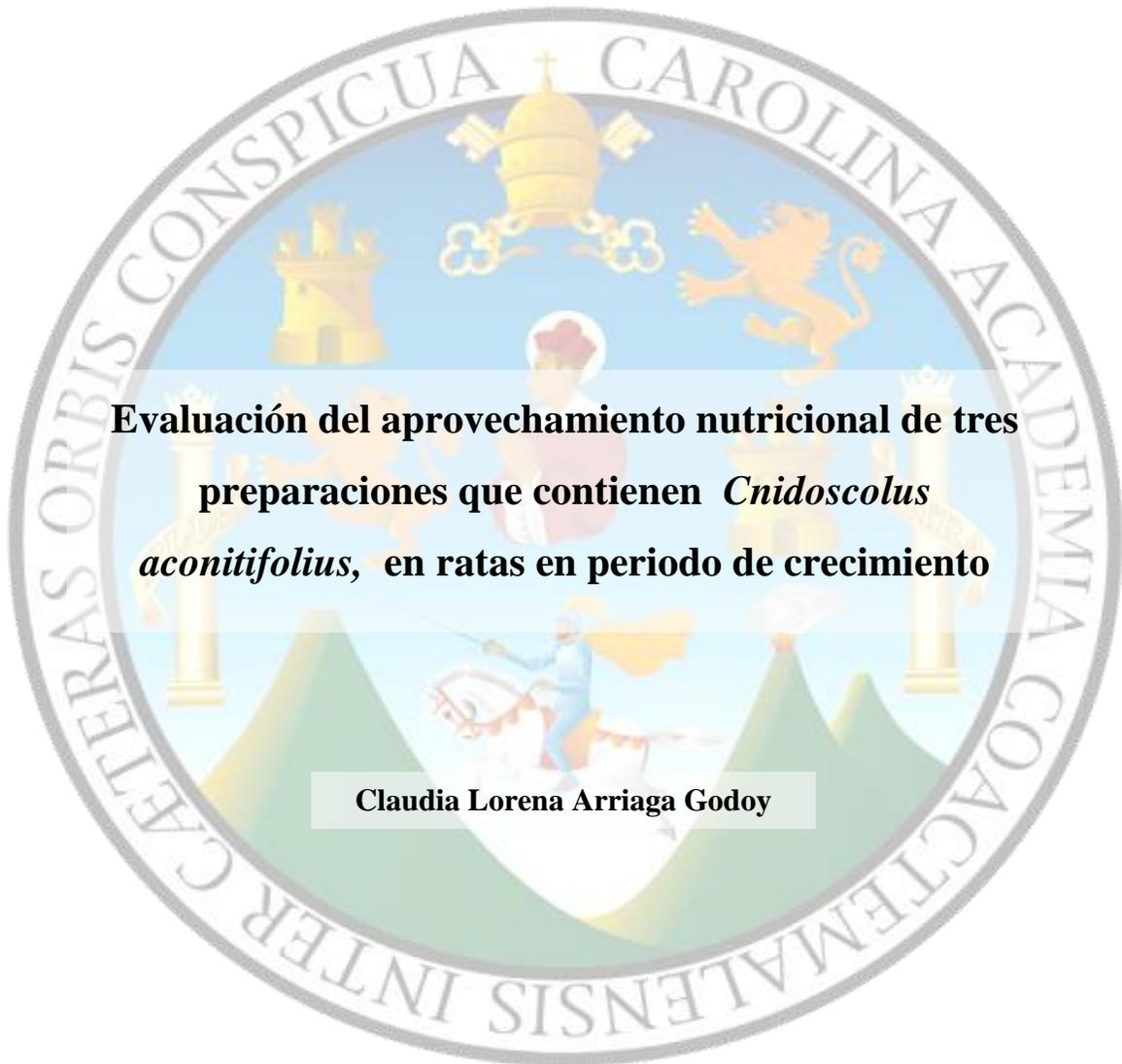


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



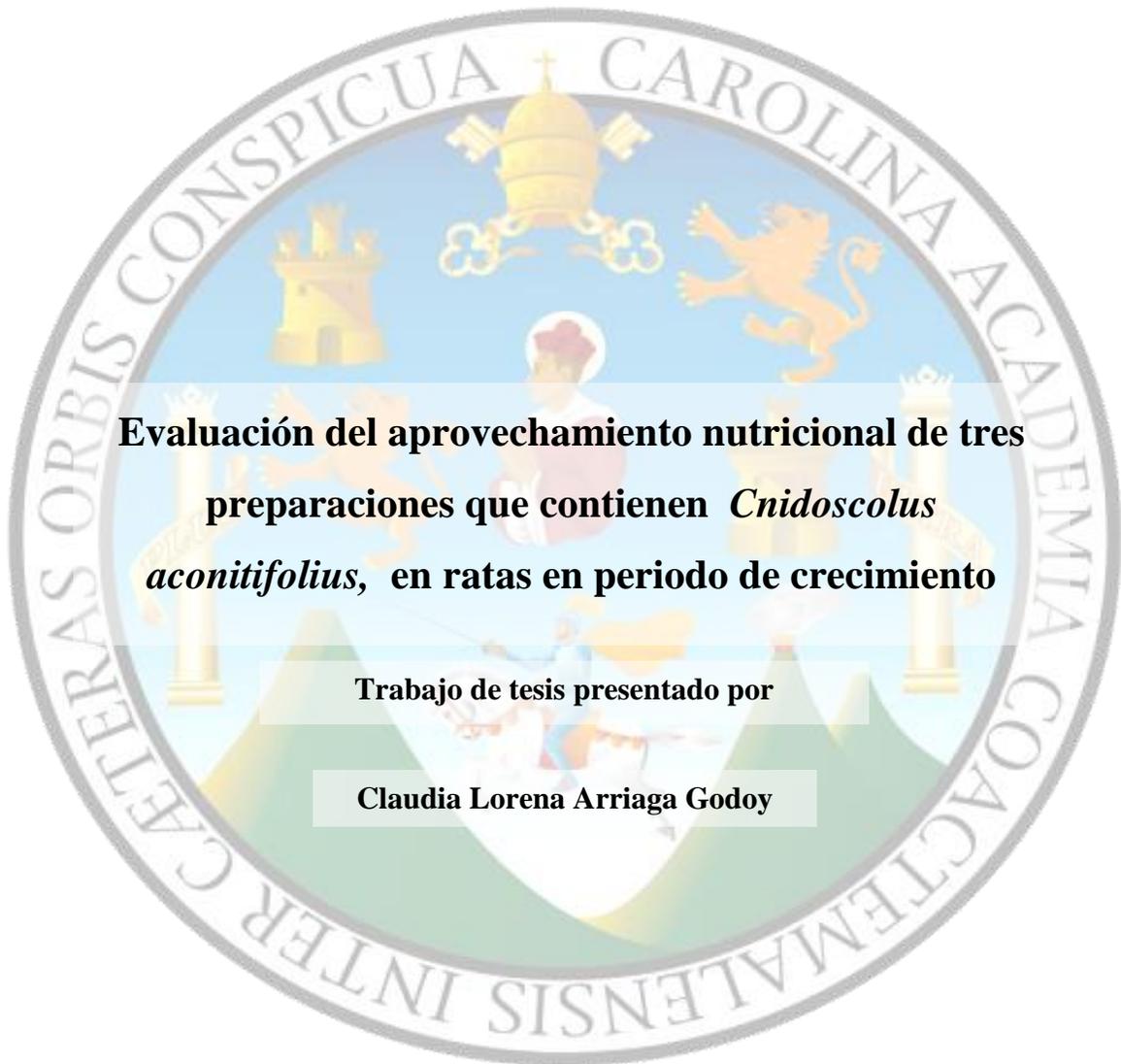
Evaluación del aprovechamiento nutricional de tres preparaciones que contienen *Cnidoscolus aconitifolius*, en ratas en periodo de crecimiento

Claudia Lorena Arriaga Godoy

Maestría en Alimentación y Nutrición

Guatemala, mayo de 2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



Evaluación del aprovechamiento nutricional de tres preparaciones que contienen *Cnidocolus aconitifolius*, en ratas en periodo de crecimiento

Trabajo de tesis presentado por

Claudia Lorena Arriaga Godoy

Para optar al grado de Maestra en Ciencias

Maestría en Alimentación y Nutrición

Guatemala, mayo de 2018

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	DECANO
MA. Elsa Julieta Salazar de Ariza	SECRETARIA
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	VOCAL I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	VOCAL II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	VOCAL III
Br. Andreina Delia Irene López Hernández	VOCAL IV
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	VOCAL V

CONSEJO ACADÉMICO

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Rubén Dariel Velásquez Miranda, Ph.D.

María Ernestina Ardón Quezada, MSc.

Jorge Mario Gómez Castillo, MA.

Clara Aurora García González, MA.

Silvia María Morales Cabrera, MSc.

AGRADECIMIENTOS

A mi Familia, Silvia, Fernando y Luisa por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.

A mis Mentores, Dr. Ricardo Bressani (QEPD) por darme la oportunidad de llevar a cabo esta idea y guiarme en el camino, Doctor Noel W. Solomons por ampliar mi visión del mundo y de la investigación.

A mi Asesora, MSc. Hilda Palma por aceptar guiar, revisar y contribuir con el presente trabajo de tesis

A las catedráticas Licda. Lucia Castellanos y Licda. Ernestina Ardón, por su dedicación, paciencia y conocimientos brindados durante la revisión del presente trabajo.

A la Licda. Clara Aurora García, por la comprensión y guía brindada a toda la promoción a lo largo de la Maestría.

A mis amigas y amigos de MANA, Angelita, Ligia, Andrea, Cristy, Hugo, Jacky, Jonás, Alejandro, Herberth, Rocio por haber hecho esta experiencia agradable y enriquecedora. Pero especialmente a Claudia Porres por haber sido amiga y consejera en este trayecto.

RECONOCIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, alma mater que ha permitido mi formación como profesional.

A Don Víctor Chajón, encargado del Bioterio del INCAP, por colaborar y apoyar durante la fase experimental del presente trabajo.

A Don Carlos Arias, técnico del CECTA de la Universidad del Valle, por apoyar con la preparación de la harina de chaya y el análisis proximal de la misma.

A mis compañeras y amigas de CESSIAM, Ma. José Soto, Raquel Campos, Sheny Romero, Ale Zamora y Liza Díaz por su amistad y apoyo.

RESUMEN EJECUTIVO

El objetivo del presente estudio fue determinar si el valor nutricional de *Cnidocolus aconitifolius*, comúnmente conocida como Chaya, influye en los parámetros nutricionales tanto antropométricos como bioquímicos, de los sujetos que consumen la planta con frecuencia. Para lograr dicho objetivo se realizó un estudio biológico experimental con ratas donde se sometieron a prueba las formulaciones de dietas elaboradas con Chaya.

La primera etapa del estudio consistió en diseñar seis formulaciones de dieta con diferentes proporciones de Chaya y maíz (desde 0% hasta 100% de contenido proteico de Chaya) y una formulación Control de caseína. Con estas formulaciones se realizó un estudio biológico durante un mes, donde se sometieron a seis grupos de ratas Wistar, a una alimentación con cada una de las seis formulaciones de dieta distintas, elaboradas con mezclas de maíz y Chaya en diferentes proporciones y un grupo que se alimentó con la formulación Control elaborada con caseína.

Los resultados evidenciaron que los sujetos obtenían mayores valores en parámetros como aumento en peso, ingesta de alimento, e índice de eficiencia proteica, a medida que aumentaba la proporción de proteína de Chaya en la formulación con la que se alimentaban. En base a estos resultados y a la información que reporta la bibliografía sobre estudios donde se evalúan mezclas de proteína vegetal, se estableció que 45% de proteína de Chaya sería el más adecuado para combinar con los cereales complementarios que se evaluarían durante la segunda etapa.

