

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**“PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN HÍGADO DE RATAS
GESTANTES Y LACTANTES SUPLEMENTADAS CON
ESPIRULINA (*Arthrospira platensis*)”**

Presentada por:

GIULIANA ADELINA CARPIO CUADRA

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

Lima-Perú

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN HÍGADO DE RATAS
GESTANTES Y LACTANTES SUPLEMENTADAS CON
ESPIRULINA (*Arthrospira platensis*)”**

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

Presentada por:

GIULIANA ADELINA CARPIO CUADRA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco
PRESIDENTE

Dra. María Elena Villanueva Espinoza
ASESOR

Dra. Patricia Gil Kodaka
CO-ASESOR

Ph. D. Carlos Vélchez Perales
MIEMBRO

Dra. Haydee Cárdenas de Jurado
MIEMBRO

A mis padres por su apoyo incondicional.

*A mis hermanos por estar siempre ahí
por segunda vez.*

*A mis tíos, primos y amigos;
los que estuvieron al pendiente
y me motivaron cada día.*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar al CONCYTEC- FONDECYT por brindarme la oportunidad de estudiar la maestría y el financiamiento para realizar la investigación.

A mi asesora, Dra. María Elena Villanueva; por el soporte, motivación y consejos brindados durante todo el proceso. Y a mi co-asesora, Dra. Patricia Gil, por su apoyo.

A los miembros del jurado: V. Guevara, H. Cárdenas y C. Vélchez, por su disposición, sugerencias y apreciaciones sobre la investigación.

A mi amiga, Soraya Salazar, por acompañarme y apoyarme durante toda la etapa experimental.

Resaltar la ayuda brindada por el señor Mauro Ayala durante la fase experimental en el bioterio de la UNALM, sin ayuda no hubiera sido posible.

Finalmente, a los profesores del programa por el valioso conocimiento adquirido y al personal por las facilidades del caso durante esta etapa.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1.	Ácidos grasos	3
2.1.1.	Definición	3
2.1.2.	Clasificación	3
2.1.3.	Metabolismo	4
2.1.4.	Ácidos grasos esenciales	6
2.1.5.	Fuentes.....	8
2.2.	Gestación y lactancia	9
2.2.1.	Importancia de la dieta	9
2.2.2.	Metabolismo de ácidos grasos	10
2.3.	Espirulina	11
2.3.1.	Características.....	11
2.3.2.	Valor nutricional.....	13
2.3.3.	Fuente de GLA	15
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1.	Ubicación	16
3.2.	Producto a evaluar	16
3.3.	Animales y dietas.....	18
3.4.	Manejo de la eutanasia y extracción de tejidos.....	18
3.5.	Perfil de ácidos grasos en el hígado.....	19
3.5.1.	Extracción de grasa.....	19
3.5.2.	Derivatización de ácidos grasos	19
3.5.3.	Determinación de ácidos grasos por análisis Cromatográfico.....	19
3.6.	Actividad enzimática en el hígado	20
3.7.	Diseño experimental	21
3.7.1.	Estudio en ratas no gestantes	21
3.7.2.	Experimento	21
3.8.	Análisis estadístico	22
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23

4.1.	Estudio en ratas no gestantes	23
4.2.	Experimento.....	25
4.2.1.	Consumo de alimento y evolución del peso de las ratas	25
4.2.2.	Peso de las crías	29
4.2.3.	Peso de los tejidos	31
4.2.4.	Perfil de ácidos grasos en el hígado.....	32
4.2.5.	Actividad enzimática en el hígado.....	33
V.	CONCLUSIONES	35
VI.	RECOMENDACIONES	36
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
VIII.	ANEXOS	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Composición básica de <i>Spirulina platensis</i>	13
Cuadro 2: Composición química de la espirulina (<i>Arthrospira platensis</i>)	16
Cuadro 3: Perfil de ácidos grasos de la espirulina (<i>Arthrospira platensis</i>).....	17
Cuadro 4: Consumo semanal de alimento de ratas no gestantes (g)	23
Cuadro 5: Peso de ratas no gestantes (g)	23
Cuadro 6: Peso del hígado y grasa visceral de ratas no gestantes (g)	24
Cuadro 7: Perfil de ácidos grasos en hígado de ratas no gestantes (g/100g hígado).....	24
Cuadro 8: Consumo semanal de alimento (g)	25
Cuadro 9: Consumo en función al peso (g/100g de peso).....	27
Cuadro 10: Evolución del peso de las ratas (g)	28
Cuadro 11: Peso de las crías (g)	29
Cuadro 12: Peso de la grasa visceral y el hígado (g/100g peso)	31
Cuadro 13: Perfil de ácidos grasos en el hígado (g/100g hígado).....	32
Cuadro 14: Actividad enzimática en el hígado.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema del impacto celular y tisular de la exposición a ácidos grasos y mecanismos involucrados.....	5
Figura 2: Metabolismo de los ácidos grasos esenciales.....	7
Figura 3: Consumo de alimento en función al peso.....	27

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Informe de ensayo N°-05221/18.....	48
Anexo 2: Datos experimentales.....	50
Anexo 3: Datos del estudio en ratas no gestantes.....	51
Anexo 4: Datos del experimento.....	55
Anexo 5: Siglas.....	59

RESUMEN

La dieta es un factor determinante desde la fase prenatal siendo necesaria una buena fuente de ácidos grasos, para asegurar el buen desarrollo de la madre y su descendencia, como la que proporciona la espirulina (*Arthrospira platensis*). El objetivo del presente estudio fue evaluar el perfil de ácidos grasos en el hígado de ratas *Holtzman* suplementadas con espirulina y su efecto sobre la actividad enzimática, el peso del hígado y la grasa visceral, el consumo de alimento y la evolución de peso de las ratas y sus crías. Treinta ratas se distribuyeron al azar en 3 tratamientos: 0 por ciento (control), 5 por ciento y 10 por ciento de espirulina en la dieta. Las ratas fueron alimentadas por 5 semanas correspondientes al periodo de 3 semanas de gestación y 2 semanas de lactancia. Al final de la fase experimental, las ratas fueron sacrificadas y se llevaron a cabo los análisis. Los datos se analizaron bajo un diseño completamente al azar, la data con distribución normal se analizó mediante un ANOVA y se compararon medias ($p < 0.05$) por la prueba de Tukey; y la data sin distribución normal, con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis. Los resultados revelaron que la ingesta de espirulina aumenta ($p < 0.05$) la concentración de los ácidos linoleico y araquidónico y el contenido total de ácidos ω -6, saturados y polinsaturados en el hígado. La espirulina no influyó en la actividad enzimática de las enzimas Δ -6-elongasa-desaturasa y Oleyl-Coa en el hígado. La suplementación con 5 por ciento de espirulina disminuyó ($p < 0.05$) el peso del hígado pero no influyó en el peso de la grasa visceral. El consumo de alimento con espirulina al 10 por ciento aumentó ($p < 0.05$) en la segunda semana de gestación y de lactancia sin influir en la ganancia de peso. Y finalmente el peso al nacer de las crías fue mayor ($p < 0.05$) con la suplementación de 10 por ciento de espirulina en la dieta de las madres.

Palabras clave: espirulina, ácidos grasos, gestación, hígado.

ABSTRACT

Diet is a determining factor since the prenatal phase, being necessary a good source of fatty acids to ensure a good development of the mother and her offspring such as spirulina (*Arthrospira platensis*). The aim of the present study was to evaluate the fatty acid profile in the liver of *Holtzman* rats supplemented with spirulina and its effect in the enzymatic activity, the weight of the liver and visceral fat, the food intake and the evolution of body weight of rats and their offspring. Thirty rats were randomized into 3 treatments: 0 percent (control), 5 percent, and 10 percent of spirulina in the diet. The rats were fed for 5 weeks corresponding to 3 weeks of pregnancy and 2 weeks of lactation. At the end of the experimental phase, the rats were sacrificed and the analyses were performed. The data were analyzed under a completely randomized design, data with normal distribution were analyzed using an ANOVA and the comparison between means was made ($p < 0.05$) by the Tukey test; not normal data, by the non-parametric Kruskal-Wallis test. The results revealed that spirulina intake increases ($p < 0.05$) the concentration of linoleic and arachidonic acids and the total content of ω -6, saturated and polyunsaturated acids in the liver. Spirulina did not affect the enzymatic activity of the enzymes Δ -6-elongase-desaturase and Oleyl-Coa in the liver. Supplementation with 5 percent spirulina decreased ($p < 0.05$) the weight of the liver but did not influence in the weight of visceral fat. Food consumption with 10 percent of spirulina increased ($p < 0.05$) in the second week of pregnancy and lactation without influencing in the weight gain. And finally the birth weight of the offspring was greater ($p < 0.05$) with the supplementation of 10 percent of spirulina in the diet of the mothers.

Keywords: spirulina, fatty acids, pregnancy, liver.

I. INTRODUCCIÓN

La dieta es un factor determinante desde la fase preconcepcional, prenatal y los primeros años de vida. Un desarrollo excesivo o deficiente del feto puede repercutir en las características futuras del individuo, causando obesidad, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). La etapa de gestación es crítica ya que en ella se produce la mayor movilización de grasa como en el transporte de lípidos hacia la glándula mamaria para la producción de leche. Por ello la ingesta de ciertos nutrientes es crucial, especialmente los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), los cuales juegan un papel fundamental en el desarrollo y bienestar de la madre y su descendencia.

La malnutrición en mujeres gestantes se presenta a nivel mundial y es ocasionada por la inadecuada ingesta de macro y micronutrientes. Esto produce complicaciones perinatales, mayor riesgo de mortalidad del feto y/o de la madre, bajo peso al nacer y retardo en el crecimiento y desarrollo mental del feto. En el Perú, la situación no es diferente, coexisten la malnutrición por exceso y por déficit de nutrientes en las gestantes; y las medidas implementadas, como la promoción de la salud y hábitos saludables o la introducción de alimentos nutritivos a la dieta, no generan aún un cambio sustancial de esta situación.

Existen diversos estudios que demuestran que la espirulina (*Arthrospira platensis*) es un alimento que por sus componentes bioactivos ha sido utilizado para combatir la malnutrición y el estrés que desencadenan los problemas antes mencionados (El-Rahman 2018; Ouedraogo *et al.* 2018; Siva Kiran *et al.* 2015). La espirulina es una fuente vegetal de distintos ácidos grasos como el ácido γ -linolénico (GLA). Este produce un efecto positivo en el proceso reproductivo de ratas, disminuyendo abortos y aumentando el tamaño de la camada y el peso al nacer de la crías (Castro-García *et al.* 2018); participa en los procesos de beta oxidación, en la reducción de peso corporal, en procesos antiinflamatorios y neuroprotectores. No obstante, no hay evidencia del efecto del consumo de sus ácidos grasos en gestantes.

En base a los antecedentes señalados, se planteó como objetivo evaluar el efecto del consumo de la espirulina sobre el perfil de ácidos grasos en hígado de ratas *Holtzman*; y su resultado sobre la actividad enzimática, el peso del hígado y la grasa visceral, el consumo de alimento y la evolución del peso de las ratas y su crías desde el periodo de gestación hasta la lactancia. De esta manera se busca tener evidencias de los efectos de la ingesta de sus ácidos grasos, a fin de promover el aumento de su consumo e incentivar el desarrollo de nuevas investigaciones en otras etapas de la vida o condiciones que pueda presentar un individuo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Ácidos grasos

2.1.1. Definición

Los lípidos son pequeñas moléculas hidrófobas o anfífilas. Estas pueden originarse por completo o en parte a través de condensaciones de tioésteres o unidades de isopreno. Incluyen a los ácidos grasos (AG), monoacilgliceridos, diacilgliceridos, triacilgliceridos, fosfolípidos, eicosanoides, resolvinas, docosanoides, esteroides, ésteres de esteroles, carotenoides, vitaminas A y E, hidrocarburos y ésteres de cera (FAO 2010).

Los AG son cadenas hidrocarbonadas de longitud variable con un grupo carboxilo en el extremo. Estos pueden presentar insaturaciones y son constituyentes tanto de los triacilglicéridos como de los lípidos complejos. Pueden hallarse de forma libre o esterificar otras moléculas (Hoyos y Rosales 2014) y son necesarios en la nutrición humana como fuente de energía, actividades metabólicas y estructurales (FAO 2010).

2.1.2. Clasificación

Los AG se han dividido en tres amplias clases, de acuerdo a su grado de insaturación: ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) (FAO 2010).

Los AGS no contienen dobles enlaces en la cadena de carbono y generalmente están numerados con la fórmula general $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ (Mwau 2018). Se clasifican en cuatro subclases, de acuerdo a la longitud de su cadena de carbonos: corta (3C a 7C), media (8C a 13C), larga (14C a 20C) y muy larga (21C a más) (FAO 2010). Los ácidos

ácidos laúrico, mirístico, palmítico, esteárico son algunos compuestos representativos (Mwau, 2018).

Los ácidos grasos insaturados tienen cadena alquénica (con uno o más enlaces dobles) o una cadena acetilénica (con uno o más enlaces triples). Aquellos con cadenas alquénicas se clasifican en monoinsaturados (AGMI) o poliinsaturados (AGPI). Los de cadena lineal (isómeros *cis*) con un número par de carbonos son un constituyente común de muchos lípidos y aceites básicos; en cambio, los isómeros *trans* son componentes raros en los aceites y grasas naturales. El ácido oleico (C18:1) es el compuesto insaturado más común (Mwau, 2018). Los AGPI están presentes en una variedad de estructuras, tienen de dos a nueve enlaces dobles distribuidos en varias posiciones a lo largo de la cadena de carbonos. Se clasifican bajo el mismo criterio de los AGS pero varían con respecto a la longitud de la cadena de carbonos: corta ($\leq 19C$), larga (20C a 24C) y muy larga ($\geq 25C$) (FAO 2010).

También pueden clasificarse según la posición de su doble enlace: ω -3, cuando el primer doble enlace se encuentra en posición 3 desde el primer metilo terminal (extremo no ácido); ω -6, el doble enlace está en la posición 6; y ω -9, en posición 9 a partir del metilo terminal (Ventoso 2017). Algunos de estos ácidos grasos se clasifican como ácidos grasos esenciales (AGE) porque no pueden ser sintetizados de *novo* por el cuerpo humano y son necesarios para diversas funciones vitales (Castro-González 2002) como el ácido linoleico (AL)- ω -6, α -linolenico- ω -3 (ALA), araquidónico (C20:4- ω -6, AA) (Soriano del Castillo 2006), ácido docosahexaenoico (C22:6- ω -3, DHA), ácido eicosapentaenoico (C20:5- ω -3, EPA) y ácido docosapentaenoico (DPA) (Nguyen *et al.* 2019).

