

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**“DIETA SEMISINTÉTICA PARA RATAS *Sprague dawley* CON SEMILLA DE CHÍA
Salvia hispánica UTILIZADAS EN ENSAYOS BIOLÓGICOS”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Br. EVELYN MARITZA MONTES CHAÑI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO - PERÚ

2015

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**“DIETA SEMISINTÉTICA PARA RATAS *Sprague dawley* CON SEMILLA DE CHÍA
Salvia hispánica UTILIZADAS EN ENSAYOS BIOLÓGICOS”**

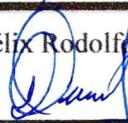
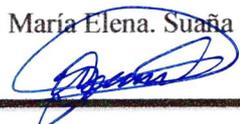
TESIS

**PRESENTADO POR:
Br. EVELYN MARITZA MONTES CHAÑI**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 24 de julio del 2015

APROBADO POR EL JURADO REVISOR:

PRESIDENTE	:	 _____
		Ing. M. Sc. Félix Rodolfo Meza Romualdo
PRIMER MIEMBRO	:	 _____
		M. Sc. Dante Joni Choquehuanca Panclas
SEGUNDO MIEMBRO	:	 _____
		M. Sc. María Elena. Suaña Quispe
DIRECTORA DE TESIS	:	 _____
		M. Sc. Vicky Cristina Gonzales Alcos
ASESOR DE TESIS	:	_____
		Ph.D. Fabio Juliano Pacheco
ASESOR ESTADÍSTICO	:	_____
		M.Sc. Sandaly da Silva Pacheco

**ÁREA : MICROBIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO
LINEA: BIOTECNOLOGÍA
TEMA : BIOTECNOLOGÍA EN SALUD**

PUNO – PERÚ

2015

DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Lucia.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, comprensión, ayuda en los momentos difíciles, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me ha dado todo lo que soy como persona y mi coraje para conseguir mis objetivos.

A mis familiares.

A mi hermana Leslie, a mi cuñado Nilton, a mi sobrina querida Aylen, a mi padre Jorge y a toda mi familia que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis. A tu paciencia, comprensión y por brindarme tu tiempo, que me inspiró a ser la mejor, gracias por estar siempre a mi lado, Liberth. ¡Gracias a ustedes!

A mis maestros.

Por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis.

A mis amigos.

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos y compartir los buenos y malos momentos. Al mi amigo Omar por estar siempre presente, acompañándome en momentos de alegría y de tristeza; por su ayuda y comprensión.

***“Dad gracias en todo, porque esta es la voluntad de Dios para con vosotros en Cristo Jesús”
1 de Tesalonicenses 5:18***

Evelyn Maritza Montes Chañi

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano Puno, en especial a la Facultad de Ciencias Biológicas y su plana docente, por la formación en la carrera profesional de Biología.

Al Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud que pertenece a la Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Adventista del Plata – Argentina.

Un agradecimiento y reconocimiento especial al Ph. D. Fabio Juliano Pacheco y su esposa M. Sc. Sandaly Oliveira Pacheco por su apoyo incondicional y comprensión, para la realización y culminación de esta investigación.

A la Directora de mi tesis M. Sc. Vicky Christina Gonzales Alcos mi más sincero agradecimiento por haberme imbuido de conocimientos y enseñanzas, con sus sabios consejos, aliento, comprensión, amistad y apoyo incondicional, y por su acertada dirección en la realización de mi tesis. Todo mi respeto y admiración por ser un ejemplo de superación.

A la Asesora estadística M. Sc. Sandaly Oliveira Pacheco, por su apoyo generoso, predisposición, sabios consejos que facilitaron la realización de este trabajo de investigación.

Al jurado de mi tesis Ing. M. Sc. Félix Rodolfo Meza Romualdo, M. Sc. Dante Joni Choquehuanca Panclas y M. Sc. María Elena Suaña Quispe, por sus sabios consejos y observaciones, que contribuyeron en la culminación de esta tesis.

A todos los integrantes del grupo de trabajo: Gustavo Martínez, Marlen Aquino, Maykon Rocha, Eduardo Simón, Javier Ivona, Nathan Runne, David Vaquero, Ismael Morales y Miguel Morales, por su aporte, consejos y ayuda en este trabajo de investigación.

Así mismo expreso mi agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna u otra forma colaboraron para cumplir mis objetivos.

¡Gracias a todos!

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	13
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	14
CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1. Antecedentes de la investigación.....	17
2.2. Marco teórico.....	20
2.2.1. La chía.....	20
2.2.1.1. Origen e historia.....	21
2.2.1.2. Ubicación sistemática y características botánicas.....	22
2.2.1.3. Composición química y aspectos nutricionales de la semilla de chía.....	25
2.2.2. Ácidos grasos.....	32
2.2.2.1. Nomenclatura de los ácidos grasos.....	33
2.2.2.2. Metabolismo de los ácidos grasos poliinsaturados.....	35
2.2.2.3. Requerimiento nutricional e ingesta recomendada de PUFA n-3.....	36
2.2.2.4. Recomendaciones de los AGIPs.....	39
2.2.3. Modelo animal en la investigación biomédica.....	40
2.2.4. Nutrición y alimentación.....	41
2.2.4.1. Formulación de dietas para animales de laboratorio.....	46
2.3. Marco conceptual.....	49
CAPÍTULO III: MATERIAL Y MÉTODO.....	50
3.1. Ámbito de estudio	50

3.2. Diseño y tipo de investigación	50
3.3. Población y muestra	50
3.4. Metodología	52
3.5. Análisis estadístico	57
CAPÍTULO IV: RESULTADO Y DISCUSIÓN	58
4.1. Formulación, elaboración y optimización de la dieta semisintética con semilla de chía para ratas Sprague dawley mediante parámetros nutricionales para animales de laboratorio con características similares a los comerciales	58
4.2. Evaluación de la eficacia de la dieta optimizada con chía respecto al peso corporal, aceptabilidad de la chía y el consumo de agua	65
CONCLUSIONES	72
RECOMENDACIONES	73
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto general de la chíá (individuo adulto)	24
Figura 2. Exomorfología de las clusas oscuras y claras	24
Figura 3. Clusas hidratadas con formación de mucílago.....	30
Figura 4. Diagrama de bloques de elaboración de dietas experimental.....	61
Figura 5. Diagrama de bloques de elaboración de dieta control.....	62
Figura 6. Determinación de humedad de las dietas experimental y control.....	64
Figura 7. Evaluación de incremento de peso corporal de los grupos experimental y control.....	68
Figura 8. Evaluación del consumo de dietas experimental y control en ratas macho <i>Sprague dawley</i>	70
Figura 9. Evaluación del consumo de agua de los grupos caso y control en ratas macho <i>Sprague dawley</i>	71
Figura 10. Ubicación geográfica de la Universidad Adventista del Plata, Entre Ríos, Argentina	83
Figura 11. Facultad de Ciencias de la Salud - Centro de Investigación	83
Figura 12. Elaboración de dieta semisintética de grupo experimental y control	85
Figura 13. Medición y pesaje de los insumos de las dietas.....	85
Figura 14. Pellets de las dietas experimental y control	85
Figura 15. Bioterio de la Universidad Adventista del Plata, Edificio Thomas y Tooma y Martha Kalbermatter.....	86

Figura 16. Jaulas de policarbonato de las ratas macho *Sprague dawley*.....86

Figura 17. Evaluación de peso corporal, consumo de dieta y agua.....87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de la localización de los sitios de cultivo de la chía.....	23
Tabla 2. Contenido y composición de ácidos grasos de aceite de semilla de chía cultivada en diversos países de América	25
Tabla 3. Energía y composición centesimal correspondiente a diversos granos.....	26
Tabla 4. Caracterización comparativa de diversas fuentes de ácidos grasos ricos en ω -3.....	27
Tabla 5. Contenido de aminoácidos correspondientes a hidrolizados de proteínas de semillas de chía.....	28
Tabla 6. Contenido de vitaminas y minerales presentes en semillas de chía y en harina residual desgrasada	29
Tabla 7. Concentración de antioxidantes fenólicos presentes en extractos de semilla de chía.....	32
Tabla 8. Asignación de las unidades experimentales.....	51
Tabla 9. AIN-93M formulación de dieta para roedores (estándar).....	53
Tabla 10. Composición de la dieta estándar semisintética isocalórica para el grupo experimental.....	58
Tabla 11. Composición de la dieta estándar semisintética isocalórica para el grupo control.....	59
Tabla 12. Grupos estadísticos.....	65
Tabla 13. Prueba de muestras independientes.....	67

Tabla 14. Variables estadísticas.....	68
Tabla 15. Determinación de tamaño de muestra	84
Tabla 16. Ficha de registro diario de consumo de alimento, agua y peso corporal.....	87

ABREVIATURAS

AIN	Instituto Americano de Nutrición
PUFAs	Ácidos grasos poliinsaturados
IDR	Ingestión diaria recomendada
EPA	Ácido eicosapentaenoico
DHA	Ácido docosahexaenoico
MUFA	Ácido graso monoinsaturado
PUFA	Ácido graso poliinsaturado
AG	Ácido graso
AGPICL	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga
AGE	Ácido graso esencial
LPL	Lipoproteína lipasa
AGPIs	Ácidos grasos poliinsaturados
AGIs	Ácidos grasos insaturados
AA	Ácido araquidónico
RI	Resistencia a la insulina
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
TE	Trolox
FRF	Fracción rica en fibra

AF	Alimentos funcionales
OMS	Organización Mundial de la Salud
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación
UN	Naciones Unidas
Kcal	Kilocalorías
Kj	Kilojulios
HC	Hidratos de carbono
mg	Miligramos
mL	Mililitros
g	Gramos
N°	Número
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius

RESUMEN

Los animales de laboratorio deben ser alimentados con dietas nutricionalmente adecuadas, diariamente acorde a requerimientos particulares. El comité de nutrición AIN-93 establece los requerimientos nutricionales de los animales de laboratorio, abordando la biodisponibilidad de los nutrientes en los alimentos. El alimento concentrado en nutrientes está constituido en su mayor parte por subproductos de origen animal o vegetal. Debido a esto, se requieren condiciones apropiadas de elaboración y almacenamiento con el fin de contrarrestar la alta susceptibilidad del producto a alteraciones. Esta investigación tuvo como objetivo establecer una dieta semisintética para ratas de laboratorio *Sprague dawley* con semilla de chia *Salvia hispánica* utilizados en ensayos biológicos. Metodología: se utilizó un grupo homogéneo de 32 ratas macho de la cepa *Sprague dawley* de 21 días de nacida con un peso aproximado de 45 a 50 gramos, se formaron 2 grupos de 16 animales cada uno y fueron alimentados *ad libitum*, fueron evaluados por 9 semanas registrando el peso corporal, consumo de dieta y agua diariamente. La elaboración de las dietas semisintéticas está constituido por ingredientes seleccionados como la semilla de chia de origen orgánico, aceite de soja, proteínas (caseína láctica), premezclas de minerales y vitaminas, formando pellets de tamaño y forma como las de venta comercial. Los resultados demuestran que las ratas macho tratadas con las dietas semisintéticas con semilla de chia presenta una media de incremento de peso de 292,67g mayor que las ratas macho tratadas con la dieta control representados con 206,55 g. Mediante la aplicación de la prueba T con un nivel del significancia de 95% donde $p=0,003$ y $p=0,000$ existe una diferencia significativa con el consumo de dieta y agua, se concluye que no existe diferencia significativa entre los pesos corporales de ambos grupos tratados con las dietas.

Palabras claves: Dieta isocalórica semisintética, ratas macho *Sprague dawley*, semilla de chia *Salvia hispánica*, peso corporal.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la rata de laboratorio es reconocido como el modelo preeminente para la investigación moderna, se utilizan en diferentes tipos de investigación, incluyendo el cáncer, la inmunología, la toxicología, metabolismo, biología del desarrollo, la diabetes, la obesidad, el envejecimiento y la investigación cardiovascular. Ellos son apreciados por muchas cualidades, incluyendo su tamaño pequeño, corto tiempo de generación, y la facilidad de reproducción en el laboratorio. El hecho de que son genéticamente lo mejor caracterizados de todos los mamíferos, aumenta su valor para todos los campos de estudio.

La nutrición constituye el factor que mayor influencia ejerce sobre el desarrollo de un organismo vivo, si esta no es adecuada, se ven trastocados el potencial genético, la reproducción y la longevidad de los mismos a su vez, todo ello afecta al estado físico y a su salud global para que tenga respuestas más favorables a factores de estrés ambiental, como la presencia de patógenos.

La nutrición es una variable que puede afectar, en distintos sentidos, a los resultados experimentales obtenidos, pueden estar sesgados o falseados de forma involuntaria, por factores que afectan a la composición de la dieta que ingieren los animales o a cambios desconocidos en los constituyentes de la misma. El Kontar, et al. 2008 sugiere que la alteración de la información puede llevar a conclusiones erróneas o no exactas que suponen el sacrificio inútil de individuos, una pérdida de tiempo y de recursos en investigación.

Para realizar una correcta planificación de la alimentación y conseguir un estado nutricional óptimo, se deben conocer las necesidades del animal. El alimento es el material primario a partir del cual se forman y renuevan los tejidos y estructuras corporales. Se debe contar con un procedimiento para la elaboración del alimento: 1.- Composición, que deberá cubrir las necesidades de crecimiento; 2.- Debe ser agradable al paladar (palatable) y digestible. 3.-Tener fecha de elaboración y caducidad; 4.- Certificado de análisis proximal y microbiológico; 5.- Estar libre de harina de pescado, aditivos, drogas, hormonas, antibióticos, pesticidas y contaminantes patógenos. 6.- El alimento en forma de pellet debe tener la consistencia requerida, para evitar pérdida del alimento y el animal pueda consumirlo (Institute of laboratory animal resources commission on life sciences national research council., 1996).

La dieta para una adecuada alimentación de las especies de animales en el laboratorio incluye aproximadamente 50 nutrientes esenciales, que deben contar con un manejo apropiado para procurar mantener su calidad y cantidad. Actualmente, en la formulación de dietas para animales, se han utilizado nuevos enfoques apoyados en el conocimiento cada vez más exacto de las necesidades y los valores de las materias primas, permitiendo no solo usar la relación entre el consumo del alimento y el crecimiento.

El Instituto Americano de Nutrición (AIN) establece los requerimientos nutricionales de los animales de laboratorio abordando la composición de nutrientes digestibles de las materias primas; esto permite aplicar fórmulas que en su esencia se conoce como ingredientes ideales como el contenido de proteínas, grasas (ácidos grasos) que permiten cubrir las necesidades que el animal requiere en términos de ácidos grasos esenciales (Ayerza & Coates, 1996).

Recientemente, la semilla de chía *Salvia hispánica* L. ha sido redescubierta como una importante fuente de ácidos grasos omega-3, proteínas, fibra dietética y antioxidantes, a partir de la cual puede obtenerse una elevada proporción de ácidos grasos esenciales. Su incorporación en la dieta permite disminuir la incidencia de enfermedades coronarias, refuerza el sistema nervioso; la fibra dietaria es una valiosa alternativa para regular el tránsito intestinal, lo cual ayuda a prevenir la obesidad, el cáncer de colon, así como los elevados niveles de colesterol y de glucosa en sangre. Al ajustar los niveles de ácidos grasos a un perfil ideal, se evitan diferencias y excedentes con el crecimiento y la producción de energía a partir de las grasas, lo que resulta costoso para el metabolismo de las ratas; de las principales fuentes de ácidos grasos la chía *Salvia hispánica* tiene su origen en cultivos agrícolas, presenta grandes cantidades de ácido graso alfa-linoleico, proteínas, sales minerales y antioxidantes (Di Sapio O., et al. 2008).

En los últimos años surgieron nuevas aplicaciones para el uso de la semilla de chía (*Salvia hispánica*) como una alternativa de materia prima para la preparación de alimentos concentrados o harinas que puedan satisfacer los requerimientos nutricionales de diferentes especies animales por su fácil manejo, por lo se puede administrar diferentes tipos de dietas para las evaluaciones sobre los beneficios que provoca de esta semilla sobre algunas alteraciones en el organismo (CYCyTAC, 2012), (Capitani, 2013).

Las buenas prácticas de fabricación de alimentos constituyen un factor importante para asegurar que los alimentos se fabriquen en forma uniforme y controlada.

En este contexto la presente investigación tuvo los siguientes objetivos:

1.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer una dieta semisintética para ratas de laboratorio *Sprague dawley* con semilla de chía *Salvia hispánica* utilizados en ensayos biológicos.

1.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Formular, elaborar y optimizar una dieta semisintética con semilla de chía para ratas *Sprague dawley* mediante parámetros nutricionales para animales de laboratorio con características similares a los comerciales
- 2) Evaluar la eficacia de la dieta optimizada con chía respecto al peso corporal, aceptabilidad de la chía y el consumo de agua.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

En el artículo de investigación titulado: “Semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) como fuente de ácidos grasos n-3 en cerdos: efectos sobre la composición de ácidos grasos y estabilidad la carne y grasa interna, rendimiento del crecimiento y características sensoriales de la carne” realizado por **Coates & Ayerza (2009)**, mencionan que añadieron el 10 y 20% de semilla de chía en la composición de la dieta. Dentro de los resultados, el contenido de n-6 ácido linoleico y n-3 ácido alfa-linolénico en el tejido adiposo subcutáneo fue mayor en el tratamiento dietario con chía que el grupo control. El aumento de la cantidad de semilla de chía tuvo un efecto en la reducción de los ácidos grasos saturados totales por ser un factor de riesgo asociado a las enfermedades coronarias. Además la administración de semilla de chía no produce ninguna alteración en el peso corporal, lo que contrariamente se da en las dietas a base de maíz y soja utilizada por los establecimientos comerciales para la cría de cerdos en Argentina.