La segunda etapa del estudio consistió en realizar un segundo estudio biológico que incluyó, tres grupos de ratas alimentadas con formulaciones de dieta que contenía 45% de aporte proteico proveniente de harina de Chaya y un cereal complementario (maíz, arroz, trigo), otros tres grupos alimentados únicamente con los cereales complementarios y un grupo Control alimentado con caseína

En ambas fases de experimentación, se observó que todos los parámetros antropométricos aumentaron significativamente aunque no igualaron los valores de aquellos sujetos que fueron alimentados con la formulación Control de caseína. En el caso de los parámetros

bioquímicos se observó una tendencia contraria, en aquellas ratas que fueron alimentadas con una formulación que contenía Chaya, estas mostraron valores moderados para los parámetros como triglicéridos, glucosa preprandial y glucosa posprandial en comparación a aquellos sujetos alimentados con la formulación Control de caseína que obtuvieron valores más elevados, cuando los valores de estos parámetros están aumentados son un indicador inicial del deterioro del estado de salud. Para el caso del parámetro hemoglobina, los sujetos alimentados con cualquier formulación elaborada con Chaya mostraron valores de hemoglobina más altos que aquellos que se alimentaron solo con cereales complementarios o con la dieta Control de caseína.

Al aplicar las pruebas estadísticas se rechazó la hipótesis nula ya que las formulaciones de dieta elaboradas con 45% de proteína proveniente de harina de Chaya más un cereal complementario, mostraron diferencia estadísticamente significativa entre ellas y entre el resto de las formulaciones evaluadas que no contenían Chaya.

De este estudio se concluyó que el consumo de Chaya tiene un impacto positivo en el aprovechamiento nutricional, pues los sujetos alimentados con las formulaciones de dieta con 45% de contenido proteico de Chaya mostraron cambios positivos principalmente en el incremento en peso e índice de eficiencia proteica. En cuanto a los parámetros bioquímicos de estos sujetos, se reportaron valores que indican un estado de salud adecuado e incluso mejorado en comparación a sus contrapartes alimentados únicamente con cereales complementados o con la formulación Control de caseína.

Al finalizar esta investigación se recomienda evaluar en un nuevo estudio biológico con ratas, la cualidad de la Chaya como alimento complementario, en un estudio con frijol, pues permitiría asegurar si la chaya potencia, el valor nutricional del frijol, que de por sí ya es bastante bueno, al igual que lo hizo con el maíz, el trigo y el arroz. También sería interesante indagar sobre la digestibilidad de las formulaciones elaboradas, pues como se observó en la sección del análisis proximal, la chaya posee un elevado valor de fibra cruda, pero biológicamente este dato tendría más peso si se evalúa la digestibilidad de las distintas formulaciones con Chaya, en las heces de los sujetos de estudio.

INDICE

I. INTRODUCCION.....	1
II. MARCO TEORICO	3
A. Consumo de vegetales de hojas verdes en Guatemala	3
B. Beneficios nutricionales derivados del consumo de vegetales de hojas verdes.....	3
C. Clasificación de los fitoquímicos	6
D. Beneficios del consumo de vegetales de hojas verdes sobre la salud del individuo	8
E. Características botánicas y agronómicas de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	10
F. Propiedades nutricionales y medicinales de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	10
G. Toxicología de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	12
H. Evaluación del estado nutricional y de salud en modelos de estudio en animales	13
III. JUSTIFICACION	14
IV. OBJETIVOS.....	15
A. Objetivo general.....	15
B. Objetivos específicos.....	15
V. HIPOTESIS	16
VI. METODOLOGIA	17
A. Diseño de estudio.....	17
B. Población de estudio.....	17
C. Muestra	17
D. Variables	17
E. Diseño y validación de instrumentos	18
F. Etapas de trabajo.....	18
G. Procesamiento y análisis de datos	28

VII. RESULTADOS	30
A. Análisis Proximal de las dietas.....	30
B. Estudio biológico inicial.....	31
C. Formulación definitiva	35
D. Estudio biológico definitivo	37
VIII. DISCUSION.....	56
IX. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	61
A. Conclusiones.....	61
B. Recomendaciones	62
X. BIBLIOGRAFIA.....	63
XI. ANEXOS	69

I. INTRODUCCION

Una amplia variedad de plantas de hojas verdes son utilizadas como vegetales en todo el mundo. En Guatemala, son alimentos comúnmente consumidos en los hogares y se utilizan con frecuencia en la preparación de algunos platos tradicionales. Así, entre los vegetales de hojas verdes se incluye, por ejemplo, la acelga, espinaca, berro, verdolaga, y chipilín, entre varios. Se caracterizan por ser fuente sustancial de proteína, minerales, vitaminas, fibra y otros nutrientes que se encuentran en ocasiones limitados en la dieta diaria. La inclusión de vegetales de hojas verdes en la dieta no solo provee al individuo de los nutrientes básicos sino que también proporciona un efecto protector contra la incidencia de enfermedades crónicas como obesidad, hipertensión, diabetes e incluso contra enfermedades degenerativas.

En la región mesoamericana existen varias especies de vegetales de hojas verdes comestibles, que se encuentran subutilizadas como alimento humano, *Cnidoscolus aconitifolius* es una de las más desaprovechadas. Popularmente conocida como “Chaya”, *Cnidoscolus aconitifolius* es un arbusto domesticado perteneciente a la familia Euphorbiaceae que crece a lo largo y ancho del país; ella, es especialmente conocida en la región del Petén. Su consumo como vegetal se remonta a la época precolombina, en la cuál era utilizado comúnmente en preparaciones cotidianas tanto por la población maya como la azteca.

Se reporta en varias publicaciones científicas en el mundo que las hojas de *Cnidoscolus aconitifolius* o Chaya, poseen un alto contenido proteico, de vitamina C, calcio y carotenoides. Sus cualidades no están únicamente ligadas a su alto valor nutritivo; también se le adjudican propiedades medicinales. De hecho, en la región mesoamericana, han sido evaluadas por sus propiedades antidiabéticas y antioxidantes más de 500 especies de plantas, dentro de las cuales se menciona a *Cnidoscolus aconitifolius*.

Aunque químicamente se ha determinado su alto contenido de nutrientes esenciales, no se sabe mucho sobre el impacto del consumo de esta planta en el estado nutricional y de salud

de los individuos, por lo cual es importante evaluar el aprovechamiento nutricional de una dieta con “chaya” en modelos de estudio *in vivo*. El efecto del consumo diario de *Cnidoscolus aconitifolius* sobre algunos parámetros bioquímicos y antropométricos, en un modelo de estudio en ratas en crecimiento, permitiría establecer si los beneficios que se le adjudican a la ingesta de la planta se reflejan en ciertos indicadores nutricionales.

II. MARCO TEORICO

A. Consumo de vegetales de hojas verdes en Guatemala

Los vegetales de hojas verdes están conformados por una gran variedad de especies que se caracterizan por ser plantas cuyas hojas son comestibles; ellas pueden provenir de árboles, hierbas, arbustos o plantas que crecen en charcas y pantanos. Varios de estos cultivares han sido domesticados y otros se consideran aún semisilvestres (Bautista-Cruz, A. 2011).

En las áreas rurales del país este tipo de vegetales constituye un componente principal de la dieta. Entre los vegetales de hojas verdes más comunes utilizados en preparaciones caseras guatemaltecas se encuentran, el bledo, quilete o hierba mora, hojas de remolacha, chipilín, loroco, espinaca, puntas de ayote y puntas de güisquil, solo por mencionar algunas (Campos, R. 2003).

Los vegetales de hoja como chipilín, quilete o hierba mora puntas de güisquil, loroco y puntas de ayote se encuentran disponibles en la época de invierno. Otros vegetales de hoja como el bledo y el chatate o chaya crecen espontáneamente en lugares de siembra de maíz y/o frijol durante las primeras lluvias de mayo y a lo largo de la época lluviosa.

Generalmente esos vegetales de hojas verdes se agregan a la guarnición o acompañamiento del alimento básico, pueden servirse cocidas, en recados, o crudas en ensalada. En algunas regiones del país es común que se utilicen en los tamales o en “envueltos de huevo”, pero la forma de preparación que predomina es en forma de "caldos", que consiste en la cocción del vegetal con agua, a fuego lento, con adición de ingredientes como sal, consomé y otros vegetales como güisquil (Campos, R. 2003).

B. Beneficios nutricionales derivados del consumo de vegetales de hojas verdes

Usualmente, los vegetales son bajos en energía pero son buena fuente de fibra, vitaminas, minerales y otros compuestos bioactivos y nutraceuticos, los cuales pueden tener un efecto positivo en la prevención de diferentes enfermedades.

1. Contenido de fibra

La fibra dietética es un componente esencial de la dieta normal y se acepta la importancia de la dieta rica en fibra como parte de la terapia para pacientes con estreñimiento y diverticulosis. Además, puede desempeñar un papel importante en el tratamiento de la hipercolesterolemia y la diabetes; asimismo, reducir el riesgo de desarrollo de cáncer de colon. (Hung, H. 2004) (Kai, H. 2011)

La fibra dietética se define como la porción de las células vegetales que no puede digerirse mediante enzimas digestivas humanas y, por lo tanto, no puede absorberse. Se clasifica según su solubilidad en agua, dado que la solubilidad de la fibra determina, en parte, sus efectos fisiológicos. En general, las fibras solubles (pectinas y gomas) ejercen efectos hipoglucemiantes y pueden disminuir la hiperglucemia postprandial. Las fibras no solubles (celulosa, hemicelulosa y lignina) carecen de dichos efectos. Se piensa que las fibras insolubles se comportan fundamentalmente como formadoras de volumen, que ayudan a incrementar el peso de las heces y a disminuir el tiempo del tránsito intestinal (Hung, H. 2004)

2. Contenido de vitaminas

Las vitaminas se definen como nutrientes esenciales, no energéticos y orgánicos, necesarias en pequeñas cantidades en la dieta. El rol de las vitaminas es participar en el metabolismo de otros nutrientes. Estas son digeridas, absorbidas y metabolizadas o construidas dentro del organismo (Van Duyn, M. 2000).

Algunas vitaminas están presentes en los alimentos como precursoras o pro vitaminas; una vez dentro del organismo, éstas son transformadas químicamente a una o más formas de vitaminas activas (Van Duyn, M. 2000).

En la naturaleza se encuentran dos clases de vitaminas: las solubles en grasa y las solubles en agua. De la solubilidad de las vitaminas dependen muchas de las características de su funcionamiento; ya que determina cómo son absorbidas y transportadas por el torrente

sanguíneo. En general, las vitaminas solubles en grasa son absorbidas dentro del sistema linfático y son transportadas en la sangre ligadas a transportadores proteicos. Las vitaminas solubles en agua son absorbidas directamente dentro del torrente sanguíneo y son transportadas libremente (Campos, R. 2003).

Algunas vitaminas actúan como antioxidantes en el organismo. Por ejemplo, el β -caroteno y la vitamina E, protegen las membranas que contienen lípidos; la vitamina C protege los componentes líquidos, como la sangre. Varios estudios han demostrado que niveles adecuados de estos nutrientes en la sangre, pueden proteger contra diversos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Hung, H. 2004) (Van Duyn, M. 2000).

