0.0197	-18.13	0.000	1.50

Ecuación de regresión

$$\text{Polifenoles Totales} = 2.6729 + 0.3427 \text{ Extracto_CCC} + 0.6535 \text{ Extracto_CII} - 0.3575 \text{ Extracto_QNC} - 0.6387 \text{ Extracto_QSI}$$

Modelo lineal general: Flavonoides Totales vs. Extracto

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Extracto	Fijo	4	CCC; CII; QNC; QSI

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Extracto	3	3.3132	1.10439	40.89	0.000
Error	8	0.2161	0.02701		
Total	11	3.5293			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)
0.164354	93.88%	91.58%	86.22%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	2.1508	0.0474	45.33	0.000	
Extracto					
CCC	0.2328	0.0822	2.83	0.022	1.50
CII	0.7239	0.0822	8.81	0.000	1.50
QNC	-0.2933	0.0822	-3.57	0.007	1.50

Ecuación de regresión

$$\text{Flavonoides Totales} = 2.1508 + 0.2328 \text{ Extracto_CCC} + 0.7239 \text{ Extracto_CII} - 0.2933 \text{ Extracto_QNC} - 0.6634 \text{ Extracto_QSI}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes	Flavonoides	Resid			
Obs	Totales	Ajuste	Resid	est.	R
4	2.7235	2.3836	0.3399	2.53	R

Residuo grande R

Modelo lineal general: Actividad antioxidante vs. Extracto

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Extracto	Fijo	4	CCC; CII; QNC; QSI

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Extracto	3	7.69158	2.56386	502.92	0.000
Error	8	0.04078	0.00510		
Total	11	7.73237			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)
0.0714000	99.47%	99.27%	98.81%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	1.2965	0.0206	62.90	0.000	
Extracto					
CCC	0.7615	0.0357	21.33	0.000	1.50
CII	0.7781	0.0357	21.80	0.000	1.50
QNC	-0.4588	0.0357	-12.85	0.000	1.50

Ecuación de regresión

$$\text{Actividad antioxidante} = 1.2965 + 0.7615 \text{ Extracto_CCC} + 0.7781 \text{ Extracto_CII} - 0.4588 \text{ Extracto_QNC} - 1.0807 \text{ Extracto_QSI}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco común	Capacidad	Resid		
Obs	Antioxidante	Ajuste	Resid	est.
4	2.2025	2.0580	0.1445	2.48 R

Residuo grande R

% Inb de α -Amilasa para Cañihua ILLPA INIA Modelo lineal general: % Inb α -Amilasa vs. [] de CII

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
[] de CII	Fijo	5	CII100; CII250; CII50; CII500; CII75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] de CII	4	938.9	234.73	8.53	0.003
Error	10	275.2	27.52		
Total	14	1214.1			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)	5.24610
		77.33%	68.27%	49.00%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	14.64	1.35	10.81	0.000	
[] de CII					
CII100	2.49	2.71	0.92	0.380	1.60
CII250	-6.26	2.71	-2.31	0.044	1.60
CII50	12.39	2.71	4.58	0.001	1.60
CII500	-10.51	2.71	-3.88	0.003	1.60

Ecuación de regresión

$$\begin{aligned} \% \text{ Inb } \alpha\text{-Amilasa} = & 14.64 + 2.49 [] \text{ de CII_CII100} - 6.26 [] \text{ de CII_CII250} \\ & + 12.39 [] \text{ de CII_CII50} - 10.51 [] \text{ de CII_CII500} \\ & + 1.89 [] \text{ de CII_CII75} \end{aligned}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco común

Obs	% Inb α -Amilasa	Ajuste	Resid	Resid est.
7	29.12	17.13	11.99	2.80 R

Residuo grande R

% Inb de α -Amilasa para Cañihua Cupi

Modelo lineal general: % Inb α -Amilasa vs. [] de CCC

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
[] de CCC	Fijo	5	CCC100; CCC250; CCC50; CCC500; CCC75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] de CCC	4	826.1	206.53	4.78	0.021
Error	10	432.4	43.24		
Total	14	1258.5			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)
6.57579	65.64%	51.90%	22.69%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	10.72	1.70	6.31	0.000	
[] de CCC					
CCC100	-7.11	3.40	-2.09	0.063	1.60
CCC250	10.68	3.40	3.14	0.010	1.60
CCC50	-3.21	3.40	-0.95	0.366	1.60
CCC500	6.91	3.40	2.03	0.069	1.60

Ecuación de regresión

$$\% \text{ Inb } \alpha\text{-Amilasa} = 10.72 - 7.11 [] \text{ de CCC_CCC100} + 10.68 [] \text{ de CCC_CCC250} \\ - 3.21 [] \text{ de CCC_CCC50} + 6.91 [] \text{ de CCC_CCC500} \\ - 7.27 [] \text{ de CCC_CCC75}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco común

Obs	% Inb α -Amilasa	Ajuste	Resid	Resid est.	R
10	9.87	21.39	-11.53	-2.15	R
13	6.03	17.62	-11.59	-2.16	R

Residuo grande R

Modelo lineal general: % Inb α -Amilasa vs. [] de QNC

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
[] de QNC	Fijo	5	QNC100; QNC250; QNC50; QNC500; QNC75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] de QNC	4	37.19	9.297	2.13	0.151
Error	10	43.55	4.355		
Total	14	80.74			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)
2.08684	46.06%	24.48%	0.00%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	14.882	0.539	27.62	0.000	
[] de QNC					
QNC100	-2.05	1.08	-1.90	0.087	1.60
QNC250	2.49	1.08	2.31	0.044	1.60
QNC50	0.12	1.08	0.11	0.913	1.60
QNC500	0.68	1.08	0.63	0.541	1.60

Ecuación de regresión

$$\begin{aligned} \% \text{ Inb } \alpha\text{-Amilasa} = & 14.882 - 2.05 [] \text{ de QNC_QNC100} + 2.49 [] \text{ de QNC_QNC250} \\ & + 0.12 [] \text{ de QNC_QNC50} + 0.68 [] \text{ de QNC_QNC500} \\ & - 1.24 [] \text{ de QNC_QNC75} \end{aligned}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	% Inb α -Amilasa	Ajuste	Resid	Resid est.
6	17.45	13.64	3.81	2.24 R

Residuo grande R

Modelo lineal general: % Inb α -Amilasa vs. [] de QSI

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
[] de QSI	Fijo	5	QSI100; QSI250; QSI50; QSI500; QSI75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] de QSI	4	1158.4	289.61	25.66	0.000
Error	10	112.9	11.29		
Total	14	1271.3			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)	3.35969
91.12%			87.57%	80.02%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	8.020	0.867	9.25	0.000	
[] de QSI					
QSI100	-6.71	1.73	-3.87	0.003	1.60
QSI250	7.37	1.73	4.25	0.002	1.60
QSI50	-6.68	1.73	-3.85	0.003	1.60
QSI500	13.60	1.73	7.84	0.000	1.60

Ecuación de regresión

$$\begin{aligned} \% \text{ Inb } \alpha\text{-Amilasa} = & 8.020 - 6.71 [] \text{ de QSI_QSI100} + 7.37 [] \text{ de QSI_QSI250} \\ & - 6.68 [] \text{ de QSI_QSI50} + 13.60 [] \text{ de QSI_QSI500} \\ & - 7.57 [] \text{ de QSI_QSI75} \end{aligned}$$

Modelo lineal general: % Inb α -Amilasa vs. [] de ESP

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
[] de ESP	Fijo	4	CCC250; CII50; QNC250; QSI500

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] de ESP	3	141.7	47.24	1.46	0.296
Error	8	258.3	32.29		
Total	11	400.0			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)	5.68220
		35.43%	11.21%	0.00%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	21.85	1.64	13.32	0.000	
[] de ESP					
CCC250	-0.46	2.84	-0.16	0.875	1.50
CII50	5.18	2.84	1.82	0.106	1.50
QNC250	-4.48	2.84	-1.58	0.153	1.50

Ecuación de regresión

$$\% \text{ Inb } \alpha\text{-Amilasa} = 21.85 - 0.46 [\] \text{ de ESP_CCC250} + 5.18 [\] \text{ de ESP_CII50} - 4.48 [\] \text{ de ESP_QNC250} - 0.24 [\] \text{ de ESP_QSI500}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	% Inb α -Amilasa	Ajuste	Resid	Resid est.	R
7	9.87	21.39	-11.53	-2.48	R

Residuo grande R

Modelo lineal general: % inb de α -Glucosidasa vs. [] CII

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor Tipo Niveles Valores
 [] CII Fijo 5 CII100; CII250; CII50; CII500; CII75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] CII	4	90.67	22.668	2.33	0.126
Error	10	97.14	9.714		
Total	14	187.81			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad. S R-cuad (ajustado) (pred)
 3.11666 48.28% 27.59% 0.00%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	16.455	0.805	20.45	0.000	
[] CII					
CII100	-2.15	1.61	-1.34	0.211	1.60
CII250	4.67	1.61	2.90	0.016	1.60
CII50	-1.66	1.61	-1.03	0.326	1.60
CII500	-1.00	1.61	-0.62	0.549	1.60

Ecuación de regresión

% inb de α -Glucosidasa = 16.455 - 2.15 [] CII_CII100 + 4.67 [] CII_CII250
 - 1.66 [] CII_CII50 - 1.00 [] CII_CII500
 + 0.14 [] CII_CII75

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	% inb de α -Glucosidasa	Ajuste	Resid	Resid est.	R
14	21.98	15.46	6.52	2.56	R

Residuo grande R

Modelo lineal general: % inb de α -Glucosidasa vs. [] CCC

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor Tipo Niveles Valores
 [] CCC Fijo 5 CCC100; CCC250; CCC50; CCC500; CCC75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] CCC	4	448.94	112.236	13.25	0.001
Error	10	84.69	8.469		
Total	14	533.63			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad. S R-cuad (ajustado) (pred)
 2.91013 84.13% 77.78% 64.29%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	15.510	0.751	20.64	0.000	
[] CCC					
CCC100	-1.70	1.50	-1.13	0.285	1.60
CCC250	1.48	1.50	0.99	0.347	1.60
CCC50	-6.22	1.50	-4.14	0.002	1.60
CCC500	9.74	1.50	6.48	0.000	1.60

Ecuación de regresión

% inb de α -Glucosidasa = 15.510 - 1.70 [] CCC_CCC100 + 1.48 [] CCC_CCC250
 - 6.22 [] CCC_CCC50 + 9.74 [] CCC_CCC500
 - 3.31 [] CCC_CCC75

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	% inb de α -Glucosidasa	Ajuste	Resid	Resid est.
10	22.36	16.99	5.36	2.26 R