2.1.3. Metabolismo

Los AGS y los principales AGMI pueden biosintetizarse a partir de hidratos de carbono y proteínas. Los AGPI pueden ser sustratos de enzimas desaturasas y las elongasas para formar ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL) y otros compuestos (FAO 1997).

Los AG se transportan en el torrente sanguíneo como componentes de lípidos más

complejos (como triacilgliceroles, fosfolípidos o ésteres de colesterol) y de las lipoproteínas. También pueden existir ácidos grasos no esterificados (AGNE) que circulan libres en la sangre. Los diferentes grupos contienen distinta composición de AG y esta es afectada en parte por la ingesta en la dieta y en parte por los procesos metabólicos (Calder 2015).

Hoyos y Rosales (2014) mencionan que después de que el contenido lipídico es absorbido por el intestino delgado, se producen diferentes procesos (Figura 1).

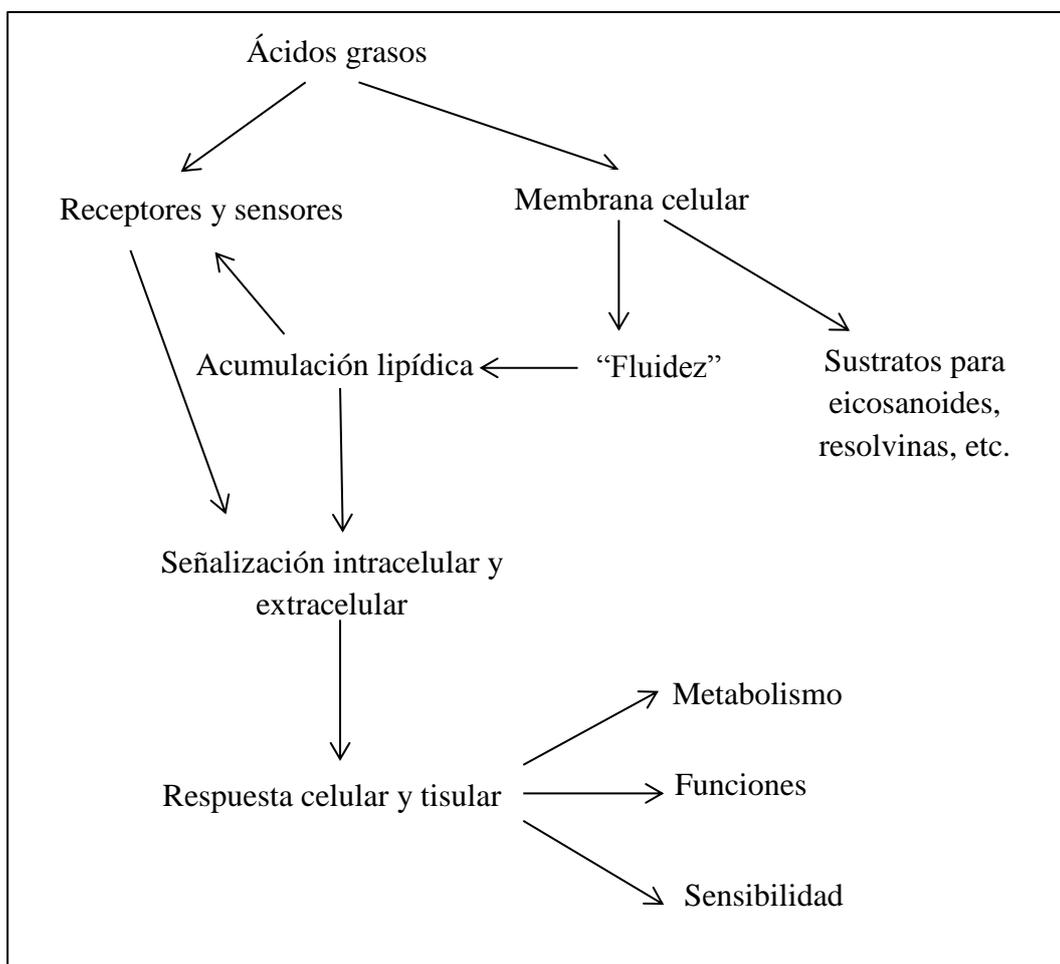


Figura 1: Esquema del impacto celular y tisular de la exposición a ácidos grasos y mecanismos involucrados

FUENTE: Calder (2015)

En el interior de las células intestinales, los ácidos grasos se unen a una proteína de bajo peso molecular, la FABP (proteína ligante de ácidos grasos) o proteína Z, para ser transportados al retículo endoplasmático liso, donde por las vías del monoglicérol y el

glicerol 3-fosfato se esterifican de nuevo, formando triacilgliceroles, fosfolípidos y ésteres de colesterol. Por otro lado, los ácidos grasos que no han sido metabolizados, pasan a la circulación portal y se dirigen a la mitocondria del hepatocito, donde se degradan hasta formar ATP.

Se pueden producir dos procesos opuestos: lipogénesis o lipólisis. La lipogénesis ocurre durante periodos de exceso calórico en el cual la ingesta calórica sobrepasa el consumo energético. Los AG sintetizados por el hígado (o los provenientes de la dieta) son esterificados y almacenados como triacilgliceroles en el tejido adiposo como reserva. En contraste durante la lipólisis, el consumo energético sobrepasa la ingesta calórica y los adipocitos liberan su contenido para compensar la deficiencia y así proporcionar el combustible metabólico necesario al organismo (Hoyos y Rosales 2014).

También se forman eicosanoides y docosanooides, los cuales se producen en casi todas las células del organismo. En estos grupos se incluyen las prostaglandinas, prostacilinas, tromboxanos, leucotrienos, ácidos hidroperixotetraenoides, ácidos hidroxiicosatetraenoides y lipoximas (Hoyos y Rosales 2014). Finalmente, los ácidos grasos son capaces de regular la expresión o actividad de factores de transcripción, jugando un papel fundamental en el control de la expresión génica y la producción de proteínas por las células. Esto permite regular procesos metabólicos como la síntesis y oxidación de ácidos grasos; ensamblaje y depuración de lipoproteínas; la sensibilidad a la insulina y procesos inflamatorios (Calder 2015).

2.1.4. Ácidos grasos esenciales

Los AGE son constituyentes importantes de todas las membranas celulares. Estos alteran su fluidez y el comportamiento de las enzimas y receptores unidos. El LA y ALA se esterifican para formar triacilgliceroles dentro del enterocito y pasan a la circulación sanguínea a través de la vía linfática, en forma de quilomicrones. Luego son transportados al hígado, tejido adiposo y glándula mamaria. Dentro del hígado el LA y el ALA son elongados y desaturados para formar AGPICL (Rodríguez-Cruz *et al.* 2005). En la Figura 2 se puede observar el metabolismo de los AGE.

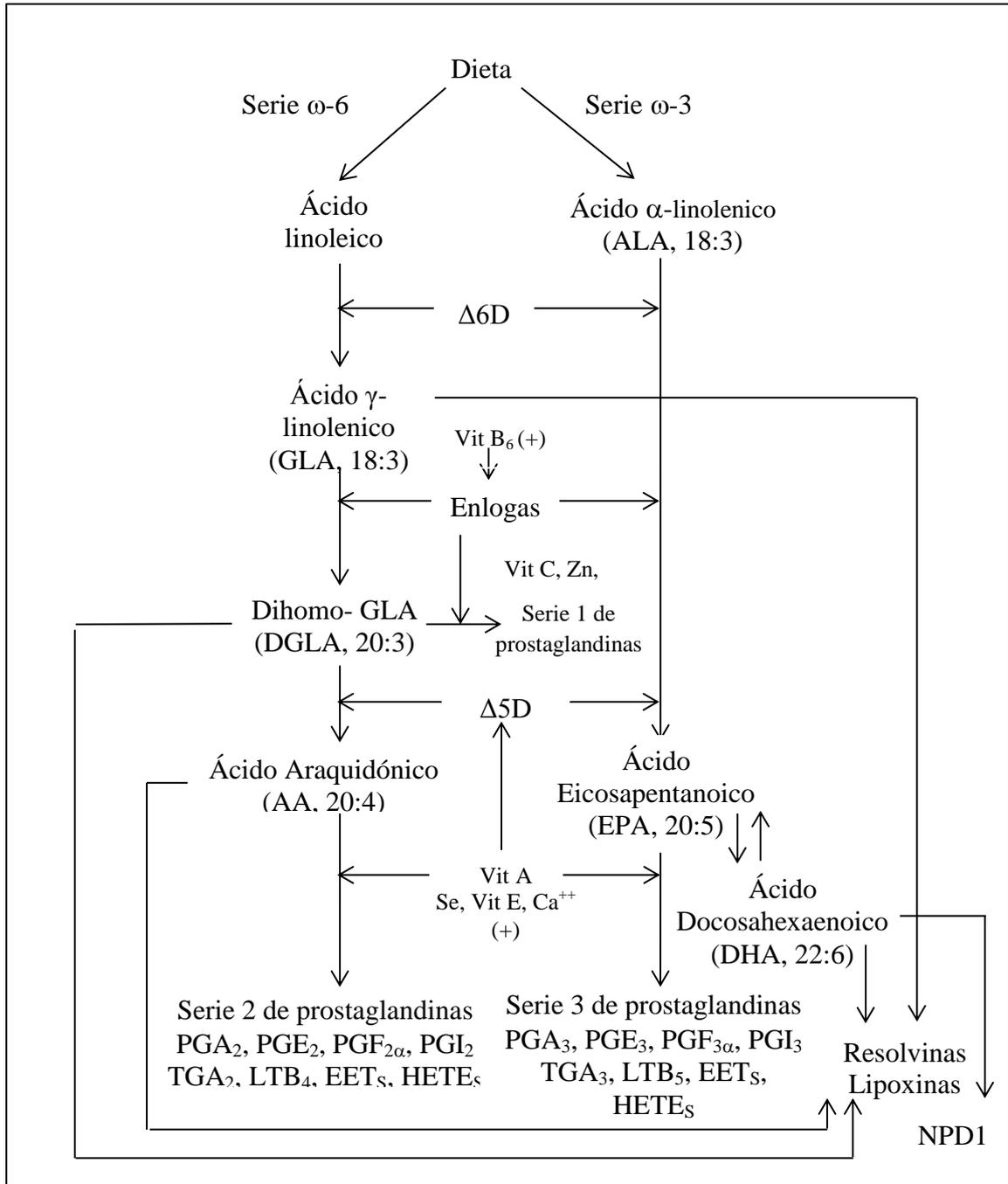


Figura 2: Metabolismo de los ácidos grasos esenciales

FUENTE: Das (2006)

El LA se convierte en ácido γ-linolénico (GLA, 18:3, ω-6) mediante la enzima delta-6 (Δ^6) desaturasa ($\Delta 6D$) y el GLA se alarga a la forma dihomo-GLA (DGLA, 20:3, ω-6), el precursor de la serie 1 de prostaglandinas (PGs). El DGLA también puede convertirse a AA por la Δ^5 desaturasa ($\Delta 5D$). El AA es precursor de la serie 2 de PGs, tromboxanos (TXs) y de la serie 4 de leucotrienos (LTs). ALA se convierte en EPA por $\Delta 6D$ y $\Delta 5D$.

EPA es el precursor de la serie 3 de PGs, TXs y de la serie 5 de LTs. Los LTs, PGs y TXs son biológicamente activos, los derivados de AA son proinflamatorios y los de EPA y DHA son menos inflamatorios o antiinflamatorios (Valenzuela *et al.* 2014), y están involucrados en enfermedades como la aterosclerosis, asma bronquial, enfermedad inflamatoria intestinal, y otras condiciones inflamatorias (Das 2006).

El AA, EPA y DHA dan lugar a lipoxinas y resolvinas que suprimen la inflamación; y este último es el único que produce protectinas (NPD1). Los AGPI forman precursores tanto pro y antiinflamatorios y el equilibrio entre estos compuestos antagónicos podrían determinar el resultados finales del desarrollo de una enfermedad (Das 2006).

Abedi y Sahari (2014) mencionan la importancia de la cantidad de AGPI, la proporción ω -6/ ω -3 es crucial a nivel nutricional. Esta ratio es clave para la síntesis equilibrada de eicosanoides en el cuerpo, debido a la competencia por la actividad de las desaturasas. El alto consumo de aceites vegetales ricos en ω -6 y el consumo relativamente bajo de alimentos marinos (como fuente de ω -3) incrementa la razón ω -6/ ω -3. Cuando un individuo tiene una dieta rica en ALA y bajo contenido de LA, el EPA y DHA en el tejido muscular aumentan debido a la competencia reducida para la Δ 6D. Se sugiere una relación 2:1 a 4:1.

2.1.5. Fuentes

Es constante la búsqueda de numerosas y nuevas fuentes de AA, EPA y otros ácidos grasos importantes ya que la eficiencia de conversión del LA en AA y también de ALA a DHA y EPA es baja en humanos. Las diversas fuentes incluyen seres acuáticos (peces, crustáceos y moluscos), animal (carne, huevo y leche), vegetal que incluyen 20 plantas, frutas, hierbas, y semillas; cianobacterias; y otros microorganismos (bacterias, hongos, microalgas, y diatomeas) (Abedi y Sahari 2014).

ALA se produce alimentos de origen vegetal como las nueces y semillas de lino, chía y cáñamo y aceites vegetales como aceite de soja, maíz, girasol y canola. EPA, DPA (ácido docosapentaenoico) y DHA se pueden encontrar en pescados grasos y mariscos (las mejores fuentes son salmón, sardinas, atún, arenque y trucha), en algas, en alimentos

fortificados como la leche de soja y los jugos, y en huevos de gallinas alimentadas con estos ácidos grasos (Vannice y Rasmussen 2014). Das (2006) menciona que un fuente de GLA son los aceites de onagra, borraja, grosella negra; semillas de cáñamo, algunos hongos y microalgas. El DGLA se encuentra en baja cantidad en la leche materna. Y el AA se encuentra en cantidades moderadas en la leche materna y de vaca, en carnes, yemas de huevo, algunas algas y en grandes cantidades en los camarones.

2.2. Gestación y lactancia

2.2.1. Importancia de la dieta

La nutrición y el metabolismo juegan un papel fundamental en la salud y bienestar de la madre, el feto y el desarrollo a largo plazo de este (Berti *et al.* 2016). La composición lipídica de la dieta y los depósitos de grasa durante la gestación y lactancia pueden afectar la naturaleza de los AG transferidos a través de la placenta y la leche materna (Mennitti *et al.* 2015) y la composición de AG de la descendencia (Oaks *et al.* 2017).