3. Minerales

Los minerales se encuentran en los alimentos principalmente en su forma iónica. Los metales como el sodio, potasio y calcio, forman iones positivos y los no metálicos constituyen iones negativos (cloro, azufre y fósforo). Los minerales que se necesitan en mayor cantidad son conocidos como oligoelementos. (Campos, R. 2003)

Los minerales tienen muchas funciones esenciales. Una de las funciones más importantes es formar parte del sistema antioxidante del organismo; por ejemplo, el zinc, el cobre y el manganeso forman parte de la enzima superóxido dismutasa, el selenio forma parte de las enzimas catalasas y glutatión peróxidasa y el azufre forma parte de proteínas antioxidantes. El equilibrio de iones minerales en los líquidos corporales regula la actividad de muchas enzimas, conserva el equilibrio de ácidos y bases y la presión osmótica, facilita el transporte de membrana de compuestos esenciales y conserva la irritabilidad nerviosa y muscular. En algunos casos, los iones minerales son constituyentes estructurales de los tejidos corporales. Muchos minerales también participan de manera indirecta en el crecimiento. (Campos, R. 2003)

4. Compuestos bioactivos

Los vegetales contienen muchos compuestos bioactivos, además de las vitaminas y los minerales. Estos compuestos bioactivos se conocen como fitoquímicos, los cuales pueden tener efectos fisiológicos en el cuerpo, capaces de cambiar funciones básicas de la célula en un nivel metabólico cuando el cuerpo se ve afectado por alguna enfermedad. (Van Duyn, M. 2000)

Los fitoquímicos pueden actuar de diferentes maneras para reducir el riesgo de enfermedades: reducen la formación de la aterosclerosis, porque actúan como antioxidantes; incrementan la actividad de las enzimas que destruyen carcinógenos o suprimen enzimas que forman o activan carcinógenos, ya que los fitoquímicos pueden modificar la expresión genética de las enzimas; estimulan el sistema inmune para responder a células anormales; interfieren en la estimulación hormonal de algunos cánceres; reducen el riesgo de infección porque actúan como agentes antimicrobianos. Muchas de estas funciones tienen implicaciones para el desarrollo de enfermedades del corazón, cáncer y otras enfermedades (Loarca-Peña, G. 2010)

C. Clasificación de los fitoquímicos

Los fitoquímicos no están clasificados como nutrientes, ya que son sustancias indispensables para generar energía o construir estructuras. Existe evidencia de que los fitoquímicos pueden desempeñar otras funciones importantes relacionadas con la prevención de enfermedades (Hung, H. 2004).

A continuación se enumeran algunos fitoquímicos y se describen sus funciones (Campos, R. 2003):

1. Capsaicina

Tiene un efecto en la modulación de la coagulación de la sangre, posiblemente reduce el riesgo de coágulos a nivel del corazón y enfermedades arteriales.

2. Carotenoides

Incluyen a los carotenos y el licopeno. Actúan como antioxidantes.

3. Curcumina

Pueden inhibir enzimas que activan cancerígenos.

4. Flavonoides

Muchos flavonoides pueden actuar como antioxidantes; ligar nitratos en el estómago para prevenir la conversión a nitrosaminas e inhibir la proliferación de células.

5. Indoles

Aumentan la producción de enzimas que bloquean el daño causado por los carcinógenos en el ADN y pueden inhibir la acción de los estrógenos.

6. Isotiocianatos

Inhiben enzimas que activan carcinógenos. Se encuentran presentes en alimentos como: brócoli, col de bruselas, repollo y coliflor.

7. Monoterpenos

Producen enzimas que decodifican los carcinógenos e inhiben el cáncer y la proliferación de las células.

8. Compuestos organosulfurados

Aceleran la producción de enzimas destructoras de carcinógenos y disminuyen la producción de enzimas que activan los carcinógenos.

9. Ácidos fenólicos

Producen enzimas que hacen carcinógenos solubles en agua, que facilitan la excreción.

10. Fitoesteroles

Inhiben los estrógenos que provocan la reducción del riesgo de cáncer de mama, colon, ovario, próstata y otros, así como de osteoporosis.

11. Inhibidores de proteasa

Suprimen enzimas que producen células cancerosas, disminuyen el crecimiento de tumores e inhiben cambios malignos en las células.

12. Saponinas

Interfieren con la replicación del ADN, prevención de multiplicación de células cancerígenas, estimulan la respuesta inmune.

13. Taninos

Inhiben la activación de carcinógenos, actúan como antioxidantes.

Ya que son muchas las ventajas del consumo de estos constituyentes, la ingesta prolongada y constante de vegetales que los contengan, representa una posibilidad de mejoramiento de la salud y de prevención de enfermedades (Van Duyn, M. 2000).

D. Beneficios del consumo de vegetales de hojas verdes sobre la salud del individuo

Son numerosos los beneficios para la salud que ofrecen los vegetales, por esta razón, son una parte muy importante de la dieta humana y permiten tener una mejor nutrición. Consumir vegetales de hojas verdes entre cuatro y ocho porciones de una taza al día confiere una serie de beneficios que no se pueden obtener de otras fuentes alimenticias. Estos nutrientes no parecen ser inmediatamente necesarios para la dieta humana, pero parecen conferir algunos beneficios tales como la protección contra las enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer (Van Duyn, M. 2000)

La diabetes, algunos tipos de cáncer, enfermedad renal, accidente cerebro vascular, y la pérdida ósea parecen ser al menos parcialmente prevenibles con una ingesta elevada de vegetales de hojas verdes, como se evidencia en numerosos estudios de las dietas humanas. (Bautista-Cruz, A. 2011)

Es conocido, que el consumo de vegetales de hojas verdes es más beneficioso que el consumo de suplementos. Los beneficios para la salud de estos vegetales no pueden ser reemplazados, por el consumo de vitaminas, pues estos poseen compuestos que no se pueden copiar ni reemplazar, por ello, consumir vegetales de hojas verdes es la forma indicada de ayudar al cuerpo a metabolizar ciertas vitaminas y minerales útiles para el organismo. (Hung, H. 2004) (Van Duyn, M. 2000)

La ingesta de vegetales de hojas verdes aumenta también la ingesta de antioxidantes, los cuales disminuyen el riesgo de ciertas patologías (Oyagbemi, A. 2008). El papel que juegan los antioxidantes en las patologías cardiovasculares es de vital importancia; también ayudan a prevenir numerosos tipos de cáncer, mejoran la calidad de vida del paciente VIH positivo e incluso están asociadas con el retraso de patologías ligadas al proceso de envejecimiento, como las cataratas o las alteraciones del sistema nervioso. Existen hasta la fecha centenares de estudios que se centran principalmente en antioxidantes como la vitamina C, vitamina E, beta-carotenos, flavonoides, selenio y zinc. La relación entre estos antioxidantes y las enfermedades cardiovasculares y, probablemente, las cerebrovasculares, está hoy suficientemente demostrada. (Hung, H. 2004)

Se sabe que la modificación del "colesterol malo" (LDL-c) desempeña un papel fundamental tanto en la iniciación como en el desarrollo de la arteriosclerosis, que es el engrosamiento y dureza anormal de las cubiertas internas de los vasos sanguíneos debido a un depósito de material graso, que impide o dificulta el paso de la sangre. Los antioxidantes pueden bloquear los radicales libres que modifican el colesterol malo, y reducir así el riesgo cardiovascular. (Sunil, K. 2011)

Estas son solo algunas de las razones por las cuales es importante aumentar la ingesta de vegetales de hojas verdes en la dieta diaria.

E. Características botánicas y agronómicas de *Cnidoscolus aconitifolius*

En Guatemala existen tres cultivares reconocidos de la especie *Cnidoscolus aconitifolius*: cultivar Estrella, Picuda y Plegada.

El cultivar Estrella, es el más ampliamente distribuido en el país, es un arbusto o árbol pequeño de hasta 6 metros de alto. Presenta tallos de madera suave y quebradiza que cuando se cortan emanan un látex –savia- de color blanco. Las hojas son simples, alternas, con peciolo largo que tienen 1 o 2 glándulas esféricas grandes en la base acorazonada de la lámina foliar tri o pentalobulada. Los ápices de los lóbulos son largamente acuminados y los bordes gruesamente dentados, con pelos urticantes presentes solamente en algunas ocasiones. Las pequeñas flores blancas unisexuales se encuentran en inflorescencias largamente pedunculadas. Las flores femeninas apétaladas, con brácteas blancas nacen en el centro de las bifurcaciones de la inflorescencia cimosa. Los frutos son cápsulas globosas de verde brillante con los carpelos bien marcados y semillas elipsoides de color café oscuro. (Molina, A.1997)

F. Propiedades nutricionales y medicinales de *Cnidoscolus aconitifolius*

En Mesoamérica existen especies nativas de plantas que son subutilizadas en la alimentación humana y animal. Una de estas especies es *Cnidoscolus aconitifolius* también comúnmente conocida como chaya, chayote o chatate. *Cnidoscolus aconitifolius* es un arbusto mesoamericano semi domesticado que produce hojas comestibles con alto contenido de vitamina C, beta caroteno y proteína. (Molina, A.1997).

Hay relatos documentados, realizados por el fraile franciscano Diego de Landa, que datan de la época de la conquista española en América y que evidencian que las hojas de chaya han sido utilizadas como alimento humano desde tiempos remotos. En uno de sus diarios, basado en los múltiples viajes que realizó con los colonizadores españoles, hay un párrafo donde describe el uso de la chaya como alimento habitual entre los jefes de descendencia maya. (Coe, S. 1994)

Coe, S., cita lo siguiente, tomado de los diarios de Diego de Landa: “Los alimentos de los señores eran gallinas de la tierra y venados, machos y hembras, los cuales se comían con tortillas y también [...] frijoles, que son semejantes a las habas [*Vicia faba*], así como algunas verduras de las producidas por un árbol al que llaman ehay [la chaya, *Jatropha aconitifolia*] y que parece una higuera a la que también se le parece en la forma de las hojas, salvo que son más pequeñas; tales verduras, cocinadas, son su principal mantenimiento e incluso los españoles las ponen en sus ollas cuando no tienen coles. Y son de muy buen gusto”.

Este fragmento evidencia que la planta representaba, desde esa época, una fuente de alimento muy común; su consumo, se remonta a la era precolombina donde jugó parte importante en la dieta de la cultura Maya.

De los tres cultivares de *Cnidoscolus aconitifolius*, es el cultivar Estrella, el más ampliamente distribuido en Guatemala. Presenta un elevado contenido de proteína (32%), grasa (8.8%), Cu (1.57 mg/100 g), Mn (6.04 mg/100 g), Ca (733 mg/ 100 g), Fe (20.7 mg/100 g) en comparación con otros cultivares. Otra característica particular del cultivar Estrella es que produce una alta cantidad de biomasa. (Molina, A.1997)

Actualmente, la chaya se utiliza en muy poca escala y para gran parte de la población guatemalteca es una planta desconocida. Sin embargo, en el área rural de Mesoamérica, particularmente en el sur de México, la planta es todavía utilizada como fuente de alimento humano y animal; algunas comunidades también la utilizan con propósitos medicinales. De hecho, *Cnidoscolus aconitifolius* es mencionada en repetidas ocasiones dentro de un grupo de plantas que crece en la región mesoamericana, las cuales poseen propiedades para el tratamiento de la Diabetes Mellitus, DM. (Palos, G. 2007)

Las hojas de chaya también han sido utilizadas con otros fines medicinales aparte de ser tratamiento de la DM, entre ellos, mejorar la memoria y la función cerebral, combatir la artritis, la obesidad, disminuir el colesterol e incrementar las plaquetas en pacientes que reciben quimioterapia (Oyagbemi, A. 2000) (Bailey, C. 1989) (Loarca-Peña, G. 2010)

G. Toxicología de *Cnidoscolus aconitifolius*

El género *Cnidoscolus* dentro del cual se incluye a *Cnidoscolus aconitifolius* comúnmente conocido en Guatemala como chaya, contiene cantidades considerables de glucósidos cianogénicos. Los cuales son considerados como tóxicos potentes. (Kuti, J. 2006)

He aquí que el consumo de algunas partes de la planta puede resultar en intoxicación por cianuro de los individuos que las consuman.