Residuo grande R

Modelo lineal general: % inb de α -Glucosidasa vs. [] QNC

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor Tipo Niveles Valores
 [] QNC Fijo 5 QNC100; QNC250; QNC50; QNC500; QNC75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] QNC	4	1436.69	359.173	46.50	0.000
Error	10	77.24	7.724		
Total	14	1513.93			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad. S R-cuad (ajustado) (pred)
 2.77915 94.90% 92.86% 88.52%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	27.922	0.718	38.91	0.000	
[] QNC					
QNC100	-2.14	1.44	-1.49	0.167	1.60
QNC250	6.88	1.44	4.79	0.001	1.60
QNC50	-11.78	1.44	-8.21	0.000	1.60
QNC500	15.00	1.44	10.45	0.000	1.60

Ecuación de regresión

% inb de α -Glucosidasa = 27.922 - 2.14 [] QNC_QNC100 + 6.88 [] QNC_QNC250
 - 11.78 [] QNC_QNC50 + 15.00 [] QNC_QNC500
 - 7.96 [] QNC_QNC75

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

% inb de Resid Obs α -Glucosidasa Ajuste Resid est.
 8 30.77 25.79 4.98 2.20 R
 Residuo grande R

Modelo lineal general: % inb de α -Glucosidasa vs. [] QSI

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor Tipo Niveles Valores
 [] QSI Fijo 5 QSI100; QSI250; QSI50; QSI500; QSI75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] QSI	4	24.57	6.143	0.65	0.639
Error	10	94.33	9.433		
Total	14	118.90			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad. S R-cuad (ajustado) (pred) 3.07128
 20.67% 0.00% 0.00%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	16.750	0.793	21.12	0.000	
[] QSI					
QSI100	-0.79	1.59	-0.50	0.630	1.60
QSI250	-1.23	1.59	-0.77	0.458	1.60
QSI50	-1.02	1.59	-0.64	0.534	1.60
QSI500	1.97	1.59	1.24	0.242	1.60

Ecuación de regresión

% inb de α -Glucosidasa = 16.750 - 0.79 [] QSI_QSI100 - 1.23 [] QSI_QSI250
 - 1.02 [] QSI_QSI50 + 1.97 [] QSI_QSI500
 + 1.06 [] QSI_QSI75

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	α -Glucosidasa	Ajuste	Resid	Resid est.	R
10	20.66	15.52	5.13	2.05	R

Residuo grande R

Modelo lineal general: % inb de α -Glucosidasa vs. [] QSI

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor Tipo Niveles Valores
 [] QSI Fijo 5 QSI100; QSI250; QSI50; QSI500; QSI75

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] QSI	4	24.57	6.143	0.65	0.639
Error	10	94.33	9.433		
Total	14	118.90			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad. S R-cuad (ajustado) (pred) 3.07128
 20.67% 0.00% 0.00%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	16.750	0.793	21.12	0.000	
[] QSI					
QSI100	-0.79	1.59	-0.50	0.630	1.60
QSI250	-1.23	1.59	-0.77	0.458	1.60
QSI50	-1.02	1.59	-0.64	0.534	1.60
QSI500	1.97	1.59	1.24	0.242	1.60

Ecuación de regresión

% inb de α -Glucosidasa = 16.750 - 0.79 [] QSI_QSI100 - 1.23 [] QSI_QSI250
 - 1.02 [] QSI_QSI50 + 1.97 [] QSI_QSI500
 + 1.06 [] QSI_QSI75

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	% inb de α -Glucosidasa	Ajuste	Resid	Resid est.
10	20.66	15.52	5.13	2.05 R

Residuo grande R

Modelo lineal general: % inb de α -Glucosidasa vs. [] ESP

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor Tipo Niveles Valores
 [] ESP Fijo 4 CCC500; CII250; QNC500; QSI500

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
[] ESP	3	1078.52	359.506	66.46	0.000
Error	8	43.27	5.409		
Total	11	1121.79			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad. S R-cuad (ajustado) (pred)
 2.32577 96.14% 94.70% 91.32%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	27.006	0.671	40.22	0.000	
[] ESP					
CCC500	-1.75	1.16	-1.51	0.170	1.50
CII250	-5.88	1.16	-5.06	0.001	1.50
QNC500	15.91	1.16	13.69	0.000	1.50

Ecuación de regresión

% inb de α -Glucosidasa = 27.006 - 1.75 [] ESP_CCC500 - 5.88 [] ESP_CII250 + 15.91 [] ESP_QNC500 - 8.28 [] ESP_QSI500

Modelo lineal general: Acido Gálico vs. Extracto

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Extracto	Fijo	4	CCC; CII; QNC; QSI

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Extracto	3	21.9163	7.30543	1458.66	0.000
Error	8	0.0401	0.00501		
Total	11	21.9564			

Resumen del modelo

R-cuad.	R-cuad. S	R-cuad (ajustado)	(pred)
0.0707696	99.82%	99.75%	99.59%

Coefficientes

Término	Constante	EE del	Valor T	Valor p	VIF
CCC	5.5017	0.0204	269.30	0.000	
CII	-0.2683	0.0354	-7.58	0.000	1.50
QNC	2.2817	0.0354	64.48	0.000	1.50
QSI	-1.0250	0.0354	-28.97	0.000	1.50

Acido Galico = 5.5017 - 0.2683 Extracto_CCC + 2.2817 Extracto_CII
 - 1.0250 Extracto_QNC - 0.9883 Extracto_QSI

Modelo lineal general: Rutina vs. Extracto

Método Codificación de factores (-1; 0; +1) Información del factor

Factor Tipo Niveles Valores
 Extracto Fijo 4 CCC; CII; QNC; QSI

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Extracto	3	39.6523	13.2174	8620.07	0.000
Error	8	0.0123	0.0015		
Total	11	39.6646			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad. S R-cuad (ajustado) (pred)
 0.0391578 99.97% 99.96% 99.93%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	32.2483	0.0113	2852.85	0.000	
Extracto					
CCC	0.5283	0.0196	26.98	0.000	1.50
CII	0.9050	0.0196	46.22	0.000	1.50
QNC	-3.0717	0.0196	-156.89	0.000	1.50

Ecuación de regresión

Rutina = 32.2483 + 0.5283 Extracto_CCC + 0.9050 Extracto_CII
 - 3.0717 Extracto_QNC + 1.6383 Extracto_QSI

Modelo lineal general: Acido Clorogénico vs. Extracto

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor Tipo Niveles Valores
 Extracto Fijo 4 CCC; CII; QNC; QSI

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Extracto	3	9887.91	3295.97	3662189.25	0.000
Error	8	0.01	0.00		
Total	11	9887.92			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad. S R-cuad (ajustado) (pred)
 0.03 100.00% 100.00% 100.00%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF	Constante
Extracto CCC	44.9717	0.0087	5192.88	0.000		
Extracto_QNC	26.5617	0.0150	1770.78	0.000	1.50	
Extracto_CII	30.6950	0.0150	2046.33	0.000	1.50	
Extracto_QSI	-26.4950	0.0150	-1766.33	0.000	1.50	

Acido Clorogenico = 44.9717 + 26.5617 Extracto_CCC + 30.6950 Extracto_CII - 26.4950 Extracto_QNC - 30.7617 Extracto_QSI

Modelo lineal general: Diferencia de Glucosa vs. GRUPO

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
GRUPO	Fijo	4	CD; CD+M; IE1-CII; IE2-CCC

Análisis de Varianza

SC					
Fuente	GL	Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
GRUPO	3	1440	480.1	4.07	0.025
Error	16	1887	117.9		
Total	19	3327			

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad.
 S R-cuad (ajustado) (pred) 10.8599 43.28% 32.65% 11.38%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	-10.73	2.43	-4.42	0.000	
GRUPO					
CD	13.93	4.21	3.31	0.004	1.50
CD+M	-2.88	4.21	-0.68	0.503	1.50
IE1-CII	-9.03	4.21	-2.15	0.047	1.50

Ecuación de regresión

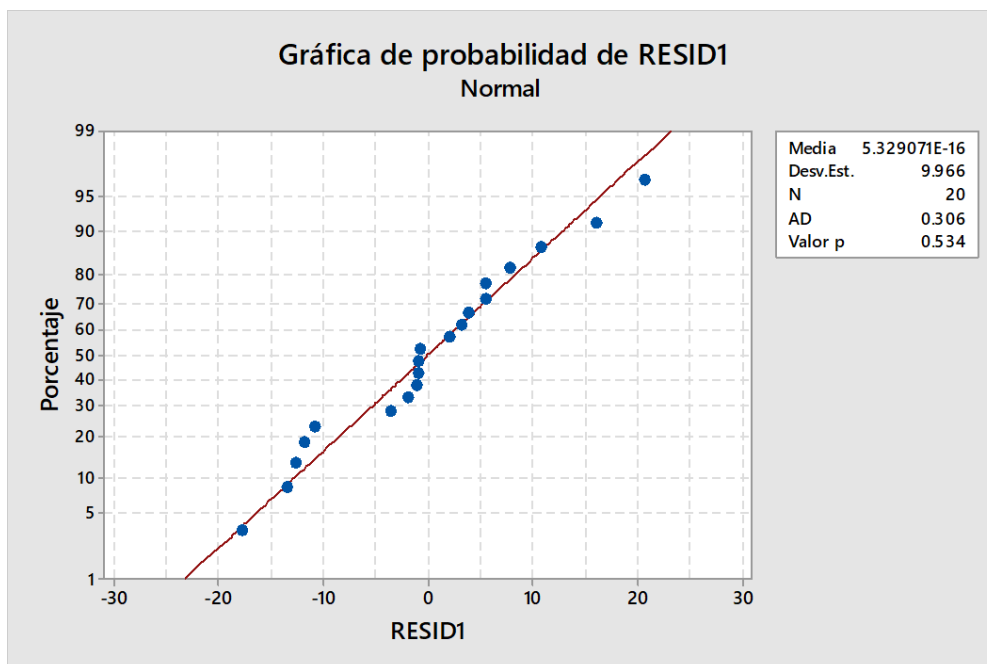
$$\begin{aligned} \text{Diferencia de Glucosa} = & -10.73 + 13.93 \text{ GRUPO_CD} - 2.88 \text{ GRUPO_CD+M} \\ & - 9.03 \text{ GRUPO_IE1-CII} \\ & - 2.02 \text{ GRUPO_IE2-CCC} \end{aligned}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	Diferencia de Glucosa	Ajuste	Resid	Resid est.
13	1.01	-19.76	20.77	2.14 R