El excesivo consumo de algunos AGS puede interferir en la biodisponibilidad de otros AG, afectando el desarrollo del recién nacido. Se ha demostrado que el consumo de AGT durante el embarazo y la lactancia se asocia a la incorporación de AGT al cerebro de las crías de 21 días y disminuyendo significativamente el contenido de AGPI. La dieta a base de AGS y AGT durante estos periodos parece tener efecto en la programación fetal, modificando el metabolismo de lípidos y glucosa del feto (Mennitti *et al.* 2018). El valor de ácidos grasos libres (AGL) materno se ha relacionado de forma directa con el porcentaje de grasa, el IMC y el riesgo de la descendencia a tener sobrepeso. A futuro se pueden presentar diversos trastornos metabólicos como enfermedades cardiovasculares u obesidad (Mennitti *et al.* 2018). Los AGPI son importantes para el crecimiento y desarrollo del feto, ya que se incorporan a la célula y membranas de todos los tejidos. En esta etapa se relaciona principalmente al desarrollo cognitivo y visual del niño (Voortman *et al.* 2015). La influencia de los AG de la dieta sobre la composición de las membranas es fundamental. Está relacionada a la función celular y en la expresión de genes que codifican una variedad de proteínas involucradas en el metabolismo lipídico como peroxidasas, elongasas, desaturasas y el citocromo P-450. Estas alteraciones pueden estar relacionadas a

los cambios hormonales propios de estas etapas, sin embargo, la calidad de la dieta puede influir considerablemente. Incluso una ingesta inadecuada de AGPI ω -3 puede alterar la actividad de varias ATPasas unidas a la membrana y de la acetilcolinesterasa, afectando la función de los eritrocitos y produciendo desórdenes a nivel hepático (Levant *et al.* 2007).

2.2.2. Metabolismo de ácidos grasos

Se producen cambios en el metabolismo del tejido adiposo, el cual favorece la deposición de grasa durante la gestación y la movilización durante la lactancia. Se origina un aumento de la síntesis de grasa a mitad de la gestación, disminuye a término y se mantiene bajo durante la lactancia (Steingrimsdottir *et al.* 1980). El papel principal de la deposición de AG ayuda a garantizar la disponibilidad de AGPI en caso se produzcan ciertas condiciones como una restricción de alimentos (López-Soldado *et al.* 2017).

En estas etapas, se produce una estrecha coordinación entre el hígado y la glándula mamaria para sintetizar AGPICL en respuesta a la alta demanda del feto y del recién nacido. El comportamiento de cada tejido dependerá de la etapa en que se encuentre la madre (Sánchez González *et al.* 2017). Esto está relacionado al índice de masa corporal materna (IMC) y la ganancia de peso gestacional (GPG) de la madre (Berti *et al.* 2016).

La gestación es un estado dinámico, durante el cual la madre cambia de una condición anabólica durante la gestación temprana a un estado catabólico durante la gestación tardía, con diferencias cualitativas en sus requerimientos nutricionales (Berti *et al.* 2016). Durante los dos primeros trimestres de gestación, el cuerpo materno acumula grasa, mientras que en los últimos se produce el aumento de la actividad lipolítica en el tejido adiposo materno (Mennitti *et al.* 2015).

Los AG de la dieta y los AGPICL se transportan principalmente en la leche materna y en la sangre en forma de triglicéridos o fosfolípidos asociados con lipoproteínas. Durante la última mitad de la gestación se produce hiperlipidemia en la madre ya que aumenta la disponibilidad de los AGPI para transferencia placentaria. La presencia de receptores de lipoproteínas en la placenta permite la captación de los AGPI. En esta se expresan las enzimas lipoproteína lipasa, fosfolipasa A2 y lipasa intracelular, los AG son hidrolizados y

absorbidos. Luego son ressterificados e hidrolizados intracelularmente, facilitando su liberación para que le feto los use (Berti *et al.* 2016).

A consecuencia de la capacidad limitada del feto y la placenta humana para producir AGPICL, presumiblemente asociado también a patrones genéticos individuales, se sugiere que exista una transferencia preferencial materno-fetal. Los AG son liberados de los triglicéridos maternos por la lipasa endotelial en la superficie placentaria materna, en un proceso complejo ya que implica la unión del os AG a proteínas de membrana y proteínas de transporte citoplasmáticas. Los AG pueden esterificarse en la placenta y cruzar el tejido en cualquier dirección (Berti *et al.* 2016). El DHA presenta mayor afinidad a las proteínas de membrana sobre otros ácidos como LA (Koletzko *et al.* 2008).

Durante la lactancia, el feto está expuesto a los AG a través de su secreción en la leche materna. El tejido mamario lactante sintetiza AG intracelularmente de un suministro de sustratos extraídos o de lípidos del plasma materno. Los triglicéridos maternos llevados en quilomicrones y VLDL son la fuente principal. Los AGNE maternos, producidos a partir de triglicéridos en el tejido mamario por LPL, serán importantes en el estado de ayuno. Se forman gotas lipídicas en las células epiteliales mamarias y son secretadas en la leche por exocitosis o asociación con el plasma (Mennitti *et al.* 2015).

Cabe mencionar que la leche materna proporciona LA, ALA, DHA, AA y otros AGPICL a los lactantes. El nivel de AA es relativamente constante a nivel mundial mientras que el nivel de DHA es más variable y depende de la dieta y el estilo de vida de la madre (Koletzko *et al.* 2008).

2.3. Espirulina

2.3.1. Características

La espirulina es una cianobacteria filamentosas unicelular perteneciente a la familia *Spirulinaceae*, usualmente crece en las aguas alcalinas de África, Asia, Sudamérica y México (Hernández-Lepe *et al.* 2015). Es una de las microalgas destacadas por la

producción de AGPICL, compuestos fenólicos, compuestos volátiles, esteroides, proteínas, aminoácidos, péptidos, vitaminas, polisacáridos y diversos pigmentos (Andrade *et al.* 2018).

Diversos estudios demuestran que el uso de la espirulina tiene efectos beneficiosos en la salud humana. Efectos antioxidantes, antihipertensivos, inmunomoduladores, anticancerígenos, hepatoprotectores, y actividades anticoagulantes han sido atribuidos a péptidos derivados y compuestos obtenidos a partir de microalgas (Caporgno y Mathys 2018).

En el caso de estudios en animales, Teimouri *et al.* (2015) reportan que peces alimentados con *Spirulina platensis* presentaban porcentajes más bajos de ácidos grasos saturados y monoinsaturados y más altos de poliinsaturados. Se observó que la relación de ω -3/ ω -6 aumentó y los indicadores aterogénicos y trombogénicos disminuyeron significativamente. Por otro lado, en el caso de corderos, la suplementación con esta microalga produjo variaciones significativas en el crecimiento y conformación corporal. La composición de AGPI ω -3 y ω -6 aumentó en todos los tejidos y órganos significativamente (Kashani *et al.* 2015).

Spirulina platensis, es una de las microalgas más importantes, ha sido utilizada como alimento por su alto valor nutricional en los países de Asia y Asia Pacífico por mucho tiempo y está ganando importancia en Europa donde es una nueva tendencia (Yüçetepe y Öçelik 2016). Sin embargo su utilización o la producción de derivados de la misma no es competitiva. Esto debido a la falta de economía a escala para su cultivo y tratamiento, y por el nivel de preparación tecnológica que requiere. Se indica que una vez superados estos obstáculos, su uso como ingrediente alimentario aportaría beneficios a la salud y también mejoraría cuestiones relacionadas a sostenibilidad, considerando la creciente población, la dieta actual, los hábitos alimentarios y la salud (Caporgno y Mathys 2018).

2.3.2. Valor nutricional

La espirulina contiene numerosos componentes bioactivos de alto valor como proteínas, lípidos, carbohidratos, pigmentos, compuestos fenólicos, vitaminas y otros fitonutrientes (Yüçetepe y Öçelik 2016). En el Cuadro 1 se puede observar la composición básica.

Cuadro 1: Composición básica de *Spirulina platensis*

Nutriente	Composición (%)	Detalles
Proteínas	60-65	Aminoácidos esenciales: lisina, metionina, treonina, fenilalanina, isoleucina, leucina, triptófano y valina y 10 no esenciales: arginina, cisteína, ácido aspártico, glicina, ácido glutámico, prolina, serina, histidina, alanina y tirosina.
Carbohidratos	13.5-15	Glucosa, manosa, ramnosa, galactosa, xilosa y dos azúcares inusuales (2-O-metil-L- ramnosa y 3-O-metil-L ramnosa).
Lípidos	5-6	AGPI: ácido gamma linolénico, ácido linoleico, ácido estearidónico, EPA, DHA y AA.
Vitaminas	<1	Vitamina B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₆ , B ₉ , B ₁₂ , C, D y E.
Minerales	≈ 7	Minerales esenciales: calcio, potasio, cobre, cromo, magnesio, hierro, fósforo, magnesio, sodio, selenio y zinc.
Pigmentos	<1	Alfa y betacarotenos, xantófilas, equinenona, criptoxantina, zeaxantina y luteína, porfirina, clorofila, ficocianina, Phycoerythrin, phytonadione y tetrapyrrole
Humedad	6-13.5	-

FUENTE: Yüçetepe y Öçelik (2016)

La calidad de la proteína y de la grasa es bastante aceptable en comparación a otros alimentos de la dieta habitual, principalmente debido al elevado contenido de aminoácidos esenciales y a la concentración relativamente alta de ácidos grasos insaturados (Jiménez y Goñi 1999).

La proteína de las algas marinas es rica en glicina, arginina, alanina y ácido glutámico; en comparación con otras fuentes, es limitante en lisina y cisteína. Casas-Valdez *et al.* (2006) mencionan que contiene fenilalanina, tirosina, treonina y asparagina.

Kim (2011) afirma que el contenido de lípidos en las algas fluctúa entre 1 a 5% en b.s., siendo los lípidos neutros y glicolípidos los más abundantes. La proporción de ácidos grasos esenciales en algas es mayor que en plantas terrestres, sintetizan gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados bajo climas fríos entre los que destacan el EPA y DHA. Por otro lado, el contenido total de lípidos se eleva durante estaciones calurosas. Las algas marinas tienen una baja proporción ω -6/ ω -3, que debe ser menor a 10 según la FAO/OMS, y puede ser útil para reducir dicha relación. Los ω -3 de la dieta ayudan a reducir los riesgos de enfermedad cardíaca, disminuyen las lipoproteínas de baja densidad (LDL) sin reducción de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Mohamed *et al.* 2012).

La espirulina contiene vitaminas hidrosolubles y liposolubles. De las cuales destacan la vitamina C, A, E y B₁₂ que no se encuentra en muchas plantas terrestres (Kim 2011) y contiene retinol (Casas-Valdez *et al.* 2006).

Las algas tienen un buen contenido de K, Na, Mg, Ca y de elementos traza como el Fe, Cu y Zn. En su estudio, Friha *et al.* (2011) menciona que, en las algas verdes, las mayores concentraciones de macronutrientes correspondieron a Mg y Ca y las menores, a Na, Mg y K. Presentan una de las fuentes más importantes de Ca y P ya que mostraron contenidos más altos que los de manzanas, naranjas, zanahorias y papas. Estas plantas unicelulares contienen grandes cantidades de yodo en varias formas químicas (I, I², IO²⁻), que puede servir como un antioxidante, anti-bocio y agente anticáncer (Mohamed *et al.* 2012).

La composición nutricional de las microalgas depende de la forma de cultivo (natural o artificial), las condiciones (temperatura, luz, humedad) y la técnica de recolección. Renaud *et al.* (2002) mencionan que la temperatura es un factor determinante, entre 20 y 36°C, de acuerdo a la especie y a las características deseadas (contenido de proteínas, carbohidratos, ceniza, AGPI, lípidos, etc.). Por ejemplo, a altas temperaturas disminuye el contenido proteico, pero se estimula el de carbohidratos (De Oliveira *et al.* 1999). Por su parte,

Afriani *et al.* (2018) indican que la espirulina (*Spirulina platensis*) cultivada en fotobiorreactores bajo el control de la luz presenta mayor contenido de materia seca, carbohidratos, grasa y compuestos bioactivos (flavonoides, esteroides, fenoles y saponinas) en comparación a las no controladas.

2.3.3. Fuente de GLA

Uno de los AGE de la serie ω -6 es el GLA. Existen estudios que sugieren que la suplementación combinada de GLA y AGPICL ω -3 tiene una gran potencial para amortiguar efectos inflamatorios. El GLA mejora los procesos de β -oxidación de AG en hígado graso y facilita la reducción de peso por el aumento en la actividad de la pantoil carnitina y la intensificación de la oxidación β -peroxisomal. Es componente fisiológico de transportadores complejos internos o externos de las membranas celulares o de mitocondrias para la transmisión de señales en la red neuronal (Choopani *et al.* 2016).

El GLA juega un papel importante en el tratamiento diferentes patologías: aterosclerosis, normalizando la velocidad de la conducción nerviosa, regulando el flujo sanguíneo endoneural, eccema atópico, enfermedad de Parkinson, síndrome premenstrual, esclerosis múltiple, enfermedades coronarias, artritis y deficiencia de zinc (Choopani *et al.* 2016). Por ejemplo Dib y Carreau (1987) mencionan que en ratas gestantes, el GLA redujo la mortalidad de las crías, aumentó el tamaño medio de la camada, mantuvo el apetito durante dos tercios del período de gestación y ayudó a corregir algunos de los efectos biológicos de la deficiencia de zinc.

La espirulina es una fuente de GLA, este representa el 49 por ciento de los lípidos totales (Choopani *et al.* 2016) y su producción es menos costosa en comparación a otras fuentes.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

La fase experimental del trabajo se realizó en las instalaciones del Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA), Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Los análisis del perfil de ácidos grasos del hígado se llevaron a cabo en el Laboratorio de Bioquímica y Análisis Instrumental del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la UNALM. El experimento tuvo una duración de 50 días.

3.2. Producto a evaluar

La espirulina en polvo se obtuvo de un comercio local: THE ENVIRONMENT SOLUTIONS COMPANY S.A.C.- SUMAQPET. Producto elaborado a pequeña escala en canastillas verticales con un medio de cultivo hidropónico, bajo condiciones de invernadero en la ciudad de Lima, Perú.

Primero se determinó la composición química proximal (proteína total, grasa, fibra cruda y cenizas), de acuerdo al método estándar de la AOAC (2005), el cual se observa en el Cuadro 2.

Cuadro 2: Composición química de la espirulina (*Arthrospira platensis*)

Componentes	Contenido (g/100 g de espirulina)
Proteína total	60.76
Grasa	5.27
Fibra cruda	0.12
Cenizas	18.53

La espirulina presentó como componentes mayoritarios la proteína y las cenizas, con valores de 60.76g/100g y 18.53g/100g respectivamente; y como minoritarios la fibra cruda y la grasa, 0.12 g/100g y 5.27g/100g respectivamente.