La hojas frescas y crudas de *Cnidoscolus aconitifolius* reportan contenido de ácido cianhídrico -HCN- menor al nivel de ingesta segura de productos con contenido cianogénico que equivale a 10 µg HCN/g de peso fresco, según la FAO/OMS (Olaposi, A. 2010) (Torrice, F. 2003), por lo que no se considera una fuente considerable de intoxicación por HCN.

En el caso de la toxicidad de los extractos, es conocido que un valor de LD₅₀ -Índice de Toxicidad Severa- mayor de 5.0g/kg es considerado como de muy poca o ninguna importancia practica (Malone, 1983, pag.127). Para *Cnidoscolus aconitifolius* esta reportado una LD₅₀ de 7.348g/kg del extracto hidroalcohólico. Ello, explica que la planta haya sido usada con fines medicinales y nutricionales durante siglos sin reportar indicios de toxicidad en humanos. (Torrice, F. 2003)

Otro factor clave es el hecho de que, la forma en que tradicionalmente se preparan las comidas y las infusiones con chaya, la planta usualmente se hierva en recipientes sin tapa, proceso que elimina los compuestos tóxicos, en este caso el HCN, el cual se pierde a medida que se genera vapor de agua, pues es arrastrado junto con el vapor. Para eliminar completamente el HCN del agua residual es necesario dejar en hervor durante 10-15 minutos, tal y como se hace en las preparaciones de las y los curanderos que la utilizan tradicionalmente por sus propiedades medicinales. (Bautista-Cruz, A. 2011).

H. Evaluación del estado nutricional y de salud en modelos de estudio en animales

El uso de los animales de laboratorio en las investigaciones biológicas, biomédicas y nutricionales, representa un elemento fundamental en el desarrollo de importantes avances en el descubrimiento de propiedades bioquímicas, rutas metabólicas, prevención y tratamiento de diversas enfermedades transmisibles y no transmisibles. Los modelos de estudio en roedores son bastante comunes cuando se trata de evaluaciones de efectos nutricionales, aprovechamiento biológico y enfermedades crónicas como diabetes, obesidad, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares. (Palos, G. 2007) (Sunil, K. 2011) (Woods, S. 2003)

Muchas plantas conocidas por su elevado valor nutricional son evaluadas en modelos de roedores, (Sunil, K. 2011) con el fin de proporcionar indicios sobre el efecto de su consumo en parámetros que van desde los niveles de HDL y LDL, triglicéridos, niveles de enzimas, niveles de vitaminas y minerales plasmáticos hasta parámetros de estrés oxidativo en el tejido del hígado, páncreas e intestino grueso.

Existen estudios en modelos “in vivo” que han utilizado ratas para evaluación nutricional de plantas como el *Amaranthus cruentus*, amaranto, *Phaseolus aconitifolius*, frijol y *Moringa olifera*, moringa (Kalpana, P. 1995) (Jaiswal, D. 2009) (Collene, A. 2005), en donde se comparan las ventajas nutricionales de los concentrados proteicos de estas plantas con una dieta de caseína, y se miden los efectos que tiene la ingestión de estos concentrados en la regulación de triglicéridos y moléculas grasas plasmáticas.

En el caso de *Cnidioscolus aconitifolius* existen varias publicaciones que establecen las propiedades hipoglicemiantes que posee el extracto o infusión acuosa (Palos, G. 2007) (Loarca-Peña, G. 2010) y un estudio en particular que evalúa las cualidades hepatoprotectoras de la planta a través de un modelo de alimentación en ratas, que utiliza la harina de dicha planta, como medida hepatoprotectora, con resultados alentadores sobre el efecto de la ingestión periódica de la planta en indicadores bioquímicos de salud. (Oyagbemi, A, 2008).

III. JUSTIFICACION

No hay duda que las plantas de hojas verdes que se utilizan como vegetales podrían jugar un rol muy importante en el mejoramiento de la nutrición y la salud humana. Sin embargo, a lo largo de la historia de la humanidad, la dieta de la población mundial ha dependido enormemente de la disponibilidad de carbohidratos que provienen de cereales y granos.

A pesar de que a nivel mundial los vegetales de hojas verdes se utilizan en menor escala como fuente de aporte energético, estos pueden llegar a proporcionar mayor cantidad de nutrientes y compuestos nutraceuticos que los cereales y granos tradicionales. Además, el cultivo de estos vegetales es generalmente de tipo local, lo que los hace más económicos en precio y los convierte en una fuente accesible de vitaminas, minerales y otros nutrientes.

Las ventajas de consumir vegetales de hojas verdes están ampliamente documentadas en la literatura. Su consumo diario tiene beneficios significativos en la salud de los individuos, se le asocia a la prevención de ciertos tipos de cáncer, la regulación de niveles de colesterol y triglicéridos, la prevención de desarrollo de Diabetes tipo 2, el control de peso y la regulación de la hipertensión.

En el mundo existe una infinidad de vegetales de hojas verdes que crecen a nivel regional y son desaprovechados en la alimentación humana pues la divulgación sobre los beneficios de su consumo ha sido limitada o no existe suficiente evidencia sobre los beneficios nutricionales o nutraceuticos de su ingesta. También ocurre que no hay suficiente interés en el desarrollo de la tecnología para preparar y consumir estas plantas con el propósito de aprovechar sus propiedades.

Este es el caso de *Cnidoscolus aconitifolius*, comúnmente denominada “Chaya”, especie que es endémica de la región mesoamericana y que crece a lo largo del territorio guatemalteco; a esta planta se le adjudica un gran valor nutricional; sin embargo, no se contaba con el respaldo de modelos de estudio *in vivo*, que determinaran los efectos benéficos tanto nutricionales como de salud provocado por su consumo regular. Por esta razón, resultó relevante la evaluación de distintos parámetros bioquímicos y antropométricos que revelaron los beneficios de su consumo.

IV. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Evaluar el aprovechamiento nutricional de tres formulaciones de dieta elaboradas con harina de Chaya, a través de la medición de los cambios en peso, índice de eficiencia proteica; así como los niveles de triglicéridos, hemoglobina y glucosa en ratas en periodo de crecimiento.

B. Objetivos específicos

1. Determinar el porcentaje ideal de harina de Chaya para preparar las formulaciones para los sujetos de estudio.
2. Elaborar tres formulaciones de dieta preparadas con el porcentaje ideal de harina de Chaya y un cereal complementario.
3. Determinar la ganancia en peso, índice de eficiencia proteica, niveles de triglicéridos, hemoglobina y glucosa pre y pos prandial de las ratas al final de su exposición a las tres dietas elaboradas con harina de Chaya.
4. Comparar los valores reportados para cada parámetro antropométrico, nutricional y bioquímico entre los grupos de ratas que consumieron la dieta control, las tres dietas con harina de Chaya y el control positivo.

V. HIPOTESIS

Ho: No existe diferencia estadísticamente significativa en el peso, los valores de índice de eficiencia proteica, valores medidos de triglicéridos, hemoglobina y glucosa pre y pos prandial en sangre, de las ratas que ingieren las tres distintas formulaciones de dieta que contienen el porcentaje ideal de harina de Chaya más un cereal complementario.

Ha: Existe diferencia estadísticamente significativa en el peso, los valores de índice de eficiencia proteica, valores medidos de triglicéridos, hemoglobina y glucosa pre y pos prandial en sangre, de las ratas que ingieren las tres distintas formulaciones de dieta que contienen el porcentaje ideal de harina de Chaya más un cereal complementario.

VI. METODOLOGIA

A. Diseño de estudio

El estudio fue de tipo cuasi experimental y consistió en dos etapas. En la etapa experimental I, se evaluaron porcentajes distintos de harina de chaya mezclada con harina de maíz y se determinó el porcentaje complementario ideal. Durante la etapa experimental II se llevó a cabo la evaluación de dicho porcentaje ideal mezclado nuevamente con maíz y dos cereales adicionales, arroz y trigo.

B. Población de estudio

Ratas Wistar para evaluaciones biológicas

C. Muestra

Ciento cuatro ratas Wistar sanas, de 4 semanas de edad, recién destetadas, criadas en el bioterio del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá –INCAP-.

D. Variables

1. Independientes

- a) Aumento en peso. Se expresa en gramos y se define como la diferencia en peso del sujeto dada por:

$$\textit{Peso final} - \textit{Peso inicial}$$

- b) Índice de eficiencia proteica (PER). No tiene dimensionales y se define como la relación dada por:

$$PER = \frac{\textit{Peso ganado (g)}}{\textit{Proteina ingerida (g)}} * 100$$

- c) Triglicéridos. Lípidos presentes en el torrente sanguíneo, se expresan como mg/dL.
- d) Hemoglobina. Niveles de hemoproteína que se encuentran en el interior de las células sanguíneas y transportan oxígeno ligado a hierro en el torrente sanguíneo, se expresa como g/dL.
- e) Glucosa pre y post pandrial. Niveles de glucosa en el torrente sanguíneo previo y posteriormente a la ingesta de alimentos, se expresa como mg/dL.

2. Dependientes

- a) Formulaciones con el porcentaje ideal de Chaya. Se refiere a las dietas formuladas y administradas en la etapa experimental II.

E. Diseño y validación de instrumentos

Para el presente trabajo de tesis se elaboraron dos instrumentos de anotación y recolección de datos. El Instrumento I se utilizó para la anotación y recolección general de alimento dado y peso ganado semanalmente por cada sujeto. El Instrumento 2 se utilizó para anotar los resultados de hemoglobina y triglicéridos, la toma de glucosa pre y post. Véase los Instrumentos 1 y 2 en la sección de Anexos

F. Etapas de trabajo

1. Preparación de la harina de Chaya

La preparación de la harina de Chaya se llevó a cabo de la siguiente forma:

- a) Recolección de las hojas de Chaya

Las hojas fueron recolectadas de los cultivos de Chaya variedad “Estrella” que se encuentran en la granja experimental de la Universidad del Valle de Guatemala, con sede en Sta. Lucia Cotzumalguapa, Escuintla.

Se seleccionaron 12 kilos de hojas frescas y maduras que presentaban una coloración verde oscura y se encontraban en la sección media de todos los arbustos de la variedad “Estrella” de donde fueron cortadas.

Las hojas frescas se transportaron en costales hacia la sede central de la Universidad del Valle de Guatemala donde fueron almacenadas en un cuarto frío durante 24 horas a -4°C , previo a ser procesadas.

b) Preparación de la harina

Veinticuatro horas después de ser recolectadas, las hojas frescas del cultivar “Estrella” se sometieron a un proceso de escaldado a 80°C , que se realizó con una escaldadora tipo industrial marca Huitong, modelo HT (Zhengzhou Huitong Pipe Fittings, China).

Se escaldaron por 10 minutos y una vez escaldadas se deshidrataron a 65°C por 24 hrs. Las hojas deshidratadas se molieron y la harina resultante se guardó en bolsas de polietileno selladas.

2. Análisis proximal de la harina de Chaya

El análisis proximal de la harina de las hojas de chaya se realizó en el Laboratorio del Centro de Tecnología y Alimentos de la Universidad del Valle de Guatemala y se siguió la metodología del Official Methods of Analysis of AOAC International 18th Edition recomendada para la evaluación de harinas y cereales (AOAC, 2005).

3. Formulación de las dietas

Se realizó la formulación de seis dietas con distintas proporciones de chaya y maíz y la dieta de control positivo de caseína, las cuales fueron preparadas de acuerdo a los lineamientos del AIN Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies (AIN, 1977).

Se eligieron variaciones en los porcentajes de contenido de harina de Chaya, en base a trabajos previos realizados con cereales y proteína vegetal complementaria (Bressani, R. 2010)

Los porcentajes de las dietas descritas en el Cuadro 1, expresan el aporte proteico de cada formulación. Por ejemplo la Dieta 1: 100% Maíz indica que el 100% del aporte proteico viene del maíz, en el caso de la Dieta 2: 15% Chaya: 85% Maíz, la proteína en esta formulación proviene 15% de la harina de Chaya y el 85% lo aporta la harina de maíz.