Residuo grande R

Gráfica de probabilidad de RESID1



ANEXO 5. Comparaciones por parejas de tukey y dunnett

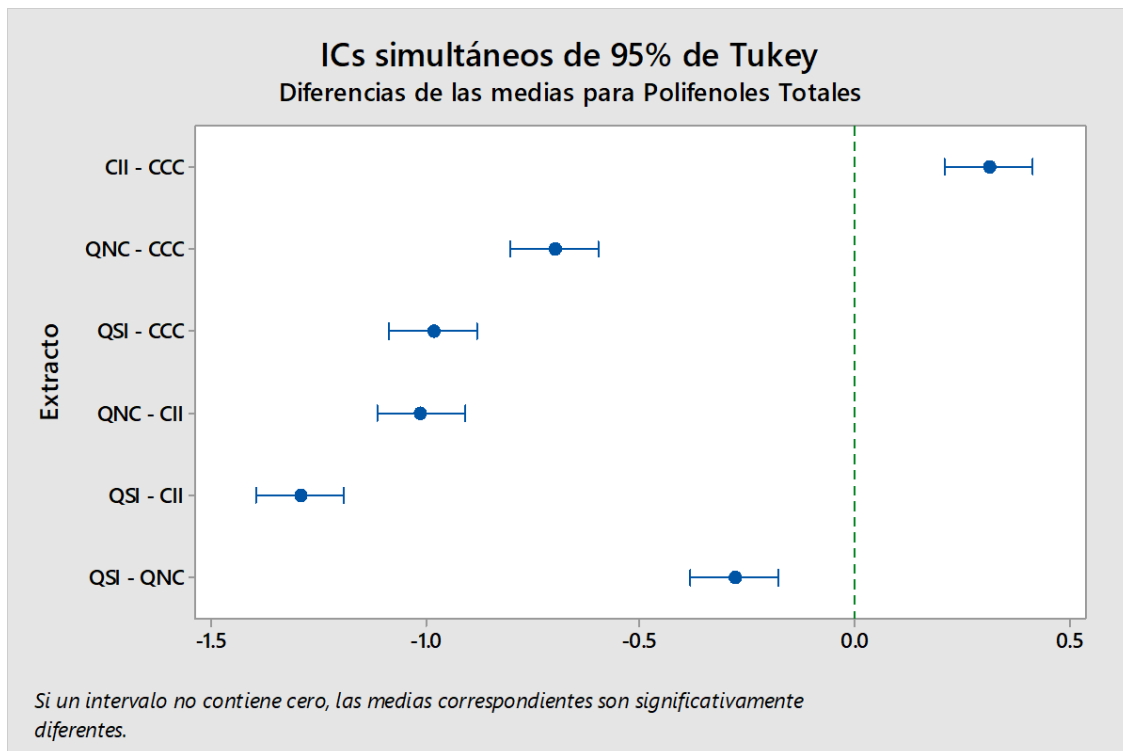
Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = Polifenoles Totales, Término = Extracto

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Extracto	N	Media	Agrupación
CII	3	3.32639	A
CCC	3	3.01562	B
QNC	3	2.31545	C
QSI	3	2.03416	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para Flavonoides Totales

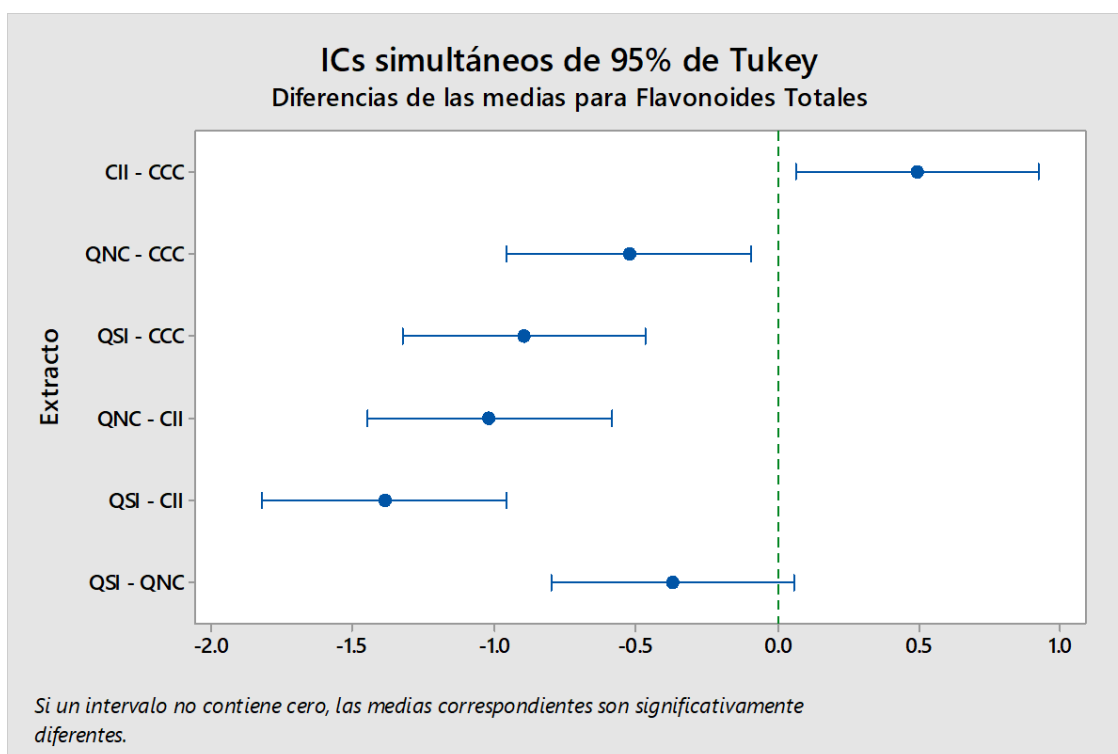
Por parejas de Tukey: Respuesta = Flavonoides Totales, Término = Extracto

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Extracto	N	Media	Agrupación
CII	3	2.87477	A
CCC	3	2.38361	B
QNC	3	1.85754	C
QSI	3	1.48743	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para Actividad antioxidante

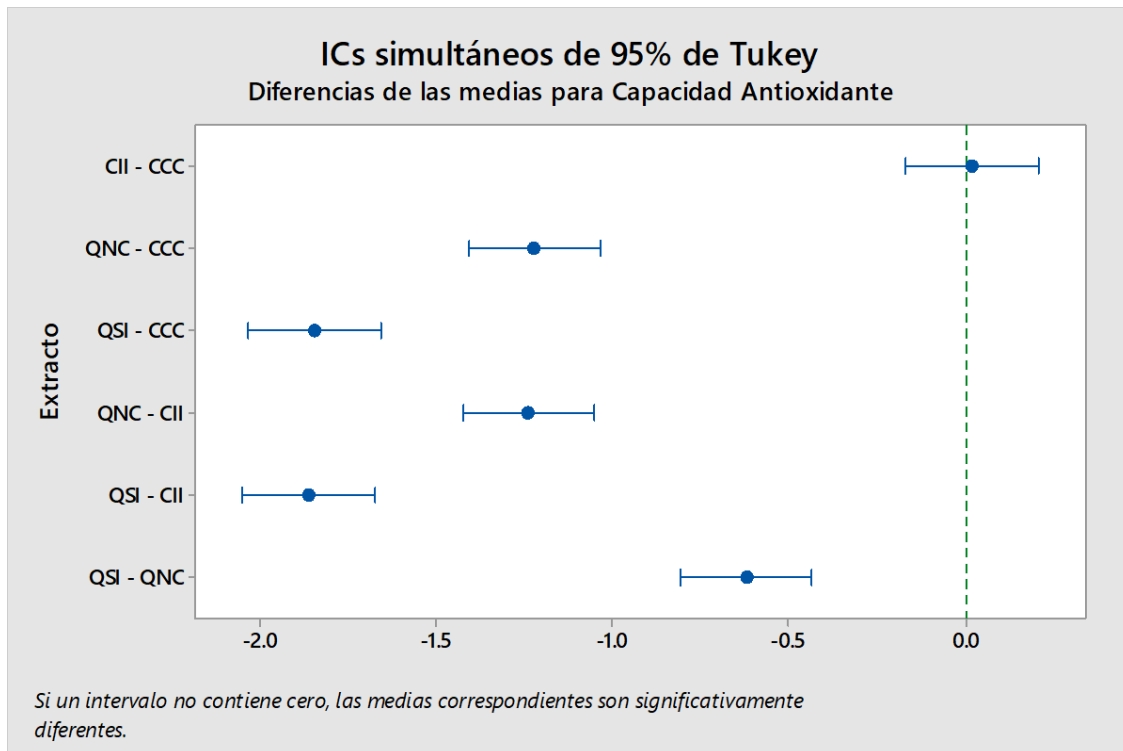
Parejas de Tukey: Respuesta = Actividad antioxidante, Término = Extracto

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Extracto	N	Media	Agrupación
CII	3	2.07465	A
CCC	3	2.05799	A
QNC	3	0.83768	B
QSI	3	0.21577	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para % inb de α -Amilasa

Parejas de Tukey: Respuesta = % inb de α -Amilasa, Término = [] de CII

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] de CII	N	Media	Agrupación
CII50	3	27.0357	A
CII100	3	17.1280	A B
CII75	3	16.5263	A B
CII250	3	8.3835	B
CII500	3	4.1316	B

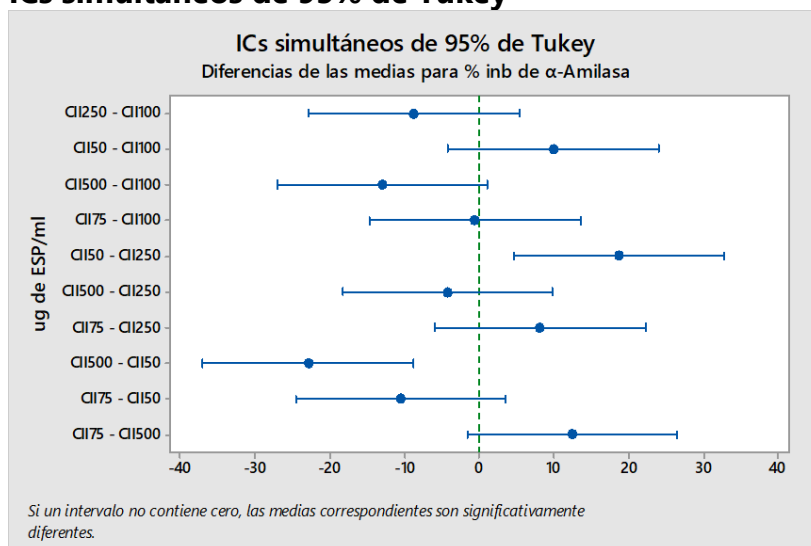
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] de CII niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
CII250 - CII100	-8.74	4.28	(-22.83; 5.34)	-2.04	0.314
CII50 - CII100	9.91	4.28	(-4.18; 23.99)	2.31	0.218
CII500 - CII100	-13.00	4.28	(-27.08; 1.09)	-3.03	0.074
CII75 - CII100	-0.60	4.28	(-14.69; 13.48)	-0.14	1.000
CII50 - CII250	18.65	4.28	(4.57; 32.74)	4.35	0.010
CII500 - CII250	-4.25	4.28	(-18.34; 9.83)	-0.99	0.853
CII75 - CII250	8.14	4.28	(-5.94; 22.23)	1.90	0.375
CII500 - CII50	-22.90	4.28	(-36.99; -8.82)	-5.35	0.002
CII75 - CII50	-10.51	4.28	(-24.59; 3.57)	-2.45	0.178
CII75 - CII500	12.39	4.28	(-1.69; 26.48)	2.89	0.092

Nivel de confianza individual = 99.18%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para % Inb α -Amilasa