Luego se determinó el contenido de ácidos grasos, siguiendo el método de la AOAC (2016), que se observa en el Cuadro 3.

Cuadro 3: Perfil de ácidos grasos de la espirulina (*Arthrospira platensis*)

Ácido graso	Valor (g/100g espirulina)	Porcentaje (%) del total de ácidos grasos
Ac. Cis 8-11, 14- Eicosatrienoico (C20:3 (ω -6))	0.020	0.42
Ac. Esteárico (C18:0)	0.051	1.06
Ac. Linoleico (C18:2 (ω 6 cis))	0.854	17.75
Ac. Linolenico (C18:3 (ω 3))	0.012	0.25
Ac. Mirístico (C14:0)	0.014	0.29
Ac. Miristoleico (C14:1)	0.019	0.40
Ac. Oleico (C18:1 (ω 9 cis))	0.069	1.43
Ac. Palmítico (C16:0)	1.758	36.55
Ac. Palmitoleico (C16:1)	0.300	6.24
Ac. γ - Linolenico (C18:3 (ω 6))	1.194	24.82
Total ω -9	0.070	1.46
Total ω -3	0.010	0.21
Total ω -6	2.070	43.04
TOTAL AGS	1.823	37.90
TOTAL AGMI	0.388	8.07
TOTAL AGPI	2.080	43.24

FUENTE: Ácidos grasos elaborado a partir de informe de ensayo N° 1-0522/18 (Anexo 1)

La espirulina presentó 8.07 por ciento de ácidos grasos saturados y 43.24 por ciento de ácidos grasos poliinsaturados, siendo los ácidos grasos ω -6 predominantes ya que constituyen el 43.04 por ciento del total de ácidos grasos. Los ácidos grasos más

abundantes fueron el ácido palmítico, el linoleico (AL) y el γ -linolénico (GLA); los cuales representan el 36.55 por ciento, 24.82 por ciento y 17.75 por ciento del total de ácidos grasos respectivamente. No se detectó presencia de DHA, EPA ni ARA en la muestra.

3.3. Animales y dietas

Se utilizaron 30 ratas hembras adultas *Holtzman* de 12 semanas de edad aproximadamente y 224.53 ± 14.99 gramos de peso, adquiridas en el bioterio de LENA. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en tres tratamientos:

- T1: 100% dieta estándar (control)
- T2: 95% dieta estándar + 5% espirulina
- T3: 90% dieta estándar + 10% espirulina

La dieta estándar fue una dieta isocalórica e isoproteica que contenía 18 gramos de proteína, 8.88 g de grasa y 73.12 gramos de carbohidratos por cada 100 gramos de peso seco; es preparada por el Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos (UNALM) y su composición se puede observar en el Anexo 2. No se hizo ninguna modificación en su composición y contenido nutricional, sólo se le adicionó la espirulina en la proporción indicada por tratamiento.

3.4. Manejo de la eutanasia y extracción de tejidos

El protocolo de eutanasia para ratas se realizó siguiendo los principios éticos de la Ley de Animales del Reino Unido (Procedimientos Científicos) de 1986 y las directrices asociadas de la Directiva de la Unión Europea para experimentos con animales (2010/63/UE).

Las ratas se mantuvieron en ayuno nocturno por 12 horas, luego fueron sacrificadas por dislocación cervical, previa anestesia utilizando una dosis de ketamina/xilacina (40-90 mg/kg y 10-15 mg/kg) por vía intraperitoneal (IP) con una aguja hipodérmica. Cuando las ratas ya no mostraron signos vitales, se procedió a retirar los tejidos.

3.5. Perfil de ácidos grasos en el hígado

Primero se realizó la extracción de la grasa (teniendo como base el método de Folch 1957), luego se procedió a la derivatización de los ácidos grasos del tejido graso y finalmente se hizo el análisis cromatográfico.

3.5.1. Extracción de grasa

Las muestras de tejidos se descongelaron en refrigeración (4°C) y se extrajo de cada hígado una muestra de 5 g. Dicha muestra se obtuvo de los lóbulos para evitar porciones de parénquima hepático. La muestra se colocó en un homogenizador con una mezcla de cloroformo y metanol (2:1), a una dilución final de 20 veces el volumen (ml) de la muestra de tejido (mg). El homogenizado se colocó en un tubo *Falcon* y se filtró, obteniéndose una solución de color amarillo. Se ajustó el volumen a 20 ml, se agregó 0.2 de una solución de cloruro de potasio (0.88 por ciento), se agitó y se dejó reposar hasta la separación de las fases. Se retiró la fase acuosa y se procedió a lavados sucesivos con soluciones puras de cloroformo-metanol y agua (en ese orden) hasta obtener la grasa.

3.5.2. Derivatización de ácidos grasos

Se colocó un gramo de grasa en un tubo agregándosele 3 ml de NaOH al 1 por ciento en metanol. Luego de colocar los tubos en baño maría a 80°C por 1 hora, se agregó 2 ml de BF₃ incubándose a la misma temperatura por 15 minutos. Se adicionaron 3ml de CH₂Cl₂ y se agitó en un tipo vórtex por 1 min. Se centrifugaron los tubos a 2000 rpm por 10 minutos, se separó el sobrenadante y se repitieron las operaciones desde la adición de CH₂Cl₂. Se separó el segundo sobrenadante, se juntaron los sedimentos de la primera y segunda centrifugación en una fiola de 10 ml, se llevaron a volumen con CH₂Cl₂ y se almacenaron a -80°C hasta su análisis.

3.5.3. Determinación de ácidos grasos por análisis Cromatográfico (GC-FID)

De la inyección:

Volumen de inyección: 1.00 µl

Volumen de jeringa: 10 µl

Lavado con solvente previo a la inyección: 5 veces

Lavado con solvente después de la inyección: 5 veces

Del horno:

Máxima temperatura de la columna: 250 °C

La programación: 100°C por 4 minutos, después 3°C/min hasta 240°C manteniéndose ahí por 25 minutos

Tiempo total del análisis: 75.667 minutos

Del puerto de inyección:

Modo: Split – 10:1

Temperatura: 225 °C

De la Columna:

J&W 59292-06, con código: Rt-2560 (250 °C: 100 m x 250 µm x 0.2 µm)

Flujo: 1.9 ml/min

Del Detector FID:

Temperatura: 250°C

Señal: 50Hz

3.6. Actividad enzimática en el hígado

Algunos de los ratios producto-precursor se utilizaron para hallar los índices sustitutivos de la actividad (González-Torres *et al.* 2017) de enzimas hepáticas.

- **Δ-6- elongasa - desaturasa:**
 - (a) Ácido docosahexaenoico/ácido linolénico (C22:6 ω-3/C18:3 ω-3)
 - (b) Ácido araquidónico/ácido linoleico (C20: 4 ω-6/C18:2 ω-6)
- **Stearyl-CoA:** Ácido palmitoleico/ácido palmítico (C16:1 n-7/C16:0)
- **Actividad de Oleoyl-CoA:** Ácido oleico/ácido esteárico (C18:1 n-9/C18:0)
- **Δ5D:** Ácido araquidónico/ácido eicosatrienoico (C20:4 ω-6/C20:3 ω-6)

- **Δ6D:** Ácido γ -linolénico/ácido linoleico (C18:3 ω -6/C18:2 ω -6)

3.7. Diseño experimental

El diseño experimental de la presente investigación consta de dos etapas: (a) estudio en ratas no gestantes y (b) experimento, las cuales se explican a continuación.

3.7.1. Estudio en ratas no gestantes

Se evaluó ratas no gestantes para tener información del efecto de consumo de la espirulina en ratas hembras en etapa reproductiva. Quince ratas se colocaron en jaulas individuales (21 x 17 x 24 cm), fueron asignadas aleatoriamente entre los tres tratamientos (n=5), se les suministró alimento y agua diariamente y a voluntad durante 40 días. Se registró diariamente el consumo de alimento (por diferencia de peso entre el alimento suministrado y el residual) y semanalmente el peso de las ratas, en ayunas. Las ratas fueron sacrificadas al final del estudio y se extrajo la grasa visceral y el hígado. Se pesó la grasa visceral y el hígado se pesó, se colocó en nitrógeno líquido y posteriormente se analizó su composición de ácidos grasos.

3.7.2. Experimento

El experimento se realizó en dos etapas. En la primera etapa, los animales se colocaron en jaulas metálicas (84 x 68 x 48 cm) en grupos de tres o cuatro con un macho adulto de la misma línea genética durante 10 días. En la segunda etapa de 40 días (21 a 24 días de gestación y hasta los 13 a 16 días de lactancia), los quince animales se colocaron en jaulas individuales y se asignaron al azar entre los tres tratamientos (n=5). Durante todo el experimento, el alimento y agua se suministraron diariamente y a voluntad. Y entre el quinto y cuarto día postparto, el tamaño de las camadas se homogenizó a seis crías.

Desde que los animales fueron asignados a un tratamiento, se registró diariamente el consumo de alimento. El peso de las ratas y de sus crías se registró semanalmente. Al término, las ratas fueron sacrificadas y se extrajo el hígado y la grasa visceral. Los hígados

se pesaron, se colocaron en nitrógeno líquido para el posterior análisis de ácidos grasos y se determinó la actividad de enzimática; se registró el peso de la grasa visceral.

3.8. Análisis estadístico

Todos los resultados se presentaron como promedio \pm desviación estándar (DE). Los datos fueron analizados bajo el diseño completamente al azar (DCA). El nivel de diferencia estadística fue pre establecido en un valor $p < 0.05$. La distribución normal de los datos se evaluó con la prueba Shapiro-Wilk y la prueba Levene. El efecto de los tratamientos se analizó con una ANOVA de una vía y las diferencias entre medias se estimaron usando el test de comparación múltiple de Tukey. Se aplicó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis cuando los datos no presentaron distribución normal. El análisis correspondiente se desarrolló utilizando el programa estadístico SAS 9.1.

$$Y_{ij} = \mu + D_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Valor estadístico de cada observación en cada unidad experimental

μ = Media general

D_i = Efecto del tratamiento D (Dieta).

$(\epsilon)_{ij}$ = Efecto aleatorio o error en la obtención de Y_{ij}

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Estudio en ratas no gestantes

El consumo de alimento (Cuadro 4) de las ratas se mantuvo constante durante las cinco semanas y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 4: Consumo semanal de alimento de ratas no gestantes (g)

Semana	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
1	17.49 ± 2.06 ^a	18.20 ± 0.19 ^a	18.69 ± 1.61 ^a
2	17.37 ± 1.08 ^a	18.69 ± 0.68 ^a	17.71 ± 2.95 ^a
3	17.28 ± 2.76 ^a	18.78 ± 0.44 ^a	18.03 ± 1.82 ^a
4	17.33 ± 1.40 ^a	18.73 ± 0.68 ^a	18.28 ± 1.89 ^a
5	18.32 ± 1.65 ^a	18.91 ± 0.69 ^a	18.81 ± 1.00 ^a

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Con respecto a la evolución del peso (Cuadro 5), el peso de las ratas aumentó semana a semana, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 5: Peso de ratas no gestantes (g)

Semana	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
1	243.50 ± 8.27 ^a	230.97 ± 7.02 ^a	221.89 ± 13.48 ^a
2	252.70 ± 12.57 ^a	250.60 ± 8.79 ^a	231.84 ± 17.09 ^a
3	260.95 ± 13.78 ^a	263.99 ± 0.48 ^a	253.92 ± 23.33 ^a
4	269.79 ± 15.47 ^a	268.84 ± 2.91 ^a	254.86 ± 21.19 ^a
5	275.33 ± 15.92 ^a	268.46 ± 4.28 ^a	260.44 ± 23.44 ^a

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

El consumo de espirulina no influyó significativamente en el peso del hígado de las ratas. Por otro lado, el peso de la grasa visceral fue significativamente diferente entre los tratamientos al 5 por ciento y 10 por ciento, siendo menor a mayor porcentaje de espirulina pero sin diferir ambos con el tratamiento control como se observa en el Cuadro 6.

Cuadro 6: Peso del hígado y grasa visceral de ratas no gestantes (g)

Peso (g/100 g de peso eutanasia)	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
Hígado	3.57 ± 0.62 ^a	3.48 ± 0.52 ^a	3.66 ± 0.24 ^a
Grasa visceral	2.76 ± 0.27 ^{ab}	3.20 ± 0.25 ^a	2.27 ± 0.46 ^b

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos.

El perfil hepático de ácidos grasos (Cuadro 7) reveló que los ácidos esteárico (C18:0) y araquidónico (C20:4) se presentaron en mayores concentraciones y los ácidos oleico (C18:1) y DHA (C22:6), en menores concentraciones.

Cuadro 7: Perfil de ácidos grasos en hígado de ratas no gestantes (g/100g hígado)

Ácido graso	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
C16:0	0.302 ± 0.015 ^a	0.366 ± 0.075 ^a	0.398 ± 0.073 ^a
C18:0	0.404 ± 0.071 ^a	0.454 ± 0.118 ^a	0.447 ± 0.146 ^a
C18:1	0.121 ± 0.006 ^a	0.137 ± 0.021 ^a	0.161 ± 0.045 ^a
C18:2	0.283 ± 0.014 ^a	0.273 ± 0.072 ^a	0.356 ± 0.108 ^a
C20:4	0.427 ± 0.071 ^a	0.474 ± 0.140 ^a	0.459 ± 0.146 ^a
C22:6	0.143 ± 0.016 ^a	0.150 ± 0.017 ^a	0.115 ± 0.034 ^a
w-3	0.143 ± 0.016 ^a	0.150 ± 0.017 ^a	0.115 ± 0.034 ^a
w-6	0.710 ± 0.044 ^a	0.747 ± 0.078 ^a	0.816 ± 0.090 ^a
w-9	0.121 ± 0.006 ^a	0.137 ± 0.021 ^a	0.161 ± 0.045 ^a
Saturados	0.705 ± 0.043^a	0.820 ± 0.096^a	0.844 ± 0.110^a
Monoinsaturados	0.121 ± 0.006^a	0.137 ± 0.021^a	0.161 ± 0.045^a
Poliinsaturados	0.852 ± 0.034^a	0.897 ± 0.076^a	0.931 ± 0.096^a

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos.

La suplementación con espirulina no modificó de forma significativa el contenido de ácidos grasos. Se observó que la concentración de ácidos ω -6 tiende a ser mayor a medida que aumenta el porcentaje de espirulina en la dieta, lo mismo para la concentración de ácidos grasos monoinsaturados y saturados.