Cuadro 1. Descripción de las formulaciones por aporte proteico de la fase experimental I

No. de Dieta	Descripción de la formulaciones
Dieta 1	100% Maíz
Dieta 2	15% Chaya-85% Maíz
Dieta 3	30% Chaya-70% Maíz
Dieta 4	45% Chaya-55% Maíz
Dieta 5	60% Chaya-40% Maíz
Dieta 6	100% Chaya
Dieta 7	Control Positivo de Caseína

Fuente: Datos experimentales

De acuerdo a los lineamientos establecidos por el AIN, todas las dietas a formular para evaluaciones biológicas deben incluir vitaminas y minerales esenciales y también debe haber un aporte graso, ambos dosificados en proporciones del 5%, también recomiendan que se utilice almidón de maíz, para completar el 100% de la dieta preparada, el almidón no tiene ningún aporte nutritivo a la dieta y se utiliza como relleno. Para el presente estudio se utilizó un suplemento vitamínico marca Pecutrin[®] para animales, como fuente de vitaminas y minerales esenciales, la grasa fue aportada en forma de aceite vegetal y se utilizó almidón de maíz de la marca comercial Maicena[®].

En el caso de esta evaluación complementaria se tomaron en cuenta dos aspectos importantes al momento de formular las dietas, primero la cantidad de proteína aportada por el elemento de interés, la harina de Chaya, este dato se estableció a partir del valor de contenido proteico obtenido del análisis proximal; segundo que la formulación por cada 100 g de dieta debe contener un 5% de suplemento vitamínico y un 5% de grasa.

Al calcular los porcentajes proteicos y en gramos, se utilizó como punto de partida el contenido proteico de la harina de Chaya, que fue de 33.69% de proteína, lo que significa que por cada 100 gramos de harina de Chaya existen 33.69 g de proteína disponible.

Para establecer cuantos gramos corresponden a los distintos porcentajes de proteína en las dietas de la fase experimental I, se utilizó el siguiente lineamiento:

Si 33.69 g de proteína equivalen al 100% cuantos g corresponden al 15%

$$g = \frac{15\% * 33.69 \text{ g}}{100\%} = 5.05$$

En base a estos cálculos, se establecieron los gramos de proteína provenientes de la harina de Chaya que se necesitan para formular las dietas respectivas, en el Cuadro 2 se muestran los valores de proteína calculados. También en ese cuadro aparecen los gramos de harina de maíz que correspondieron a los distintos porcentajes expresados en las dietas de la fase experimental I. Para calcular el aporte proteico del maíz se utilizó el mismo principio, el maíz utilizado tenía un contenido proteico de 8.46%, para calcular los g de maíz se realiza el siguiente cálculo:

Si 8.45 g de proteína equivalen al 100% cuantos g corresponden al 55%

$$g = \frac{55\% * 8.45 \text{ g}}{100\%} = 4.65$$

De acuerdo al principio anterior, se determinó también el contenido proteico en gramos utilizado para formular la dieta Control positivo de caseína, la caseína comercial utilizada marca Rennet[®] tenía un contenido proteico de 36 %, por lo tanto por cada 100 g preparados de esta formulación se utilizaron 36 g del producto caseína comercial.

Cuadro 2. Gramos utilizados de harina de Chaya y de harina de maíz para preparar 100 g de las dietas utilizadas en la fase experimental I

Nombre de la Dieta	Contenido proteico en gramos aportado por		
	Harina de chaya	Harina de maíz	Caseína comercial
100% Maíz	0	8.46	0
15% Chaya-85% Maíz	5.05	7.19	0
30% Chaya-70% Maíz	10.10	5.92	0
45% Chaya-55% Maíz	15.16	4.65	0
60% Chaya-40% Maíz	20.21	3.38	0
100% Chaya	33.69	0	0
Control Positivo de Caseína	0	0	36

Fuente: Datos experimentales

Una vez establecidos los g de harina de Chaya y de maíz que se utilizarían en cada dieta, se realizaron las formulaciones con la inclusión del suplemento vitamínico y la grasa correspondiente. Como se mencionó anteriormente se utilizó Maicena[®], para completar los 100 g correspondientes a cada formulación. Por cada dieta se preparó un mínimo de 3 Kg, que fue suficiente para alimentar a las ratas Wistar por un mes.

Las composiciones por cada 100 gramos de todas las dietas utilizadas para la fase experimental I se describen a continuación en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Composición en gramos de las dietas correspondientes a la fase experimental I

Ingredientes	Numero de Dieta						
	1	2	3	4	5	6	7
Harina de maíz	8.46	7.19	5.92	4.65	3.38	--	--
Harina de Chaya	--	5.05	10.10	15.16	20.21	33.69	--
Caseína Comercial	--	--	--	--	--	--	36
Suplemento Vitamínico	5	5	5	5	5	5	5
Aceite Vegetal	5	5	5	5	5	5	5
Almidón	81.54	77.76	73.98	70.19	66.42	56.31	54
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Datos experimentales

4. Evaluación biológica en ratas

a) Formación de grupos experimentales

Se formaron grupos de acuerdo a los siguientes criterios, cada grupo estuvo compuesto por ocho sujetos –ratas recién destetadas - que incluyeron a hembras y machos de 4 semanas de vida. La selección de las ratas para cada grupo fue realizada al azar por medio de la asignación de un número correlativo para las ratas. Se trabajó con ratas criadas en el bioterio del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá –INCAP-.

Cada rata vivió en su respectiva jaula, con espacio suficiente para moverse, las jaulas tenían ventilación adecuada al igual que la habitación donde estas se colocaron.

Estuvieron expuestas a temperaturas entre 24- 28°C con una humedad relativa entre 60-70%, y a un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Se alimentaron con las dietas formuladas y dispusieron diariamente de 150 ml de agua para beber.

5. Administración de las dietas formuladas

Cada grupo de ratas fue alimentado con las dietas formuladas durante un periodo de cuatro semanas. La dosificación de las dietas estuvo estipulada de la siguiente forma:

Cada semana se les sirvió en los respectivos comederos de 100 a 130 gramos de cada dieta formulada. El alimento sobrante era pesado al final de cada ciclo semanal.

Si las ratas ingerían todo el alimento proporcionado, se aumentaban de 20 a 30 gramos a la nueva entrega semanal. Por ejemplo, si la última semana se les dio 130 g y no se encontraba alimento sobrante para pesar, la nueva entrega semanal fue de 160 gramos.

En el caso de que no comieran todo lo proporcionado, la nueva entrega semanal fue ajustada para alcanzar el peso de 100 o 130 gramos entregado la semana anterior. Por ejemplo, si la última semana se les dio 130 gramos y solo comieron 85 gramos, a ese sobrante de 45 gramos se agregaban otros 85 gramos para completar los 130 gramos que se les había servido.

6. Recolección de datos de peso y PER

a) Toma del peso de las ratas

En ambas fases experimentales, a todas las ratas les fue tomado su peso basal, durante la primera semana, previo a que iniciaran la alimentación con las distintas formulaciones de dieta. Se utilizó una balanza digital semianalítica marca ACCULAB modelo Vicon (Sartorius Group, USA) con capacidad para medir pesos hasta de 5,100 gramos y con sensibilidad de 0.5 gramos.

Se continuó el proceso de toma de peso semanalmente para determinar los cambios en el mismo y generar datos para el cálculo del Índice de Eficiencia Proteica o PER.

7. Recolección de muestras de triglicéridos, hemoglobina y glucosa

a) Toma de muestra para determinación de triglicéridos y hemoglobina

Dos días después de finalizada la etapa de alimentación de la fase II se realizó la toma de muestra de sangre para determinación de triglicéridos y hemoglobina. De acuerdo a los lineamientos planteados en el Committee for the Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals (CPCSEA, 2003), se administró individualmente a cada rata un agente sedante y se procedió a tomar una muestra de aproximadamente 0.5 ml de sangre de la cavidad torácica de la rata y se colocó en un tubo vacío con EDTA (ácido etilen-diamino tetra acético).

b) Toma de muestra para determinación de glucosa

El día en que finalizó la etapa de alimentación de la fase II se inició con las tomas de muestra de sangre, necesarias para medir glucosa pre y post prandial. Ambas muestras de sangre se tomaron de la cola de las ratas, de acuerdo a los lineamientos planteados en el Committee for the Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals (CPCSEA, 2003).

La primera muestra para medición de glucosa pre prandial, se tomó luego de que las ratas permanecieran en ayuno por más de 12 horas, una vez concluida con la recolección de muestras para la glucosa pre prandial, se les proporcionó alimento ad libitum.

La segunda obtención de muestras se realizó a los 120 minutos de haberles proporcionado alimento.

8. Determinación de PER, triglicéridos, hemoglobina y glucosa

a) Determinación del índice de eficiencia proteica o PER

El índice de eficiencia proteica es un método ampliamente utilizado para evaluar la calidad de la proteína en ciertos alimentos. Se basa en la relación existente entre el peso que el sujeto ganará durante el periodo de investigación mientras consume el alimento evaluado y la cantidad de proteína ingerida durante este periodo. (Steinke, 1977). La ecuación de cálculo utiliza los siguientes datos:

$$PER = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{Proteína ingerida (g)}} * 100$$

b) Determinación de triglicéridos

La única muestra tomada de la cavidad torácica de cada rata, se utilizó tanto para el análisis de triglicéridos como para el de hemoglobina.

Los triglicéridos fueron determinados mediante un método colorimétrico de punto final. Se utilizaron 10 microlitros de muestra y 1 ml de reactivo, estos se mezclaron e incubaron a 30°C por un minuto y la absorbancia se lee a 500 nm en el espectrofotómetro. Los triglicéridos son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos por medio de la lipoproteínólipasa. El glicerol es fosforilado a glicerol-a-fosfato por medio de la adenosin trifosfato, luego oxidado por la glicerol fosfato oxidasa. El peróxido de hidrógeno producido reacciona con el reactivo de color. La absorbancia es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos.

c) Determinación de hemoglobina

Para su análisis se utilizó el método de ciano-metahemoglobina, el cual fue adoptado como método de referencia por el Comité Internacional de Estandarización de Hematología (ICSH) y el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Está basado en la transformación de hemoglobina a ciano-MetHb tras sucesivas reacciones. La ciano-MetHb

es un compuesto estable que presenta un pico máximo de absorbancia a 540 nm y obedece a la ley de Lambert-Beer. La absorbancia de la muestra se comparó con una solución de ciano-MetHb estandarizada, de absorbancia y concentración de hemoglobina conocidas.

En este estudio se utilizó la técnica automatizada por medio de un analizador automático Cell Dyn 1800.

d) Determinación de glucosa

Para el presente estudio se utilizó un medidor cuantitativo de glucosa, marca Advantage Complete Meter y tiras reactivas para la determinación de la glucemia en el rango de 10-600 mg/dl (0.6-33.3 mmol/L).

Antes de iniciar las mediciones de glucosa preprandial se realizó la calibración del medidor, tal y como lo indica el fabricante, se utilizó un paquete de tiras reactivas Advantage Glucose. Para realizar la calibración se siguió el siguiente procedimiento:

- i. Retirar el chip de codificación que se incluye en el medidor.
- ii. Insertar en la ranura para el chip de codificación del medidor, con el medidor apagado.
- iii. Encender el medidor y leer la información especificada en el chip de codificación, el cual queda en el aparato hasta abrir un nuevo estuche.

Las muestras de sangre para glucosa pre y post prandial fueron realizadas de acuerdo al siguiente procedimiento:

- i. Pichar con una lanceta la parte inferior de la cola.
- ii. Presionar la cola para la formación de una gota de sangre, aplicar sobre el campo de test amarillo de la tira reactiva, hasta cubrir completamente.
- iii. Aplicar la gota de sangre en el centro de la zona amarilla de la tira.