Parejas de Tukey: Respuesta = % Inb α -Amilasa, Término = [] de CCC

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] de CCC	N	Media	Agrupación
CCC250	3	21.3921	A
CCC500	3	17.6245	A B
CCC50	3	7.5032	A B
CCC100	3	3.6079	B
CCC75	3	3.4483	B

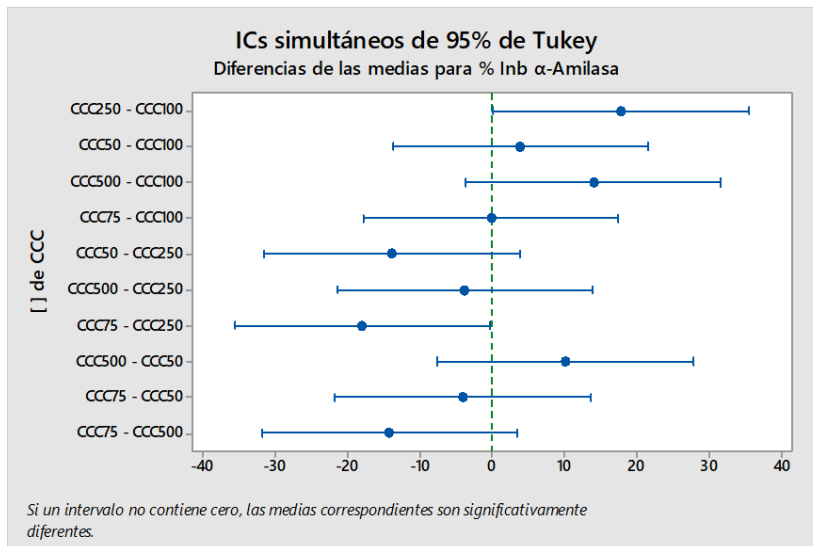
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] de CCC niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
CCC250 - CCC100	17.78	5.37	(0.13; 35.44)	3.31	0.048
CCC50 - CCC100	3.90	5.37	(-13.76; 21.55)	0.73	0.946
CCC500 - CCC100	14.02	5.37	(-3.64; 31.67)	2.61	0.141
CCC75 - CCC100	-0.16	5.37	(-17.81; 17.49)	-0.03	1.000
CCC50 - CCC250	-13.89	5.37	(-31.54; 3.77)	-2.59	0.147
CCC500 - CCC250	-3.77	5.37	(-21.42; 13.89)	-0.70	0.951
CCC75 - CCC250	-17.94	5.37	(-35.60; -0.29)	-3.34	0.046
CCC500 - CCC50	10.12	5.37	(-7.53; 27.78)	1.89	0.383
CCC75 - CCC50	-4.05	5.37	(-21.71; 13.60)	-0.76	0.938
CCC75 - CCC500	-14.18	5.37	(-31.83; 3.48)	-2.64	0.135

Nivel de confianza individual = 99.18%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para % Inb α -Amilasa

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = % Inb α -Amilasa, Término = [] de QNC

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] de QNC	N	Media	Agrupación
QNC250	3	17.3686	A
QNC500	3	15.5636	A
QNC50	3	15.0020	A
QNC75	3	13.6382	A
QNC100	3	12.8359	A

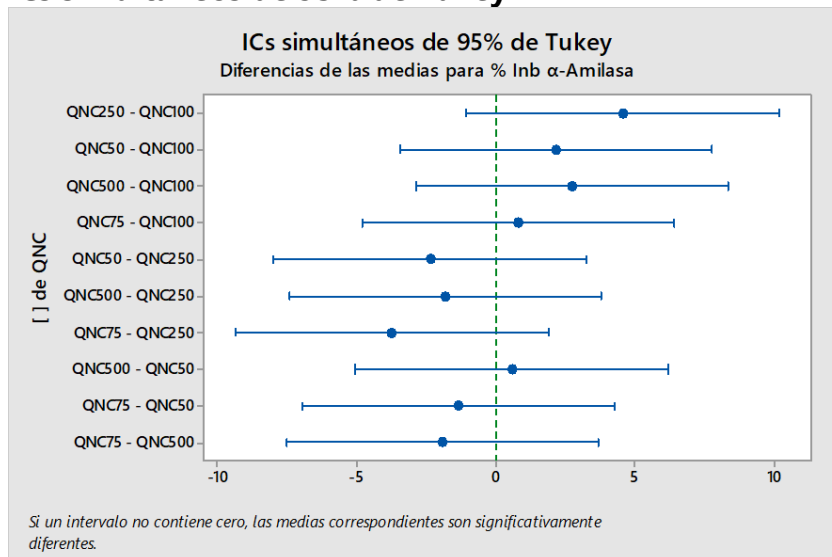
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] de QNC niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
QNC250 - QNC100	4.53	1.70	(-1.07; 10.14)	2.66	0.131
QNC50 - QNC100	2.17	1.70	(-3.44; 7.77)	1.27	0.713
QNC500 - QNC100	2.73	1.70	(-2.87; 8.33)	1.60	0.528
QNC75 - QNC100	0.80	1.70	(-4.80; 6.40)	0.47	0.988
QNC50 - QNC250	-2.37	1.70	(-7.97; 3.24)	-1.39	0.647
QNC500 - QNC250	-1.81	1.70	(-7.41; 3.80)	-1.06	0.823
QNC75 - QNC250	-3.73	1.70	(-9.33; 1.87)	-2.19	0.258
QNC500 - QNC50	0.56	1.70	(-5.04; 6.16)	0.33	0.997
QNC75 - QNC50	-1.36	1.70	(-6.97; 4.24)	-0.80	0.925
QNC75 - QNC500	-1.93	1.70	(-7.53; 3.68)	-1.13	0.788

Nivel de confianza individual = 99.18%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para % Inb α -Amilasa

Parejas de Tukey: Respuesta = % Inb α -Amilasa, Término = [] de QSI

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] de QSI	N	Media	Agrupación
QSI500	3	21.6156	A
QSI250	3	15.3895	A
QSI50	3	1.3410	B
QSI100	3	1.3091	B
QSI75	3	0.4470	B

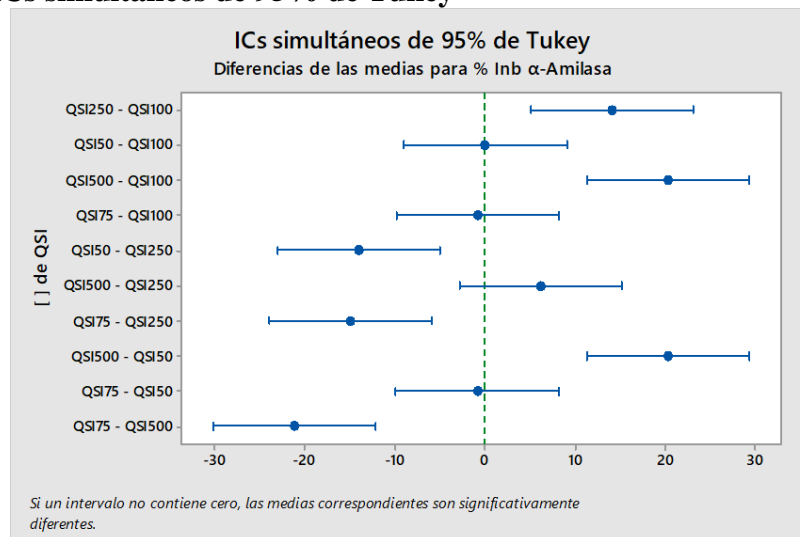
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] de QSI niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
QSI250 - QSI100	14.08	2.74	(5.06; 23.10)	5.13	0.003
QSI50 - QSI100	0.03	2.74	(-8.99; 9.05)	0.01	1.000
QSI500 - QSI100	20.31	2.74	(11.29; 29.33)	7.40	0.000
QSI75 - QSI100	-0.86	2.74	(-9.88; 8.16)	-0.31	0.998
QSI50 - QSI250	-14.05	2.74	(-23.07; -5.03)	-5.12	0.003
QSI500 - QSI250	6.23	2.74	(-2.79; 15.25)	2.27	0.231
QSI75 - QSI250	-14.94	2.74	(-23.96; -5.92)	-5.45	0.002
QSI500 - QSI50	20.27	2.74	(11.25; 29.29)	7.39	0.000
QSI75 - QSI50	-0.89	2.74	(-9.91; 8.13)	-0.33	0.997
QSI75 - QSI500	-21.17	2.74	(-30.19; -12.15)	-7.72	0.000

Nivel de confianza individual = 99.18%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para % Inb α -Amilasa

Parejas de Tukey: Respuesta = % Inb α -Amilasa, Término = [] de ESP

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] de ESP	N	Media	Agrupación
CII50	3	27.0357	A
QSI500	3	21.6156	A
CCC250	3	21.3921	A
QNC250	3	17.3686	A

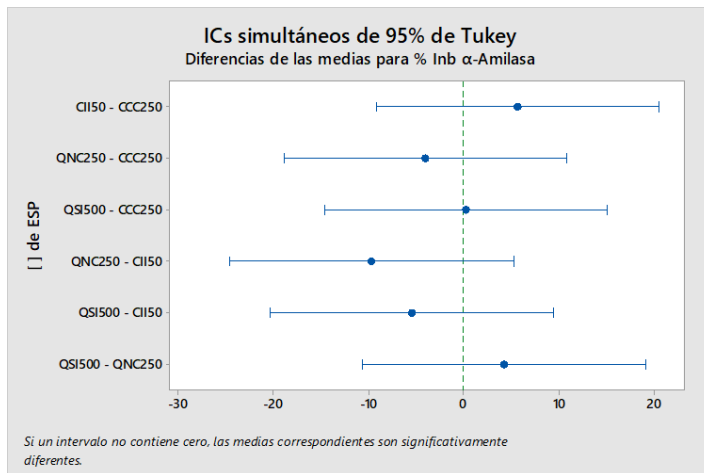
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] de ESP niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
CII50 - CCC250	5.64	4.64	(-9.22; 20.50)	1.22	0.634
QNC250 - CCC250	-4.02	4.64	(-18.88; 10.84)	-0.87	0.821
QSI500 - CCC250	0.22	4.64	(-14.64; 15.08)	0.05	1.000
QNC250 - CII50	-9.67	4.64	(-24.53; 5.19)	-2.08	0.237
QSI500 - CII50	-5.42	4.64	(-20.28; 9.44)	-1.17	0.661
QSI500 - QNC250	4.25	4.64	(-10.61; 19.11)	0.92	0.798

Nivel de confianza individual = 98.74%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para % inb de α -Glucosidasa

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = % inb de α -Glucosidasa, Término = [] CII

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] CII	N	Media	Agrupación
CII250	3	21.1253	A
CII75	3	16.5978	A
CII500	3	15.4562	A
CII50	3	14.7940	A
CII100	3	14.3021	A