Estos autores centraron sus investigaciones sobre la semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) como fuente de ácidos grasos ω -3 para pollos de engorde: influencia en la composición de ácidos grasos, colesterol y contenido de grasa en la carne blanca y oscura, rendimiento del crecimiento y características sensoriales” realizado en Argentina, **Ayerza, et al. (2002)**, comparan los efectos en la dieta con semilla de chía utilizando el 10 y 20% en la alimentación. Los resultados mostraron que la dieta del 10% produjo una proporción de grasas más baja en la carne oscura que la carne blanca. La conversión del peso corporal y de la alimentación era perceptiblemente más baja con las dietas de chía que con el control, con una reducción de hasta un 6.2%, teniendo como una alternativa ya que la carne de aves podría proporcionar entre 2.7 y 3.5 veces la cantidad de ω -3 ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) por porción comestible.

En el mismo año publican otro trabajo comparando los Niveles dietéticos de chía: influencia sobre el colesterol de la yema, el contenido de lípidos y la composición de ácidos grasos de dos cepas de gallinas” en Argentina, **Ayerza & Coates, (2002)**, propusieron alimentar durante

90 días con dietas que contenían 7, 14, 21 y 28 % (70, 140, 210 y 280 g/kg) de semilla de chía (*Salvia hispánica* L.). Como resultado determinaron que el peso de las gallinas no fue afectado significativamente por la dieta; sin embargo, la producción de excrementos fue menor en las gallinas alimentadas con chía. Demostraron que los huevos producidos tenían un alto contenido de ácidos grasos omega-3 y que los niveles de colesterol en los huevos disminuyeron hasta un 20% debido al elevado contenido de fibra total (60,9%) presente en la semilla de chía, la cantidad de PUFAs incorporada en la dieta puede producir una disminución de los ácidos grasos saturados que son factores de riesgo independientemente asociados con las enfermedades cardiovasculares.

Existen diferentes trabajos de investigación en humanos, que nos ayudan a interpretar los beneficios de la gran diversidad de semillas incluyendo la chía **Bautista et al, (2007)**, en su artículo de investigación denominado: “Desarrollo de pan integral con soya, chía, linaza y ácido fólico como alimento funcional para la mujer” realizado en México, mostraron como resultado que la evaluación sensorial tuvo una gran aceptación de los panes experimentales, en los análisis de la chía y la linaza, resalto el contenido de fibra dietética soluble y total en la chía (42.9 g/100g), prácticamente duplica al de la linaza (22.4%). Se cree que, la unidad estructural de la goma de chía y también el principal responsable de su naturaleza espesante, por jugar un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y diabetes. Así mismo uno de los trabajos realizado por **Vuksan et al, (2007)**, denominado: “Suplementación de la terapia convencional con granos de salba (*salvia hispánica* L.) mejoras importantes y emergentes en los factores de riesgo cardiovascular en la diabetes tipo 2”, tuvieron como resultado efectos benéficos a corto plazo con el tratamiento de chía ayudando a disminuir los valores de la glucemia e insulina. Esto debido al contenido de fibra total (36%), al mucilago viscoso que se forma cuando se expone al agua por ser uno de los factores potenciales que afecta el control de la glucemia. Así mismo no afecto los valores sobre el perfil lipídico en la sangre en los individuos con diabetes tipo 2, ayudando a mejorar los riesgos de la enfermedad cardiovascular y presión arterial sistólica.

No solo el consumo directo de semilla de chía en los animales y en las personas tienen un beneficio directo el trabajo realizado por **Azcona et al, (2008)** sobre “Producción de huevos enriquecido con omega-3: efecto de las fuentes de ácidos grasos omega-3 alfa-linolénico en el

rendimiento de gallinas y el contenido de lípidos en la composición de ácidos grasos, menciona que las dietas occidentales son típicamente bajas en ácidos grasos omega-3 y altas en ácidos grasos omega-6, la necesidad de aumentar el contenido de ácido alfa-linolénico (ALA) en la dieta de 300 pollos de 1 día de edad se los alimentaron con semillas de lino, chia y harina de chia para evaluar los ácidos grasos en la carne teniendo como resultado que el contenido de omega-3 en la carne fue significativo $p < 0.05$ y con menor peso corporal para los animales que consumieron semilla de chia y lino y no para los que consumieron harina de semilla de chia. Los pollos que consumieron semilla de chia aumentaron los PUFAs ω -3 produciendo un mayor aumento de 157 y 200 % para el contenido de carne en comparación de los ω -6, el estudio demostró que las semillas son ricas en ALA y son biológicamente fuentes equivalentes en términos de producción de ω -3 que otras fuentes de ácidos grasos.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1. La chía

En la historia de la civilización, el modo de vida se vio acompañada por cambios en los hábitos alimenticios la cual se basaba en alimentos de origen vegetal y animal en proporciones similares, conteniendo altas concentraciones de proteínas y fibra así como bajos o moderados tenores de carbohidratos y de grasas (Simopoulos, 1998). En la actualidad, las modernas dietas occidentales se caracterizan por un elevado consumo de grasas saturadas, ácidos grasos trans y ω -6, así como por una deficiencia en ácidos grasos ω -3. La relación ω -6: ω -3 en los últimos años es de 10:1 a 20:1, en el periodo Paleolítico se ubicaba en valores cercanos a 1:1 (Eaton, et al. 1998). La agricultura moderna ha logrado aumentar la producción de los granos tradicionales de cereales y oleaginosas (trigo, cebada, girasol, maíz, soja, entre otros), siendo elevada la dependencia de relativamente pocas especies vegetales y animales, lo que nos ubica en una situación muy precaria (Cordain, 1999). En los últimos años se ha registrado un mayor incremento en la búsqueda de fuentes vegetales, a partir de las cuales puedan obtenerse una elevada proporción de ácidos grasos de alto valor nutricional.

En este sentido, la semilla de chía (*Salvia hispánica* L) son el recurso natural de origen vegetal con mayor contenido de ácidos grasos ω -3, conocido hasta el momento, además de ser una buena fuente de proteínas, fibra, minerales, vitaminas y antioxidantes (Ayerza & Coates, 2005). Estas características nutricionales han conducido a un creciente interés por ese cultivo y por los productos obtenidos a partir del mismo, así como sobre su potencial aplicación en la industria alimentaria. Los efectos positivos o negativos en la alimentación, tendrán repercusión, más tarde o más temprano, en la salud. Por ello, debemos adecuar nuestra alimentación a las necesidades nutricionales de nuestro organismo, en función de la edad, género, actividad y situaciones fisiológicas especiales. Entre los macronutrientes que componen la dieta habitual se encuentran las grasas. Es así como las autoridades sanitarias recomiendan aumentar el consumo de ácido graso poliinsaturado omega- 3, en especial los de cadena larga (EPA y DHA) (Carrero, et al. 2005).

La tecnología moderna de alimentos hace posible hoy en día que una gran cantidad de alimentos pueda ser enriquecida con ácidos grasos omega- 3 y, de hecho, existe en todo el mundo una gran variedad de productos alimenticios enriquecidos. Si consideramos que la

producción de alimentos enriquecidos con ácidos grasos omega- 3 es técnicamente difícil y requiere de métodos especiales, las materias primas ricas en omega- 3 de origen vegetal como la semilla de chía (*Salvia hispánica*) es una opción disponible que puede ser eficaz en la reducción de factores de riesgo de (Jamboonsri, et al. 2012).

2.2.1.1. Origen e historia

Salvia hispánica L. es una especie originaria que presenta una larga historia de interacción con los humanos como un elemento esencial en la cultura Mesoamérica con una mayor diversidad genética de por lo menos 20 especies, 4 de ellas sobresalían desde el punto de vista nutricional los que constituían los principales componentes de la dieta diaria, se presentan en la vertiente del Océano Pacífico (Hernández, et al. 2008); (Cahill J. , 2003); (Cahill J., 2004). En la época prehispánica fue una planta importante y sus semillas, harina y/o aceite fueron apreciados por sus usos medicinales y alimenticios. Historiadores en economía han sugerido que como elemento básico fue tan importante como el maíz, y en algunas áreas fue incluso el más importante (Ayerza & Coates, 2005).

Si bien ninguna fuente afirma de manera categórica que la chía sea originaria de un lugar específico, existe una alta probabilidad que la semilla sea originaria de los territorios que actualmente ocupan la República Mexicana y Guatemala (Busilacchi, et al. 2013). Cuando se introdujo la chía a España, fue nombrada *Salvia hispánica* por Linnaeus Hentry, el explorador Edward Palmer en 1871. Y desde entonces es comúnmente conocida como chía, siendo esta palabra una adaptación española al término nahua *chian* o *chien* (plural), término que en náhuatl significa “semilla de la que se obtiene aceite”. Donde obtuvo diferentes denominaciones como “salvia española”, ”artemisa española”, “chía negra” o simplemente “chía”, es una planta anual originaria de las zonas montañosas del Oeste y Centro de México. Existen evidencias que demuestra que la semilla de chía fue uno de los principales componentes de la dieta de los Aztecas (Ayerza & Coates, 2006).

Esta semilla era utilizada como materia prima para la elaboración de medicinas, alimentos y pinturas, así como ofrendas a los dioses durante las ceremonias religiosas. La ciencia actual permite explicar por qué las antiguas civilizaciones consideraban a la chía un componente básico de su dieta. La composición química y el valor nutricional asociado, le confieren una

gran potencial para incorporarla a los mercados alimenticios. Hoy la semilla se cultiva en una amplia gama de países que incluyen a Australia, México, Argentina, Ecuador, Bolivia, Perú y Paraguay, entre otros. Como se mencionó, por mucho tiempo se mantuvo olvidada y, al igual como ocurrió en otros cultivos de la época prehispánica. Hoy constituye un elemento nutricionalmente interesante de dietas y es parte de muchos productos industriales, mostrando un consumo e industrializado a nivel mundial creciente (Jamboonsri, et al. 2012).

2.2.1.2. Ubicación sistemática y características botánicas

Según la clasificación taxonómica propuesta por Linneo, la posición sistemática de la chía (*Salvia hispánica* L.) es la siguiente:

Reino: vegetal o Plantae

Subreino: Tracheobionta (planta vascular)

Super división: Spermatophyta (planta de semillas)

Division: Magnoliophyta o Angiospermae (planta con flores)

Clase: Magnoliopsida o Dicotyledoneae

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Subfamilia: Nepetoideae

Tribu: Mentheae

Género: *Salvia*

Especie: *hispánica*

Nombre Binomial: *Salvia hispánica* L

Fuente: (Hentry, et al. 1990).

La familia Lamiaceae (familia de la menta), está constituida por 7 subfamilias, 300 géneros con alrededor de 7500 especies (Di Sapiro O., et al. 2012), de las cuales en Argentina existen alrededor de 26 géneros, donde el género *Salvia* es considerado el más numeroso de esta

familia los cuales están distribuidas en regiones cálidas y templadas de ambos hemisferios. El género *Salvia* es considerado el más numeroso de esta familia y los relevamientos etnobotánicos señalan para las especies nativas propiedades importantes (Barboza, et al. 2006).

Se encuentra en áreas de bosque de encino o de pino-encino y se distribuye en ambientes semicálidos y templados, la planta se adapta a suelos arcillosos y arenosos que estén bien drenados; sin embargo, bajos niveles de nitrógeno pueden constituir una barrera significativa para lograr buenos rendimientos. Es una planta de día corto y no tolera las heladas se puede cultivar desde el nivel del mar hasta los 2500 msnm (Hernández-Gómez, et al. 2008).

Tabla 1. Características de la localización de los sitios de cultivo de la chía

País	Localidad	Latitud	Elevación (msnm)	T° anual/estación² (°C)	Precipitaciones Anuales/estación (mm)	Ciclo de cultivo (días)
Argentina	El carril	25° 05' S	1170	17,3/16,6	5607390	150
Bolivia	Santa Cruz	17° 43' S	437	24,6/22,8	1141/566	150
Colombia¹	La Unión	4° 32' N	920	24/23,8	1118/341	90
México¹	México	19° 00' N	2259	15,5/16,3	579/470	150
México	Acatic	20° 55' N	1680	18,5/-	700/553	150
Perú¹	Ica	14° 05' S	396	21,1/20,4	3/1	150

¹Discontinuo

²Promedio de la estación de cultivo de la chía. (Ayerza & Coates, 2005).

Son hierbas anuales o arbustos perennes, que contienen aceites esenciales en los pelos glandulares de sus hojas y tallos. El género *Salvia* incluye unas 900 especies y se distribuye extensamente en varias regiones del mundo, tales como Sudáfrica, América Central, América del Norte, Sudamérica y Asia Sur-Oriental (Cornejo-Tenorio & Ibarra-Manríquez, 2011).

Salvia hispánica es una planta herbácea anual, que se desarrolla desde 1 a 1,5m de altura, con tallos ramificados de sección cuadrangular con pubescencias cortas y blancas. Presenta hojas

simples opuestas, aromáticas con bordes aserrados de 8-10 cm de longitud y 4-6 cm de ancho (Di Sapio O., et al. 2012). Las flores bilabiadas, hermafroditas, púrpuras o blancas, pedunculadas y se encuentran reunidas en grupos de 6 o más ramilletes terminales (Ixtaina, 2010), (Di Sapio O., et al. 2008).



Figura 1. Aspecto general de la chía (individuo adulto)

El fruto, al igual que otras especies de la familia *Lamiaceae*, es un esquizocarpo consistente en lóculos indehiscentes que forman 4 mericarpios parciales denominados núculas, comúnmente conocido como semillas, los cuales son monospermicos, ovales, suaves y brillantes, de color pardo grisáceo con manchas irregulares marrones en su mayoría y algunos (Ayerza & Coates, 2005); (Busilacchi, et al. 2013).



Figura 2. Exomorfología de las clusas oscuras y claras

La temperatura, la luz, el tipo de suelo y la nutrición de las plantas afectan tanto la cantidad como la calidad del aceite contenido en la semilla de chía. Se ha encontrado una correlación negativa entre las temperaturas medias y el contenido del ácido graso α -linolénico de la semilla de chía (Ayerza R. , 1995).

Tabla 2. Contenido y composición de ácidos grasos de aceite de semilla de chía cultivada en diversos países de América

País	Aceite (g/100g semilla)	Ácido graso (%)				
		Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico	α -linolénico
Argentina	34,0	7,0	3,0	6,7	19,5	63,1
Bolivia	32,7	7,4	2,7	7,1	18,7	63,6
Colombia	29,9	7,5	3,5	7,6	19,2	57,9
México	31,0	6,7	3,3	7,5	19,6	61,6
Perú	32,4	7,2	3,0	6,9	18,4	64,2

(Ayerza & Coates, 2005).

2.2.1.3. Composición química y aspectos nutricionales de la semilla de chía

La semilla de chía y los cinco cereales de mayor importancia a nivel mundial (arroz, cebada, avena, trigo, maíz), puede verse que el contenido de proteínas, lípidos, fibra y energía de la semilla de chía es mayor que los presentes en los demás cultivos. Asimismo, si bien la chía es conocida principalmente como una importante fuente de ácidos grasos ω -3, también contiene otros compuestos de importancia a nivel nutricional (**Tabla 3**).

Tabla 3. Energía y composición centesimal correspondiente a diversos granos

Grano	Energía Kcal/100g	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Fibra	Cenizas
		%				
Arroz ¹	358	6,5	0,5	79,1	2,8	0,5
Cebada ¹	354	12,5	2,3	73,5	17,3	2,3
Avena ¹	389	16,9	6,9	66,3	10,6	1,7
Trigo ¹	339	13,7	2,5	71,1	12,2	1,8
Maíz ¹	365	9,4	4,7	74,3	3,3	1,2
Chía ^{2,3}	550	19-23	30-35	9-41	18-30	4-6

(Ayerza & Coates, 2004)

Contenido de aceite y composición de ácidos grasos

El contenido de aceite presente en la semilla de chía es alrededor de 33%, el cual presenta un mayor porcentaje de ácido α -linolénico conocido hasta el momento (62 – 64%), así como el tenor más elevado (82,3%) de ácidos grasos esenciales (ácidos α -linolénico y linoleico), seguido por el cártamo, el lino y el girasol con 75, 72 y 67% respectivamente. Actualmente, se disponen en el mercado de cuatro fuentes de ácidos grasos ω -3. Las dos más importantes en volumen de producción son las asociadas al pez menhaden (*Brevortia tyrannus*) y la semilla de lino, mientras que las fuentes minoritarias son la semilla de chía y las algas marinas (Ayerza R. , 1995); (Ayerza & Coates, 1996) . Caracterización comparativa del perfil de ácidos grasos de dichas fuentes, donde al comparar sólo el contenido total de ácido palmítico y el ácido mirístico, la chía tiene 3,3 y 7,1 veces menos cantidad que el aceite de menhaden y el de algas respectivamente. De estas cuatro materias primas, el lino (*Linum usitatissimum* L.) y la chía son los cultivos agrícolas que presentan la mayor concentración conocida de ácido α -linolénico (**Tabla 4**). Las otras dos fuentes son de origen marino y contienen DHA y EPA, ambos ácidos grasos ω -3 de cadena larga. Las fuentes de origen vegetal a nivel terrestre presentan un contenido de estos compuestos mucho mayores, así como un menor tenor de ácidos grasos saturados con respecto a las fuentes marinas.