- iv. Asegurar que la zona reactiva estuviera completamente cubierta por la sangre y que no quedara ninguna parte de la zona amarilla visible, registrar la lectura.

Para verificar el adecuado funcionamiento del medidor de glucosa y las tiras es necesario el uso de la solución Advantage Control, la cual debió dar los valores indicados para esta solución. Esta verificación se hace por recomendación del fabricante de las tiras de glucómetro, en base a esa recomendación, se tomaron en cuenta los siguientes lineamientos:

- i. No se efectuaron las determinaciones de glucemia a temperatura superior a 40°C, ni a más del 85% de humedad relativa.
- ii. No se almacenaron las tiras a temperaturas inferiores a -2°C o superiores de 32°C.

El fundamento del test utilizado, es la bioamperometría, donde la enzima glucosa-deshidrogenasa convierte la glucosa en gluconolactona.

G. Procesamiento y análisis de datos

Se aplicó un modelo de diseño simple aleatorizado para analizar los resultados. Las variables dependientes -ganancia de peso, coeficiente de eficiencia proteica, hemoglobina, glucosa preprandial y postprandial y triglicéridos totales- se graficaron en función de la variable independiente -tipo de dieta- en gráficos de Tuckey, como comparación de los resúmenes de 5 puntos.

Para comprobar los supuestos del modelo, los resultados fueron sometidos a dos pruebas estadísticas: normalidad a través de la prueba de Kolmogorov-Smirnoff y la homogeneidad de varianzas a través de la estadística de Levene. Una vez evaluados los datos se sometieron a un análisis de varianza para encontrar diferencias entre grupos, si la distribución resultaba normal y a un análisis de Kruskal Wallis, si los datos no resultaban tener una distribución normal. En el caso de los datos que se analizaron por análisis de

varianza se procedió a realizar pruebas de comparaciones múltiples con la prueba de Tuckey. El nivel de significancia para todos los análisis fue del 5%.

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el uso del programa de SPSS versión 20.0 para Windows, IBM, Chicago, IL, USA.

VII. RESULTADOS

A continuación se presentan los principales hallazgos del estudio, los cuales se dividen en cinco secciones: A. Análisis Proximal de las dietas. B. Estudio biológico inicial. C. Formulación definitiva de dietas. D. Estudio biológico definitivo. E. Análisis estadístico.

A. Análisis Proximal de las dietas

En el cuadro 4 se muestran los valores promedio del análisis proximal realizado a la harina de Chaya con la que se elaboraron las dietas utilizadas en este trabajo de tesis. También se adicionaron los valores promedio obtenidos para dos minerales esenciales en la dieta: hierro y zinc. El análisis proximal muestra dos aspectos interesantes sobre la harina de Chaya, el primero es que posee un alto valor proteico, el segundo es que el valor de grasa cruda es inusualmente alto para un producto vegetal.

Cuadro 4. Valores promedio del análisis proximal de la harina de Chaya.

Análisis	Resultado
Humedad(g/100g)	2,38
Proteína(g/100g)	33,69
Grasa cruda(g/100g)	8,82
Cenizas (g/100g)	10,04
Carbohidratos totales (g/100g)	45,1
Fibra cruda (g/100g)	3,1
Energía (kcal/100g)	394
Hierro (mg/g)	18,02
Zinc (mg/g)	10,11

Fuente: Datos experimentales

B. Estudio biológico inicial

1. Ganancia en peso de los sujetos expuestos al tratamiento

En el Cuadro 5, sobre estadística descriptiva del parámetro de ganancia en peso, se muestra que los valores promedio de los sujetos que consumieron las distintas dietas tuvieron una tendencia a aumentar a medida que se añadió más porcentaje de harina de Chaya. Sin embargo, esta tendencia se rompe al comparar las Dietas 4 y 5 con contenido proteico de harina de Chaya entre 45% y 60%, ya que ambas mostraron valores promedio muy similares en este parámetro, pero levemente más bajos que la Dieta 3 con 30% de harina de Chaya.

Cabe señalar, que las dietas que contenían más del 30% de contenido proteico brindado por harina de Chaya, reportaron valores máximos de ganancia en peso arriba de los 100 g. También es evidente en el cuadro que la dieta Control Positivo de Caseína es la que muestra los valores estadísticos más altos de ganancia de peso.

Cuadro 5. Estadística descriptiva del parámetro ganancia en peso de las diferentes dietas consumidas en la fase experimental I

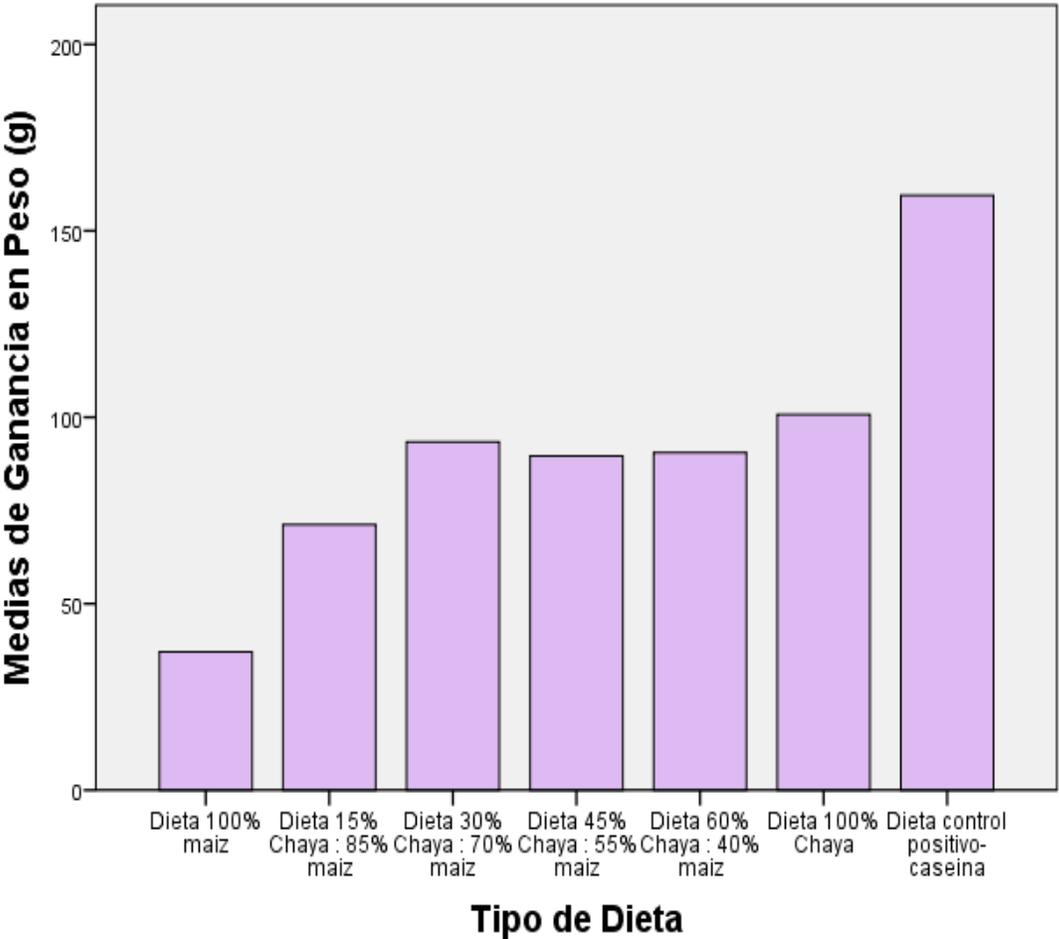
No. de Dieta	Descripción de la Dieta	Ganancia de peso (g)		
		Promedio \pm SD	Mediana	Min-Max.
Dieta 1	100% Maíz	37.12 \pm 4.39	37.00	32.0-44.0
Dieta 2	15% Chaya-85% Maíz	71.25 \pm 10.18	69.50	58.0-90.0
Dieta 3	30% Chaya-70% Maíz	93.38 \pm 12.94	91.50	77.0-111.0
Dieta 4	45% Chaya-55% Maíz	89.63 \pm 9.29	86.50	77.0-103.0
Dieta 5	60% Chaya-40% Maíz	90.50 \pm 8.65	92.00	77.0-102.0
Dieta 6	100% Chaya	100.75 \pm 15.49	106.50	78.0-121.0
Dieta 7	Control Positivo de Caseína	159.50 \pm 7.98	156.00	154.0-177.0

Fuente: Datos experimentales

En la Grafica 1 se muestra que al añadir cualquier porcentaje de harina de Chaya a la dieta incrementa al doble la ganancia en peso de los sujetos, en comparación con la Dieta 100% maíz; sin embargo, la Dieta control positivo de caseína es la que muestra el mayor aumento en peso de todas las dietas consumidas.

Todas las dietas con contenido de Chaya reportaron valores promedio muy similares en aumento en peso, con excepción de aquella con 15% de contenido proteico de harina de Chaya.

Grafica 1. Medias de ganancia en peso de los sujetos alimentados con las diferentes dietas durante la fase experimental I



Fuente: Datos experimentales

2. Índice de eficiencia proteica –PER– de las diferentes formulaciones con harina de Chaya

Los resultados de estadística descriptiva correspondientes al parámetro PER incluidos en el Cuadro 6, muestran que los valores promedio son muy cercanos para los sujetos que consumieron las distintas dietas que contenían un porcentaje de harina de Chaya. Asimismo, los valores reportados por los sujetos que consumieron la Dieta control positivo de caseína muestran clara superioridad frente a todos los demás sujetos evaluados, nótese que el valor promedio fue de 3.40 y mostró un rango que abarca datos entre 3.30 a 3.47.

Cuadro 6. Estadística descriptiva del parámetro PER de las diferentes dietas consumidas en la fase experimental I

No. de Dieta	Descripción de la Dieta	Índice PER		
		Promedio \pm SD	Mediana	Min-Max.
Dieta 1	100% Maíz	1.99 \pm 0.26	1.97	1.69-2.54
Dieta 2	15% Chaya-85% Maíz	2.41 \pm 0.15	2.42	2.13-2.64
Dieta 3	30% Chaya-70% Maíz	2.62 \pm 0.15	2.64	2.32-2.80
Dieta 4	45% Chaya-55% Maíz	2.50 \pm 0.16	2.46	2.24-2.78
Dieta 5	60% Chaya-40% Maíz	2.53 \pm 0.089	2.55	2.42-2.62
Dieta 6	100% Chaya	2.37 \pm 0.17	2.40	2.13-2.64
Dieta 7	Control Positivo de Caseína	3.40 \pm 0.059	3.41	3.30-3.47