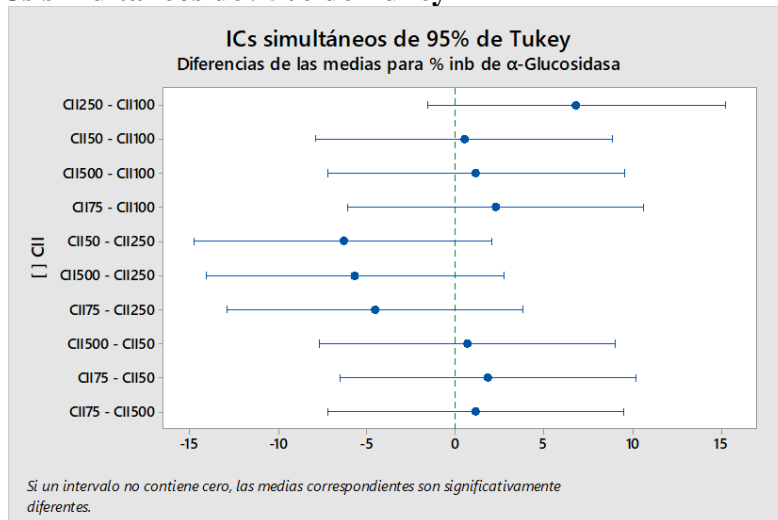
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] CII niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T ajustado	Valor p
CII250 - CII100	6.82	2.54	(-1.54; 15.19)	2.68	0.127
CII50 - CII100	0.49	2.54	(-7.88; 8.86)	0.19	1.000
CII500 - CII100	1.15	2.54	(-7.21; 9.52)	0.45	0.990
CII75 - CII100	2.30	2.54	(-6.07; 10.66)	0.90	0.890
CII50 - CII250	-6.33	2.54	(-14.70; 2.04)	-2.49	0.169
CII500 - CII250	-5.67	2.54	(-14.04; 2.70)	-2.23	0.245
CII75 - CII250	-4.53	2.54	(-12.89; 3.84)	-1.78	0.434
CII500 - CII50	0.66	2.54	(-7.71; 9.03)	0.26	0.999
CII75 - CII50	1.80	2.54	(-6.56; 10.17)	0.71	0.950
CII75 - CII500	1.14	2.54	(-7.23; 9.51)	0.45	0.990

Nivel de confianza individual = 99.18%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = % inb de α -Glucosidasa, Término = [] CCC

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] CCC	N	Media	Agrupación
CCC500	3	25.2538	A
CCC250	3	16.9930	B
CCC100	3	13.8117	B
CCC75	3	12.2038	B
CCC50	3	9.2898	B

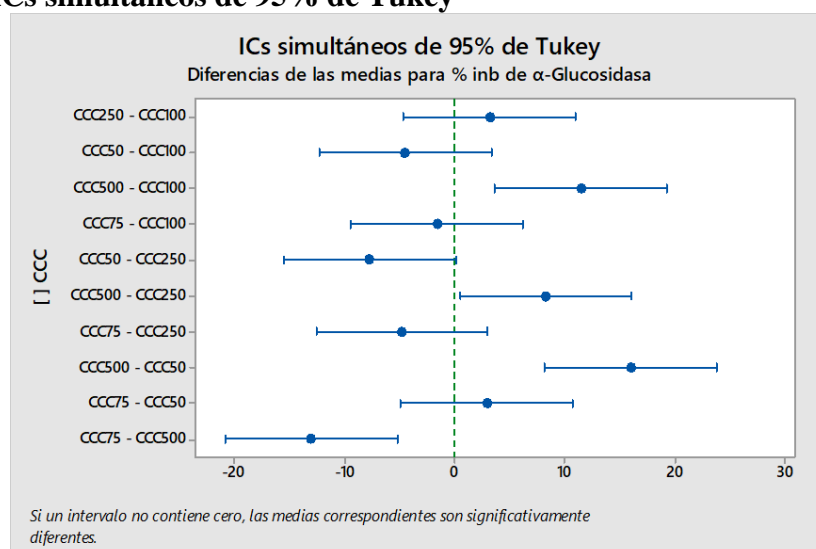
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] CCC niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
CCC250 - CCC100	3.18	2.38	(-4.63; 10.99)	1.34	0.676
CCC50 - CCC100	-4.52	2.38	(-12.33; 3.29)	-1.90	0.375
CCC500 - CCC100	11.44	2.38	(3.63; 19.25)	4.82	0.005
CCC75 - CCC100	-1.61	2.38	(-9.42; 6.20)	-0.68	0.957
CCC50 - CCC250	-7.70	2.38	(-15.52; 0.11)	-3.24	0.054
CCC500 - CCC250	8.26	2.38	(0.45; 16.07)	3.48	0.037
CCC75 - CCC250	-4.79	2.38	(-12.60; 3.02)	-2.02	0.325
CCC500 - CCC50	15.96	2.38	(8.15; 23.78)	6.72	0.000
CCC75 - CCC50	2.91	2.38	(-4.90; 10.73)	1.23	0.738
CCC75 - CCC500	-13.05	2.38	(-20.86; -5.24)	-5.49	0.002

Nivel de confianza individual = 99.18%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = % inb de α -Glucosidasa, Término = [] QNC

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] QNC	N	Media	Agrupación
QNC500	3	42.9199	A
QNC250	3	34.8004	B
QNC100	3	25.7854	C
QNC75	3	19.9618	C D
QNC50	3	16.1441	D

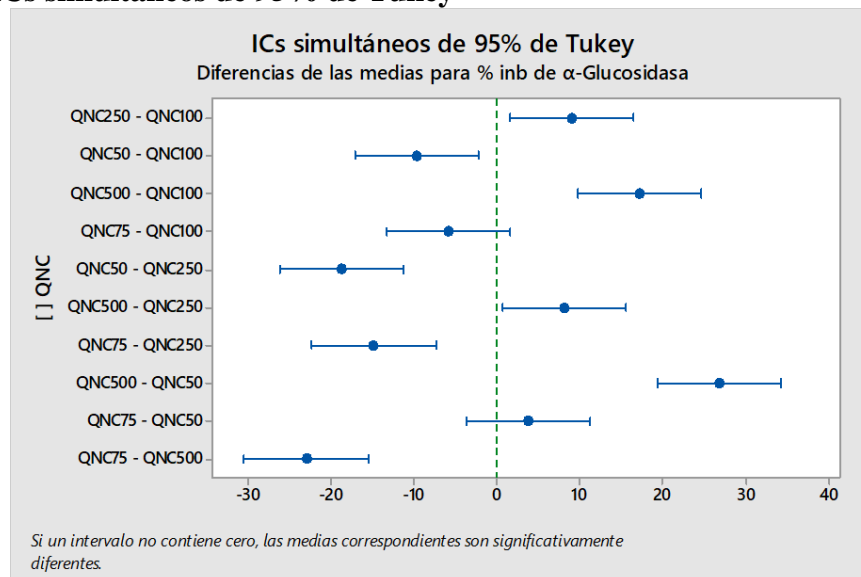
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] QNC niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
QNC250 - QNC100	9.02	2.27	(1.55; 16.48)	3.97	0.017
QNC50 - QNC100	-9.64	2.27	(-17.10; -2.18)	-4.25	0.011
QNC500 - QNC100	17.13	2.27	(9.67; 24.60)	7.55	0.000
QNC75 - QNC100	-5.82	2.27	(-13.28; 1.64)	-2.57	0.151
QNC50 - QNC250	-18.66	2.27	(-26.12; -11.20)	-8.22	0.000
QNC500 - QNC250	8.12	2.27	(0.66; 15.58)	3.58	0.032
QNC75 - QNC250	-14.84	2.27	(-22.30; -7.38)	-6.54	0.000
QNC500 - QNC50	26.78	2.27	(19.31; 34.24)	11.80	0.000
QNC75 - QNC50	3.82	2.27	(-3.64; 11.28)	1.68	0.484
QNC75 - QNC500	-22.96	2.27	(-30.42; -15.50)	-10.12	0.000

Nivel de confianza individual = 99.18%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = % inb de α -Glucosidasa, Término = [] QSI

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] QSI	N	Media	Agrupación
QSI500	3	18.7234	A
QSI75	3	17.8123	A
QSI100	3	15.9613	A
QSI50	3	15.7281	A
QSI250	3	15.5244	A

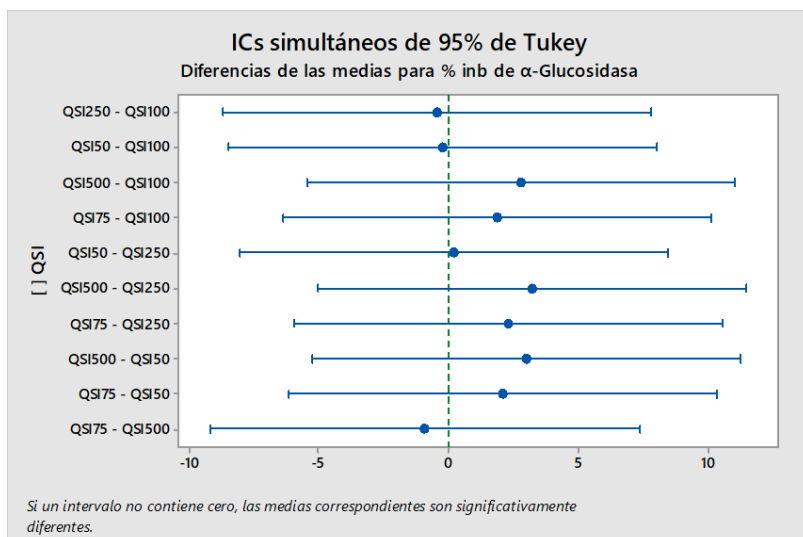
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] QSI niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
QSI250 - QSI100	-0.44	2.51	(-8.68; 7.81)	-0.17	1.000
QSI50 - QSI100	-0.23	2.51	(-8.48; 8.01)	-0.09	1.000
QSI500 - QSI100	2.76	2.51	(-5.48; 11.01)	1.10	0.802
QSI75 - QSI100	1.85	2.51	(-6.39; 10.10)	0.74	0.942
QSI50 - QSI250	0.20	2.51	(-8.04; 8.45)	0.08	1.000
QSI500 - QSI250	3.20	2.51	(-5.05; 11.44)	1.28	0.711
QSI75 - QSI250	2.29	2.51	(-5.96; 10.53)	0.91	0.886
QSI500 - QSI50	3.00	2.51	(-5.25; 11.24)	1.19	0.755
QSI75 - QSI50	2.08	2.51	(-6.16; 10.33)	0.83	0.915
QSI75 - QSI500	-0.91	2.51	(-9.16; 7.33)	-0.36	0.996

Nivel de confianza individual = 99.18%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = % inb de α -Glucosidasa, Término = [] ESP

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

[] ESP	N	Media	Agrupación
QNC500	3	42.9199	A
CCC500	3	25.2538	B
CII250	3	21.1253	B C
QSI500	3	18.7234	C