4.2. Experimento

4.2.1. Consumo de alimento y evolución del peso de las ratas

El consumo de alimento fue incrementando semana a semana para todos los tratamientos. Los valores fueron cercanos hasta la semana tres, luego aumentaron en más de 10g en la semana cuatro y llegaron a ser más del doble en la semana cinco donde se registró los mayores valores como se puede observar en el Cuadro 8. Los datos siguen una tendencia similar al reportado en el estudio de Shirley (1984), donde la ingesta promedio de ratas *Sprague Dawley* gestantes es ligeramente mayor a 20g/día durante la gestación y como mínimo entre 30 a 35g/día durante la lactancia.

Cuadro 8: Consumo semanal de alimento (g)

Semana	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
1	17.10 ± 0.89 ^a	19.43 ± 2.04 ^a	21.14 ± 3.21 ^a
2	19.62 ± 0.71 ^b	21.29 ± 1.18 ^{ab}	24.19 ± 2.77 ^a
3	22.11 ± 2.26 ^a	22.19 ± 2.12 ^a	23.03 ± 2.73 ^b
4	33.80 ± 5.74 ^a	33.73 ± 3.42 ^a	38.00 ± 3.48 ^a
5	44.91 ± 2.08 ^a	46.43 ± 2.31 ^{ab}	47.18 ± 1.35 ^b

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos

Se registró que el consumo de alimento aumentó cuanto mayor fue el porcentaje de espirulina en la dieta cada semana. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en las semanas dos (segunda semana de gestación) y cinco (segunda semana de lactancia), en ambas fue entre las ratas del control y las que recibieron 10 por ciento de espirulina. Araújo *et al.* (2003) indican que el consumo de alimento puede aumentar a niveles de 5 por ciento y 10 por ciento, a pesar que lo esperado es que disminuya.

Zeinalian *et al.* (2017) y Castro-García *et al.* (2018) reportan que el consumo de 1g/día de espirulina en personas obsesas, disminuye significativamente el apetito y por tanto la ingesta de alimento. Por su parte, Yousefi *et al.* (2018) obtuvieron que el suministro de 2g/día de espirulina a individuos con sobrepeso y obesidad, redujo significativamente el apetito en comparación a los datos de consumo iniciales pero no hubo diferencia con los individuos que no la consumieron durante las 12 semanas. En el estudio en ratas no gestantes, no existieron diferencias significativas de consumo entre los tratamientos (Cuadro 4).

Es normal que durante la fase reproductiva haya un mayor consumo de alimento porque los requerimientos son mayores. En ratas, la reserva de energía aumenta durante la gestación por la acumulación de grasa y en la lactancia por hiperfagia. La ingesta de alimento aumenta de forma masiva pero los niveles plasmáticos de leptina disminuyen, se sugiere que su liberación se suprime durante la lactancia, produciendo una regulación positiva de los factores orexigénicos para una ingesta de energía adecuada para el desarrollo de las crías (Johnstone y Higuchi, 2001). Fujimoto *et al.* (2012) mencionan que la espirulina también produce la disminución de los niveles de leptina en el plasma, aplicada en ratones que recibieron 5 por ciento en la dieta. Esto podría explicar el mayor consumo de alimento en las ratas que recibieron suplementación con espirulina.

De igual manera se ha asociado el proceso de regulación del apetito con el contenido de fenilalanina en la espirulina. Willis (1982) menciona que la FDA evaluó la cantidad de este aminoácido en la microalga ya que se enfatizaba comercialmente su acción sobre el control del hambre en el hipotálamo, sin encontrarse en ese año suficiente evidencia sobre su seguridad y efectividad en el control del apetito. Sin embargo, Mazokopakis *et al.* (2014) aún sugieren que el contenido de fenilalanina puede ser el responsable en la regulación del apetito porque promueve la liberación de colecistoquinina (CCK) en el cerebro.

En la página siguiente, en el Cuadro 9, se puede observar el consumo de alimento en función al peso de las ratas y su tendencia en la Figura 3. El consumo se mantuvo constante las dos primeras semanas, disminuyó hacia la semana tres y aumentó hacia la semana cinco. En el Cuadro 8 no se observa esta disminución, la cual se puede producir

dos veces (al día 21 y el mismo día del parto) durante la última semana de gestación (Shirley 1984).

Cuadro 9: Consumo en función al peso (g/100g de peso)

Semana	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
1	7.51 ± 0.53 ^a	8.05 ± 1.28 ^a	8.75 ± 1.25 ^a
2	7.88 ± 0.59 ^a	8.17 ± 0.94 ^a	8.47 ± 1.01 ^a
3	7.47 ± 1.36 ^a	7.21 ± 1.42 ^a	7.32 ± 1.02 ^a
4	13.12 ± 3.01 ^a	12.43 ± 1.63 ^a	14.15 ± 1.12 ^a
5	16.29 ± 1.49 ^a	16.01 ± 1.45 ^a	16.50 ± 0.97 ^a

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

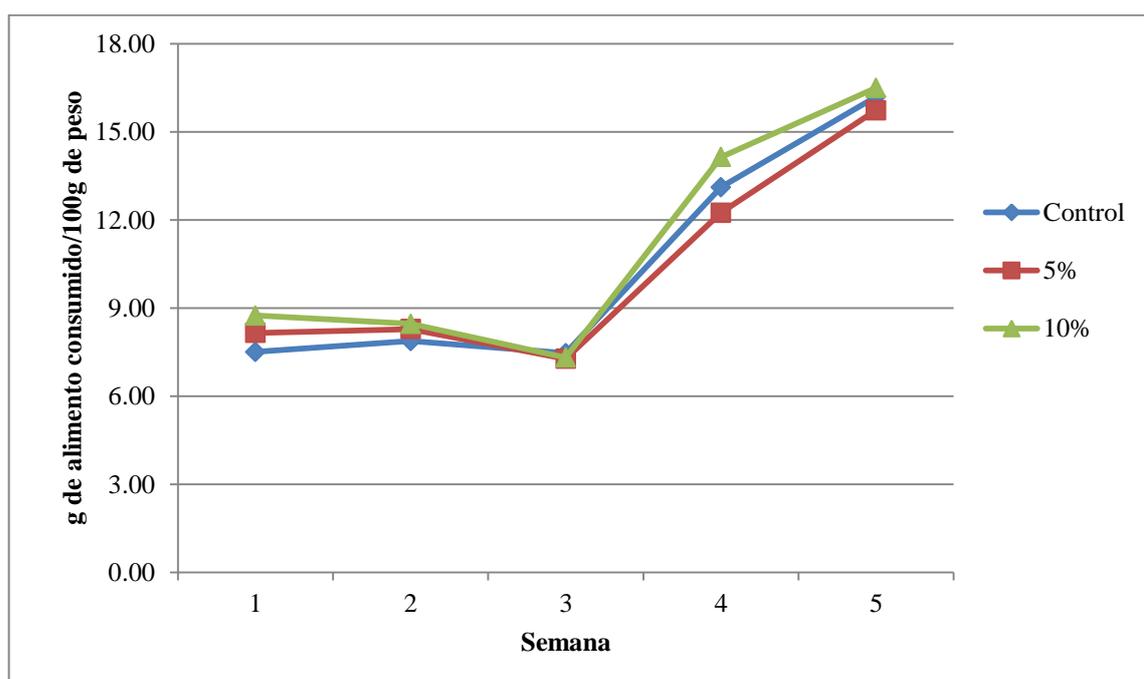


Figura 3: Consumo de alimento en función al peso

A diferencia de los datos del consumo semanal (Cuadro 8), aquí no se observan diferencias significativas entre los tratamientos en ninguna semana. Sin embargo, el consumo de las ratas que recibieron 10 por ciento sigue siendo mayor en comparación al control pero las de 5 por ciento es menor a partir de la semana tres en comparación al control.

Con respecto a la evolución del peso de las ratas, se observaron cambios propios del estado fisiológico en el que se encontraban los animales. El peso aumentó sustancialmente hacia la semana tres (última semana de gestación), luego disminuyó a un nivel similar al de la semana dos (después del parto) y finalmente incrementó nuevamente hacia la semana cinco durante la lactancia; sin observarse diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 10).

Cuadro 10: Evolución del peso de las ratas (g)

Semana	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
1	227.95 ± 8.01 ^a	243.26 ± 18.55 ^a	241.46 ± 11.04 ^a
2	249.74 ± 10.57 ^a	262.66 ± 22.42 ^a	272.41 ± 17.89 ^a
3	299.99 ± 32.49 ^a	313.72 ± 40.85 ^a	332.62 ± 33.11 ^a
4	260.49 ± 18.33 ^a	272.45 ± 13.25 ^a	268.70 ± 14.85 ^a
5	276.95 ± 20.82 ^a	291.06 ± 15.41 ^a	286.62 ± 16.08 ^a

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Bertolin *et al.* (2009) reportan que la administración de espirulina no influye sobre el peso. En el estudio en ratas no gestantes se observa el mismo resultado (Cuadro 5). En individuos que presentan algún desorden metabólico, la espirulina sí tiene efecto. Yousefi *et al.* (2018) mencionan que el peso corporal de individuos con sobrepeso u obesidad disminuye significativamente al consumir espirulina comparado con el grupo placebo. Miczke *et al.* (2016) indican que, en pacientes hipertensos, el consumo de 2g/día de espirulina reduce significativamente el peso corporal con respecto a los datos iniciales del estudio, pero no con el grupo placebo.

La ingesta de espirulina igualmente puede relacionarse con la ganancia de peso. Quedraogo *et al.* (2018) reportan que la alimentación de ratas suplementadas con espirulina durante un periodo de tres meses, dio como resultado un incremento del peso, asociando la espirulina con la recuperación nutricional independientemente de la dosis (10, 50, 100 mg/kg de peso corporal). No obstante, Mitchell *et al.* (1990) mencionan que hay diferencias significativas en el peso cuando el nivel de espirulina en la dieta es mayor a

10.7 por ciento. Y Araújo *et al.* (2003) indican que la ganancia por gramo de ración no fue diferente entre el control y los grupos que presentaron mayor consumo de espirulina.

4.2.2. Peso de las crías

El peso de las crías fue aumentando desde el nacimiento hasta el destete. Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos al nacimiento y durante el periodo de lactancia pero no al momento del destete (Cuadro 11). Al nacer, las crías del grupo al 10 por ciento tuvieron un peso significativamente mayor en comparación a los otros dos tratamientos. En las semanas de lactancia este tratamiento presentó diferencias significativas con el control y al final no se presentó diferencias significativas con los demás.

Cuadro 11: Peso de las crías (g)

	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
Nacimiento	6.17 ± 0.11 ^b	6.06 ± 0.26 ^b	6.95 ± 0.65 ^a
Primera semana de lactancia	13.27 ± 1.56 ^a	11.61 ± 1.49 ^{ab}	10.71 ± 1.50 ^b
Segunda semana de lactancia	19.67 ± 1.91 ^b	21.80 ± 2.09 ^a	22.01 ± 1.63 ^a
Destete	27.25 ± 2.66 ^a	29.50 ± 1.84 ^a	29.40 ± 1.27 ^a

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos

Salazar *et al.* (1996) indican que el consumo de diferentes porcentajes de espirulina (0, 10, 20 y 30 por ciento) en la dieta de la madre, no tuvo efecto significativo en el peso de las crías a lo largo del periodo de lactancia. No obstante, existe una correlación lineal entre los triglicéridos plasmáticos de la madre y el feto, la cual tiene una importante implicancia en el peso al nacer (Hapon *et al.* 2005); puede ser probable que al recibir mayor proporción de espirulina, y por ende más ácidos grasos, las crías del tratamiento al 10 por ciento presentaron mayor peso.

Zhu *et al.* (2019) reportan que los ácidos grasos poliinsaturados, especialmente el ácido araquidónico y el DHA, son importantes en las últimas semanas de embarazo (33 a 39 semanas) y el estado nutricional de la madre influye en el peso al nacer. Estos autores

mencionan que el total de ácidos grasos ω -3, en madres sin obesidad, se asocian a un peso al nacer 0.68 a 0.78 por ciento mayor y en madres con obesidad, 1.07 a 1.36 por ciento menor. Meher *et al.* (2016) obtuvieron que madres con niveles altos de ácidos ω -6 y bajos de ω -3 en eritrocitos maternos, niveles altos de ácido araquidónico entre la 26 a 30 semanas de gestación y altos niveles de ácidos grasos saturados darán a luz a niños con bajo peso.

Es importante señalar que la espirulina aportó principalmente ácidos ω -6 (ácido linoleico y γ -linolenico) y en el hígado se encontró principalmente ácidos ω -6, pudiéndose esperar crías con bajo peso al nacer. El aporte de ácido γ -linolenico que dio la espirulina podría explicar un mayor peso al nacer por sus efectos positivos en el periodo reproductivo (Castro-García *et al.* 2018) Por su parte, Mulhhausler y Ailiaud (2013) indican que la exposición del feto a dietas altas en ácidos ω -6 puede dar como resultado una progresiva acumulación de grasa en las crías y en las futuras generaciones, no se puede afirmar que la ganancia de peso no se deba a un mayor porcentaje de grasa en las crías. Según Molina *et al.* 2017, la exposición de las madres a dietas excedidas en ω -6 altera el desarrollo físico (peso y altura) y la vitalidad de los fetos.

Se debe tener en cuenta que la nutrición de la madre durante la lactancia puede determinar el peso futuro de la descendencia ya que la variación de la proteína materna y la ingesta total de alimentos se asocia con la disminución en las tasas de síntesis de proteínas en la glándula mamaria, influyendo con el contenido total de energía y composición de la leche (Passos *et al.* 2000). De la misma manera, el desequilibrio de ω -6/ ω -3 y el bajo contenido de DHA en los eritrocitos de la madre, da como resultado un suministro fetal restrictivo del ácido graso; pudiendo afectar negativamente el desarrollo fetal y causando posibles efectos negativos sobre el aprendizaje y las habilidades de memoria de los niños (Bascuñán *et al.* 2014).

4.2.3. Peso de los tejidos

Se obtuvieron diferencias significativas del peso del hígado entre el control y el tratamiento al 5 por ciento; y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para el peso de la grasa visceral como se observa en el Cuadro 12.

Cuadro 12: Peso de la grasa visceral y el hígado (g/100g peso)

Peso (g/100 g de peso eutanasia)	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
Hígado	4.66 ± 0.42 ^a	3.81 ± 0.50 ^b	4.10 ± 0.23 ^{ab}
Grasa visceral	1.93 ± 0.57 ^a	2.23 ± 0.47 ^a	2.30 ± 0.76 ^a

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

El peso del hígado puede tener una relación directamente proporcional con el contenido total de lípidos del individuo indica Soria *et al.* (2013). Así existe evidencia que el uso de espirulina en la dieta de ratones con síndrome metabólico, asocia la disminución del peso corporal con un peso de hígado menor (Fujimoto *et al.* 2012). Sin embargo, Sixabela *et al.* (2011) mencionan que el consumo la espirulina no retarda ni promueve el crecimiento de ningún órgano en las ratas.