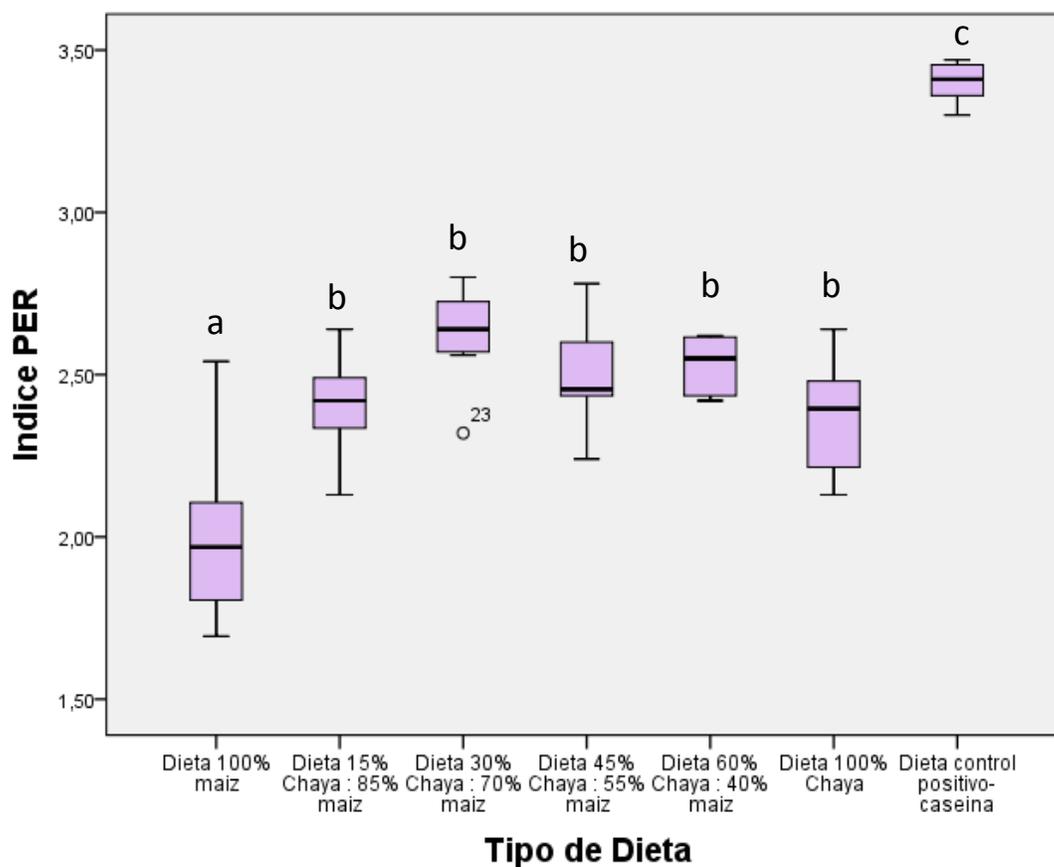
Fuente: Datos experimentales

La Grafica 2 muestra el comportamiento del parámetro Índice PER de los distintos grupos de sujetos alimentados con los siete tipos de dieta preparados.

Es importante señalar que las cinco dietas realizadas con diferentes proporciones de proteína proveniente de Chaya no presentan diferencia estadística entre ellas. Nótese que

todas comparten la letra “b” que las identifica como iguales, sin embargo, éstas difieren estadísticamente de la dieta 100% maíz y de la dieta control positivo de caseína, que a su vez presentan los valores de índice PER menor y mayor de toda la serie, respectivamente.

Grafica 2. Diagramas de caja de Índices PER de los sujetos alimentados con las diferentes dietas durante la fase experimental I



Fuente: Datos experimentales. Se utilizó la prueba ANOVA de una vía ($p < 0.001$) para comparar entre las diferentes dietas. Las dietas que comparten la misma letra no presentaron ninguna diferencia estadística al aplicarles el post-hoc de Bonferroni.

C. Formulación definitiva

En el Cuadro 7 se describe el número de dieta asignado a cada formulación y se indica además, los porcentajes de proteína provenientes de la harina de Chaya y de cada cereal complementario utilizado: maíz, trigo y arroz

Cuadro 7. Descripción de las formulaciones por aporte proteico de la fase experimental II

No. de Dieta	Descripción de la formulaciones
Dieta 1	100% Maíz
Dieta 2	100% Trigo
Dieta 3	100% Arroz
Dieta 4	45% Chaya-55% Maíz
Dieta 5	45% Chaya-55% Trigo
Dieta 6	45% Chaya-55% Arroz
Dieta 7	Control Positivo de Caseína

Fuente: Datos experimentales

En el Cuadro 8 se muestra la formulación en gramos, de las dietas proporcionadas durante la fase experimental II. Dichas formulaciones se basan en el porcentaje ideal elegido en la fase experimental I, de 45% Chaya- 55% Maíz. Para la fase experimental II, el porcentaje de 45% de proteína proveniente de harina de Chaya se combinó con maíz, trigo y arroz.

Para la formulación de estas dietas se utilizó el mismo principio de cálculo manejado durante la preparación de las formulaciones de la etapa experimental I. Se tomaron los valores de contenido proteico de la harina de trigo sin fortificar 10.33% y de la harina de arroz 5.95%, obtenidos del análisis proteico realizado por el laboratorio del CECTA en la

Universidad del Valle, siguiendo la metodología del Oficial Methods of Analysis of AOAC International 18th Edition recomendada para la evaluación de harinas y cereales (AOAC, 2005). Con esos valores se realizaron los siguientes cálculos:

Si la harina de trigo sin fortificar posee 10.33 g de proteína por cada 100 g de producto, y esto corresponde al 100%, cuantos g corresponderán al 55%

$$g = \frac{55\% * 10.33 g}{100\%} = 5.68$$

Si la harina de arroz tiene 5.95 g de proteína por cada 100 g de producto, y esto corresponde al 100%, cuantos g corresponderán al 55%

$$g = \frac{55\% * 5.95 g}{100\%} = 3.27$$

Con estos valores correspondientes al aporte proteico del 55% de ambos cereales se realizaron entonces las formulaciones de las dietas que aparecen en el Cuadro 8, nuevamente se tomó en cuenta el uso de un suplemento vitamínico marca Pecutrin® para animales, como fuente de vitaminas y minerales esenciales, la grasa fue aportada en forma de aceite vegetal y se utilizó almidón de maíz de la marca comercial Maicena® para completar el 100% de la formulación.

Cuadro 8. Composición en gramos de las dietas de la fase experimental II

Ingredientes	Numero de Dieta						
	1	2	3	4	5	6	7
Harina de maíz	8.46	--	--	5.92	--	--	--
Harina de trigo	--	10.33	--	--	5.68	--	--
Harina de arroz molido	--	--	5.95	--	--	3.27	--
Harina de Chaya	--	--	--	15.16	15.16	15.16	--
Caseína Comercial	--	--	--	--	--	--	36
Suplemento Vitamínico	5	5	5	5	5	5	5
Aceite Vegetal	5	5	5	5	5	5	5
Almidón	81.54	79.67	84.05	68.92	69.16	71.57	54
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Datos experimentales

D. Estudio biológico definitivo

1. Ganancia en peso de los sujetos que consumieron las dietas con proteína proveniente de la Chaya

En el Cuadro 9 se muestran los valores de estadística descriptiva correspondientes al parámetro Ganancia en peso de la fase experimental II, es claro que los valores promedio de los sujetos que consumieron las distintas dietas que contenían un porcentaje de harina de Chaya, doblan su valor en peso cuando se comparan con aquellos sujetos que consumieron las dietas de Cereales sin complementación. La Dieta 6, 45% Chaya-55% Arroz, reportó incluso valores mínimos y máximos de ganancia en peso arriba de los 100 g. Durante la fase experimental II, vuelve a ser claro que la Dieta control positivo de caseína, es la que muestra los valores estadísticos más altos para este parámetro.

Cuadro 9. Estadística descriptiva del parámetro ganancia en peso de las diferentes dietas consumidas en la fase experimental II

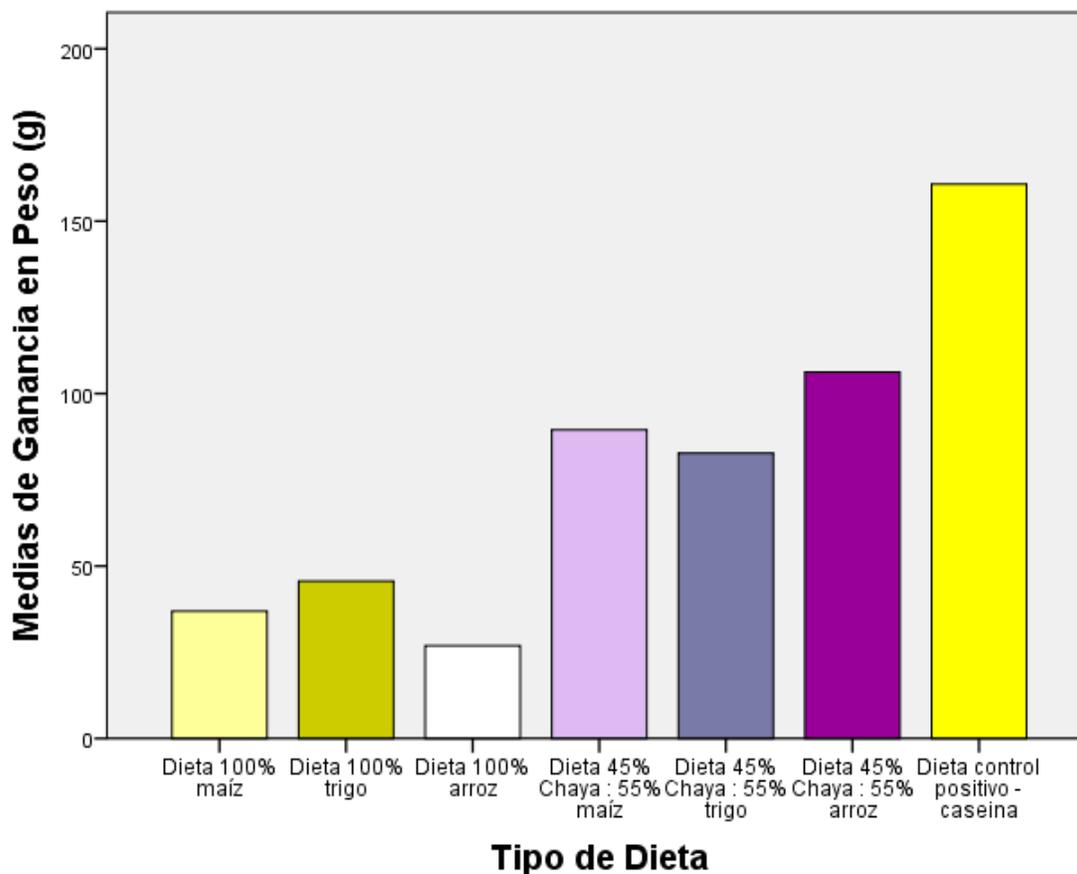
No. de Dieta	Descripción de la Dieta	Ganancia de peso (g)		
		Promedio \pm SD	Mediana	Min-Max.
Dieta 1	100% Maíz	36.88 \pm 4.67	37.00	29-44
Dieta 2	100% Trigo	45.63 \pm 2.56	45.00	43-50
Dieta 3	100% Arroz	26.88 \pm 1.55	26.50	25-30
Dieta 4	45% Chaya-55% Maíz	89.50 \pm 9.29	87.00	75-104
Dieta 5	45% Chaya-55% Trigo	82.75 \pm 6.63	83.00	71-90
Dieta 6	45% Chaya-55% Arroz	106.25 \pm 3.99	105.50	102-113
Dieta 7	Control Positivo de Caseína	160.75 \pm 7.67	158.50	154-178

Fuente: Datos experimentales

En la Grafica 3 se hace evidente nuevamente que 45% proteína proveniente de Chaya en las formulaciones ayuda a incrementar la ganancia en peso de los sujetos que consumieron estas dietas, en comparación con las dietas que contenían únicamente el cereal complementario; sin embargo, la dieta control positivo de caseína vuelve a mostrar el mayor aumento en peso de todas las dietas consumidas.

Es interesante notar que la Dieta 6, que está complementada con arroz, es la que muestra un aumento considerable en peso, si se toma en cuenta que su contraparte la Dieta 3 que contenía 100% arroz fue la que menos ganancia mostró, de las dietas con único contenido de cereales.

Grafica 3. Medias de ganancia en peso de los sujetos alimentados con las diferentes dietas durante la fase experimental II



Fuente: Datos experimentales

2. Índice de eficiencia proteica de las diferentes dietas con harina de Chaya

Los valores de estadística descriptiva correspondientes al parámetro PER de la fase experimental II se muestran en el Cuadro 10; de las tres dietas que estaban complementadas con harina de Chaya fueron los sujetos correspondientes a las Dietas 4 y 6 los que obtuvieron los promedios más altos del parámetro PER.