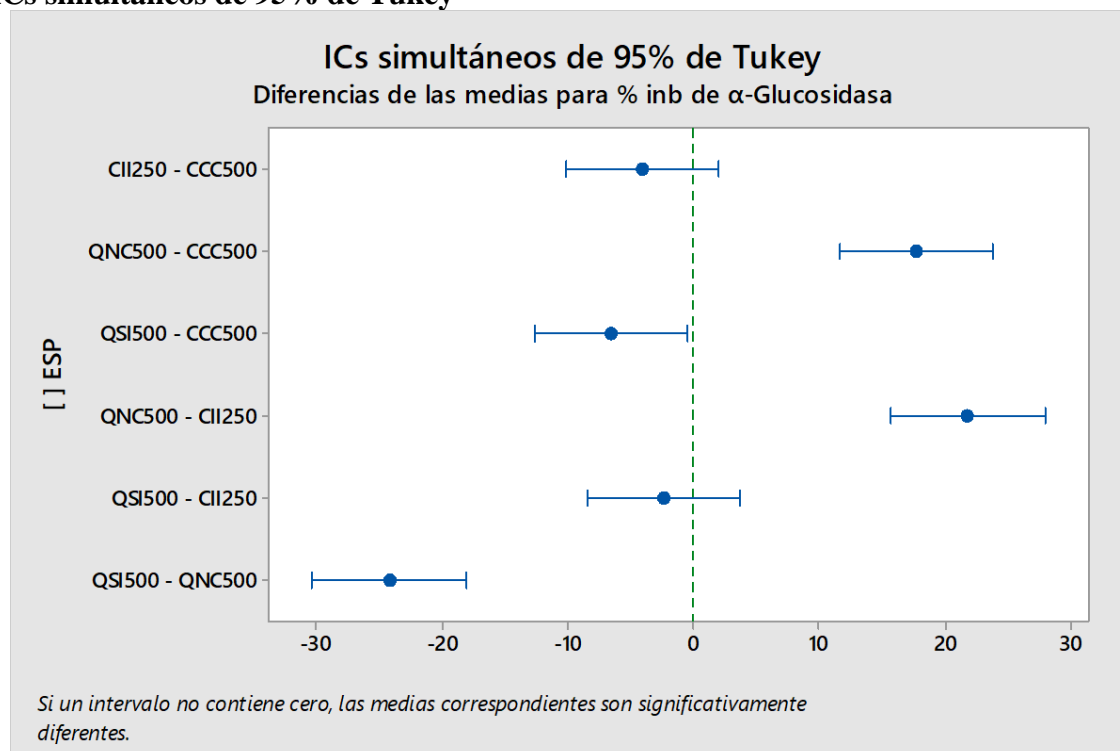
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Pruebas

simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de [] ESP niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
CII250 - CCC500	-4.13	1.90	(-10.21; 1.95)	-2.17	0.210
QNC500 - CCC500	17.67	1.90	(11.58; 23.75)	9.30	0.000
QSI500 - CCC500	-6.53	1.90	(-12.61; -0.45)	-3.44	0.036
QNC500 - CII250	21.79	1.90	(15.71; 27.88)	11.48	0.000
QSI500 - CII250	-2.40	1.90	(-8.48; 3.68)	-1.26	0.607
QSI500 - QNC500	-24.20	1.90	(-30.28; -18.11)	-12.74	0.000

Nivel de confianza individual = 98.74%

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para Acido Gálico

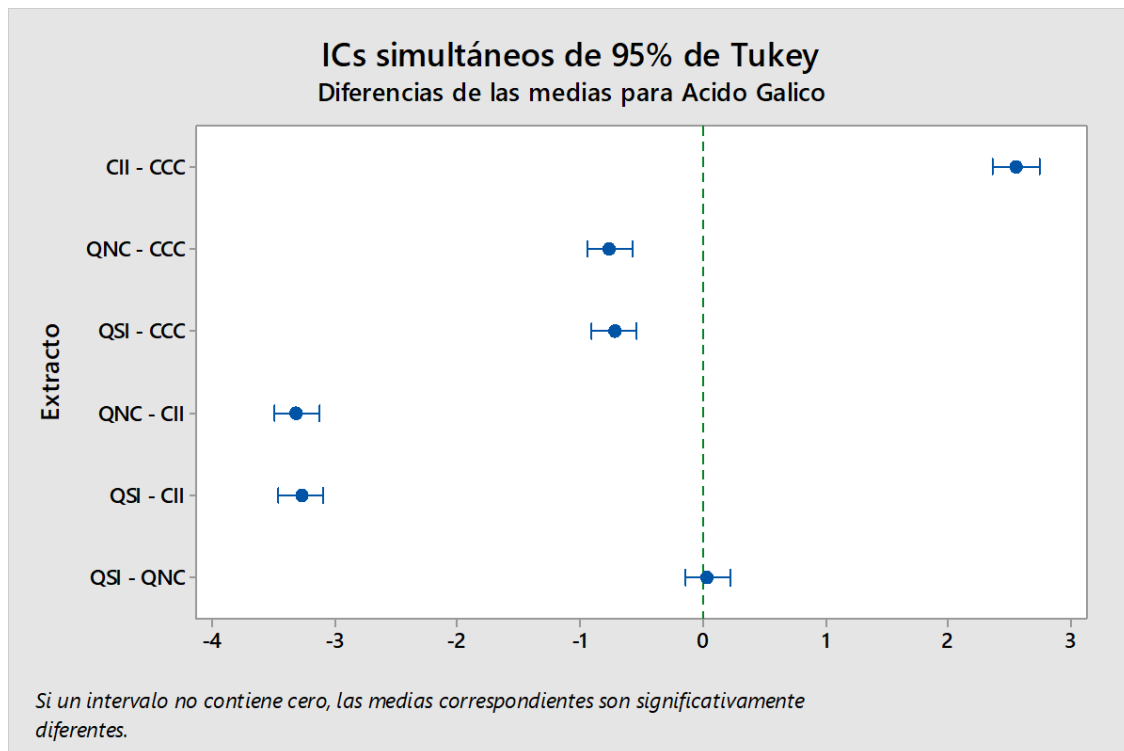
Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = Acido Galico, Término = Extracto

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Extracto	N	Media	Agrupación
CII	3	7.78333	A
CCC	3	5.23333	B
QSI	3	4.51333	C
QNC	3	4.47667	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para Rutina

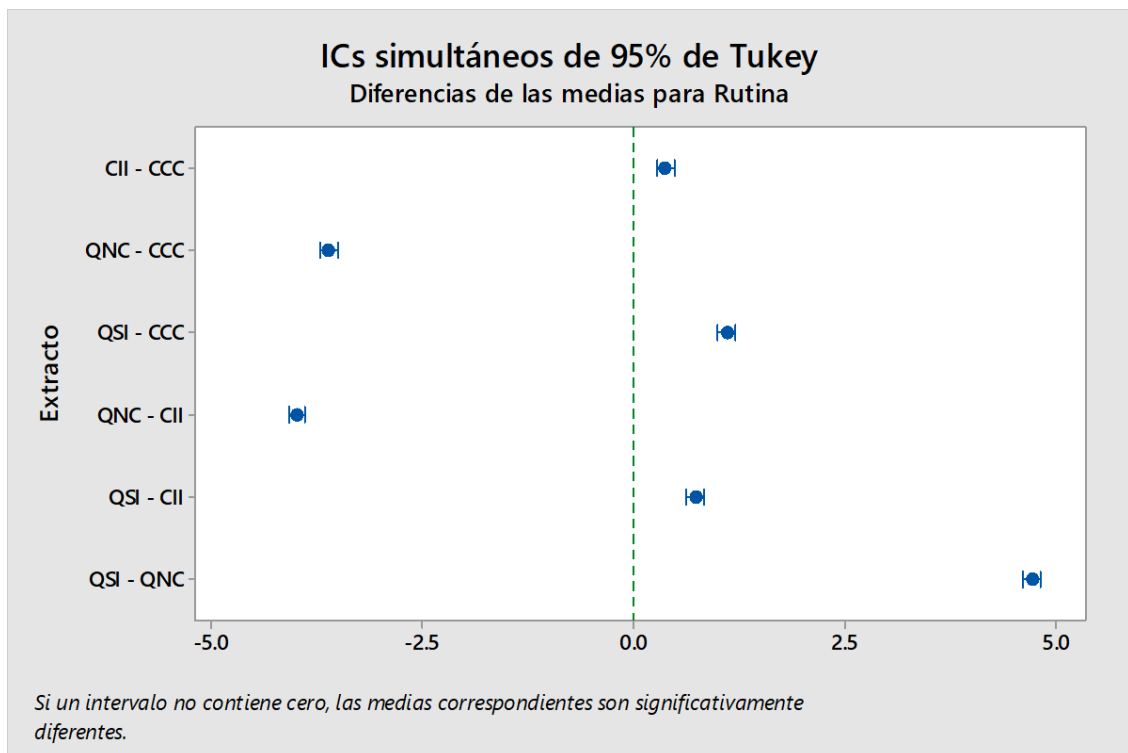
Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = Rutina, Término = Extracto

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Extracto	N	Media	Agrupación
QSI	3	33.8867	A
CII	3	33.1533	B
CCC	3	32.7767	C
QNC	3	29.1767	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para Acido Clorogénico

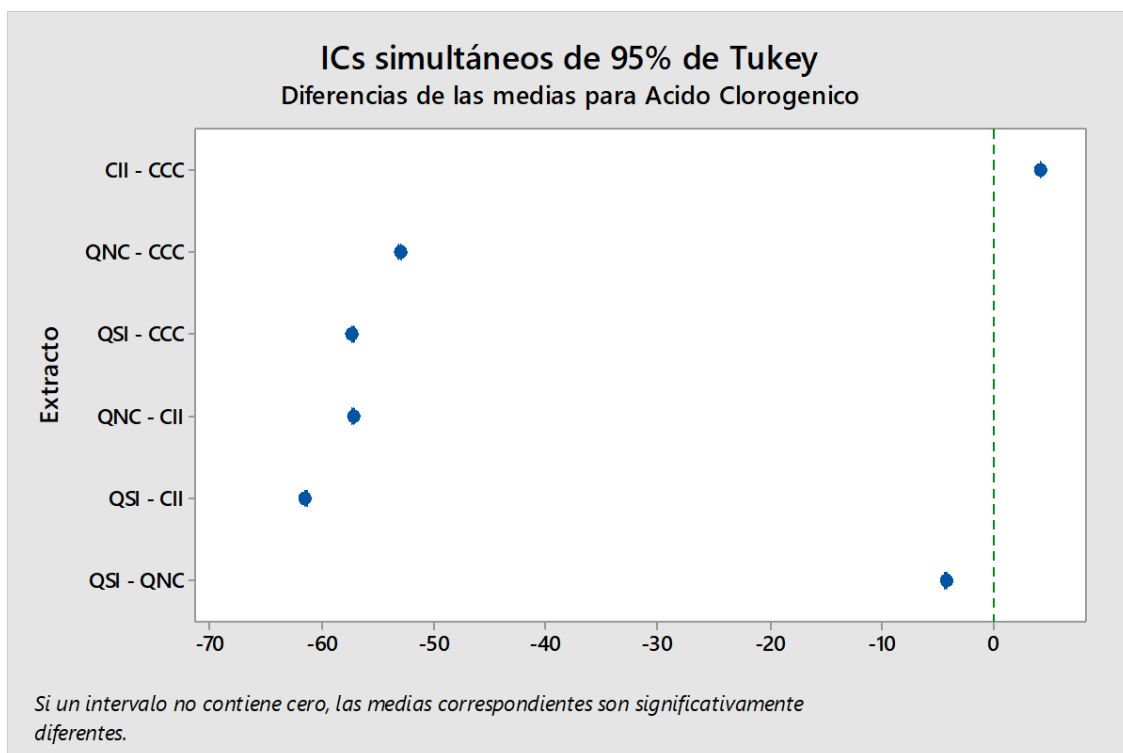
Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = Acido Clorogénico, Término = Extracto