Con respecto a la grasa, Sixabela *et al.* (2011) indican que ratas que recibieron 150mg/kg (baja dosis) de espirulina tuvieron significativamente mayor grasa visceral en comparación a los que recibieron una dosis alta de 1500 mg/kg, evidenciándose una relación entre el consumo de espirulina y la acumulación de grasa. En el presente estudio, el consumo de espirulina no influye en cantidad de grasa visceral pero sí se ven diferencias significativas entre los niveles en el estudio para ratas no gestantes (Cuadro 6). Mulhhauser y Ailiaud (2013) destacan que los ácidos ω -6 tienen propiedades proadipogénicas y evidencian que los roedores presentan mayor masa grasa cuando representan el 6 a 8 por ciento de la energía total de la dieta.

4.2.4. Perfil de ácidos grasos en el hígado

El perfil hepático de ácidos grasos (Cuadro 13) reveló que los ácidos esteárico (C18:0) y araquidónico (C20:4) se presentaron en mayores concentraciones y los ácidos oleico (C18:1) y DHA (C22:6), en menores concentraciones. La suplementación con espirulina modifica de forma significativa el contenido de los ácidos linoleico (C18:2), araquidónico, el total de ácidos ω -6, saturados y poliinsaturados; siendo el control significativamente menor que los otros dos tratamientos.

Cuadro 13: Perfil de ácidos grasos en el hígado (g/100g hígado)

Ácidos grasos	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
C16:0	0.312 ± 0.024 ^a	0.372 ± 0.047 ^a	0.353 ± 0.100 ^a
C18:0	0.325 ± 0.054 ^a	0.398 ± 0.024 ^a	0.487 ± 0.070 ^a
C18:1	0.182 ± 0.041 ^a	0.183 ± 0.017 ^a	0.182 ± 0.001 ^a
C18:2	0.261 ± 0.033 ^b	0.380 ± 0.037 ^a	0.367 ± 0.046 ^a
C20:4	0.285 ± 0.019 ^b	0.405 ± 0.018 ^{ab}	0.427 ± 0.097 ^a
C22:6	0.094 ± 0.011 ^a	0.068 ± 0.029 ^a	0.091 ± 0.018 ^a
w-3	0.094 ± 0.011 ^a	0.068 ± 0.029 ^a	0.091 ± 0.046 ^a
w-6	0.475 ± 0.015 ^b	0.785 ± 0.024 ^a	0.794 ± 0.057 ^a
w-9	0.182 ± 0.041 ^a	0.183 ± 0.017 ^a	0.182 ± 0.001 ^a
Saturados	0.637 ± 0.039^b	0.770 ± 0.030^a	0.840 ± 0.080^a
Monoinsaturados	0.182 ± 0.041^a	0.183 ± 0.017^a	0.182 ± 0.001^a
Poliinsaturados	0.568 ± 0.021^b	0.852 ± 0.028^a	0.885 ± 0.054^a

^{a-b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

La predominancia de los ácidos ω -6 en el hígado puede deberse a que representan el 43.04 por ciento de ácidos grasos totales de la espirulina. Sin embargo Torres-Durán *et al.* (2006) mencionan que no se observó una modificación significativa del perfil hepático de ácidos grasos de ratas *Wistar* macho suplementadas con 5 por ciento de *Spirulina maxima* que contenía 41 por ciento de ácidos grasos insaturados del total de ácidos grasos. Estos autores argumentan que el tiempo de alimentación fue muy corto (una semana) pero sí se observó un efecto hepatoprotector (capacidad antioxidante y baja desaturación de ácidos

grasos) y la disminución del nivel de triglicéridos. De la misma manera, no se observaron diferencias significativas en el perfil hepático en el estudio de las ratas no gestantes. Por su parte Boiago *et al.* (2019) utiliza diferentes porcentajes de espirulina (0, 5, 10 y 15 por ciento) en las dietas de codornices para mejorar la calidad de sus huevos, indicando que aumenta la concentración de ácidos grasos monoinsaturados, disminuye el contenido de ácidos grasos saturados pero también reduciendo los ácidos grasos ω -3. En el presente estudio la concentración de ácidos monoinsaturados se mantuvo estable, no disminuyeron los ácidos ω -3 y los saturados aumentaron a mayor porcentaje de espirulina, esto último puede relacionarse a la cantidad de grasa que aporta la espirulina.

La espirulina tiene en su mayoría ácido γ -linolenico y linoleico, el primero es de gran importancia por sus propiedades antiinflamatorias y porque promueve la beta-oxidación (Choopani *et al.* 2016). Quoc y Pascaud (1996) reportan que dietas ricas en γ -linolenico, aplicadas por seis semanas a ratones machos, tienen un efecto directo sobre la concentración de ácido araquidónico; manteniéndola estable y mostrando su resistencia al cambio en los fosfolípidos del hígado, aorta y eritrocito. No obstante, en el Cuadro 13 se observa que el contenido de ácido araquidónico aumentó con la suplementación de espirulina.

Vieira de Melo *et al.* (2015) mencionan que las diferencias en las concentraciones de ácidos grasos en el hígado depende del total de lípidos de la dieta, y no solamente el contenido de ácidos grasos del alimento o sustancia a evaluación, del comportamiento metabólico del ácido graso y su destino final.

4.2.5. Actividad enzimática en el hígado

De acuerdo a los resultados del perfil de ácidos grasos, se pudo calcular la actividad de las enzimas Δ -6-elongasa-desaturasa (ratio C20:4/C18:2) y Oleyl-Coa (ratio C18:1/C18:0) como se puede ver en el Cuadro 14. No se observaron diferencias significativas en la actividad enzimática de ambas enzimas entre los tratamientos. Jacobi *et al.* (2011) indican que el ácido araquidónico es uno de los ácidos grasos en la dieta que regula la vía desaturasa-elongasa de manera específica en el hígado, teniendo modestos efectos sobre el flujo de los ácidos grasos ω -6.

Cuadro 14: Actividad enzimática en el hígado

Enzima	Grupo		
	Control	5% espirulina	10% espirulina
Oleoyl-CoA	0.577 ± 0.186 ^a	0.461 ± 0.046 ^a	0.431 ± 0.113 ^a
Δ-6-elongasa-desaturasa	1.107 ± 0.164 ^a	1.064 ± 0.064 ^a	1.156 ± 0.167 ^a

^{a,b}: Letras diferentes entre los valores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

A pesar que en el presente estudio la dieta no es rica en ácido araquidónico, lo es en ácido linoleico y γ -linolenico, ácidos grasos que pertenecen a la misma vía metabólica. Según Christiansen *et al.* (1991) las dietas ricas en ácido linoleico aumentan la actividad enzimática en 2 a 2.5 veces, lo usa como sustrato ayudado del alto contenido de lípidos de la fuente.

González-Torres *et al.* (2017) reportan ratios de 1.90 y 3.04, en ratas alimentadas con espirulina y glucomanano, para Δ-6-elongasa-desaturasa y Oleoyl-CoA respectivamente. En la presente investigación, la ratio de la Δ-6-elongasa-desaturasa es más bajo, se pudo producir una inhibición parcial de la transformación de ácido linolenico a EPA y DHA y/o ácido linoleico a araquidónico como resultado de un mecanismo protector para evitar exceso de ácidos grasos peroxidables y oxisteroles en el hígado. Por otro lado, la actividad enzimática de Oleoyl-CoA va a depender de la composición de grasa hepática total y su valor derivado de la fracción de ácidos grasos debe tomarse con cautela (González-Torres *et al.* 2017).

V. CONCLUSIONES

Según las condiciones en que se desarrolló la investigación se concluye que:

1. La suplementación de la dieta con espirulina aumenta ($p < 0.05$) la concentración hepática de los ácidos linoleico y araquidónico y el contenido total de ácidos ω -6, ácidos saturados y poliinsaturados.
2. El consumo de espirulina no influye en la actividad enzimática de la Δ -6-elongasa-desaturasa ni de la Oleyl-Coa en el hígado.
3. El 5 por ciento de espirulina en la dieta disminuye ($p < 0.05$) el peso del hígado, sin influir en el peso de la grasa visceral.
4. Las crías del tratamiento al 10 por ciento de espirulina tuvieron un peso al nacer mayor ($p < 0.05$) en comparación a los otros tratamientos.
5. El consumo semanal de alimento en la segunda semana de gestación y lactancia aumenta ($p < 0.05$) en ratas suplementadas al 10 por ciento con espirulina sin influir en su peso.

VI. RECOMENDACIONES

A partir de los resultados obtenidos, se recomienda lo siguiente:

1. Evaluar si la espirulina influye en otras características de la descendencia, tanto al nacer como en su etapa adulta.
2. Evaluar el efecto de la suplementación con espirulina en individuos con otras condiciones: obesidad, sobrepeso, desnutrición, entre otros.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEDI, E; SAHARI, MA. 2014. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Science & Nutrition* 2(5):443-63.

AFRIANI S, UJU, SETYANINGSIH I. 2018. Komposisi kimia *Spirulina platensis* yang dikultivasi dalam fotobioreaktor dengan fotoperiode berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(3): 471-479.

ANDRADE, LM; ANDRADE, CJ; DIAS, M; NASCIMENTO, CAO; MENDES, MA. 2018. Chlorella and Spirulina Microalgae as Sources of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements; an Overview. *MOJ Food Process Technol* 6(1): 45-58.

AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th Ed. AOAC International.

AOAC. 2016. AOAC-996.06, C41: Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods Hydrolytic Extract Extraction Gas Chromatographic Method. 20thEd. AOAC International.

ARAÚJO, K; FACCHINETTI, A; SANTOS, C. 2003. Influência da ingestão de iomassas de *Spirulina* (*Arthrospira* sp.) sobre o peso corporal e consumo de ração em ratos. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. 23(1): 6-9.

BASCUÑÁN, KA; VALENZUELA, R; CHAMORRO, R; VALENCIA, A; BARRERA, C; PUIGRREDON, C; SANDOVAL, J; VALENZUELA, A. 2014. Polyunsaturated Fatty Acid Composition of Maternal Diet and Erythrocyte Phospholipid Status in Chilean Pregnant Women. *Nutrients* 2014 (6): 4918-4934.

BERTI, C; CETIN, I; AGOSTONI, C; DESOYE, G; DEVLIEGER, R; EMMETT, PM; ENSENAUER, R; HAUNER, H; HERRERA, E; HOESLI, I; KRAUSS-ETSCHMANN, S; OLSEN, SF; SCHAEFER-GRAF, U; SCHIESSL, B; SYMONDS, E; KOLETZKO, B. 2016. Pregnancy and infants' outcome: nutritional and metabolic implications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56 (1): 82-91.

BERTOLIN, TE; PILATTI, D; GIACOMINI, VENDRAMETTO VARRONE, AC; BAVARESCO, CS; COLLA, LM; COSTA VIEIRA, JA. 2009. Effect of microalga *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) on hippocampus lipoperoxidation and lipid profile in rats with induced hypercholesterolemia. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52(5):1253-1259.

BOIAGO, MM; DILKIN, JD; KOLM, MA; BARRETA, M; SOUZA, CF; BALDISSERA, MD; DOS SANTOS, ID; WAGNER, R; TAVERNARI, FC; DA SILVA, MLB; ZAMPAR, A; STIVANIN, TE; DA SILVA, AS. 2019. *Spirulina platensis* in Japanese quail feeding alters fatty acid profiles and improves egg quality: Benefits to consumers. *Journal of Food Biochemistry* 2019:1-9.

CALDER, PC. 2015. Functional Roles of Fatty Acids and Their Effects on Human Health. *Journal of parenteral and enteral nutrition* 39 (1):18S-32S.

CAPORGNO, MP; MATHYS, A. 2018. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. *Frontiers in Nutrition* 5 (58):1-10.

CASAS-VÁLDEZ, M; HERNÁNDEZ-CONTRERAS, H; MARÍN-ÁLVAREZ, A; AGUILA-RAMIREZ, RN; HERNÁNDEZ-GUERRERO, CJ; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, I; CARRILLO-DOMÍNGUEZ, S. 2006. El alga marina *Sargassum* (*Sargassaceae*): una alternativa tropical para la alimentación de ganado caprino. *Rev. Biol. Trop.* 54 (1): 83-92.

CASTRO-GARCÍA, SZ; CHAMORRO-CEVALLOS, G; QUEVEDO-CORONA, L; MCCARTY, MF; BOBADILLA-LUGO, RA. 2018. Beneficial effects of phycobiliproteins from *Spirulina maxima* in a preeclampsia model. *Life Sciences* 211: 17-24.

CASTRO-GONZÁLEZ, MI. 2002. Ácidos grasos omega 3: beneficios y Fuentes. *Interciencia* 27 (3): 128-136.

CHOO PANI, A; POORSOLTA, M; FAZILATI, M; LATIFI, AM; SALAVATI, H. 2016. *Spirulina*: A Source of Gamma-linoleic Acid and Its Applications. *Journal of Applied Biotechnology Reports* 3 (4): 483-488.

CHRISTIANSEN, EN; LUND, JS; RØRTVERT, T; RUSTAN, AC. 1991. Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on fatty acid desaturation in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1082 (1991) 57-62.

DAS, U. 2006. Essential Fatty Acids - A Review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2006, 7, 467-482.

DE OLIVEIRA, M; MONTEIRO, M; ROBBS, P; LEITE, S. 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperaturas. *Aquaculture International* 7: 261–275.

DIB, A; CARREAU, SP. 1987. Effects of Gamma-Linolenic Acid Supplementation on Pregnant Rats Fed a Zinc-Deficient Diet. *Ann. Nutr. Metab.* 31: 312-319

EL-RAHMAN, GIA. 2018. Evaluation the Efficacy of Combined Mixture of *Spirulina Platensis* and Cinnamon Extracts in Overweight Rats Fed on a Fatty Diet. *Life Science* 15(7): 37-46

FAO. 1997. Grasas y aceites en la nutrición humana (en línea). Roma, Italia, FAO/OMS.

Consultado el 8 oct. 2017. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/V4700S/v4700s00.htm#Contents>

FAO. 2010. Fats and fatty acids in human nutrition. Roma, Italia, FAO. Consultado el 7 oct. 2018. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i1953e.pdf>.

FOLCH J, LEES M, SLOANE-STANLEY G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 226(1):497–509.

FRIHA, F; KAMMOUN, M; HAMMAMI, N; MICHIRGUI, RA; BELBOHRI, L; GARGOURI, Y; MILED, N; BEN-REBAH, F. 2011. Chemical composition and some biological activities of marine algae collected in Tunisia. *Marine Science* 37 (2): 113–124.