Tabla 4. Caracterización comparativa de diversas fuentes de ácidos grasos ricos en ω -3

Aceite	Ácido graso (% del total de ácidos grasos)										
	14:0	16:0	16:1 ¹	18:0	18:1 ²	18:2 ³	18:3 ⁴	20:4 ³	20:5 ⁴	22:5 ⁴	22:6 ⁴
Menhaden	8,0	15,2	10,5	7,8	14,5	2,1	1,5	1,2	13,2	4,9	8,6
Algas	4,2	14,5	27,6	0,8	5,4	2,3	1,7	4,7	27,7	-	-
Chía	-	6,9	-	2,8	6,6	19,0	63,8	-	-	-	-
Lino	-	5,5	-	1,4	19,5	15,0	57,5	-	-	-	-

14:0: ácido mirístico; 16:0: ácido palmítico; 16:1: ácido palmitoleico; 18:0: ácido oleico; 18:2 ácido linoleico; 18:3: ácido α -linolénico; 20:4: araquidónico; 20:5: ácido eicosapentaenoico (EPA); 22:5: docosapentaenoico (DPA); 22:6: ácido docosahexaenoico (DHA); ¹ ω -7; ² ω -9; ³ ω -6; ⁴ ω -3. (Ayerza & Coates, 2005)

Contenido de proteínas y composición de aminoácidos

La chía posee un contenido de proteínas que oscila entre 19 y 23% (**Tabla 3**) de granos, el cual es mayor que el asociado a los cereales tradicionales, presentando como ventaja adicional el no contener gluten, motivo por el cual ha sido aprobada por la Asociación Celíaca Argentina como apta para su uso en pacientes celíacos. Los aminoácidos de las proteínas de la chía (**Tabla 5**). Las proteínas de chía presentan un buen balance de aminoácidos esenciales. Entre ellos, puede destacarse el contenido de lisina, así como porcentajes de metionina y cistina mayores que los presentes en las proteínas de otras semillas oleaginosas (Ayerza & Coates, 2005).

Tabla 5. Contenido de aminoácidos correspondientes a hidrolizados de proteínas de semillas de chía

Aminoácidos	g/16 g N	Aminoácidos	g/16 g N
Ácido aspártico	7,64	Isoleucina	3,21
Treonina	3,24	Leucina	5,89
Serina	4,86	Triptófano	–
Ácido glutámico	12,40	Tirosina	2,75
Glicina	4,22	Fenilalanina	4,73
Alanina	4,31	Lisina	4,44
Valina	5,10	Histidina	2,57
Cistina	1,47	Arginina	8,90
Metionina	0,36	Prolina	4,40
Total			80,64

(Ayerza & Coates, 2005).

Vitaminas y minerales

La semilla de chía es una buena fuente de vitaminas B (**Tabla 6**). Investigaciones recientes muestran que el bajo nivel de vitamina B en la sangre está asociado a un aumento en el riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular fatal y apoplejía. La composición del contenido de vitaminas de la chía con respecto a la de otros cultivos tradicionales muestra que el nivel de niacina es mayor que el presente en el maíz, soja, arroz y cártamo, mientras que su tenor de vitamina A es inferior al de maíz. Las concentraciones de tiamina y riboflavina son similares a las del arroz y el maíz, aunque menores que las de soja y de cártamo (Ayerza & Coates, 2005).

Tabla 6. Contenido de vitaminas y minerales presentes en semillas de chía y en harina residual desgrasada

Nutriente	Semilla de chía	
	Entera ¹	Harina desgrasada ²
Macroelementos (mg/100g)		
Calcio	714	1180
Potasio	700	1100
Magnesio	390	500
Fósforo	1067	1170
Microelementos (mg/100g)		
Aluminio	2	4,3
Boro	-	1,4
Cobre	0,2	2,6
Hierro	16,4	20,4
Manganeso	2,3	6,8
Molibdeno	0,2	-
Sodio	-	2,9
Zinc	3,7	8,5
Vitaminas (mg/100g)		
Niacina	6,13	11,30
Tiamina	0,18	0,79
Riboflavina	0,04	0,46
Vitamina A	44 IU	-

(Ayerza & Coates, 2005).

Con respecto al contenido de minerales, las semillas de chía son una excelente fuente de calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro, zinc y cobre (ver **Tabla 6**). Además, contienen entre 13-354, 2-12 y 1,6-9 veces más calcio, fósforo y potasio, respectivamente que el trigo, arroz, cebada, avena y maíz. Asimismo, en comparación con la leche, las semillas de chía presentan un contenido 6 veces mayor de calcio, el doble de fósforo y 4,6 veces más de potasio. Los niveles de hierro en las semillas de chía y en la harina desgrasada son muy elevados, representando valores poco frecuentes en semillas (Cahill & Ehdale, 2005).

Fibra dietaria

El análisis comparativo del contenido de fibra de las semillas de chía (18-30%) respecto al de otros cereales, permite apreciar que la chía tiene 1,6; 2,3; 2,6; 8,3 y 9,8 veces más contenido

de fibra dietaria que la cebada, trigo, avena, maíz y arroz, respectivamente (ver **tabla 3**). El contenido de fibra en la harina residual (luego de la extracción de aceite) de chía representan alrededor de un 40 %, de la cual un 5% corresponde a fibra soluble, denominada mucílago. Las semillas de chía al ser sumergidas en agua, quedan envueltas por un material de aspecto gelatinoso conocido como mucílago, el cual es de interés no solo desde el punto de vista nutricional sino de importancia como agente espesante en la industria alimentaria. Dicho mucílago es un tetrapolisacárido lineal de alto peso molecular, compuesto por D-xilosa, D-glucosa, 4-o-metil-D-ácido glucurónico en proporciones de 2:1:1, cuyo peso molecular varía entre 0,8 a 2×10^6 Da, presentando una elevada viscosidad en agua con posibles y beneficios efectos metabólicos con respecto a fuentes de fibra dietaria de menos viscosidad tales como la goma guar o β -glucano (Lin, et al. 1994). Cuando la semilla entra en contacto con el agua, el mucílago emerge inmediatamente y en un corto periodo se forma una “capsula mucilaginososa” transparente que rodea la semilla (Muñoz, 2012) ver en la figura 3.



Figura 3: Clusas hidratadas con formación de mucílago

La información existente en cuanto a sus propiedades funcionales es reciente e indica que se trata de un polímero con acción espesante. También se destaca por sus propiedades gelificantes, control de la sinéresis, estabilización de emulsiones, etc. (Phillips & Williams, 2000). La alta solubilidad y capacidad de retención de agua del mucílago de chía le confieren potencialidad como ingrediente funcional para ser utilizado en diferentes aplicaciones en la industria alimentaria. La ingesta de mucílago de chía, solo o en combinación con la semilla, ha demostrado tener influencia en el metabolismo de lípidos, mediante la disminución de la absorción intestinal de ácidos grasos, colesterol y el arrastre de sales biliares, aumentando la pérdida de colesterol a través de las heces, además de inhibir la síntesis endógena de colesterol

y la desaceleración de la digestión y la absorción de nutrientes. Además, como constituyente de la fibra dietética soluble, origina geles de alta viscosidad que producen enlentecimiento del vaciado gástrico y brinda sensación de saciedad (Di Sapio O., et al. 2012).

Antioxidantes

En dos trabajos publicados de medicina y nutrición mencionan que la semilla de chía contienen una cantidad de compuestos con potente actividad antioxidante miricetina, quercetina y ácido cafeico. Estos compuestos son antioxidantes primarios y sinérgicos y contribuyen a la fuerte actividad antioxidante de la chía como fuente de omega-3, elimina la necesidad de utilizar antioxidantes artificiales como las vitaminas. Se ha demostrado que las vitaminas antioxidantes anulan los efectos protectores de las drogas cardiovasculares (Brown, et al. 2001). El problema de ingerir insuficientes antioxidantes desaparece con una mayor cantidad de alfa-linolénico de origen vegetal, lo que genera otra ventaja sobre los ácidos grasos omega-3 provenientes de productos de pescados y algas (Simopoulos, 1999).

La **tabla 7** muestra los compuestos polifenólicos presentes en extractos hidrolizados y no hidrolizados obtenidos a partir de la semilla de chía (Taga, et al. 1984). Se obtuvo una fracción de harina de chía rica en fibra (FRF) y evaluaron su actividad antioxidante, la cual fue de 488,8 mmol equivalentes Trolox (TE)/g, valor similar al informado para el salvado de sorgo con alto contenido de taninos (Awika, et al. 2003), mayor que el de algunos granos de y la mitad que el informado para el vino tinto, el que presenta uno de los niveles más altos de actividad antioxidante (Saura-Calixto & Goñi, 2006). La elevada actividad antioxidante de la FRF es atribuible a la presencia de los compuestos polifenólicos citados (ver **tabla 7**), principalmente los ácidos cafeico y clorogénico y la quercetina, la cual es uno de los compuestos más potentes y estables para los cuales se ha evaluado la actividad antioxidante (Huang, et al. 2005)

Tabla 7. Concentración de antioxidantes fenólicos presentes en extractos de semilla de chía

Compuesto	g/kg de semilla de chía
Extracto no hidrolizado	
Flavonoles	nd
Ácidos cinámicos	
Ácido cafeico	$6,6 \times 10^{-3}$
Ácido clorogénico	$7,1 \times 10^{-3}$
Extracto hidrolizado	
Flavonoles	
Mircetina	$3,1 \times 10^{-3}$
Quercetina	$0,2 \times 10^{-3}$
Kaempferol	$1,1 \times 10^{-3}$
Ácidos cinámicos	
Ácido caféico	$13,5 \times 10$

(Taga, et al. 1984).

2.2.2. Ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos orgánicos monoenoicos, se hallan de forma cíclica en lípidos de algunos microorganismos y semillas, y casi siempre esterificando el glicerol y eventualmente a otros alcoholes. Son monocarboxílicos de cadena lineal larga, que generalmente contienen un número par de átomos de carbono, normalmente entre 8 y 22. Los ácidos grasos presentes en el organismo se encuentran en su forma saturada o en la forma insaturada debido a la presencia de dobles ligaduras. Los ácidos grasos insaturados pueden ser monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) (Rodríguez-Cruz, et al. 2005). Se conocen más de 100 ácidos grasos naturales. Se trata de los ácidos carboxílicos, cuyo grupo funcional (-COOH) está unido a una larga cadena hidrocarbonada normalmente no ramificada. Se diferencian entre sí en la longitud de la cadena y el número y las posiciones de los dobles enlaces que puedan tener. Los que no poseen dobles enlaces se denominan ácidos grasos saturados (de hidrógeno) y los que poseen uno o más dobles enlaces se denominan ácidos grasos insaturados (Blanco & Blanco, 2011).

2.2.2.1. Nomenclatura de los ácidos grasos

Por lo general, los ácidos grasos de interés biológico son los ácidos carboxílicos de número par de átomos de carbono. Se pueden clasificar en cuatro grupos de acuerdo con la longitud de su cadena:

- Ácidos grasos de cadena corta (4-6 átomos de carbono).
- Ácidos grasos de cadena media (8-12 átomos de carbono).
- Ácidos grasos de cadena larga (14-18 átomos de carbono).
- Ácidos grasos de cadena muy larga (20 o más átomos de carbono).

Los ácidos grasos de cadena corta y media se distinguen de los de cadena larga y muy larga en sus mecanismos de digestión, absorción y metabolismo. Por otra parte, los ácidos grasos pueden ser saturados, tener un doble enlace (monoinsaturados) o más dobles enlaces (poliinsaturados) (Murray, et al. 2010).

Los ácidos grasos naturales presentan un tipo de isomería geométrica, la disposición espacial de los hidrógenos en los enlaces simples es *trans*, mientras que los dobles enlaces adoptan casi siempre una configuración de tipo *cis*. Los ácidos grasos *trans* no pueden sustituir a los de tipo *cis* desde el punto de vista nutricional (Mataix, 2002).

La nomenclatura sistemática de uso más frecuente se basa en la designación de los ácidos grasos de acuerdo con el hidrocarburo que posee el mismo número y disposición de átomos de carbono, sustituyendo la -o- por la terminación -oico-. Por tanto los AG saturados terminan en -anoico-, y los AG insaturados con dobles enlaces terminan en -enoico-. Los átomos de carbono se numeran a partir del carbono del carboxilo hasta el carbono de la terminal metilo que se conoce como el átomo de carbono omega (Hernández Rodríguez & Sastre Gallego, 1999). Sin embargo, por razones fisiológicas, resulta más fácil y útil indicar exclusivamente el número de átomos de carbono, el número de dobles enlaces y la posición del primero de ellos contando a partir del carbono terminal no carboxílico, añadiendo ω o **n**.

Ácidos grasos esenciales

Los ácidos linoleico, alfa-linolénico y araquidónico han sido considerados tradicionalmente como ácidos grasos esenciales, en 1929 se puso en manifiesto en animales de experimentación desde entonces ha sido extensamente documentada (Tolonen, 1995).

Los ácidos grasos esenciales se utilizan para la síntesis de otros ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, de esta forma, el ácido linoleico es el precursor de los ácidos grasos de la serie n-6; que se transforma en ácido γ -linolénico mediante la enzima delta-6-desaturasa, este último se elonga para formar el ácido dihomo- γ -linolénico, que puede sufrir otra desaturación y convertir en el ácido araquidónico gracias a la delta-5-desaturasa (Linscheer & Vergroesen, 1994). El ácido α -linolénico es el precursor de los ácidos grasos de la serie n-3, a partir del cual se forman, el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) entre otros (Burdge, et al. 2002).

Las células de los mamíferos no tienen las desaturasas capaces de introducir un doble enlace en los átomos de carbono 12 (Δ^{12} – desaturasa) y 15 (Δ^{15} – desaturasa) de los ácidos grasos; por lo tanto, no pueden sintetizar el ácido linoleico ni el ácido α -linolénico, respectivamente (Lehninger, et al. 1993); (García Muriana, 2002). La carencia de ácidos grasos esenciales en la alimentación de los mamíferos conduce a trastornos en el crecimiento, cambios en la piel, alteraciones inmunológicas, neurológicas, serios cambios conductuales y cardiopatías (Innis, 1991). El DHA y el EPA son considerados ácidos grasos esenciales en etapas tempranas del desarrollo de los mamíferos, ya que, en estas etapas la síntesis de estos ácidos grasos a partir de sus precursores no es suficiente para cubrir los elevados requerimientos del periodo de desarrollo (Smith, 2002).

Ácidos grasos poliinsaturados

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL) son componentes dietarios que participan en múltiples procesos fisiológicos, dentro de los AGPICL encontramos dos grupos principales; los ácidos grasos omega-3 (ω -3) y omega-6 (ω -6), los cuales son ácidos grasos esenciales (AGE) para el ser humano (Valenzuela, et al. 2011).

El primer exponente de los ácidos grasos omega-3 es el ácido α -linolénico (C18:3) el cual vía desaturasas y elongasas se puede transformar en el ácido eicosapentaenoico (C20:5, EPA) y posteriormente en el ácido docosahexaenoico (C22:6, DHA). Donde los ácidos grasos ω -6 es el ácido linoleico (C18:2) y uno de sus derivados más importantes es el ácido araquidónico (C20:4, AA) (Cunnane, 2003).

Las fuentes alimentarias del ácido linoleico y del ácido α -linolénico son los alimentos de origen vegetal, especialmente los aceites y los frutos secos, la fuente nutricional de los AGPICL derivados de estos, son los alimentos de origen animal. El AA se encuentra en las carnes, el EPA y DHA se encuentran tanto en animales como vegetales de origen marino, particularmente en pescados con un elevado contenido de grasa (Simopoulos A. P., 2010).

El AA, EPA y DHA son importantes componentes estructurales de los fosfolípidos de las membranas y son el sustrato para la información de una serie de derivados lipídicos llamados eicosanoides y docosanoides, los cuales ejercen importantes acciones en el metabolismo celular (Serhan & Chiang, 2008). Además han sido el foco de interés de un gran número de investigaciones producto de sus bien caracterizados efectos antiinflamatorios y citoprotectores (Calder, 2006); (Wanten & Calder, 2007).

2.2.2.2. Metabolismo de los ácidos grasos poliinsaturados

Los ácidos grasos que provienen de la dieta entran a los enterocitos por medio de una proteína que transporta ácidos grasos localizada en la pared intestinal. Los ácidos grasos con más de 14 carbonos, como es el caso del ácido linoleico (AL) y el ácido alfa linolénico (ALN), se esterifican para formar triacilgliceroles dentro del enterocito y pasan a la circulación sanguínea a través de la vía linfática en forma de quilomicrones (Freese & Mutanen, 1997).

La enzima lipoproteína lipasa (LPL), que se encuentra en la pared interna de los capilares sanguíneos hidroliza los triacilgliceroles presentes en las lipoproteínas de los quilomicrones liberando ácidos grasos incluyendo AGPIs (Rodríguez-Cruz, et al. 2005). Los ácidos grasos indispensables (AGPIs) libres se incorporan en los triacilgliceroles del tejido adiposo e inhiben la expresión génica de enzimas involucradas en la lipogénesis; en el musculo incrementan la oxidación de ácidos grasos y reducen la acumulación de triacilgliceroles; en la glándula mamaria lactante se utilizan para la síntesis de los lípidos de la leche (Del Valle, et al. 2001),

en el hígado son incorporados a triacilgliceroles y suprimen la síntesis de lípidos y estimulan la oxidación de ácidos grasos (Clarke, 2001).

2.2.2.3. Requerimiento nutricional e ingesta recomendada de PUFA n-3

Las cantidades necesarias de ácidos grasos omega-3 van a depender del ciclo de vida de cada persona y de las demandas de su estado fisiológico o patológico que pueden llevar a un aumento en las necesidades de ácidos grasos. Sin embargo, se estima que el promedio general necesario de ácidos grasos omega-3 de una ingesta sería del 1% de la energía total y de un 4% para los omega-6. El contenido de ácidos grasos omega-3 en una alimentación convencional es bajo, por lo que el consumo diario promedio no alcanza a superar el 0,5% de la energía total (Burdge & Calder, 2005). Las estimaciones realizadas sobre la ingesta de ácidos grasos n-3 se basan en datos sobre el consumo de alimentos y análisis químicos de las dietas. El consumo aproximado de ALN en los países europeos varía entre 0.6 y 2.5 g/día (Sanders, 2000). El consumo de EPA y DHA es de 0.1 a 0.5 g/día en Europa (BB13), de 0.1 a 0.2 en Estados Unidos y de 2g/día en Japón (Kris-Etherton, y otros, 2000). El consumo de los ácidos grasos saturados no debería superar en ningún caso el 10% del valor calórico total de la dieta habitual, los ácidos grasos poliinsaturados deben limitarse a una cantidad que no sobrepase el 5% de la energía total, así como la cantidad de omega-6 debe ser del 4% y 1% restante de omega-3 (Ruxton, et al. 2004).