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Extracto	N	Media	Agrupación
CII	3	75.6667	A
CCC	3	71.5333	B
QNC	3	18.4767	C
QSI	3	14.2100	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey



Comparaciones para Diferencia de Glucosa

Comparaciones múltiples de Dunnett con un control: Respuesta = Diferencia de Glucosa, Término =

Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

GRUPO	N	Media	Agrupación
CD (Control)	5	3.198	A
IE2-CCC	5	-12.758	A
CD+M	5	-13.614	A
IE1-CII	5	-19.764	

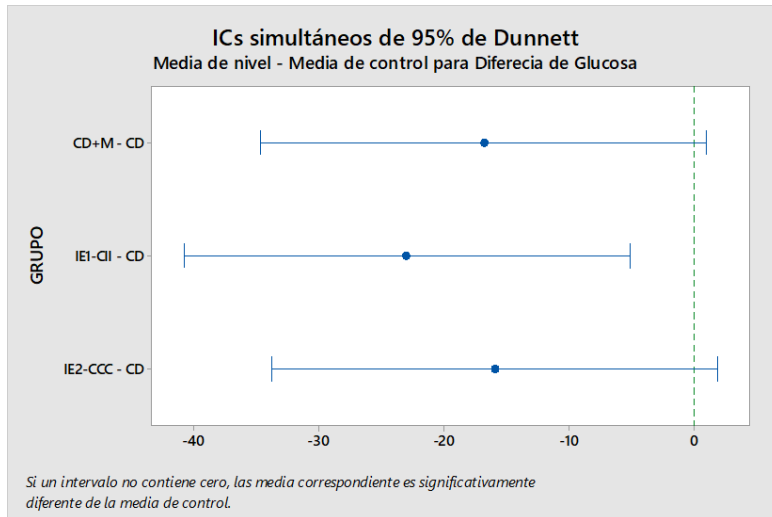
Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Pruebas simultáneas de Dunnett para la media de nivel - Media de control

GRUPO	Diferencia de niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T	Valor p ajustado
CD+M - CD		-16.81	6.87	(-34.62; 0.99)	-2.45	0.066
IE1-CII - CD		-22.96	6.87	(-40.77; -5.16)	-3.34	0.011
IE2-CCC - CD		-15.96	6.87	(-33.76; 1.85)	-2.32	0.084

Nivel de confianza individual = 98.04%

ICs simultáneos de 95% de Dunnett



Comparaciones múltiples de Dunnett con un control: Respuesta = Diferencia de Glucosa, Término =

Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

GRUPO	N	Media	Agrupación
CD+M (Control)	5	-13.614	A
CD	5	3.198	A
IE2-CCC	5	-12.758	A
IE1-CII	5	-19.764	A

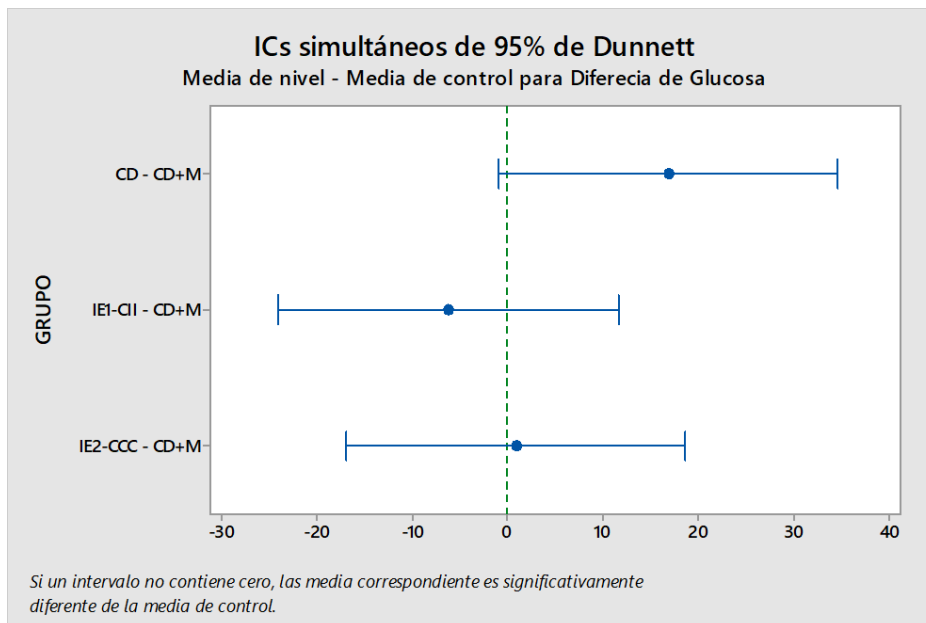
Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Pruebas simultáneas de Dunnett para la media de nivel - Media de control

Diferencia de GRUPO niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC simultáneo de 95%	Valor T ajustado	Valor p
CD - CD+M	16.81	6.87	(-0.99; 34.62)	2.45	0.066
IE1-CII - CD+M	-6.15	6.87	(-23.96; 11.66)	-0.90	0.704
IE2-CCC - CD+M	0.86	6.87	(-16.95; 18.66)	0.12	0.999

Nivel de confianza individual = 98.04%

ICs simultáneos de 95% de Dunnett



ANEXO 6. Certificación de Comida para ratas

- Certificado de dieta purificada (DP)

Teklad Custom Diet

TD.94048

AIN-93M Purified Diet



Formula	g/Kg	Key Features
Casein	140.0	<ul style="list-style-type: none"> + Purified Diet + American Institute of Nutrition + Maintenance + Commonly Used <hr/> <p>Key Planning Information</p> <ul style="list-style-type: none"> + Products are made fresh to order + Store product at 4°C or lower + Use within 6 months (applicable to most diets) + Box labeled with product name, manufacturing date, and lot number + Replace diet at minimum once per week <ul style="list-style-type: none"> More frequent replacement may be advised + Lead time: <ul style="list-style-type: none"> · 2 weeks non-irradiated · 4 weeks irradiated <hr/> <p>Product Specific Information</p> <ul style="list-style-type: none"> + 1/2" Pellet or Powder (free flowing) + Minimum order 3 Kg + Irradiation not advised <ul style="list-style-type: none"> · Contact a nutritionist for recommendations <hr/> <p>Options (fees will apply)</p> <ul style="list-style-type: none"> + Rush order (pending availability) + Irradiation (see Product Specific Information) + Vacuum packaging (1 and 2 Kg) <hr/> <p>Contact Us</p> <p>Obtain pricing · Check order status</p> <ul style="list-style-type: none"> + tekklad@envigo.com + (800) 483-5523 <div style="text-align: right;"> </div> <hr/> <p>International Inquiry (outside USA or Canada)</p> <ul style="list-style-type: none"> + askanutritionist@envigo.com <hr/> <p>Place Your Order (USA & Canada)</p> <p>Please Choose One</p> <ul style="list-style-type: none"> + envigo.com/tekklad-orders + tekkladorders@envigo.com + (800) 483-5523 + (608) 277-2066 facsimile
L-Cystine	1.8	
Corn Starch	465.692	
Maltodextrin	155.0	
Sucrose	100.0	
Soybean Oil	40.0	
Cellulose	50.0	
Mineral Mix, AIN-93M-MX (94049)	35.0	
Vitamin Mix, AIN-93-VX (94047)	10.0	
Choline Bitartrate	2.5	
TBHQ, antioxidant	0.008	
Footnote		
Reference: J. Nutr. 123:1939-1951, 1993. Formulated for the maintenance of adult, non-reproducing rodents.		
Selected Nutrient Information¹		
	% by weight	% kcal from
Protein	12.4	13.7
Carbohydrate	68.3	75.9
Fat	4.1	10.3
Kcal/g	3.6	
¹ Values are calculated from ingredient analysis or manufacturer data		
Speak With A Nutritionist		
<ul style="list-style-type: none"> + (800) 483-5523 + askanutritionist@envigo.com <p><i>Teklad diets are designed & manufactured for research purposes only.</i></p>		

© 2015 Envigo

09/22/15

Envigo Teklad Diets + Madison WI + envigo.com + tekkladinfo@envigo.com + (800) 483-5523

- Certificado de dieta rica en grasa (DRG)

Teklad Custom Diet

TD.06415



Adjusted Calories Diet (45/Fat)

Formula	g/Kg
Casein	245.0
L-Cystine	3.5
Corn Starch	85.0
Maltodextrin	115.0
Sucrose	200.0
Lard	195.0
Soybean Oil	30.0
Cellulose	58.0
Mineral Mix, AIN-93G-MX (94046)	43.0
Calcium Phosphate, dibasic	3.4
Vitamin Mix, AIN-93-VX (94047)	19.0
Choline Bitartrate	3.0
Red Food Color	0.1

Footnote
 Approx. 45% of total calories come from fat. Designed with similarities to Research Diets, Inc. formula D12451. For the series TD 06414-TD 06416. Approximate fatty acid profile (% of total fat): 36% saturated, 47% monounsaturated, 17% polyunsaturated.

Selected Nutrient Information¹

	% by weight	% kcal from
Protein	21.7	19.0
Carbohydrate	41.4	36.2
Fat	22.7	44.8
Kcal/g	4.6	

¹Values are calculated from ingredient analysis or manufacturer data

Speak With A Nutritionist
 + (800) 483-5523
 + askanutritionist@envigo.com

Teklad diets are designed & manufactured for research purposes only.