FUJIMOTO, M; TSUNEYAMA, K; FUJIMOTO, T; SELMI, C; GERSHWIN, ME; SHIMADA, Y. 2012. Spirulina improves non-alcoholic steatohepatitis, visceral fat macrophage aggregation, and serum leptin in a mouse model of metabolic syndrome. *Digestive and Liver Disease* 44 (2012) 767– 774.

GONZÁLEZ-TORRES, L; MATOS, C; VÁZQUEZ-VELASCO, M; SANTOS-LÓPEZ, JÁ; SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, I; GARCÍA-FERNÁNDEZ, C; BASTIDA, S; BENEDÍ, J; SÁNCHEZ-MUNIZ, FJ. 2017. Glucomannan- and glucomannan plus spirulina enriched pork affect liver fatty acid profile, LDL receptor expression and antioxidant status in Zucker fa/fa rats fed atherogenic diets *Food & Nutrition Research*, 61:1 -15.

HAPON, MB; VARAS, SM; JAHN, GA; GIMÉNEZ, MS. 2005. Effects of hypothyroidism on mammary and liver lipid metabolism in virgin and late-pregnant rats. *Journal of Lipid Research* 46: 1320-1330.

HERNÁNDEZ-LEPE, MA; WALL-MEDRANO, A; JUÁREZ-OROPEZA, MA; RAMOS-JÍMENEZ, A; HERNÁNDEZ-TORRES, RP. 2015. Spirulina y su efecto

hipolipemiante y antioxidante en humanos: una revisión sistemática. *Nutrición Hospitalaria* 32(2):494-500.

HOYOS, SM; ROSALES, CV. 2014. Lípidos: características y su metabolismo. *Revista de Actualización Clínica* 41: 2142-2145.

JACOBI, S; LIZ, X; CORL, BA; HESS, HA; HARRELL, RJ; ODLE, J. 2011. Dietary Arachidonate Differentially Alters Desaturase-Elongase Pathway Flux and Gene Expression in Liver and Intestine of Suckling Pigs. *J Nutr.* 141(4):548-553.

JIMÉNEZ, EA; GOÑI, CI. 1999. Evaluación nutricional y efectos fisiológicos de macroalgas marinas comestibles. *Archivos latinoamericanos de nutrición* 49 (2): 114-120.

JOHNSTONE, L; HIGUCHI, T. 2001. Chapter 15: Food intake and leptin during pregnancy and lactation. *Progress in brain research* 133: 215-227.

KASHAMI, A; BEHRENS HOLMAN, BW; NICHOLS, PD; OTHNIEL MALAU-ADULI, AE. 2015. Effect of level of *Spirulina* supplementation on the fatty acid compositions of adipose, muscle, heart, kidney and liver tissues in Australian dual-purpose lambs. *Ann. Anim. Sci.* 15 (4): 945–960.

KIM, SK. 2011. *Marine Medicinal Foods: Implications and Applications, Macro and Microalgae.* San Diego, USA, Elsevier. 466p

KOLETZKO, B; LIEN, E; AGOSTONI, C; BÖHLES, H; CAMPOY, C; CETIN, I; DECSI, T; DUDENHAUSEN, JW; DUPONT, C; FORSYTH, S; HOESLI, I; HOLZGREVE, W; LAPILLONNE, A; PUTET, G; SECHER, NJ; SYMONDS, M; SZAJEWSKA, H; WILLATTS, P; UAUY, R; 2008. The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *Journal Perinatal Medicine* 36 (1):5-14.

LEVANT, B; OZIAS, MK; CARLSON, SE. 2007. Diet (n-3) polyunsaturated fatty acid content and parity affect liver and erythrocyte phospholipid fatty acid composition in female rats. *The Journal of Nutrition* 137(11):2425-30.

LÓPEZ-SOLDADO, I; ORTEGA-SENOVILLA, H; HERRERA, E. 2017. Maternal adipose tissue becomes a source of fatty acids for the fetus in fasted pregnant rats given diets with different fatty acid compositions. *European Journal of Nutrition* 10: 1-12.

MAZOKOPAKIS, EE; STARAKIS, IK; PAPADOMANOLAKI, MG; MAVROEIDI, NG; GANOTAKIS, ES. 2014. The hypolipidaemic effects of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) supplementation in a Cretan population: a prospective study. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94(3): 432-437.

MEHER, A; RANDHIR, K; MEHENDALE, S; WAGH, G; JOSHI, S. 2016. Maternal Fatty Acids and Their Association with Birth Outcome: A Prospective Study. *PLoS One* 11 (1): 1-14.

MENNITTI, LV; OLIVEIRA, JL; MORAIS, CA; ESTADELLA, D; OYAMA, LM; OLLER DO NASCIMENTO, CM; PISANI, LP. 2015. Type of fatty acids in maternal diets during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. *Journal of Nutritional Biochemistry* 26(2): 99-111.

MENNITTI, LV; OYAMA, LM; SANTAMARINA, AB; NASCIMENTO OD; PISANI, LP. 2018. Influence of maternal consumption of different types of fatty acids during pregnancy and lactation on lipid and glucose metabolism of the 21-day-old male offspring in rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 135:54-62.

MICZKE, A; SZULINSKA, M; HANSDORFER-KORZON, R; KRĘGIELSKA-NAROZNA; SULIBURSKA, J; WALKOWIAK, J; BOGDANSKI, P. 2016. Effects of spirulina consumption on body weight, blood pressure, and endothelial function in overweight hypertensive Caucasians: a doubleblind, placebo-controlled, randomized trial. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2016, 20: 150-156.

MITCHELL, GV; GRUNDEL, E; JENKINS, M; BLAKELY, SR. Effects of graded dietary levels of Spirulina on vitamins A and E in male rats. *J. Nutrition, Philadelphia* 120 (10):1235 – 1240.

MOHAMED, S; HASHIM, SN; RAHMAN, HA. 2012. Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science & Technology* 23: 83-96.

MOLINA, RE; SOLÍS, MR; BIANCONI, S; STUTZ, G; SANTILLAN, ME. 2017. El tiempo de exposición de las madres a dietas excedidas en ω -6 afecta diferencialmente el desarrollo intragestación de ratón. *Jornada de Investigación científica XVIII. Cordova, Argentina, UNC. Consultado el 8 ago. 2019. Disponible en <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/med/article/view/17864>*

MUHLHAUSLER, BS; AILHAUD, GP.2013. Omega-6 polyunsaturated fatty acids and the early origins of obesity. *Curr Opin Endocrinal Diabetes Obes* 20(1): 56-61.

MWAU, MPJ; BÁZAR G; TÓTH, T. 2018. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on milk production: review on health effects and cow milk characteristics. *Acta Agraria Kaposvá Riensis* 22 (1): 1- 13.

NGUYEN, Q; MALAU-ADULI, BS; CAVALIERI, J;MALAU-ADULI, A; NICHOLS, PD. 2019. Enhancing Omega-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid Content of Dairy-Derived Foods for Human Consumption. *Nutrients* 11 (4): 743-766.

OAKS, BM; YOUNG, RR; ADU-AFARWUAH, S; ASHORN , U; JACKSON , KH; LARTEY , A; MALETA, K; OKRONIPA H², SADALAKI , J; BALDIVIEZ, LM; SHAHAB-FERDOWS, S; ASHORN, P; DEWEY , KG. 2017. Effects of a lipid-based nutrient supplement during pregnancy and lactation on maternal plasma fatty acid status and lipid profile: Results of two randomized controlled trials. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 117: 28-35.

OUEGRAOGO, M; GOZE, BN; BLÉYÉRÉ, MN; YAPO, PA. 2018. SPIRULINE on Growth and Hematological Parameters of Rats. *Journal of Medical Practice and Review* 2018 2 (10): 318-325.

PASSOS, MCF; RAMOS, CF; MOURA, EG. 2000. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. *Nutrition Research* 20(2): 1603-1612.

QUOC, KP; PASCAUD, M. 1996. Effects of dietary gamma-linolenic acid on the tissue phospholipid fatty acid composition and the synthesis of eicosanoids in rats. *Ann Nutr Metab.* 40(2):99-108.

RENAUD, SM; THINH, L; LAMBRINIDIS, G; PARRY, DL. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* 211 (2002) 195–214.

RODRÍGUEZ-CRUZ, M; TOVAR, AR; DEL PRADO, M; TORRES, N. 2005. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de Investigación Clínica* 57 (3): 457-472.

SALAZAR, M; CHAMORRO, GA; SALAZAR, S; STEELE,CE. 1996. Effect of *Spirulina maxima* Consumption on Reproduction and Peri- and Postnatal Development in Rats. *Food and Chemical Toxicology* 34 (1996): 353-359.

SÁNCHEZ GONZÁLEZ, R; RODRIGUEZ-CRUZ, M; MALDONADO, J; SAAVEDRA, FJ. 2017. Role of maternal tissue in the synthesis of polyunsaturated fatty acids in response to a lipid-deficient diet during pregnancy and lactation in rats. *Gene* 549: 7–23.

SHIRLEY, B. 1984. The food intake of rats during pregnancy and lactation. *Laboratory Animal Science* 32(2): 169-172.

SIVA KIRAN, RR; MADHU, GM; SATYANARAYANA, SV. 2015. Spirulina in combating Protein Energy Malnutrition (PEM) and Protein Energy Wasting (PEW) - A review. *J Nut Res* 3(1): 62-79.

SIXABELA, PSS; CHIVANDI, E; BADENHORST, M; ERLWANGER, KW. 2011. The effects of dietary supplementation with *Spirulina platensis* in Growing Rats. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 2011: 1-9.

SORIA, A; BOCOS, C; HERRERA, E. 2002. Opposite metabolic response to fenofibrate treatment in pregnant and virgin rats. *Journal of Lipid Research* 43: 74-81.

SORIANO DEL CASTILLO, JM. 2006. *Nutrición básica humana*. Valencia, España, Universitat de València. 429p.

STEINGRIMSDOTTIR, L; BRASEL, JA; GREENWOOD, MRC. 1980. Diet, Pregnancy, and Lactation: Effects on Adipose Tissue, Lipoprotein Lipase, and Fat Cell Size. *Metabolism*, Vol. 29, No. 9. September: 837-841.

TEIMOURI, M; YEGANEH, S; AMIRKOLAIE, AK. 2015. The effects of *Spirulina platensis* meal on proximate composition, fatty acid profile and lipid peroxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. *Aquaculture Nutrition* 22(6): 559-566.

TORRES-DURÁN, PV; PAREDES-CARBAJAL, C; MASCHER, D; ZAMORA-GONZÁLEZ, J; DÍAZ-ZAGOYA, JC; JUÁREZ-OROPEZA, MA. 2006. Protective Effect of *Arthrospira maxima* on Fatty Acid Composition in Fatty Liver. *Archives of Medical Research* 37 (2006): 479-483.

VALENZUELA, R; MORALES, G; GONZÁLEZ, M; MORALES, J; SANHUEZA, J; VALENZUELA, A. 2014. Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga ω -3 y enfermedad cardiovascular. *Revista Chilena de Nutrición* 41(5): 319-327.

VANNICE, G; RASMUSSEN, H. 2014. Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 114(1):136-53.

VENTOSO, B. 2017. Efectos de los ácidos grasos omega 3 en terapia cardiovascular. Alicante, España. Editorial Área de Innovación y Desarrollo. 62p.

VIEIRA DE MELO, I; ATAIDE, T; LIMA DE OLIVEIRA, S; BEZERRA, N; DUARTE DE FREITAS, J; GOULART, A. 2015. Hepatic fatty acid profile of rats fed a triheptanoin-based ketogenic diet. *Nutr Hosp.* 32(1):265-269.

VOORTMAN, T; VAN DEN HOOVEN, EH; BRAUN, KVE; DEN BROEK, M; BRAMER, WM; CHOWDHURRY, R; FRANCO, OH. 2015. Effects of polyunsaturated fatty acid intake and status during pregnancy, lactation, and early childhood on cardiometabolic health: A systematic review. *Progress in Lipid Research* 59: 67-87.

WILLIS, J. 1982. About body wraps, pills and other magic wands for losing weight. FDA Consumer, Washington, v. 16, U. S. Food and Drug Administration. November.

YOUSEFI, R; MOTTAGHI, A; SAIDPOUR, A. 2018. Spirulina Platensis effectively ameliorates anthropometric measurements and obesity-related metabolic disorders in obese or overweight healthy individuals: A randomized controlled trial, *Complementary Therapies in Medicine* 40: 106-112.

YÜCETEPE, A; ÖÇELİK, B. 2016. Bioactive Peptides Isolated from Microalgae *Spirulina platensis* and their Biofunctional Activities. *Akademik Gıda* 14(4): 412-417.

ZEINALIAN, R; ABBASALIZAD FARHANGI, M; SHARIAT, A; SAGHAFI-ASL, M. 2017. The effects of Spirulina Platensis on anthropometric indices, appetite, lipid profile and serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in obese individuals: a randomized

double blinded placebo controlled trial. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 17(225): 1-8.