Efectos benéficos de los PUFAs n-3 sobre la salud humana

La nutrición es un factor importante donde se ha demostrado que los factores genéticos determinan la susceptibilidad de un individuo a contraer enfermedades (Lusis, 2000). Estudios sobre la dieta indican que los cambios más importantes ocurrieron en el tipo y la cantidad de ácidos grasos esenciales y de antioxidantes en los alimentos (Mata, et al. 2002). Muchos de los cambios a lo largo del tiempo fueron promotores de enfermedades crónicas en la actualidad, como la enfermedad inflamatoria, la obesidad, la hipertensión arterial. Las evidencias sugieren que los ácidos grasos omega-3 juegan un rol importante en el funcionamiento de la membrana celular, la función de estos ácidos grasos, es aportar mayor flexibilidad a las membranas celulares, permitiendo el movimiento de proteínas en su superficie y dentro de la bicapa fosfolipídica (Brenna, et al. 2009). En la actualidad en los

países industrializados existe un cambio en el aporte de ácidos grasos n-3 y n-6 en los alimentos, junto con el cambio de hábitos dietarios teniendo una relación n-6/n-3 sea de 15-20:1, cuando debería ser inferior a 10:1 (Simopoulos & Cleland, 2003) (Estudio FAO Alimentación y Nutrición, 2012).

a) Neuroprotector

Desde hace ya varios años estudios en humanos, en animales y en modelos celulares in vitro han revelado un efecto neuroprotector, la suplementación dietaria con AGPICL ω -3 (específicamente DHA) permitió prevenir el deterioro anatomofuncional en las neuronas, también reduce el daño oxidativo y los problemas de aprendizaje (Lauritzen, et al. 2000). Actualmente se postula que estos ácidos grasos pueden ser utilizados como parte del tratamiento de múltiples neuropatologías, además de la neuropatía diabética y la enfermedad de Alzheimer, entre las que destacan la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple, la depresión y la esquizofrenia (Hogyes, et al. 2003).

b) Nutrición materna

La nutrición materna es de crucial importancia durante la lactancia y embarazo. El crecimiento y desarrollo del feto depende del aporte materno de los AGIPs, donde se ha reportado una asociación entre una menor ingestión de vitaminas y AGIPs y una mayor incidencia de bajo peso al nacer (Crawford, et al. 1997). Estos resultados resaltan la necesidad de un adecuado estado nutricional de ácidos grasos desde las etapas temprana del embarazo y durante la lactancia, con la finalidad de lograr una buena transferencia de ácidos grasos al feto, por la placenta, y al recién nacido a través de la leche humana (Rodríguez-Cruz, et al. 2005). Durante el desarrollo fetal y placentario se requiere de AGPIs-CL, el AL atraviesa la placenta, porque es mayor su concentración en la madre que en el feto; por el contrario el ácido araquidónico (AA) se encuentra en mayor proporción en el feto, esto ocurre en el tercer trimestre, cuando las demandas fetales para el crecimiento neural y vascular son mayores (Estudio FAO Alimentación y Nutrición, 2012).

c) Recién nacidos

La ingesta de ácidos grasos esenciales y sus derivados poliinsaturados de larga cadena desempeñan un papel crucial en la gestación y el primer año de vida del humano (Smit, 2002), no solo para cubrir las necesidades de energía, sino también como vehículo de las vitaminas liposolubles para favorecer la absorción de estas y como fuente importante de AGIs. Los AGIPs n3 y n6 son básicos para el desarrollo cerebral fetal y cognoscitivo del recién nacido. El DHA y el AA son los principales componentes del cerebro, ya que se encuentran en más del 30% de los ácidos grasos que forman los fosfolípidos de las membranas (Connor, 2000).

d) Desarrollo del cerebro

Los lípidos constituyen entre un 50-60% del peso seco del cerebro de un adulto, y aproximadamente un 35% están en forma de LCPUFA, principalmente como AA y DHA (Crawford, 1993), estos se obtienen por biosíntesis a partir de sus respectivos ácidos grasos esenciales obtenidos de la dieta (LA y ALN) o directamente de la dieta (Wainwright, 2002).

e) En la diabetes mellitus

La diabetes mellitus es una enfermedad multigénica y multifactorial se caracteriza principalmente por hiperglicemia, presencia de resistencia a la insulina (RI), hipertrigliceridemia entre otros. Los AGPIs pueden tener un efecto benéfico en el desarrollo o control de la diabetes a través de diferentes mecanismos como la protección de las células beta pancreática del daño causado por el aumento de los radicales libres producidos durante la diabetes. Es importante considerar el tiempo de consumo de estos AGPIs, ya que se ha reportado un aumento en la concentración de la glucosa en las primeras semanas (Woodman, et al. 2002) (Flachs, et al. 2014).

f) En la obesidad

Dentro de los principales factores de riesgo para la obesidad se encuentra la historia familiar, un gasto energético basal disminuido y coeficiente respiratorio alto. Existen diferentes mecanismos por los cuales los AGPIs puedan retrasar o controlar el desarrollo de la obesidad, ya que son reguladores negativos de la lipogénesis hepática (Holman, 1998). Los AGPIs mejoran las alteraciones bioquímicas y metabólicas asociadas con la obesidad, tales como la

esteatosis hepática y la resistencia a la insulina en ratones (Sekiya, et al. 2003). En humanos, los AGPIs de la familia n3 se oxidan más rápido que los ácidos grasos saturados ya que tienen la característica especial de incrementar la termogénesis como consecuencia reducen la eficiencia de depositar grasa corporal (Alfenas & Mattes, 2003) (Clarke, 2000). Por otra parte, la obesidad actualmente se considera como una enfermedad inflamatoria, ya que en niños y adultos con sobre peso y obesidad presentan altas concentraciones de marcadores de inflamación, los AGPIs de cadena larga inhiben la producción de estas citosinas proinflamatorias e incrementan el número de receptores de insulina en varios tejidos (Ramos, et al. 2003).

g) En enfermedades cardiovasculares

El efecto protector de AGPIs para evitar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares es a través de la inhibición de la respuesta inflamatoria, además de la suspensión de moléculas de adhesión, de su efecto hipolipidémico (Simopoulos A. P., 1999). Los datos de los diferentes estudios sugieren que el efecto benéfico en la función cardiovascular se debe a la disminución de las grasas saturadas y/o a la sustitución de la grasa saturada por AGPIs. Sin embargo el consumo bajo en grasa saturada y poliinsaturada, y altas en hidratos de carbono, reducen la concentración sanguínea del HDL (lipoproteínas de alta densidad) y aumentan los niveles de triacilgliceroles, lo que incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (Mensink & Katan , 1992). Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de mortalidad en los países occidentales y una parte importante de Asia y se conoce que la dieta puede influir en algunos de los factores de riesgo descritos para estas enfermedades (Lusis, 2000), (Ruxton, et al. 2004).

2.2.2.4. Recomendaciones de los AGPIs

Los AGPIs contribuyen con 7% del consumo total de energía y con 19-22% del consumo de energía proveniente de la grasa de las dietas de adultos. Estas cantidades se encuentran dentro del consumo recomendado para hombres y mujeres. El AI es el principal AGPI y comprende del 84-89% de la energía total de los AGPIs, mientras que el AI contribuye con 9-11% de esta energía. El AA proporciona $\leq 0.1\%$ del consumo de energía, y el EPA y el DHA juntos

aportan $\leq 0.1-0.2\%$ de la energía total. Esto indica que los AGPIs contribuyen en menor grado al consumo de grasa total en la dieta (Kris-Etherton, et al. 2000).

2.2.3. Modelo animal en la investigación biomédica

El animal de laboratorio es una de las piezas fundamentales en las ciencias biomédicas. Son usados como modelos para investigar y comprender las causas, diagnóstico y tratamiento de enfermedades que afectan al ser humano y a los animales, aportes en el desarrollo, producción y control de medicamentos, alimentos y otros insumos, donde en muchos casos hasta la fecha son insustituibles (Zuñiga, et al. 2001).

Estos animales son para el investigador un reactivo biológico, por lo que su pureza debe ser vigilada, controlada y contrastada, al igual que cualquier reactivo. Por esta razón se requiere la producción de animales de laboratorio “estandarizados o definidos”, con características genéticas y sanitarias definidas, criados en ambientes controlados que respeten los requerimientos de la especie, con el correcto cumplimiento de los principios éticos y de bienestar animal. Es bien conocido que el estado sanitario de los animales interfiere en el resultado de las investigaciones y está ligado a la capacidad de respuesta. El uso de animales con un estado de salud deficiente conduce irreversiblemente a la obtención de resultados erróneos (Cardozo de Martínez, et al. 2007).

Modelos y características

Dentro de los modelos de experimentación sin duda, la rata/ratón es el más conocido y utilizado en la mayor parte de las experiencias in vivo de biología y medicina, es en general el modelo elegido para conocer la reacción de un organismo mamífero frente a una agresión, una intoxicación o una infección experimental; reacciones o trastornos inmunológicos, oncología y embriología (Waldron, 2013). Muchos de los investigadores consideran el ratón y la rata como modelos casi perfectos porque además de su corto tiempo generacional, alta performance reproductiva y fácil mantenimiento, son los animales más sofisticados que pueden ser utilizados en investigaciones nutricionales, comportamentales y endocrinológicas (Benavides & Guénet, 2003).

***Sprague dawley* (ratas de laboratorio)**

Originado por R. Dawley, *Sprague-Dawley* Company, Madison, Wisconsin, en 1925. Un macho híbrido de origen desconocido fue acoplado a una hembra blanca (de la cepa Douredoure, probablemente de Wistar) y, posteriormente, a su descendencia femenina blanca durante siete generaciones sucesivas. Múltiples líneas, desarrolladas por la endogamia, a partir de entonces se desarrollaron una acción heterogénea estable. La colonia original fue cerrada después de su desarrollo, y ninguna nueva acción ha sido introducida desde entonces.

Anatomía

Diferencias específicas de deformación en la cepa granular de albinos ratas han sido descritos por Heinsen y Heinsen (1984). La anchura radial de tres filas de placas cuticulares de células ciliadas externas, la distribución de las células ciliadas internas a lo largo del órgano de Corti, y la maduración postnatal del oído medio se examinaron en ratas de la *Sprague-Dawley* y *Lewis* cepas de 0-24 días y dos meses. Las diferencias en el peso del corazón y el número de miocitos se pueden encontrar en las ratas de la misma cepa, pero obtuvieron a partir de diferentes proveedores. El crecimiento craneofacial y las relaciones espaciales durante el desarrollo del paladar.

2.2.4. Nutrición y alimentación

Actualmente, el concepto de nutrición ha cambiado notablemente gracias a la investigación en ciertas áreas de gran interés. Las prioridades ya no se encuentran centradas en las carencias nutricionales, el interés actual radica en la relación entre alimentación y enfermedades crónicas no transmisibles. También se ha considerado los efectos de la nutrición sobre el desarrollo cognitivo y psicomotor, inmunidad, crecimiento y composición corporal, entre otros (Martínez de la Victoria Muñoz, 2012). Los consumidores, conscientes de sus necesidades buscan en el mercado aquellos productos que contribuyan a su salud y bienestar. Siguiendo esta tendencia, reciben abundante información sobre las propiedades saludables de los alimentos, en especial de aquellos alimentos que ejercen una acción beneficiosa sobre algunos procesos fisiológicos y/o reducen el riesgo de padecer una enfermedad. Estos alimentos que

promueven la salud han sido denominados Alimentos Funcionales (AF) (Márquez, et al. 2010).

Los AF son alimentos en los que algunos de sus componentes afectan funciones del organismo de manera específica y positiva, promoviendo un efecto fisiológico o psicológico más allá de su valor nutritivo tradicional. Dicho efecto puede contribuir a la mantención de la salud y bienestar, a la disminución del riesgo de enfermar, o ambas cosas. La relación del hombre con el alimento en el mundo occidental ha atravesado una serie de etapas histórico-culturales delimitadas por un conjunto de rasgos distintivos (Olagnero, et al. 2007).

En la última etapa, uno de esos rasgos determinantes del trato con los alimentos fue la aparición de la nutrición científica, por ende la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y organismos técnicos de las Naciones Unidas (UN), se encargan de aportar orientaciones basadas en las evidencias científicas en materia de alimentación y nutrición a la comunidad. Durante los últimos 15 años, los cambios en las dietas y estilos de vida derivados de la industrialización, la urbanización, el desarrollo económico y la globalización del mercado han aumentado rápidamente, en especial en los países en vías de desarrollo, donde se están produciendo grandes cambios socioeconómicos (Estudio FAO Alimentación y Nutrición, 2012).

La alimentación es la forma de proporcionar, en nuestro caso al animal de laboratorio, los alimentos necesarios para que alcance un crecimiento y desarrollo óptimo. La nutrición es el conjunto de procesos mediante los cuales el organismo animal recibe, transforma, incorpora y utiliza los nutrientes contenidos en los alimentos, y que constituyen los materiales esenciales para el mantenimiento de la vida. La alimentación se relaciona con una serie de actividades conscientes y voluntarias dependientes del cuidador, casi exclusivamente, mediante las cuales se suministran al animal los alimentos que precisa, tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo y que el animal voluntariamente ingiere y deglute (McDonald, et al. 2006).

El estado nutricional de un animal de laboratorio está directamente relacionado con la alimentación que recibe. Un correcto estado nutricional permite al animal que alcance todo su potencial genético en aspectos como el crecimiento, reproducción y las expectativas de vida, a su vez, todo ello afecta al estado físico y a su salud global. Asimismo, una alimentación correcta hace que el animal tenga respuestas más favorables a factores de estrés ambiental,

como la presencia de patógenos. La nutrición es una variable que puede afectar, en distintos sentidos, a los resultados experimentales obtenidos. Así, los resultados de un determinado estudio pueden ser sesgados, o falseados de forma involuntaria, por factores que afectan a la composición de la dieta que ingieren los animales, como pueden ser los cambios desconocidos en los constituyentes de la misma. Esta alteración de la información experimental obtenida puede llevar a conclusiones erróneas o no exactas que suponen el sacrificio inútil de individuos y una pérdida de tiempo y de recursos de investigación (Díaz, et al. 2011).

Para realizar una correcta planificación de la alimentación y conseguir un estado nutricional óptimo se deben conocer las necesidades nutricionales de tipo tanto cuantitativo como cualitativo de las diferentes especies. Esto es fundamental en el proceso de formulación de dietas. Sin embargo, se puede planificar una dieta muy equilibrada que los animales no ingieran, o bien, aunque la ingieran, puede suceder que las disponibilidad digestiva y metabólica de los distintos nutrientes no sea la adecuada. Por tanto, a la hora de determinar estos requerimientos se deben tener en cuenta una serie de factores, como la palatabilidad, que va a condicionar la ingestión de alimento, su utilización digestiva y metabólica y su excreción. Todos estos procesos pueden, a su vez, estar influenciados por factores externos, como la forma física del alimento, o las características orosensoriales, junto con la presencia de sustancias antinutritivas y contaminantes. Además, hay que tener en cuenta las posibles pérdidas de nutrientes derivadas de los procesos de fabricación y almacenamiento de los alimentos. Igualmente, se deben considerar otros factores que dependen del propio animal, como la especie considerada, la ontogenia, el estado fisiopatológico, etc (McDonald, et al. 2006)..

Necesidades nutricionales de los animales de laboratorio

Con independencia de la especie y tipo de modelo experimental, estos animales necesitan ingerir una serie de nutrientes que son comunes a todos ellos. Los macronutrientes son las proteínas, los hidratos de carbono y las grasas. Los micronutrientes están constituidos por los minerales y las vitaminas. En la formulación de una dieta lo más importante es asegurar el aporte adecuado de los distintos nutrientes. Para ello, debemos conocer los requisitos de todos y cada uno de estos nutrientes para la especie considerada. Sin embargo, puesto que la cantidad de alimento ingerido va a venir determinada por las necesidades energéticas de la

especie en cuestión, resulta esencial establecer la densidad calórica de la dieta, es decir, la cantidad de cada nutriente por un número determinado de kilocalorías (kcal) o kilojulios (kJ).