Key Features

- + Purified Diet
- + Diet Induced Obesity
- + High Fat

Key Planning Information

- + Products are made fresh to order
- + Store product at 4°C or lower
- + Use within 6 months (applicable to most diets)
- + Box labeled with product name, manufacturing date, and lot number
- + Replace diet at minimum once per week
More frequent replacement may be advised
- + Lead time:
 - 2 weeks non-irradiated
 - 4 weeks irradiated

Product Specific Information

- + 1/2" Pellet or Powder (free flowing)
- + Minimum order 3 Kg
- + Irradiation available upon request

Options (fees will apply)

- + Rush order (pending availability)
- + Irradiation (see Product Specific Information)
- + Vacuum packaging (1 and 2 Kg)

Contact Us
 Obtain pricing · Check order status
 + tekklad@envigo.com
 + (800) 483-5523



International Inquiry (outside USA or Canada)
 + askanutritionist@envigo.com

Place Your Order (USA & Canada)
 Please Choose One
 + envigo.com/tekklad-orders
 + tekkladorders@envigo.com
 + (800) 483-5523
 + (608) 277-2066 facsimile

© 2015 Envigo

09/22/15

Envigo Teklad Diets + Madison WI + envigo.com + tekkladinfo@envigo.com + (800) 483-5523

ANEXO 7. Toxicidad Agua Oral (DL50)

- Toxicidad Agua Oral (DL50) de CII



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA
CON REGISTRO N° LE - 115



INFORME CON VALOR OFICIAL N° IA019-2018

Pág. 1 de 6

Producto	:	2018-02-01
Presentación	:	Vial
Número de Lote	:	---
Fecha de Vencimiento	:	---
Documento de Referencia	:	Cotización N° P0180-2017
Código del SCC	:	EP064-N10-2018
Cantidad Recibida	:	Vial x 2 g
Análisis Solicitado por	:	Hersil S.A.
Análisis Solicitado	:	Toxicidad Aguda Oral en ratas
Dirección del Solicitante	:	Av. Los Frutales N° 220 (Ate-Vitarte)
Fecha de Recepción	:	2018-06-18
Inicio de análisis	:	2018-06-25
Término de análisis	:	2018-07-09

Método: OECD 423. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method

TOXICIDAD AGUDA ORAL (DL₅₀):

RESUMEN:

Este estudio fue realizado para Hersil S.A. con el objetivo de determinar el potencial tóxico del producto **2018-02-01**. La vía de administración usada correspondió a la vía oral en dosis única. El producto de prueba fue administrado con el uso de una sonda nasogástrica a un nivel de dosis (con una repetición) en un total de 9 ratas albinas (machos) de la cepa Holtzman en grupos de 3 animales, siendo uno el control, de acuerdo con el procedimiento de la Guía OECD Test 423.

Se realizaron observaciones clínicas diarias para evaluar signos de toxicidad y si hay mortalidad en los animales de experimentación, además se hizo control visual del consumo de agua y alimento suministrado *ad libitum*.

El peso corporal de los animales se registró desde el inicio del estudio, al 7° y 14° día, según procedimientos del laboratorio. Al final del estudio se realizó la necropsia a todos los animales experimentados.

No se presentó mortalidad en ninguno de los grupos ensayados siendo la DL₅₀ mayor de 5000 mg de producto/Kg de rata (> 5,0 g/kg de rata).

En cuanto al peso corporal de manera general, todos los animales ganaron peso en comparación con el peso inicial.

SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD

ST-FR-006 V02 Rev.02 / 2017-08-01

Av. Honorio Delgado 430, SMP
[511] 319-0000 anexos 233223 / 233224
control.calidad@oficinas-upch.pe
www.cayetano.edu.pe

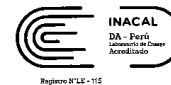
Este informe solo podrá reproducirse con autorización escrita del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia a condición de que se haga en su totalidad y no en forma parcial o fragmentaria. Los resultados obtenidos se refieren solamente a las muestras ensayadas, no deben ser utilizados como certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que los produce.

• Toxicidad Agua Oral (DL50) de CCC



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA
CON REGISTRO N° LE - 115



INFORME CON VALOR OFICIAL N° IA020-2018

Pág. 1 de 6

Producto : 2018-03-01
Presentación : Vial
Número de Lote : ---
Fecha de Vencimiento : ---
Documento de Referencia : Cotización N° P0180-2017
Código del SCC : EP065-N11-2018
Cantidad Recibida : Vial x 1.7 g
Análisis Solicitado por : Hersil S.A.
Análisis Solicitado : Toxicidad Aguda Oral en ratas
Dirección del Solicitante : Av. Los Frutales N° 220 (Ate-Vitarte)
Fecha de Recepción : 2018-06-18
Inicio de análisis : 2018-06-25
Término de análisis : 2018-07-09

Método: OECD 423. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method

TOXICIDAD AGUDA ORAL (DL₅₀):

RESUMEN:

Este estudio fue realizado para Hersil S.A. con el objetivo de determinar el potencial tóxico del producto **2018-03-01**. La vía de administración usada correspondió a la vía oral en dosis única. El producto de prueba fue administrado con el uso de una sonda nasogástrica a un nivel de dosis (con una repetición) en un total de 9 ratas albinas (machos) de la cepa Holtzman en grupos de 3 animales, siendo uno el control, de acuerdo con el procedimiento de la Guía OECD Test 423.

Se realizaron observaciones clínicas diarias para evaluar signos de toxicidad y si hay mortalidad en los animales de experimentación, además se hizo control visual del consumo de agua y alimento suministrado *ad libitum*.

El peso corporal de los animales se registró desde el inicio del estudio, al 7° y 14° día, según procedimientos del laboratorio. Al final del estudio se realizó la necropsia a todos los animales experimentados.

No se presentó mortalidad en ninguno de los grupos ensayados siendo la DL₅₀ mayor de 5000 mg de producto/Kg de rata (> 5,0 g/kg de rata).

En cuanto al peso corporal de manera general, todos los animales ganaron peso en comparación con el peso inicial.

SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD

ST-FR-006 V02 Rev.02 / 2017-08-01

Av. Honorio Delgado 430, SMP
(511) 319-0000 anexos 233223 / 233224
control.calidad@oficinas-upch.pe
www.cayetano.edu.pe

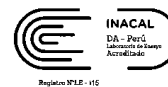
Este informe solo podrá reproducirse con autorización escrita del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia a condición de que se haga en su totalidad y no en forma parcial o fragmentaria. Los resultados obtenidos se refieren solamente a las muestras ensayadas, no deben ser utilizados como certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que los produce.

• Toxicidad Agua Oral (DL50) de QNC



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA
CON REGISTRO N° LE - 115



INFORME CON VALOR OFICIAL N° IA021-2018

Pág. 1 de 6

Producto : 2018-04-01
Presentación : Vial
Número de Lote : ---
Fecha de Vencimiento : ---
Documento de Referencia : Cotización N° P0180-2017
Código del SCC : EP066-N12-2018
Cantidad Recibida : 02 viales x 1.5 g
Análisis Solicitado por : Hersil S.A.
Análisis Solicitado : Toxicidad Aguda Oral en ratas
Dirección del Solicitante : Av. Los Frutales N° 220 (Ate-Vitarte)
Fecha de Recepción : 2018-06-18
Inicio de análisis : 2018-06-25
Término de análisis : 2018-07-09

Método: OECD 423. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method

TOXICIDAD AGUDA ORAL (DL₅₀):

RESUMEN:

Este estudio fue realizado para Hersil S.A. con el objetivo de determinar el potencial tóxico del producto **2018-04-01**. La vía de administración usada correspondió a la vía oral en dosis única. El producto de prueba fue administrado con el uso de una sonda nasogástrica a un nivel de dosis (con una repetición) en un total de 9 ratas albinas (machos) de la cepa Holtzman en grupos de 3 animales, siendo uno el control, de acuerdo con el procedimiento de la Guía OECD Test 423.

Se realizaron observaciones clínicas diarias para evaluar signos de toxicidad y si hay mortalidad en los animales de experimentación, además se hizo control visual del consumo de agua y alimento suministrado *ad libitum*.

El peso corporal de los animales se registró desde el inicio del estudio, al 7° y 14° día, según procedimientos del laboratorio. Al final del estudio se realizó la necropsia a todos los animales experimentados.

No se presentó mortalidad en ninguno de los grupos ensayados siendo la DL₅₀ mayor de 5000 mg de producto/Kg de rata (> 5,0 g/kg de rata).

En cuanto al peso corporal de manera general, todos los animales ganaron peso en comparación con el peso inicial.

SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD

ST-FR-006 V02 Rev.02 / 2017-08-01

Av. Honorio Delgado 430, SMP
(511) 319-0000 anexos 233223 / 233224
control.calidad@oficinas-upch.pe
www.cayetano.edu.pe

Este informe solo podrá reproducirse con autorización escrita del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia a condición de que se haga en su totalidad y no en forma parcial o fragmentaria. Los resultados obtenidos se refieren solamente a las muestras ensayadas, no deben ser utilizados como certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que los produce.

- Toxicidad Agua Oral (DL50) de QSI



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA
CON REGISTRO N° LE - 115



INFORME CON VALOR OFICIAL N° IA022-2018

Pág. 1 de 6

Producto : 2018-05-01
 Presentación : Vial
 Número de Lote : ---
 Fecha de Vencimiento : ---
 Documento de Referencia : Cotización N° P0180-2017
 Código del SCC : EP067-N13-2018
 Cantidad Recibida : 02 viales x 1.5 g
 Análisis Solicitado por : Hersil S.A.
 Análisis Solicitado : Toxicidad Aguda Oral en ratas
 Dirección del Solicitante : Av. Los Frutales N° 220 (Ate-Vitarte)
 Fecha de Recepción : 2018-06-18
 Inicio de análisis : 2018-06-25
 Término de análisis : 2018-07-09

Método: OECD 423. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method

TOXICIDAD AGUDA ORAL (DL₅₀):

RESUMEN:

Este estudio fue realizado para Hersil S.A. con el objetivo de determinar el potencial tóxico del producto **2018-05-01**. La vía de administración usada correspondió a la vía oral en dosis única. El producto de prueba fue administrado con el uso de una sonda nasogástrica a un nivel de dosis (con una repetición) en un total de 9 ratas albinas (machos) de la cepa Holtzman en grupos de 3 animales, siendo uno el control, de acuerdo con el procedimiento de la Guía OECD Test 423.

Se realizaron observaciones clínicas diarias para evaluar signos de toxicidad y si hay mortalidad en los animales de experimentación, además se hizo control visual del consumo de agua y alimento suministrado *ad libitum*.

El peso corporal de los animales se registró desde el inicio del estudio, al 7° y 14° día, según procedimientos del laboratorio. Al final del estudio se realizó la necropsia a todos los animales experimentados.

No se presentó mortalidad en ninguno de los grupos ensayados siendo la DL₅₀ mayor de 5000 mg de producto/Kg de rata (> 5,0 g/kg de rata).

En cuanto al peso corporal de manera general, todos los animales ganaron peso en comparación con el peso inicial.

SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD

ST-FR-006 V02 Rev.02 / 2017-08-01

Av. Honorio Delgado 430, SMP ☎
 (511) 319-0000 anexos 233223 / 233224 ✉
 control.calidad@oficinas-upch.pe ✉
 www.cayetano.edu.pe 🌐

Este informe solo podrá reproducirse con autorización escrita del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia a condición de que se haga en su totalidad y no en forma parcial o fragmentaria. Los resultados obtenidos se refieren solamente a las muestras ensayadas, no deben ser utilizados como certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que los produce.