ZHU, Y; LI, M; HINKLE, S; SUN, Q; WU, J; RAHMAN, M; TSAI, M; ZHANG, C. 2019. Plasma Phospholipid Polyunsaturated Fatty Acids Across Pregnancy in Relation to Neonatal Size and Adiposity: A Longitudinal Study Within the NICHD Fetal Growth Studies (P11-038-19). *Maternal Perinatal and Pediatric Nutrition* 3(7): 999.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1. Informe de ensayo N° 1-05221/18



INFORME DE ENSAYO N° 1-05221/18

Pág. 1/2

Solicitante : FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO
 Domicilio legal : Jr. Camilo Carrillo 325 - Jesús María - Lima
 Producto declarado : HARINA DE ALGAS
 Cantidad de Muestras para el Ensayo : 1 muestra x 500 g
 Muestra proporcionada por el solicitante
 Forma de Presentación : En bolsa ziplock, cerrada y conservada a temperatura ambiente
 Fecha de recepción : 2018 - 06 - 06
 Fecha de inicio del ensayo : 2018 - 06 - 06
 Fecha de término del ensayo : 2018 - 06 - 22
 Ensayo realizado en : Laboratorio de Físico Química - Cromatografía
 Identificado con : H/S 18006199 (EXAI-08764-2018)
 Validez del documento : Este documento es válido solo para las muestras descritas

Análisis Físico Químico:

Ensayo	Unidad	Resultado	Desviación estándar (%)
Grasa	g/100 g	4,81	0,04

Análisis Cromatografía-GC:

Ensayo	LC	Unidad	Resultados
Ac. Araquidónico(C20:0)	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014
Ac. Araquidónico(C20:4 (W 6))	0,006	g/100 g de muestra	< 0,006
Ac. Behénico(C22:0)	0,019	g/100 g de muestra	< 0,019
Ac. Butírico (C4:0)	0,097	g/100 g de muestra	< 0,097
Ac. Caprílico (C10:0)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
Ac. Caprílico (C8:0)	0,022	g/100 g de muestra	< 0,022
Ac. Caproico(C6:0)	0,033	g/100 g de muestra	< 0,033
Ac. cis-10 pentadecenoico(C15:1)	0,002	g/100 g de muestra	< 0,002
Ac. cis-10-Heptadecenoico(C17:1)	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007
Ac. Cis-11, 14, 17- Eicosatrienoico(C20:3 (w 3))	0,004	g/100 g de muestra	< 0,004
Ac. Cis-11, 14-Eicosadienoico(C20:2)	0,022	g/100 g de muestra	< 0,022
Ac. Cis-11-Eicosenoico(C20:1)	0,011	g/100 g de muestra	< 0,011
Ac. Cis-13, 16- Docosadienoico(C22:2)	0,012	g/100 g de muestra	< 0,012
Ac. cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-Docosahexaenoico(C22:6 (w3) DHA)	0,038	g/100 g de muestra	< 0,038
Ac. cis-5, 8, 11, 14, 17-Eicosapentaenoico(C20:5 (w 3) EPA)	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014
Ac. Cis-8, 11, 14- Eicosatrienoico(C20:3 (w 6))	0,003	g/100 g de muestra	0,02
Ac. Eláidico (trans)(C18:1 (w 9 trans))	0,008	g/100 g de muestra	< 0,008
Ac. Erucico(C22:1 (w 9))	0,01	g/100 g de muestra	< 0,008
Ac. Estéarico(C18:0)	0,018	g/100 g de muestra	0,051
Ac. Heneicosanoico(C21:0)	0,032	g/100 g de muestra	< 0,032
Ac. Laurico (C12:0)	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007
Ac. Lignocérico(C24:0)	0,026	g/100 g de muestra	< 0,026
Ac. Linoeláidico (trans)(C18:2 (w 6 trans))	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007

C: Límite de cuantificación



INFORME DE ENSAYO N° 1-05221/18

Pág. 2/2

Ensayo		LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Ac. Linoleico (C18:2 (w 6 cis))	0,009	g/100 g de muestra	0,854
	Ac. Linolenico(C18:3 (w 3))	0,007	g/100 g de muestra	0,012
	Ac. Margarico (C17:0)	0,006	g/100 g de muestra	< 0,006
	Ac. Mirístico (C14:0)	0,011	g/100 g de muestra	0,014
	Ac. Miristoleico (C14:1)	0,004	g/100 g de muestra	0,019
	Ac. Nervónico(C24:1)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Oleico(C18:1 (w 9 cis))	0,017	g/100 g de muestra	0,069
	Ac. Palmítico(C16:0)	0,016	g/100 g de muestra	1,758
	Ac. Palmítoleico(C16:1)	0,006	g/100 g de muestra	0,300
	Ac. Pentadecanoico (C15:0)	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007
	Ac. Tricosanoico(C23:0)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Tridecanoico (C13:0)	0,003	g/100 g de muestra	< 0,003
	Ac. Undecanoico (C11:0)	0,003	g/100 g de muestra	< 0,003
Ac. y-linolenico(C18:3 (w 6))	0,007	g/100 g de muestra	1,194	

LC:Límite de cuantificación

Ensayo		LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Acidos Grasos Saturados	0.003	g/100 g de muestra	1.823
	Acidos Grasos Monoinsaturados	0.002	g/100 g de muestra	0.388
	Acidos Grasos Polinsaturados	0.003	g/100 g de muestra	2.080
	Acidos Grasos No Identificados	-	g/100 g de muestra	0.519
	Acidos grasos total	-	g/100 g de muestra	4.81

LC:Límite de cuantificación

Ensayo		LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Otros - Acidos Grasos Trans	0.011	g/100 g de muestra	< 0,011
	Acidos Grasos Omega 3 (g/100 g de Muestra)	0.004	g/100 g de muestra	0,01
	Acidos Grasos Omega 6 (g/100 g de Muestra)	0.003	g/100 g de muestra	2,07
	Acidos Grasos Omega 9 (g/100 g de Muestra)	0.008	g/100 g de muestra	0,07
	Acidos Grasos DHA (g/100 g de Muestra)	0.038	g/100 g de muestra	< 0,038
	Acidos Grasos EPA (g/100 g de Muestra)	0.014	g/100 g de muestra	< 0,014
	EPA + DHA	0.014	g/100 g de muestra	< 0,014

LC:Límite de cuantificación

MÉTODOS
Composición de Ácidos Grasos: AOAC -996.06, c41, 20th Ed. 2016. Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method

Grasa: AOAC 930.09, c3, 20th Ed. 2016. Ether Extract of plants. Gravimetric method

OBSERVACIONES

 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.
 Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de la calidad de la entidad que lo produce.

 Callao, 25 de junio de 2018
 JD

CERTIFICACIONES DEL PERU S.A.

 ING. ROSA PALOMINO LOO
 C.I.P. N° 40302
 JEFE DE COORDINACIÓN DE LABORATORIOS

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ANEXO 2. Composición de dieta estándar para ratas

Composición porcentual de las dietas (g/100 g)	
Maíz	65.72
Torta de soya	26.29
Aceite de soya	6.32
Carbonato de calcio	1.16
DL-metionina	0.21
Pre mezcla de vitaminas y minerales	0.1
Cloruro de Colina, 60%	0.1
Cloruro de sodio	0.1
Contenido nutricional calculado	
Materia seca	88.07 %
Proteína	18.00 %
Fibra	2.70 %
Grasa	8.88 %
Fósforo total	0.33%
Calcio	0.50%
Sodio	0.05%
Ácido linoleico	4.71%

FUENTE: Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos, UNALM

ANEXO 3: Datos del estudio en ratas no gestantes

a. Consumo de alimento semanal (g)

Semana	Repetición	Tratamiento		
		1	2	3
1	1	19.90	18.41	21.10
	2	18.24	17.99	17.44
	3	14.98	18.30	18.48
	4	15.73	18.30	17.11
	5	18.60	18.00	19.33
2	1	19.06	19.18	21.57
	2	17.84	18.98	19.33
	3	16.67	17.49	15.83
	4	16.58	18.80	17.82
	5	16.70	19.00	14.00
3	1	19.41	18.67	19.94
	2	20.64	18.21	19.51
	3	14.23	19.20	17.46
	4	17.13	18.56	17.88
	5	15.00	19.24	15.38
4	1	19.30	19.03	20.43
	2	17.44	18.05	19.98
	3	15.37	19.58	17.16
	4	17.54	19.00	17.87
	5	17.00	18.00	15.97
5	1	20.09	19.45	20.51
	2	19.39	19.38	18.31
	3	16.59	18.12	18.94
	4	16.54	19.40	18.14
	5	19.00	18.20	18.17

b. Peso semanal (g)

Semana	Repetición	Tratamiento		
		1	2	3
1	1	249.11	222.10	237.20
	2	240.50	235.40	212.22
	3	232.80	238.33	230.40
	4	254.10	225.01	225.45
	5	241.00	234.00	204.18
2	1	269.34	257.50	239.41
	2	248.21	241.13	215.14
	3	236.40	257.60	255.55
	4	260.49	240.87	233.60
	5	249.70	255.90	215.50
3	1	283.50	264.26	267.25
	2	261.50	263.54	278.32
	3	251.32	263.65	258.92
	4	248.42	263.78	247.82
	5	260.00	264.70	217.30
4	1	290.16	272.15	262.04
	2	270.56	265.23	279.12
	3	246.56	270.12	260.13
	4	270.46	266.40	251.57
	5	271.23	270.32	221.43
5	1	283.41	273.59	268.81
	2	287.93	272.42	290.26
	3	250.79	278.85	262.32
	4	267.77	274.00	255.13
	5	286.76	276.20	225.70

c. **Peso de los tejidos**

Tratamiento	Repetición	Peso eutanasia (g)	Peso hígado (g)	Peso de grasa visceral (g)
1	1	272.84	10.51	6.98
	2	267.95	12.13	7.28
	3	251.55	8.09	6.18
	4	267.93	8.35	8.28
	5	267.93	8.40	8.01
2	1	270.61	11.30	9.74
	2	263.13	8.32	8.13
	3	273.54	9.57	8.10
	4	265.00	8.54	8.20
	5	270.00	9.00	8.79
3	1	260.59	10.24	5.62
	2	257.82	8.80	7.79
	3	254.37	9.59	4.97
	4	254.23	9.65	5.95
	5	224.47	7.65	4.18

d. Perfil de ácidos grasos (g/ 100g hígado)

Tratamiento	Repetición	Ácidos grasos					
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C20:4	C22:6
1	1	0.291	0.353	0.116	0.273	0.376	0.131
	2	0.312	0.454	0.112	0.293	0.477	0.154
2	1	0.290	0.344	0.227	0.223	0.573	0.131
	2	0.367	0.440	0.159	0.356	0.375	0.154
	3	0.440	0.578	0.135	0.241	-	0.164
3	1	0.364	0.252	0.116	0.325	0.294	0.079
	2	0.329	0.367	0.113	0.244	0.349	0.114
	3	0.439	0.534	0.211	0.489	0.589	0.167
	4	0.350	0.451	0.117	0.275	0.441	0.091
	5	0.506	0.630	0.197	0.449	0.627	0.126

ANEXO 4: Datos del experimento

a. Consumo semanal (g)

Semana	Repetición	Tratamiento		
		1	2	3
1	1	15.78	18.60	17.69
	2	18.19	17.00	18.70
	3	17.45	21.72	23.96
	4	16.83	21.08	20.40
	5	17.26	20.82	24.99
2	1	19.11	20.88	21.16
	2	20.76	19.25	21.22
	3	19.41	21.24	26.23
	4	19.01	22.36	20.77
	5	19.84	22.45	25.80
3	1	19.37	21.04	21.70
	2	25.47	19.63	24.76
	3	22.31	21.32	26.68
	4	22.45	23.86	20.92
	5	20.93	21.81	26.90
4	1	34.20	29.32	35.07
	2	42.96	31.40	33.55
	3	29.75	32.52	39.52
	4	33.92	35.32	41.45
	5	28.20	34.76	40.44
5	1	42.66	42.83	46.44
	2	47.95	45.18	45.19
	3	45.99	45.63	48.27
	4	43.86	47.89	48.34
	5	44.08	49.08	47.67

b. Peso semanal (g)

Semana	Repetición	Tratamiento		
		1	2	3
1	1	224.05	252.50	223.01
	2	220.88	269.62	251.70
	3	223.10	220.32	246.20
	4	240.50	254.50	245.85
	5	231.20	230.50	240.55
2	1	245.36	278.30	248.81
	2	234.13	287.32	282.08
	3	250.69	230.40	293.93
	4	260.12	275.11	276.92
	5	258.42	263.72	260.31
3	1	297.06	372.16	300.45
	2	270.09	329.20	335.20
	3	287.20	270.09	380.22
	4	290.30	330.15	345.01
	5	355.32	313.85	302.01
4	1	238.46	283.49	243.35
	2	243.22	280.12	271.94
	3	270.85	253.41	282.16
	4	270.74	283.64	270.71
	5	279.16	275.70	275.34
5	1	250.41	306.51	261.23
	2	259.05	308.74	290.14
	3	291.30	276.76	306.97
	4	287.03	298.03	279.90
	5	296.97	283.17	294.87

c. **Peso de los tejidos (g)**

Tratamiento	Repetición	Peso eutanasia (g)	Peso hígado (g)	Peso de grasa visceral (g)
1	1	245.47	11.11	6.65
	2	239.85	11.86	2.93
	3	270.92	12.63	6.07
	4	280.43	11.34	5.27
	5	272.90	14.04	4.35
2	1	291.13	9.39	8.31
	2	280.37	10.87	5.09
	3	265.30	9.49	6.97
	4	288.62	13.47	5.32
	5	276.35	11.08	4.96
3	1	238.72	9.77	8.13
	2	272.66	10.16	7.41
	3	280.96	11.65	5.58
	4	257.63	10.82	4.96
	5	263.95	11.48	3.87

d. **Peso de las crías (g)**

Tratamiento	Repetición	Nacimiento	L1	L2	Destete
1	1	6.29	12.86	20.11	25.37
	2	6.04	13.27	23.35	29.98
	3	6.30	12.99	28.72	30.38
	4	6.05	11.26	19.04	28.41
	5	6.14	16.07	18.36	24.53
	6	6.22	13.18	18.45	24.81
	1	5.88	9.68	25.32	27.98
	2	5.94	12.27	21.76	31.90

2	3	6.36	12,29	19.54	27.19
	4	6,27	12.25	23.56	28.78
	5	6.02	11.19	21.57	31.44
	6	5.66	11.84	21.35	30.71
3	1	6,61	11.91	21.90	30.51
	2	7.98	8.31	19.34	28.53
	3	7.16	10.15	22.90	29.95
	4	6.30	11.55	23.45	27.62
	5	6.72	11.60	22.78	30.38

L1: Primera semana de lactancia

L2: Segunda semana de lactancia

e. Perfil de ácidos grasos del hígado (g/100g)

Tratamiento	Repetición	Ácidos grasos					
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C20:4	C22:6
1	1	0.312	0.384	0.211	0.225	0.291	0.094
	2	0.376	0.254	0.212	0.267	0.264	0.095
	3	0.322	0.324	0.124	0.290	0.301	0.107
	4	0.330	0.336	0.182	-	-	0.079
2	1	0.359	0.395	0.192	0.358	0.386	0.113
	2	0.440	0.441	0.168	0.344	0.419	0.046
	3	0.322	0.393	0.204	0.397	0.389	0.082
	4	0.340	0.379	0.188	0.373	0.427	0.048
	5	0.397	0.385	0.164	-	0.403	0.049
3	1	0.249	0.550	0.182	0.317	0.313	0.066
	2	0.360	0.420	0.183	0.358	0.475	0.105
	3	0.449	0.492	0.182	0.366	0.491	0.101
	4	-	-	-	0.428	-	0.092

ANEXO 5. Siglas

Sigla	Significado
AG	Ácido(s) graso(s)
AGS	Ácido graso saturado
AGMI	Ácido graso monoinsaturado
AGPI	Ácido graso poliinsaturado
AGPI-CL	Ácido graso poliinsaturado de cadena larga
AGE	Ácido graso esencial
AGNE	Ácido graso no esterificado
AA	Ácido araquidónico
AL	Ácido linoleico
ALA	Ácido linolenico
EPA	Ácido eicosapentaenoico
DHA	Ácido docosahexaenoico
GLA	Ácido gamma (γ) linolenico