Proteínas

Son macronutrientes cuya función principal en el organismo es participar en la formación de estructuras corporales y en la síntesis de moléculas reguladoras de distintas funciones orgánicas. Los animales no necesitan las proteínas como tales aportadas por los alimentos, sino los aminoácidos (AA) que las componen para poder sintetizar, tras su incorporación, sus propias proteínas. Además, no necesitan todos los AA, sino solo los esenciales (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

Hidratos de carbono

En la dieta de ingredientes naturales para animales de experimentación los almidones de los cereales son la principal fuente de hidratos de carbono (HC). En las dietas purificadas el aporte de HC se realizan utilizando almidón y sacarosa, que además contribuyen a dar sabor al alimento, mejorar su aceptación y, por lo tanto, su ingestión. En los últimos años se ha ido sustituyendo parte de la sacarosa por maltodextrinas por distintas causas. La principal función de los HC es aportar energía a corto plazo, por lo que no existen requisitos específicos sino en función del aporte de energía (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

Fibra

Es un componente hidrocarbonado no digestible de la dieta en animales monogástricos. Esto significa que no aporta energía, en cantidades apreciables, ni otros nutrientes. Sin embargo, debido a su papel regulador de todo el proceso digestivo, disminuyendo el tiempo de tránsito y aumentando el volumen de las heces, entre otras funciones, se le considera un componente dietético más. La fibra da mayor volumen a la dieta, evitando la formación de masas solidas de alimento que impidan la penetración de los jugos digestivos. Tienen un efecto laxante, por distender el intestino, y contribuye a la palatabilidad de los alimentos. Al ser prácticamente acalórica actúa como diluyente energético en las dietas, y su adición provoca un incremento en la ingestión de alimento por parte del animal. Esta característica se aprovecha para la elaboración de dietas experimentales en las que es necesario modificar la densidad calórica

para cambiar la ingestión de alimentos del animal (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

Grasas

La grasa de la dieta, formada por lípidos, tiene distintas funciones dentro del organismo. Por una parte, constituyen una fuente excelente de energía por su alta densidad calórica, aproximadamente el doble de la cantidad de HC y proteínas. Por otro lado es, un elemento estructural de las membranas celulares, aportando ácidos grasos esenciales que intervienen en diversas funciones corporales, como la formación de eicosanoides, asimismo, es necesaria para la absorción de vitaminas liposolubles (A, D, E, y K). Por último, tiene un papel importante en la palatabilidad de los alimentos, y por tanto, en la aceptación de la dieta por el animal incrementando su ingestión (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

Minerales

Los minerales desempeñan un correcto crecimiento y funcionamiento de los organismos animales. Existen algunos cuyas necesidades son relativamente elevadas, como el calcio, fósforo y magnesio, que entre otras funciones tienen la de formar parte de estructuras orgánicas como el hueso y los dientes. Se necesitan de otros elementos en pequeñas cantidades que no es necesario añadirlos a las dietas de ingredientes naturales, ya que se encuentran entre sus componentes, como contaminantes en los suplementos minerales, o bien en el agua de bebida, de donde el animal los toma, pero si es necesario añadirlos en las dietas purificadas (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

Vitaminas

Las vitaminas son sustancias orgánicas que, aunque se requieren en pequeñas cantidades, son esenciales para la salud y el bienestar del animal. Su función biológica es actuar como biocatalizadores de las diferentes reacciones que tienen lugar en la materia viva, formando parte de distintos sistemas enzimáticos. Los efectos de la deficiencia en una vitamina dada son bastante diferentes en las distintas especies, aunque a veces aparecen manifestaciones del complejo B y la C son hidrosolubles y no se almacenan en el organismo, si exceptuamos la vitamina B12, por lo que es necesario su aporte dietético diario. Algunas vitaminas del complejo B se encuentran, de forma natural en los alimentos, unidas a otras macromoléculas,

frecuentemente proteínas, siendo fácilmente separadas por los procesos digestivos. Estas formas ligadas deben tenerse en cuenta en los métodos de valoración de las vitaminas en los alimentos, para no infravalorar su contenido (Reeves P. G., 1997).

Requisitos nutricionales

El AIN reconoció en 1977 la necesidad e importancia de estandarizar las dietas para roedores de laboratorio, y de acuerdo con ello elaboro unas recomendaciones generales (AIN 1977 y 1995) dirigidas a los investigadores. El sustrato científico de estas recomendaciones se fundamenta en el crecimiento de ratas y ratones destetados como índice de una nutrición óptima. La utilización de animales no destetados como modelo hace difícil la extrapolación de los resultados a animales adultos (Reeves, et al. 1993).

Procesamiento y presentación de las dietas

Las dietas para animales de laboratorio se pueden fabricar con distinta forma física dependiendo del proceso al que se someta la mezcla de ingredientes:

- Molidas
- Granuladas
- Pellets
- Expandidas
- Semihúmedas

En el caso de roedores, el pienso en forma de pellets es el más utilizado. Ofrece ciertas ventajas, ya que aparte de satisfacer la necesidad de roer de estos animales es fácil de manejar, almacenar y administrar, siendo mínimo el desperdicio cuando se lo comen. Presenta el inconveniente de que para añadir un nutriente o producto, se requiere moler dicho pienso, a fin de lograr la mezcla adecuada (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

2.2.4.1. Formulación de dietas para animales de laboratorio

La formulación de dietas tiene como objetivo fundamental conseguir las concentraciones ideales de nutrientes que permitan hacer frente a las necesidades específicas de los distintos animales de laboratorio, teniendo en cuenta las pérdidas debidas a los procesos tecnológicos y

de almacenamiento. La elaboración de dietas de ingredientes naturales es compleja, ya que se parte de ingredientes con cantidades diferentes de nutrientes, y hay que tener en cuenta los nutrientes que aportan cada uno de los ingredientes naturales. Los ingredientes se expresan como porcentaje en peso, debiendo tener la fórmula un valor del 100%. Finalmente, se añaden al pienso las premezclas de vitaminas y minerales, el denominado corrector mineralovitamínico (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

En el caso de las dietas purificadas, la formulación no es tan compleja, al ser cada constituyente fuente de un único nutriente. Las fuentes comúnmente usadas son:

- Caseína o proteína de soja como fuente proteica
- Aceites como fuentes de grasa
- Azúcar y almidón como fuentes de hidratos de carbono
- Celulosa como fuente de fibra bruta
- A todo ello se le añade la premezcla de vitaminas y minerales

Con arreglo al tipo de formulación, se dividen en tres grupos: dietas de ingredientes naturales, purificadas y químicamente definidas (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

Dietas de ingredientes naturales

Este tipo de dietas los ingredientes primarios provienen de fuentes naturales y se elaboran usando como elemento de base cereales sin refinar. Se clasifican en dos grupos cerradas y fórmulas abiertas (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

Dietas purificadas o semisintéticas

Estas dietas se formulan con una combinación de ingredientes naturales, productos químicos puros e ingredientes refinados. Las dietas purificadas solucionan las limitaciones de las dietas de ingredientes naturales, especialmente las relacionadas con la variabilidad de las diferentes partidas y la presencia de contaminantes. Al estar elaborado con cantidades definidas de ingredientes refinados, se minimizan la variabilidad encontrada en el tipo y cantidad de nutrientes y de componentes no nutricionales entre las diferentes partidas de una dieta comercial, y las cantidades de contaminantes químicos contenidos en los ingredientes naturales. Sin embargo, o puede suceder que el balance de los componentes en las dietas purificadas no sea el ideal (McDonald, et al. 2006).

La dieta purificada que se ha empleado con más frecuencia para estudios nutricionales y toxicológicos ha sido la AIN-76-A modificada por el American Institute of Nutrition, para mejorar el rendimiento de los animales que lo consumen. Se llama AIN-93G, formulado para el crecimiento, la gestación y la lactancia y la AIN-93M para el mantenimiento de los animales adultos. Los principales cambios incluyen la sustitución de almidón de maíz por sacarosa y aceite de soja por el aceite de maíz para incrementar la cantidad de los ácidos grasos esenciales (linolénico y linoleico) se sustituye 7g de aceite de soja por 5g de aceite de maíz, por cada 100g de alimento. L-cistina sustituido por DL-metionina para complementar el componente de la caseína. La mezcla de minerales fue reformulado para reducir las cantidades de fosforo, magnesio y cromo para tratar de eliminar el problema de las calcificaciones renales encontrados en la rata. Las cantidades de vitaminas E, K y B12 se aumentan, y se añaden oligoelementos a la mezcla de minerales como litio, vanadio, níquel y molibdeno (Reeves P. G., 1997); (Reeves, et al. 1993).

Regímenes alimenticios

A la hora de alimentar a los animales de laboratorio y en función de los requisitos experimentales, se pueden elegir distintos tipos de regímenes en relación con la cantidad total ingerida o con los tiempos de ingestión (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

Alimentación ad libitum

Este régimen alimenticio supone el libre acceso al alimento las 24 horas del día. Las ratas, ratones y conejos sometidos a este régimen consumen al menos el 80% del alimento durante el periodo de oscuridad. La alimentación ad libitum (AL) es aconsejable en experimentos de corta duración, porque reduce el tiempo que hay que dedicar al mantenimiento de los animales. Asimismo, es el sistema usual en las colonias, tanto para la población reproductora como para los individuos destinados a experimentación, al menos hasta completar su crecimiento. En experimentos de larga duración, la alimentación AL es considerada como la variable incontrolada más significativa que afecta al resultado final de los bioensayos con roedores (Cardozo de Martínez, Mrad de Osorio, Martínez, Rodríguez Yunta, & Lolas Stepke, 2007); (Subcommittee on laboratory animal nutrition, 1995).

2.3. MARCO CONCEPTUAL

Ácido graso insaturado: son ácidos carboxílicos de cadena larga con uno o varios dobles enlaces entre los átomos (Purtge, et al. 2002).

Ácido linoleico: es un ácido graso esencial, es decir, el organismo no puede crearlo y tiene que ser adquirido a través de la dieta (Diccionario de la lengua española, 2014).

Ácido linolénico: es un ácido graso esencial, dado al elevado número de insaturaciones que presenta, se trata de un ácido graso insaturado fácilmente oxidable (Dolonen, 1995).

Ácido graso omega 3: son ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en alta proporción en los tejidos de ciertos pescados y algunas fuentes vegetales (Ayerza R. 1995)

Ácido graso omega 6: son un tipo de ácidos grasos comúnmente encontrados en los alimentos grasos de origen animal o vegetal (Diccionario de la lengua española, 2014).

Ácido docosahexaenoico: es un ácido graso esencial poliinsaturado de la serie omega-3 (Clarke, 2001).

Ácido eicosapentaenoico: es un ácido graso poliinsaturado esencial de la serie omega-3 (Diccionario de la lengua española, 2014).

Clusas: es un fruto seco indehiscente que no se abre al madurar, generalmente unilocular y monospermo, contiene una única semilla (Diccionario de la lengua española, 2014).

Mucilago: es una sustancia vegetal viscosa, también es una solución acuosa espesa de una goma, se encuentran en algas, semillas (Diccionario de la lengua española, 2014).

Fibra dietética: parte de las plantas comestibles que resiste la digestión y absorción en el intestino delgado humano y que experimenta una fermentación parcial o total en el intestino grueso (Diccionario de la lengua española, 2014).

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODO

3.1. **Ámbito de estudio**

3.1.1. **Fase experimental**

Se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud - Universidad Adventista del Plata en la localidad de Libertador San Martín del departamento de Diamante en la provincia de Entre Ríos, República de Argentina. La localidad está representada por un área rural, se ubica al suroeste de la provincia, entre las ciudades de Crespo y Diamante sobre la Ruta Nacional 131 (Anexo 1).

Presenta una altitud de 8 msnm, latitud de $32^{\circ} 2' 59,9971''$ S, longitud de $60^{\circ} 27' 0,0029''$ W, el clima es cálido y templado, hay precipitaciones durante todo el año. La temperatura media anual se encuentra a $18,1^{\circ}\text{C}$ hay alrededor de precipitaciones de 992 mm.

3.2. **Diseño y tipo de investigación**

La investigación fue de tipo experimental, porque se manipulo la variable independiente que tuvo efecto en la variable dependiente como factor en estudio; la formulación de la dieta estándar, la evaluación de crecimiento de los animales de laboratorio y el consumo de las dietas dieta y agua por el periodo de investigación.

3.3. **Población y muestra**

Se utilizaron 32 ratas macho de la cepa *Sprague dawley* con características homogéneas de 21 ± 2 días de nacidas con un peso aproximado de 45 a 50 obtenidas de bioterio de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de Buenos Aires (UBA), Argentina. Durante el estudio de investigación los animales recibieron alimento (pellets 50 gramos por animal) y agua (250 ml por caja de bioterio) *ad libitum*. El manejo de los animales de experimentación se realizó siguiendo todas las normas éticas Comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Salud para el uso de animales.

Para estimar el tamaño de muestra de los animales de experimentación, se utilizó la siguiente fórmula con un nivel de confianza del 95% (Anexo 3).

$$n = \frac{Z^2 \times p \times q}{E^2} = 32$$

Dónde:

Z: Coeficiente de confianza al 95%

p: Posibilidad de certeza

q: Posibilidad de error

E: Nivel de confianza

De los 32 animales de experimentación fueron divididos en 8 grupos de 4 animales cada uno, se aplicó el muestreo aleatorio simple para otorgar la misma probabilidad de elección a todos los elementos de la población experimental y de control. El procedimiento fue al azar, quedando la disposición de las unidades experimental y control como se muestra en el siguiente cuadro (Anexo 4).

Tabla 8. Asignación de las unidades experimentales

Número de animales de grupo experimental	Número de animales de grupo control
4	4
4	4
4	4
4	4

Fuente: Elaborado por el investigador

3.4. Metodología

Los procedimientos realizados en el trabajo de investigación se detallan en los siguientes párrafos, sin embargo para una apreciación general puede observarse los flujogramas y las fotos de los procedimientos en las figuras 4 y 5.

3.4.1. Formulación, elaboración y optimización de la dieta semisintética con semilla de chia para ratas *Sprague dawley* mediante parámetros nutricionales para animales de laboratorio con características similares a los comerciales, se realizó en tres fases:

Fase pre-experimental

Se obtuvieron ratas macho *Sprague dawley* del bioterio de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires – Argentina, con características homogéneas de 21 ± 2 días de edad y de 45 a 50 gramos de peso y libre de patógenos (Diccionario de la lengua española, 2014).. Se compraron semillas de chia negra *Salvia hispánica* orgánica (25 kg por bolsa sellada) de la ciudad de Salta, la semilla orgánica de chia y los insumos (materia prima) se conservaron en envases de plástico cerrados herméticamente a $5 \pm 1^\circ$ C hasta el momento de la realización del experimento.

Los animales se mantuvieron en bioterio estandarizado en jaulas metálicas de acero inoxidable y bajo condiciones controladas de temperatura ($23 \pm 2^\circ$ C), humedad y ciclo de luz/oscuridad (8:00 – 20:00 horas), durante dos semanas, denominándose periodo de aclimatación antes de empezar el trabajo de investigación.

Al cabo de este periodo las ratas fueron divididas aleatoriamente en 2 grupos, denominándose: **grupo experimental** y **grupo control** conformado por 16 ratas cada grupo, los cuales recibieron una dieta (pellet) y agua “*ad libitum*”, acorde con los requerimientos nutricionales de la rata. La identificación de los animales como grupo control y experimental fue señalada mediante marcas de color en la cola.

Fase experimental

Se utilizó la formulación basada en el uso de protocolos estandarizados según el AIN-93 (comité de regulación de dietas para roedores) y los estándares de los valores nutricionales de los insumos proporcionados por la empresa de alimentos para animales.

Utilizando la formulación base con los ingredientes se procedió a lo siguiente:

En la **Tabla 8** se observa la composición de las dietas basadas de acuerdo a las recomendaciones del Comité *Ad Hoc* del “American Institute of Nutrition” (AIN 93) (Reeves, Nielsen, & Fahey, 1993), las mismas fueron preparadas y mantenidas a 4°C hasta el momento del consumo por los animales.

Tabla 9. AIN-93M Formulación de dieta para roedores (estándar)

Ingredientes	g/kg dieta
Almidón	465.692
Caseína ($\geq 85\%$ proteína)	140.000
Almidón dextrinizado (90-94% tetrasacáridos) ¹	155.000
Sacarosa	100.000
Aceite de soja (sin aditivos)	40.000
Fibra ²	50.000
Mix de minerales (AIN-93M-MX)	35.000
Mix de vitaminas (AIN-93-VX)	10.000
L-Cistina	1.800
Colina (41.1%) ³	2.500
Terbutilhidroquinona	0.008

¹Dyetrose (Dyets, Bethlehem, PA) y Lo-Dex 10 (American Maize, Hammond, IN) en las especificaciones. Equivalente al producto utilizado.

²Solka-Floc®, 200 FCC (FS&D, St. Louis, MO) equivalente al recomendado.

³Basado en el peso molecular de la base libre.

Fundamento

Tiene como objetivo fundamental conseguir las concentraciones ideales de nutrientes frente a las necesidades específicas del animal de laboratorio, teniendo en cuenta las pérdidas debidas a los procesos tecnológicos y de almacenamiento. Los ingredientes usados en la dieta estandar se adiciona la semilla de chia que contiene ácidos grasos esenciales ayudan a mejorar el rendimiento de los animales que los consumen, la inclusión de almidón de maíz y sacarosa es

fundamental para la formación de los pellets y la L-cistina ayudara a la absorción de la caseína como fuente de proteína para los animales.

3.4.1.1. Preparación de formulación base de la dieta experimental semisintética de chía (*Salvia hispánica*)

Procedimiento:

Inicialmente se seleccionó la semilla de chia negra granulada (*Salvia hispánica* L.), donde se colocó en tamizadores para utilizar aquellas semillas que tengan un diámetro menor 2µm.

La formulación se realizó aproximadamente para 1 kilogramo de dieta experimental, se colocaron a la izquierda de la balanza todos los componentes necesarios y a medida que se utilizaron y pesaron los ingredientes se tildaron en la hoja de registro (grupo experimental) colocándolos a la derecha para evitar confusión, se pesó la caseína láctica molida malla 90 (Ricardo. S. Albert y Cia. S.A. Buenos Aires), L-cistina (UniFarma S.A. Buenos Aires) y el mix de minerales (premix 1727, Laboratorio Vitafor S.R.L. Santa Fe) teniendo en cuenta que se añadieron con poca luz se colocó en un recipiente de capacidad adecuada, mezclándolos bien manualmente, seguidamente se añadió almidón regular de maíz (Buffalo® 034010) y almidón de maíz dextrinizado (Coragum® de la empresa Productos de Maíz S. A. Buenos Aires), fibra (Argo® 135000, Productos de Maíz S.A. Buenos Aires) y sacarosa (Argo® DX, Producto de Maíz S.A. Buenos Aires) junto al mix de vitaminas (premix 1725, Laboratorio Vitafor S.R.L. Santa Fe) en condiciones de poca luz, se realizó una nueva mezcla finalmente se añadió la semilla de chía (10%) posteriormente se completó el aceite crudo de soja (Tanoni Hnos. S.A. Santa Fe) y agua hasta unir todos los ingredientes formando una masa homogénea y compacta (Reeves, et al. 1993).

3.4.1.2. Preparación de formulación base de la dieta control semisintética

Procedimiento:

La formulación se realizó aproximadamente para 1 kilogramo de dieta control, se colocaron a la izquierda de la balanza todos los componentes necesarios y a medida que se utilizaron y pesaron los ingredientes se tildaron en la hoja de registro (grupo control) colocándolos la derecha para evitar confusión, se pesó la caseína, L-cistina y el mix de minerales (premix

1728, Laboratorio Vitafor S.R.L. Santa Fe) teniendo en cuenta que los minerales se realizaron con poca luz) se colocó en un recipiente de capacidad adecuada, mezclándolos bien manualmente, seguidamente se añadió almidón de maíz, almidón de maíz dextrinizado, fibra y sacarosa junto al mix de vitaminas (premix 1727, Laboratorio Vitafor S.R.L. Santa Fe) en condiciones de poca luz, se realizó una nueva mezcla, finalmente se incorporó lentamente el aceite de soja y agua hasta unir todos los ingredientes formando una masa homogénea y compacta.

Para ambas dieta experimental y control se prendió la estufa para un precalentamiento hasta llegar a la temperatura óptima, se revistió las bandejas con papel aluminio para posteriormente formar los pellets manualmente con un tamaño y diámetro similar, se llevaron a la estufa a 90° C durante 24 horas para su cocción (Reeves, et al. 1993).

Fundamento

Las etapas de elaboración de las dietas experimental y control para aproximadamente 1 Kg de masa se explica a continuación:

Se realizó en pesajes de sólidos secos y líquidos, los sólidos en la balanza (Ohaus Traveler TM), se mezclaron almidón de maíz, almidón dextrinizado, caseína, sacarosa, fibra, mix de minerales y vitaminas y L-cistina. Esta mezcla se obtuvo de la selección de los ingredientes con 2 milímetros de diámetro. La mezcla formada, en las etapas anteriores, durante 2 minutos, posteriormente se agrega aceite de soja y agua, luego se terminó de incorporar los ingredientes amasando hasta que se unan todos los ingredientes.

Se formaron los pellets de 3 cm de longitud, los pellets fueron horneados en una estufa a electricidad (SL 30C San Jor Argentina) a una temperatura de 90° C durante 24 horas. Se realizó a temperatura ambiente (20-25° C) sobre bandejas en sala de envasado durante 1 hora aproximadamente, una vez fríos los pellets de un diámetro consistente, se envasaron en bolsas de herméticas de medio kilogramos y se sellaron con cierre hermético.

3.4.1.3. Determinación de humedad

Procedimiento:

Se determinó la humedad del producto inicial de la dieta al igual que el producto final colocando la masa de forma a granel en el analizador la cantidad entre 3 a 5 gramos y esperar por un lapso de 8 minutos hasta obtener el resultado final. Este análisis se hará por duplicado, en el Laboratorio de la Fábrica de alimentos CEAPE de la Universidad Adventista del Plata (se realizó una capacitación por el personal encargado de la fábrica para el manejo del equipo de medición de humedad).

Fundamento

La determinación precisa del contenido de agua en la dieta es de gran importancia porque nos ayudara a modificar la composición del producto, controlar las materias primas, además facilita su elaboración, prolonga su conservación impidiendo el desarrollo de microorganismos, mantener su textura y consistencia.

Fase post experimental

3.4.2. Evaluación de la eficacia de la dieta optimizada con chia respecto al peso corporal, aceptabilidad de la chia y el consumo de agua, se realizaron las siguientes metodologías:

3.4.2.1. Medición de parámetros

Procedimiento.

Todo el proceso de recolección de los datos de registro de peso corporal, consumo de dieta y agua se efectuó durante los meses de diciembre (2014) a enero (2015), por la mañanas (8.00 a 9:00 am). Para la evaluación del peso corporal de las ratas se utilizó una balanza analítica con una precisión de (10^{-1} gramos). El procedimiento consistió en colocar los animales en un frasco de peso ligero sobre la balanza con el objetivo de evaluar el peso corporal en gramos (g), sin que el animal se moviera constantemente la evaluación se realizó de domingo a viernes. Esta técnica fue repetida 2 veces en el momento de la evaluación, manteniendo siempre los cuidados necesarios de interferencias de objetos extraños y realizando la correspondiente calibración de la balanza. Así mismo se controló el consumo de dieta pesando el total de

alimento y la diferencia del alimento consumido al día siguiente en gramos (g), el mismo paso se realizó para el consumo de agua en mililitros (ml)

Fundamento

La medición de los parámetros nos permite determinar el estado de nutrición de los animales de laboratorio, valorar las necesidades o requerimientos nutricionales y pronosticar los posibles riesgos de salud que pueda presentar en relación con su estado nutricional. El peso corporal es el índice del estado más ampliamente usado como indicador de nutrición, no solo para estimar el consumo de dieta y líquidos.

3.5. Análisis estadístico

Las pruebas estadísticas utilizadas para los grupos control y experimental para la evaluación del peso corporal, consumo de dietas (pellets) y agua se utilizó el diseño experimental: la prueba t de Student, para medir la tendencia central (media) y desviación estándar (s), con un nivel de confianza de 95%.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Formulación de una dieta semisintética con semilla de chia para ratas *Sprague dawley* mediante parámetros nutricionales para animales de laboratorio con características similares a los comerciales

De acuerdo a las recomendaciones de regulación d dietas para roedores AIN 93 (Reeves P. G., 1997) se formularon 2 preparaciones alimenticias, para evaluar la eficacia del alimento en el incremento de peso de las ratas, dichas formulaciones se detallan en los cuadros 2 y 3 se señalan los ensayos realizados para la formulación base de las dietas experimental y control:

Tabla 10. Composición de dieta estándar semisintética isocalórica del grupo experimental.

Ingrediente	Ensayo (peso en gramos)
Caseína	13,9
Semilla de chia	10,0
Aceite de soja	3,0
Almidón de maíz	42,8
Almidón dextrinizado	12,9
L-cistina incluido en caseína	0,18
Mix de minerales	2,8
Mix de vitaminas	0,51
Sacarosa	8,0
Fibra	6,0
Total	100,00

Fuente: Elaborado por el investigador

Tabla 11. Composición de dieta estándar semisintética isocalórica del grupo control.

Ingrediente	Ensayo (peso en gramos)
Caseína	15,2
Semilla de chía	-----
Aceite de soja	6,0
Almidón de maíz	46,3
Almidón dextrinizado	14,1
L-cistina incluido en caseína	0,18
Mix de minerales	3,15
Mix de vitaminas	0,51
Sacarosa	8,6
Fibra	6,0
Total	100,00

Fuente: Elaborado por el investigador

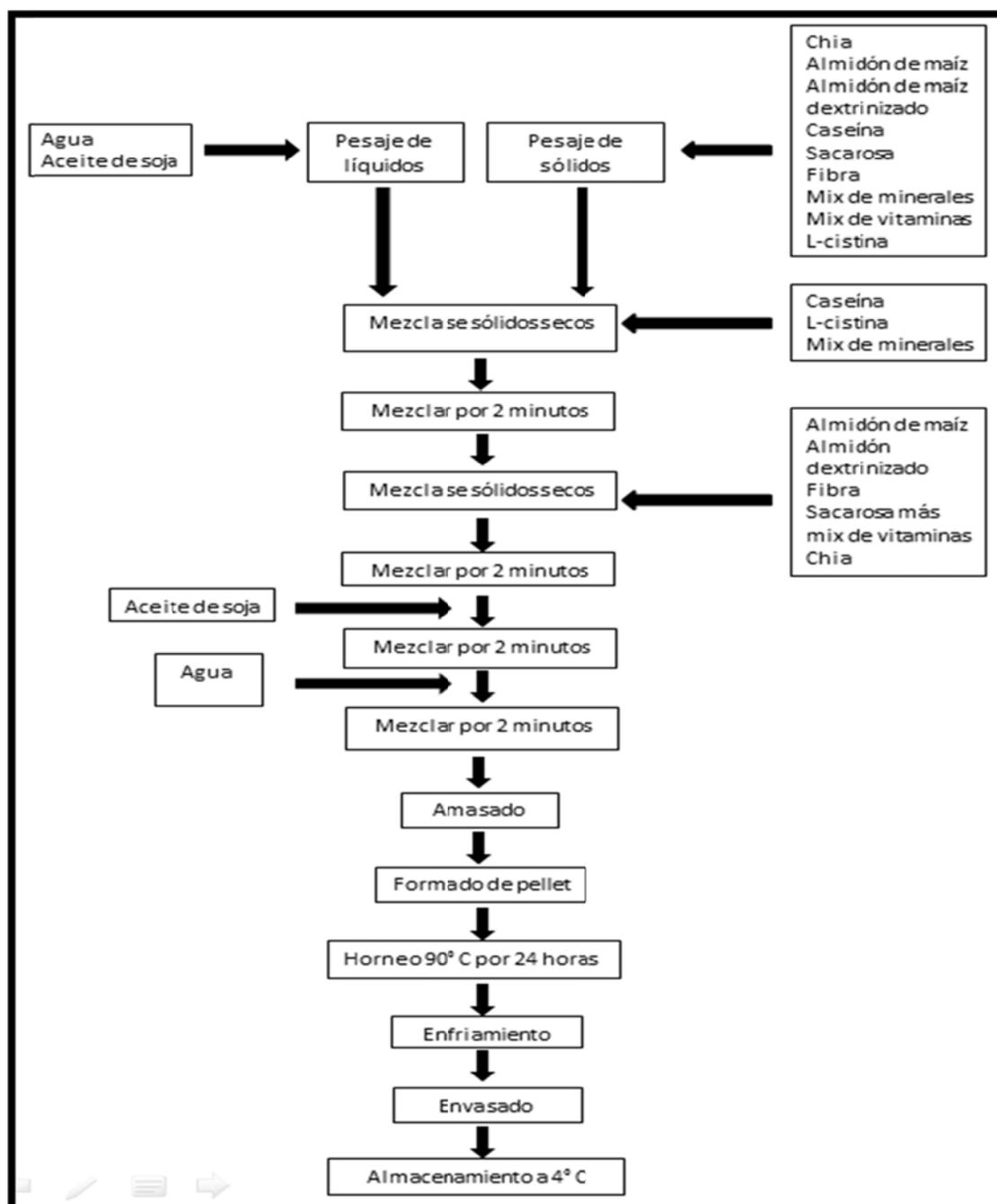
Como resultado se tuvo que la preparación original descrita en la tabla 8, se realizaron las siguientes modificaciones para obtener la fórmula estándar.

- Para el ensayo N° 2 se aumentó la cantidad de aceite de soja en la dieta control para compensar el contenido de grasa en la dieta.
- Para el ensayo N° 2 se aumentó el contenido de minerales en la dieta control para compensar la cantidad de la dieta caso por el alto contenido que presenta la semilla de chia

Las 2 formulaciones tienen parámetros que se requieren en la etapa de crecimiento de la especie *Sprague dawley* de manera importante el contenido de proteína y ácidos grasos en la renovación de tejidos en las distintas etapas de vida de la rata. En la preparación de la dieta experimental se utilizó el 10% de semilla de chia donde contiene un alto contenido de ácidos grasos y en menor porcentaje proteínas además de ayudar a tener una mejor textura cuando se realiza la elaboración de los pellets y el producto final, los trabajos realizados por los principales investigadores de esta semilla Coates & Ayerza en los años (2002, 2005 y 2009) utilizaron semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) entre un 10 y 20% en la composición de las

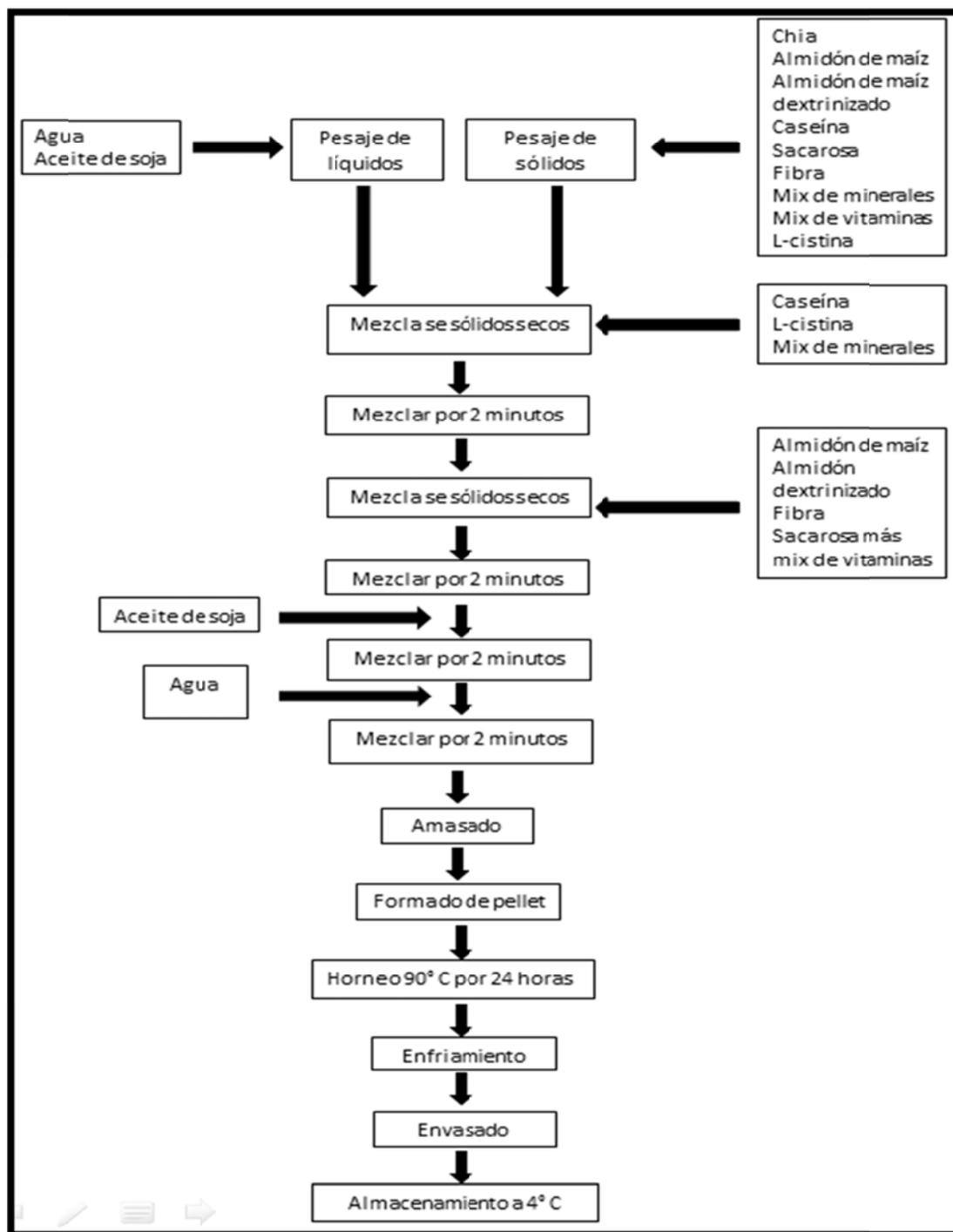
diferentes dietas como fuente de ácidos grasos n-3 en cerdos y como fuente de ácido α -linolénico n-3 en 18 cerdos de engorde y pollos parrilleros , esto coincide con nuestro trabajo que usamos un 10% de semilla de chia para la elaboración de la dieta para los animales de experimentación para poder llegar a los niveles requeridos de ácidos grasos y proteína requeridos por nuestros animales mencionados por Díaz *et al*, (2011) en la AIN 93.

4.1.1 Elaboración de dieta semisintética con semilla de chia para ratas Sprague dawley



Fuente: Elaborado por el investigador

Figura 4. Diagrama de bloques de elaboración de dieta experimental



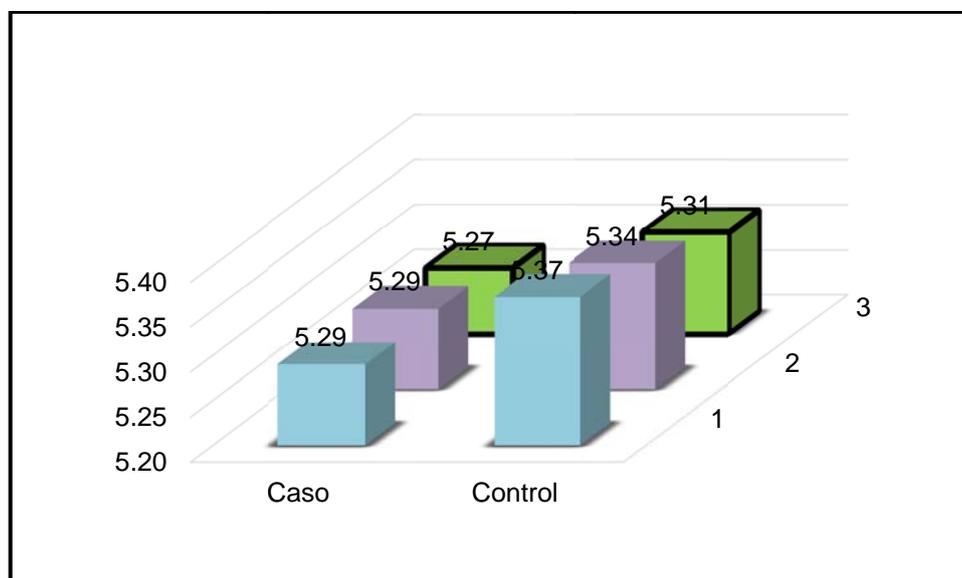
Fuente: Elaborado por el investigador

Figura 5. Diagrama de bloques de elaboración de dieta control

Se elaboró las dietas con éxito de acuerdo a las figuras 7 y 8, donde se establecieron dos fases de elaboración siendo la primera la selección de los ingredientes con buenas características organolépticas de olor agradable, color y de buena granulación importante en el proceso de aglutinación para elaborar el producto final; en la fase elaboración del pellets se obtuvo el producto final con características parecidas a los pellets comerciales distribuidos en el mercado nacional en cuanto a su color, olor y tamaño. La determinación de la humedad nos complementa el proceso de la buena formación de los pellets, Capitani, (2013), menciona en su trabajo de investigación el uso de la semilla de chía y los subproductos para el uso en la alimentación.

En los trabajos realizados por Ayerza y Coates, (2002), demuestra que la semilla de chía podría ser una alternativa a la linaza y las fuentes marinas para producir huevos con alto valor nutritivo. Así como también Bautista *et al*, (2007), en los análisis de la chía y la linaza, es de resaltar que, el contenido de fibra dietética soluble y total en la chía es la unidad estructural de la goma de chía y también el principal responsable de su naturaleza espesante, por jugar un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y diabetes. Brown *et al*, (2001) en su trabajo de investigación demostró la factibilidad de enriquecer los panes con semillas de chía y lino, pudiendo subsanar carencias de nutrimentos muy importantes en la mujer y prevenir algunas enfermedades.

4.1.2. Determinación de humedad de dieta semisintética isocalórica para ratas *Sprague dawley*



Fuente: Elaborado por el investigador

Figura 6. Determinación de humedad de dietas experimental y control

Los resultados de la humedad para la elaboración de las dietas y formación de los pellets presentaron valores entre el 5,27 y 5,37% las que no superaron el límite máximo de 10% de humedad que determina Comité *Ad Hoc* del “American Institute of Nutrition” (AIN 93) (Reeves, Nielsen, & Fahey, 1993) para la formulación de dietas comerciales para animales de experimentación, porcentajes que garantizarían una estabilidad química y microbiológica por la baja actividad de agua para el crecimiento bacteriano lo que corrobora también en su trabajo publicado por Muñoz, 2012.

Todos los alimentos, cualquiera que sea el método de industrialización a que hayan sido sometidos, contienen agua en mayor o menor proporción. Las cifras de contenido en agua varían entre un 4 y un 6% en los alimentos. Puede decirse que existe en dos formas generales: “agua libre” Y “agua ligada”. El agua libre o absorbida, que es la forma predominante, se libera con gran facilidad. El agua ligada se halla combinada o absorbida. Se encuentra en los alimentos como agua de cristalización (en los hidratos) o ligada a las proteínas y a las

moléculas de sacáridos y absorbida sobre la superficie de las partículas coloidales. (Hart, 1991)

4.2. Evaluación de la eficacia de la dieta optimizada con chia respecto al peso corporal, aceptabilidad de la chia y consumo de agua

4.2.1. Eficacia de la dieta optimizada para los tratamientos dietarios.

Para evaluar la eficacia se utilizó la prueba estadística “t” de Student para medir la media y desviación estándar, con un nivel de confianza de 95%.

Tabla 12. Grupos estadísticos

Control/experimental		N	Media	Desviación típica	Error típico de la media
Peso	control	16	206,5556	60,00944	20,00315
	experimental	16	291,6778	107,82861	35,94287
Dieta	control	16	77,6333	12,81630	4,27210
	experimental	16	99,0556	13,48278	4,49426
Agua	control	16	77,6333	12,81630	4,27210
	experimental	16	128,9333	15,49209	5,16403

Fuente: Elaborado por el investigador

En los resultados de la formulación experimental y control se observa que las ratas macho tratados con la dieta con semilla de chia presenta una media de incremento de peso de 292,67g mayor que los resultados de la dieta caso que representaron 206,55 g.

En el trabajo realizado por **Coates & Ayerza (2009)**, menciona que el comportamiento productivo no fue afectado por el tratamiento dietético. La administración de semilla de chíá no produce ninguna alteración en el peso corporal, lo que contrariamente se da en las dietas a base de maíz y soja utilizada por los establecimientos comerciales para la cría de cerdos en Argentina.

El mismo resultado se encontró en el trabajo de **Ayerza y Coates, (2002)**, donde determinaron que el peso de las gallinas no fue afectado significativamente por la dieta; sin embargo, la producción de excrementos fue menor en las gallinas alimentadas con chíá.

Los aditivos para alimentación animal son tan numerosos y heterogéneos que es difícil hacer una definición precisa. No obstante, en términos generales, un aditivo alimentario se refiere a un producto incluido en la formulación a un nivel bajo de inclusión cuyo propósito es incrementar la calidad nutricional del alimento, el bienestar o la salud del animal, las materias primas y premezclas, que se añaden intencionalmente al alimento o al agua para influir favorablemente la producción animal, la flora microbiana intestinal o la digestibilidad de los alimentos (Ravindran, 2010)

Tabla 13. Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	T	Gl	Sig. bilat.	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% int. conf. la	de para dif.
									Inf.	Sup.
P E	Se han asumido varianzas iguales	4,42	0,05	-2,06	16	0,055	-85,12	41,13	-172,32	2,07
S O	No se han asumido varianzas iguales			-2,06	12,52	0,06	-85,12	41,13	-174,33	4,08
D I E	Se han asumido varianzas iguales	0,001	0,97	-3,45	16	0,003	-21,42	6,20	-34,56	-8,27
T A	No se han asumido varianzas iguales			-3,45	15,96	0,003	-21,42	6,20	-34,56	-8,27
A G	Se han asumido varianzas iguales	1,04	0,32	-7,65	16	0	-51,3	6,70	-65,50	-37,09
U A	No se han asumido varianzas iguales			-7,65	15,46	0	-51,3	6,70	-65,54	-37,05

Fuente: Elaborado por el investigador

Tabla 14. Variables estadísticas.

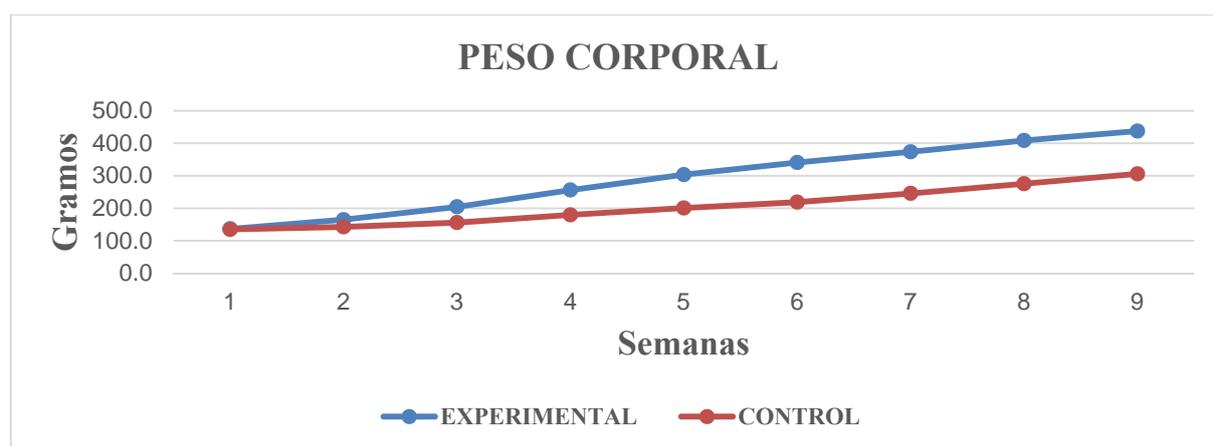
Características	Total de animales (N = 32)	Grupo experimental (N = 16)	Grupo control (N = 16)	P
Peso (g)	249,11 ± 95,31	292,67 ± 107,82	206,55 ± 0,09	NS
Dieta(g)	88,34±16,86	99,05 ± 13,48	77,63 ± 12,81	0,003
Agua(ml)	103,28 ± 29,78	128,93 ± 15,49	77,63 ± 12,81	0,000

Fuente: Elaborado por el investigador

La desviación típica de la formulación del grupo control 107,82 es mayor que la desviación de la formulación del grupo experimental del peso corporal 60,0, a pesar que las formulaciones son isocalóricas son indicativos que los resultados obtenidos de la formulación de crecimiento tienen mayor precisión entre sí.

Mediante la aplicación de la Prueba T con un nivel de confianza de 95%, donde $p= 0,003$ y $p= 0,00$ existe una diferencia significativa con el consumo de alimento y el agua. Y el nivel de significancia al 95%; se concluye que no posee diferencia significativa entre los pesos corporales en ambos grupos tratados con las formulaciones de las dietas.

En cambio; el consumo de dieta y agua estuvo más acentuado en el grupo experimental y se concluye como resultado se tiene que la chia es causante de este efecto



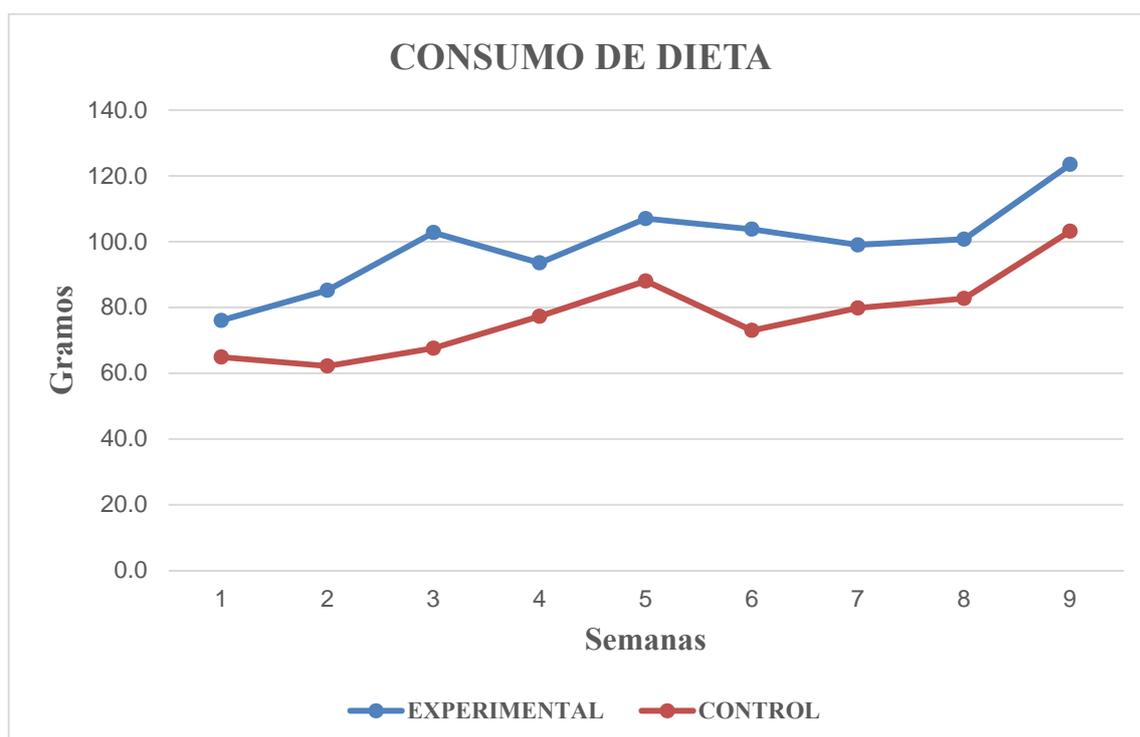
Fuente: Elaborado por el investigador

Figura 7. Evaluación de incremento de peso corporal de grupos experimental y control

Los resultados muestran que la tendencia al aumento del peso corporal fue una constante durante el estudio en ambos grupos, manteniéndose una diferencia progresiva entre el grupo experimental en relación con el grupo control.

Estos hallazgos se comparan con trabajos realizados por Ayerza y Coates en diferentes años 1996, 2002, 2006, quien estudio por semanas y meses a diferentes grupos de animales como aves, cerdos y ratas donde administraron semilla de chia en diferentes proporciones de 10 al 30% donde se mantuvo el peso corporal hasta un ligero incremento en comparación con los grupos controles. De esta manera, la tendencia es que los roedores alimentados con dietas suplementadas, tengan un aumento de peso más controlado en comparación con aquellos alimentados con dietas sin semilla de chia.

El aumento del peso corporal del grupo experimental, y no así con el grupo control que se le brindo una dieta isocalórica, que mostro una disminución de peso, la relación del efecto de esta disminución posiblemente este dada por la disponibilidad de semilla de chia, ya que las dietas son semisinteticas e isocalóricas teniendo la misma cantidad de proteínas, carbohidratos y lípidos, cabe mencionar que el consumo de chia aumenta la absorción por la presencia del mucilago y la presencia de fibra insoluble de dicha semilla (Ayerza & Coates 2006), (Cahill J. 2003)



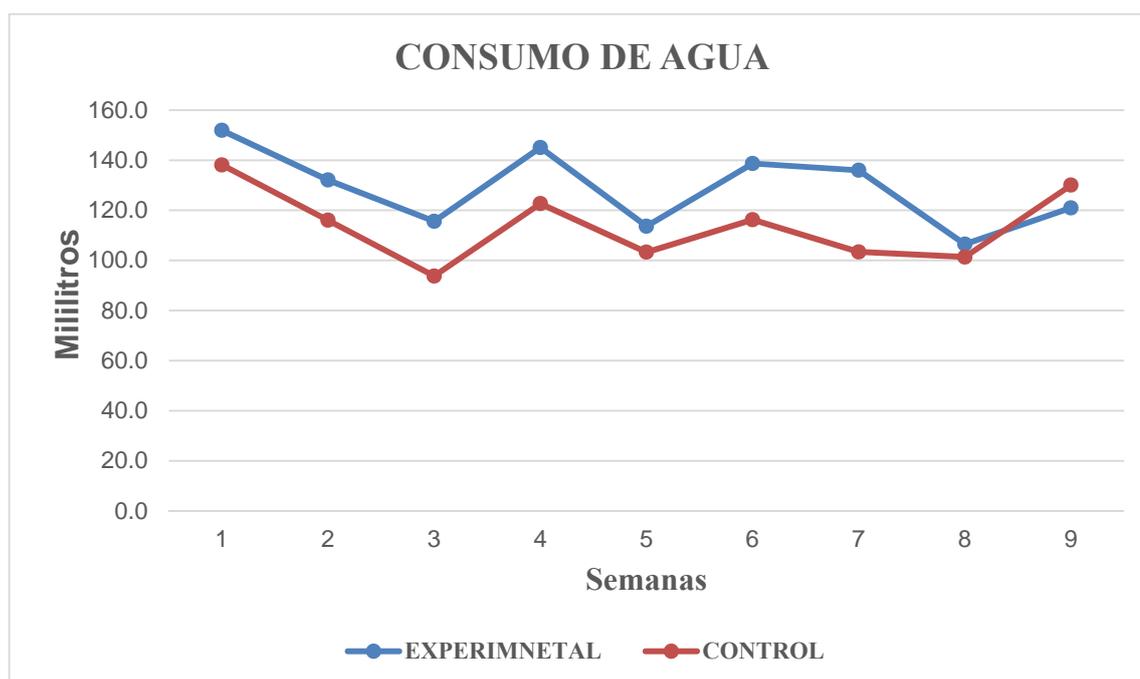
Fuente: Elaborado por el investigador

Figura 8. Evaluación del consumo de dietas experimental y control en ratas macho *Sprague dawley*

El consumo de alimento aumento de manera gradual y constante durante el estudio en ambos grupos manteniéndose la diferencia entre ambos grupos de estudio.

El resultado se puede comprar con el obtenido por Coates 2005, en el cual el consumo de alimento fue mayor en ratas alimentadas con una dieta enriquecida con semilla de chia en comparación a aquellas alimentadas con una dieta estándar. Este fenómeno se podría explicar por la propiedad que tiene la fibra dietaría insoluble es capaz de retener agua en su matriz estructural, formando mezclas de baja viscosidad dando mayor sensación de saciedad (Muñoz, 2012) y también por sus propiedades gelificantes, estabilizantes de emulsión (Phillips & Williams, 2000).

Dentro de la composición química y nutricional de la semilla de chia presenta mayor cantidad de ácidos grasos y energía que otros cereales (Ayerza & Coates 2004), lo que determina el mayor proveedor de nutrientes alimenticios.



Fuente: Elaborado por el investigador

Figura 9. Evaluación del consumo de agua de grupos experimental y control en ratas macho *Sprague dawley*

El consumo de agua se comportó de manera similar que el consumo de la dieta, pero en ambos grupos de estudio no se tuvo un patrón estable.

Siegel y Talantis en 1948 sometieron a un grupo de ratas a diferentes periodos de privación de agua y posteriormente permitieron libre acceso al agua y al término de cada periodo midieron la cantidad de agua consumida, reportaron que el consumo de agua aumento conforme en relación con el tiempo de privación, es decir entre mayor fue el tiempo de privación se observó un mayor consumo de agua, en nuestro trabajo el consumo fue *ad libitum* por lo que no se determinó una diferencia significativa entre ambos grupos, los pequeños cambios que se dieron (ver figura 9) fueron por los cambios de temperatura ambiental y algunas fallas del aire acondicionado.

CONCLUSIONES

1. En la preparación de la dieta con semilla de chia se utiliza el 10%, para obtener buena textura, y ácidos grasos necesarios para los animales de experimentación.
2. Para la elaboración de las dietas y formación de los pellets la humedad debe registrar entre el 5,27 y 5,37%, no debiendo superar el límite máximo de 10%.
3. La eficacia de la dieta con chia se observa en las ratas macho, los cuales presentan incremento de peso de 292,67g, teniendo una diferencia significativa; con $p= 0,003$ y $p= 0,0001$ para el consumo de dieta y agua
4. La elaboración del producto tuvo ensayos preliminares, etapa donde se definieron ingredientes, condiciones, variables y etapas del proceso con el fin de determinar la fórmula estándar del estudio. Debido a que el uso de materia grasa líquida está directamente relacionado con el parámetro textura del producto final.

RECOMENDACIONES

- Determinar la vida útil o estabilidad de las formulaciones de las dietas semisintéticas con un 10% de semilla de chia por medio de pruebas aceleradas y normales.
- Realizar el análisis total de micronutrientes en la elaboración de las dietas y formación de los pellets para correlacionarlos con los resultados de la humedad establecida
- Evaluar la estabilidad de los ácidos grasos omega-3 presentes en la semilla de chia en la elaboración de la dieta al ser sometidos a temperaturas de pasteurización o altas.
- Se recomienda evaluar la eficacia del alimento balanceado a través de otros indicadores de calidad de la semilla de chia.
- Incrementar el periodo de evaluación de consumo de dieta e incremento de peso en las ratas
- Se sugiere promover la producción de este alimento a través de una planta industrial, para satisfacer la demanda de los diferentes bioterios de las Universidades o Instituciones que usen animales de experimentación

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Alfenas, R. C., & Mattes, R. D. (2003). Effect of fat sources on satiety. *Research obesity*, 11(2), 183-187.
- Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R. L., & Cisneros-Zeballos, L. (2003). Screening Methods To Measure antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6657-6662.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2004). Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *Tropic. Sci.*(44), 131-135.
- Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72(9), 1979-1981.
- Ayerza, R., & Coates, W. (1996). Nuevos cultivos industriales: Proyecto Regional del Noroeste de Argentina. en *Progreso en nuevos cultivos*. Alexandria, USA: J Janick, ASHS Press.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2002). Dietary levels of chia: influence on hen weight, egg production and sensory quality, for two strains of hens. *Poultry Science*, 43(2), 283-290.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2005). Chia Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs. Tucson, Arizona, USA: The University of Arizona Press.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2006). Influence of chia on total fat, cholesterol, and fatty acid profile of Holstein cow's milk. *Revista Científica de UCES*, 10(2), 39-48.
- Ayerza, R., Coates, W., & Lauria, M. (2002). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as an omega-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. *Poultry Science*, 81, 826-837.
- Azcona, J. O., Schang, M. J., Garcia, P. T., Gallinger, C., Ayerza, R., & Coates, W. (2008). Omega-3 enriched broiler meat: The influence of dietary α -linolenic- ω -3 fatty acid source on growth, performance and meat fatty acid composition. *Journal of Animal Science*, 88(2), 257-269.
- Barboza, G., Cantero, J., Núñez, C., & Ariza Espinar, L. (2006). Flora medicinal de la Provincia de Córdoba (Argentina). Museo Botánico Córdoba. Argentina.

- Bautista Justo, M., Castro Alfaro, A. D., Camarena Aguilar, E., Wrobel, K., Wrobel, K., Alanís Guzmán, G., y otros. (2007). Desarrollo de pan integral con soya, chía, linaza y ácido fólico como alimento funcional para la mujer. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(1), 78-84.
- Benavides, F., & Guénet, J. (2003). *Manual de genética de roedores de laboratorio: principios básicos y aplicaciones*. Alcalá: Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL) Universidad de Alcalá.
- Blanco, A., & Blanco, G. (2011). *Química Biológica* (9ª ed.). Buenos Aires, Argentina: El Ateneo.
- Brenna, T. J., Salem, N., Sinclair, A., & Cunnane, S. (2009). α -Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*(80), 85-91.
- Brown, G. B., Zhao, X.-Q., Chait, A., Fisher, L. D., Cheung, M. C., Morse, J. S. (2001). Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *The New England Journal of Medicine*, 345(22), 1583-1592.
- Burdge, G. C., & Calder, P. C. (2005). Conversion of α -linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reprod. Nutr. Dev*, 45, 581-597.
- Burdge, G. C., Jones, A. E., & Wootton, S. A. (2002). Eicosapentaenoic and docosahexanoic acids are the principal products of α -linolenic acid metabolism in young men. *Br J Nutr*, 88, 355-363.
- Busilacchi, H., Quiroga, M., Bueno, M., Di Sapio, O., Flores, V., & Severin, C. (2013). Evaluación de *Salvia hispanica* L. cultivada en el sur de Santa Fe (República Argentina). *Cultivos tropicales*, 34(4), 55-59.
- Cahill, J. P. (2003). Ethnobotany of chia. *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). *Economic Botany*, 57, 604-618.
- Cahill, J. P. (2004). Genetic diversity among varieties of chia (*Salvia hispanica* L.). *Gen Res Crop Evol*, 51, 773-781.
- Cahill, J. P., & Ehdale, B. (2005). Variation and inheritance of seed mass in chia (*Salvia hispanica* L.). *Gen. Res. Crop. Evol.*, 52, 201-207.
- Calder, P. C. (2006). n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition*(83), 1505S-1519S.

- Campabadal Herrero, C. M. (1995). Consideraciones nutricionales en la formulación y alimentación de gallinas para postura aplicadas a la explotación de huevos en Centro América. *Nutrición Animal tropical*, 2(1), 15.
- Capitani, M. I. (2013). Caracterización y funcionalidad de subproductos de chía (*Salvia hispanica* L.) aplicación en tecnología de alimentos. 230.
- Cardozo de Martínez, C. A., Mrad de Osorio, A., Martínez, C., Rodríguez Yunta, E., & Lolas Stepke, F. (2007). El animal como sujeto experimental aspectos técnicos y éticos. Chile: Andros Impresores.
- Carrero, J. J., Martín-Bautista, E., Baró, L., Fonollá, J., Jiménez, J., Boza, J. J. (2005). Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutricion Hospitalaria*, 20(1), 63-69.
- Clarke, S. D. (2001). Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: A molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *The Journal of Nutrition*, 131(4), 1129-1132.
- Coates, W., & Ayerza, R. (1998). Commercial production of chia in Northwestern Argentina. *JAACS*, 75(10), 1417-1420.
- Coates, W., & Ayerza, R. (2009). Chia (*Salvia hispánica* L.) seed as an n-3 fatty acid source for finishing pigs: Effects on fatty acid composition and fat stability of the meat and internal fat, growth performance, and meat sensory characteristics. *Journal of Animal science.*, 87, 3798-3804.
- Connor, W. E. (2000). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 171S-175S.
- Cordain, L. (1999). Cereal Grains: humanity's Double-Edged Sword. *World Rev Nutr Diet*, 84, 19-73.
- Cornejo-Tenorio, G., & Ibarra-Manríquez, G. (2011). Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) en Michoacán, México. *Revista Mexicana de biodiversidad*, 82, 1279-1296.
- Crawford, M. A. (1993). *The American Journal of Clinical Nutrition*(57), 703S-710S.
- Crawford, M. A., Costeloe, K., Ghebremeskel, K., Phylactos, A., Skirvin, L., & Stacey, F. (1997). Are deficits of arachidonic and docosahexaenoic acids responsible for the neural and vascular complications of preterm babies? *The American Journal of Clinical Nutrition*(66), 1032S-1041S.

- Cunnane, S. C. (2003). Problems with essential fatty acids: time for a new paradigm. *Prog Lipid Res*, 42, 544-568.
- CYCyTAC, L. d. (2012). IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Ministerio de Ciencia y Tecnología, 747.
- Del Prado, M., Villalpando, S., Elizondo, A., Rodríguez, M., Demmelmair, H., & Koletzko, B. (2001). Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*(74), 242-247.
- Diccionario de la lengua española. (2014). Real Academia Española. 23 ava edició.
- Di Sapia, O., Bueno, M., Busilacchi, H., & Severin, C. (2008). Chía, importante antioxidante vegetal. *Revista agromensajes Facultad de Ciencias Agrarias UNR*(4), 24-29.
- Di Sapia, O., Bueno, M., Busilacchi, C., Quiroga, M., & Severin, C. (2012). Caracterización morfoanatómica de hoja, tallo, fruto y semilla de *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 11(3), 249-268.
- Díaz, F., Franco, K., López-Espinoza, A., Martínez, A., & García, K. (2011). Privación de alimento y conducta de Atracón en ratas. *Acta de Investigación Psicología*, 1(1), 149-164.
- Eaton, B. S., Eaton III, S. B., Sinclair, A. J., Cordain, L., & Mann, N. J. (1998). Dietary Intake of Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids during the Paleolithic. *World Rev Nutr Diet*, 83, 12-23.
- El Kontar, W., Santiago, B., Ruiz, J., De Jesus, R., & Vit, P. (2008). Explorando la calidad del alimento concentrado para ratas (ACR) utilizado en el bioterios de la Universidad de los Andes. *Fuerza Farmacéutica*, 26-29.
- Estudio FAO Alimentación y Nutrición. (2012). Grasas u ácidos grasos en nutrición humana Consulta de expertos. Organización de la Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (FAO) y la Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT)(91), 204.
- Flachs, P., Rossmeisl, M., & Kopecky, J. (2014). The Effect of n-3 Fatty Acid on Glucose Homeostasis and Insulin Sensitivity. *Physiological research*, 63, S93-S118.
- Freese, R., & Mutanen, M. (1997). α -Linolenic acid and marine long-chain n-3 fatty acids differ only slightly in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *American Society for Clinical Nutrition*, 66, 591-598.

- García Muriana, F. J. (2002). Metabolismo de los ácidos grasos. <libro blanco de los omega-3. Granada: Puleva Food.
- Hart F. L. (1991). Analisis moderno de los alimentos. Acribia. Zaragoza España.
- Hentry, H. S., Mittleman, M., & McCrohan, P. R. (1990). Introducción de la chía y la goma de tragacanto en los Estados Unidos. Portland: J. Janick y J. E. Simon.
- Hernández Rodriguez, M., & Sastre Gallego, A. (1999). Tratado de Nutrición. Madrid, España: Diaz de Santos S.A.
- Hernández-Gómez, J. A., Miranda-Colín, S., & Peña-Lomelí, A. (2008). Cruzamiento natural de chía (*Salvia hispanica* L.). Chapingo Serie Horticultura, 14(3), 331-337.
- Hogyes, E., Nyakas, C., Kiliaan, A., Farkas, T., Penke, B., & Luiten, P. G. (2003). Neuroprotective effect of developmental docosahexaenoic acid supplement against excitotoxic brain damage in infant rats. *Neuroscience*, 119, 999-1012.
- Holman, R. T. (1998). The slow discovery of the importance of w3 essential fatty acids in human health. *The Journal of Nutrition*, 427S-433S.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*(53), 1841-1856.
- Innis, S. M. (1991). Essential fatty acids in growth and development. *Prog. Lipid Res*, 30, 39-103.
- Institute of laboratory animal resources commission on life sciences national research council., (-b. (1996). Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio. Washington D.C.: Academia Nacional de Medicina.
- Ixtaina, V. Y. (2010). Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispanica* L.) obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en tecnología de alimentos. Tesis doctoral Centro de Investigacion y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP).
- Jamboonsri, W., Phillips, T. D., Geneve, R. L., Cahill, J. P., & Hildebrand, D. F. (2012). Extending the range of an ancient crop, *Salvia hispanica* L. a new ω 3 source. *Genet Resour Crop Evol*, 59, 171-178.
- Kris-Etherton, P. M., Taylor, D. S., Yu-Poth, S., Huth, P., Moriarty, K., Fishell, V., y otros. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 179S-188S.

- Lauritzen, I., Blondeau, N., Heurteaux, C., Widmann, C., Romey, G., & Lazdunski, M. (2000). Polyunsaturated fatty acids are potent neuroprotectors. *The EMBO Journal*, 19(8), 1784-1793.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (1993). *Principios de bioquímica* (2 ed.). El Omega.
- Lin, K. Y., Daniel, J. R., & Whistler, R. L. (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carbohydrate Polymers*, 23(1), 13-18.
- Linscheer, W. G., & Vergroesen, J. (1994). Lipids. *Modern nutrition in health and disease*, 47-88.
- Lusis, A. J. (2000). Atherosclerosis. *Nature*, 407, 233-241.
- Márquez Montes, R., Altúzar Carpio, L. I., Villanueva Carrillo, G., & Palacios Pola, G. (2010). Evaluación biológica de alimentos nutricionalmente mejorados en ratas Wistar. *LACANDONIA*, 4(2), 53-61.
- Martínez de la Victoria Muñoz, E. (2012). *Nutrición y Alimentación*. Panamericano.
- Mata, P., Alonso, R., & Mata, N. (2002). Los omega-3 y omega-9 en la enfermedad cardiovascular. *Libro blanco de los omega-3* (5 ed.). Granada: Puleva Food.
- Mataix, J. (2002). *Libro blanco de los omega-3*. Granada: Puleva Food.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F., & Morgan, C. A. (2006). *Nutrición animal* (Sexta ed.). Zaragoza: Acribia.
- Mensink, R. P., & Katan, M. B. (1992). Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a meta-analysis of 27 trials. *Arteriosclerosis thrombosis and vascular biology*, 12, 911-919.
- Muñoz, H. L. (2012). Mucilage from chia seeds (*Salvia hispanica*): microestructure physico-chemical characterization and applications in food industry. *Pontificia Universidad Católica de Chile*, 146.
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., & Weil, A. P. (2010). *Principios de Bioquímica ilustrada* (28 ed.). Mexico D.F.: McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., & Montonati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Diaeta*, 25(121), 20-33.

- Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2000). Introduction to food hydrocolloids. . Handbook of Hydrocollids., 1-27.
- Ramos, E. J., Xu, Y., Romanova, I., Middleton, F., Chen, C., Quinn, R., y otros. (2003). Is obesity an inflammatory disease? *Surgery*, 134(2), 329-335.
- Ravindran, V. (2010). Aditivos en alimentación animal: Presente y futuro. Institute of Food, Nutrition and Human Health. New Zealand.
- Reeves, P. G. (1997). Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. American Society for Nutritional Sciences, 838S-841S.
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey, G. C. (1993). AIN-93 Purified diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *The Journal of Nutrition*(123), 1939-1951.
- Rodríguez-Cruz, M., Tovar, A. R., del Prado, M., & Torres, N. (2005). Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de Investigacion Clínica* , 57(3), 457-472.
- Ruxton, C. H., Reed, S. C., Simpson, M. J., & Millington, K. J. (2004). The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J Hum Nutr Dietet*, 17, 449-459.
- Sanders, T. A. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 176S-178S.
- Saura-Calixto, F., & Goñi, I. (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*(44), 442-447.
- Sekiya, M., Yahagi, N., Matsuzaka, T., Najima, Y., Nakakuki, M., Nagai, R. (2003). Polyunsaturated fatty acids ameliorate hepatic steatosis in obese mice by SREBP-1 suppression. *Hepatology*, 38, 1529-1539.
- Serhan, C., & Chiang, N. (2008). Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *British Journal of Pharmacology*(153), 200-215.
- Siegel, P. S. & Stuckey H. L. (1947). The diurnal course of water and food intake in the normal mature rat. *The Journal of Comparative and Physiological Psychology* (40), 365-370.

- Simopoulos, A. P. (1998). Overview of evolutionary aspects of omega-3 fatty acids in the diet. En *The return of ω -3 fatty acids into Food Supply. I. Land-Based Animal Food Products and Their Health Effects*. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 83, 1-11.
- Simopoulos, A. P. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*(70), 560S-569S.
- Simopoulos, A. P. (2010). Genetic variants in the metabolism of omega-6 and omega-3 fatty acids: their role in the determination of nutritional requirements and chronic disease risk. *Exp Biol Med* (235), 785-795.
- Simopoulos, A. P., & Cleland, L. G. (2003). Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio:the scientific evidence. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 92, 174.
- Smith, E. N. (2002). Essential fatty acid deficiency in malnourished children:erythrocyte and breastmilk fatty acid compositions in different populations. University library Groningen. Host, 13-33.
- Subcommittee on laboratory animal nutrition. (1995). *Nutrient requirements of laboratory animals, fourth revised edition, 1995*. National Academy Press, 192.
- Taga, S. M., Miller, E. E., & Pratt, D. E. (1984). Chia Seeds as a Source of Natural Lipid Antioxidants. *JAOCS*, 61(5), 928-931.
- Tolonen, M. (1995). *Vitaminas y minerales en la salud y la nutricion*. Zaragoza, España: Acribia.
- Valenzuela, R., Tapia, G., González, M., & Valenzuela , A. (2011). Ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Rev Chil Nutr*, 38(3), 356-367.
- Vuksan, V., Whitham, D., Sievenpiper, J. L., Jenkins, A. L., Rogovik, A. L., Bazinet, R. P. (2007). Supplementation of conventional therapy with the novel grain salba (*Salvia hispanica* L.) improves major and emerging cardiovascular risk factors in type 2 diabetes. *American Diabetes Association*, 30(11), 2804-2810.
- Wainwright, P. E. (2002). Dietary essential fatty acids and brain function: a developmental perspective on mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61, 61-69.
- Waldron, M. R. (2013). Enhancing immunity and disease resistance of dairy cows through nutrition. *Animal Science Research Center, Division of Animal Sciences.*, 10.
- Wanten, G. J., & Calder, P. C. (2007). Immune modulation by parenteral lipid emulsions. *The American Journal of Clinical Nutrition*(85), 1171-1184.

- Woodman, R. J., Mori, T. A., Burke, V., Puddey, I. B., Watts, G. F., & Beilin, L. J. (2002). Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. *The American Journal of Clinical Nutrition*(76), 1007-1015.
- Zuñiga, J., Milocco, S., & Piñeiro, R. (2001). *Ciencia y tecnología en la protección y experimentación animal*. México: McGraw-Hill Interamericana.



Figura 10. Ubicación geográfica de la Universidad Adventista del Plata, Entre Ríos, Argentina



Figura 11. Facultad de Ciencias de la Salud - Centro de Investigación

Tabla 15. Determinación de tamaño de muestra

$$n = \frac{Z^2 * p * q}{E^2}$$

Donde:

n = Tamaño de muestral

Z^2 = Coeficiente de confianza al 95% (1,96)

p = Posibilidad de certeza.

q = Posibilidad de error.

E^2 = Nivel de confianza

Reemplazando la fórmula:

$$n = \frac{(1,96)^2 * (0,5) * (0,5)}{(0,02)^2}$$

$$n = 24$$

Seguido se usó la siguiente fórmula para determinar el tamaño de muestra:

$$n = \frac{n_0}{1 + \frac{n_0}{N}}$$

Donde:

n_0 = Tamaño de muestra

N = Número de población de ratas (capacidad de Bioterio)

Reemplazando la fórmula:

$$n = \frac{24}{1 + \frac{24}{55}}$$

$$n = 16$$



Figura 12. Elaboración de dieta semisintética de grupo experimental y control



Figura 13. Medición y pesaje de los insumos de las dietas



Figura 14. Pellets de las dietas experimental y control



Figura 15. Bioterio de la Universidad Adventista del Plata, Edificio Thomas y Tooma y Martha Kalbermatter



Figura 16. Jaulas de policarbonato de las ratas macho *Sprague dawley*