Los sujetos que se alimentaron con la Dieta 5: 45% Chaya: 55% Trigo, presentaron el valor promedio PER más bajo de las dietas complementadas con harina de Chaya. El valor PER

más bajo de las siete dietas consumidas, fue encontrado en los sujetos que consumieron la Dieta 2: 100% Trigo.

Los valores de índice PER de la Dieta Control positivo de caseína, vuelven a mostrar superioridad respecto a los valores reportados por los sujetos alimentados con el resto de las dietas y alcanzó valores máximos de hasta 2.44.

Cuadro 10. Estadística descriptiva del parámetro PER (Índice de eficiencia proteica) de las diferentes dietas consumidas en la fase experimental II

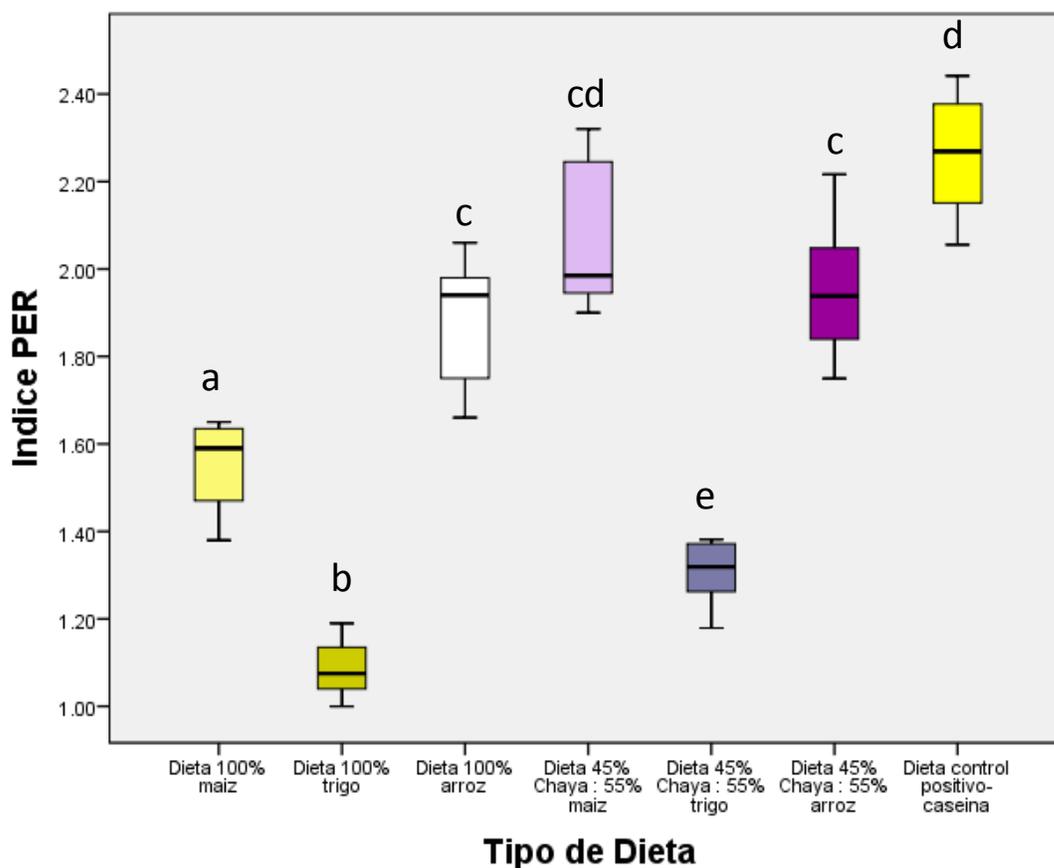
No. de Dieta	Descripción de la Dieta	Índice PER		
		Promedio \pm SD	Mediana	Min-Max.
Dieta 1	100% Maíz	1.55 \pm 0.11	1.59	1.38-1.65
Dieta 2	100% Trigo	1.09 \pm 0.06	1.07	1.00-1.19
Dieta 3	100% Arroz	1.88 \pm 0.15	1.94	1.66-2.06
Dieta 4	45% Chaya-55% Maíz	2.07 \pm 0.17	1.99	1.90-2.32
Dieta 5	45% Chaya-55% Trigo	1.31 \pm 0.07	1.32	1.18-1.38
Dieta 6	45% Chaya-55% Arroz	1.95 \pm 0.16	1.94	1.75-2.22
Dieta 7	Control Positivo de Caseína	2.26 \pm 0.14	2.27	2.06-2.44

Fuente: Datos experimentales

En la Grafica 4 se muestra el comportamiento de los resultados del parámetro Índice PER, es importante resaltar que la única dieta con harina de Chaya que cuenta con un índice PER estadísticamente igual al de la Dieta control positivo de caseína es el de la Dieta 4: 45% Chaya-55% Maíz, nótese que ambas comparten la letra “d” que las identifica como iguales, de las 3 dietas preparadas con Chaya, la Dieta 5: 45% Chaya- 55% Trigo difiere estadísticamente de las que fueron preparadas únicamente con arroz y maíz como cereal complementario, cabe señalar que es la que más se aleja del control positivo.

Se observa también que la Dieta 100% Trigo reportó la tendencia más baja del parámetro en cuestión; por el contrario, la Dieta control positivo de caseína volvió a mostrar el valor más alto de Índice PER, se repite nuevamente la tendencia mostrada en la fase experimental I.

Grafica 4. Diagramas de caja de Índices PER de los sujetos alimentados con las diferentes dietas durante la fase experimental II



Fuente: Datos experimentales. Se utilizó la prueba ANOVA de una vía ($p < 0.001$) para comparar entre las diferentes dietas. Las dietas que comparten la misma letra no presentaron ninguna diferencia estadística al aplicarles el post-hoc de Bonferroni.

3. Comparación de los biomarcadores del estado nutricional de los sujetos que consumieron las dietas formuladas para la Fase experimental II

En el Cuadro 11 se observan los datos de estadística descriptiva que corresponden al parámetro triglicéridos, los valores promedio más bajos corresponden a los sujetos que consumieron las Dietas 1, 2 y 3 cuya composición fue únicamente la del cereal complementario; asimismo, los sujetos alimentados con las Dietas que contenían el porcentaje ideal de harina de Chaya, mostraron niveles de este parámetro que alcanzaron valores arriba de 160 mg/dL; a pesar del aumento mostrado por los sujetos que ingirieron las Dietas 4, 5 y 6 los valores permanecieron relativamente bajos si se comparan con los sujetos que consumieron la Dieta 7: Control Positivo de Caseína, en donde se pueden encontrar datos por arriba de los 200 mg/dL

Cuadro 11. Estadística descriptiva del parámetro triglicéridos (mg/dL) de las diferentes dietas consumidas en la fase experimental II

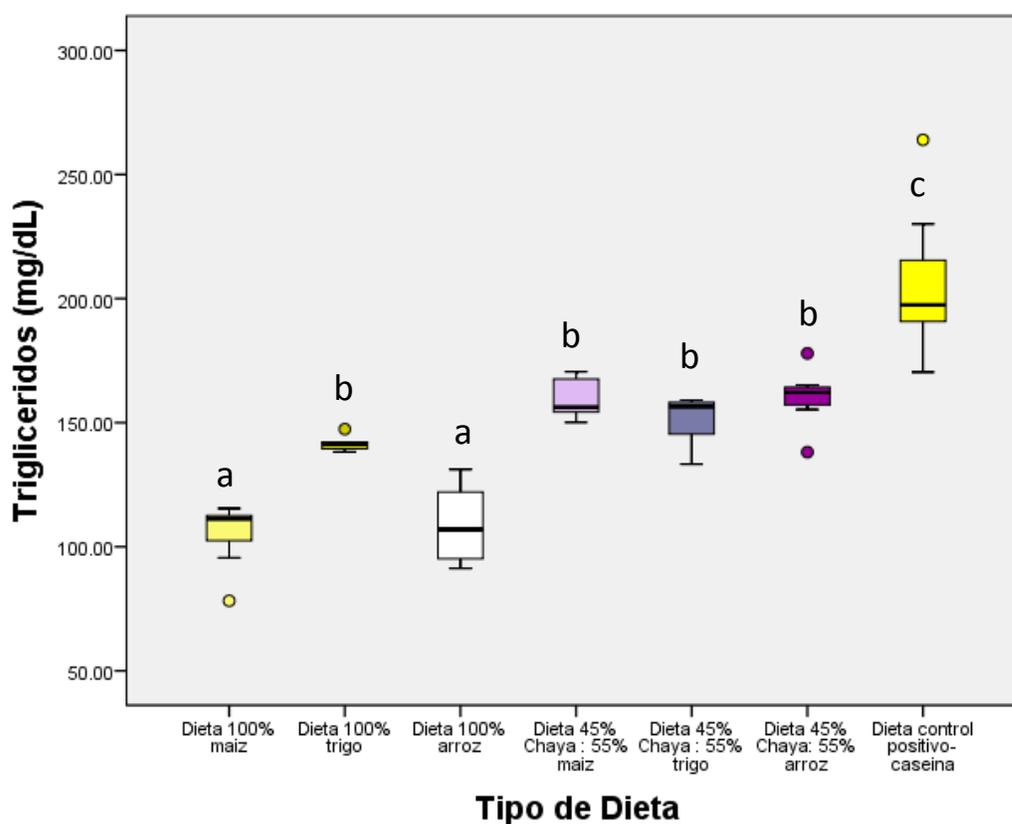
No. de Dieta	Descripción de la Dieta	Triglicéridos (mg/dL)		
		Promedio \pm SD	Mediana	Min-Max.
Dieta 1	100% Maíz	105.75 \pm 12.66	111.20	78.2-115.4
Dieta 2	100% Trigo	141.43 \pm 2.86	141.30	138.2-147.4
Dieta 3	100% Arroz	108.85 \pm 15.08	106.95	91.3-131.2
Dieta 4	45% Chaya:55% Maíz	159.58 \pm 7.73	156.20	150.1-170.5
Dieta 5	45% Chaya:55% Trigo	151.56 \pm 10.47	156.45	133.3-159.1
Dieta 6	45% Chaya:55% Arroz	160.40 \pm 11.14	162.15	138.1-177.9
Dieta 7	Control Positivo de Caseína	205.23 \pm 28.90	197.50	170.4-264.0

Fuente: Datos experimentales

De acuerdo a la Grafica 5, las dietas que contenían únicamente cereales mostraron los 3 datos más bajos de triglicéridos; la dieta que contenía únicamente trigo, no muestra

diferencias significativas al compararla con las 3 dietas que contenían harina de Chaya. Las tres dietas preparadas con harina de Chaya son estadísticamente iguales para este parámetro bioquímico en particular. Los valores más altos de este parámetro fueron mostrados en los sujetos que consumieron la Dieta control positivo de caseína. El consumo de las formulaciones con harina de Chaya, marcó un aumento en los valores de triglicéridos que fue significativamente diferente respecto a aquellas que contenían solo los cereales maíz y arroz, es importante señalar que aunque los valores aumentaron, no alcanza a tener igualdad con el valor que produce el consumo de la dieta con Caseína.

Grafica 5. Diagramas de caja de valores de Triglicéridos de los sujetos alimentados con las diferentes dietas durante la fase experimental II



Fuente: Datos experimentales. Se utilizó la prueba ANOVA de una vía ($p < 0.001$) para comparar entre las diferentes dietas. Las dietas que comparten la misma letra no presentaron ninguna diferencia estadística al aplicarles el post-hoc de Bonferroni.

Los valores de estadística descriptiva que se muestran en el Cuadro 12, corresponden al parámetro hemoglobina, se observa en este cuadro que los valores más bajos mostrados para este parámetro son los que corresponden a los sujetos que se alimentaron con las Dietas 1: 100% Maíz y Dieta 7: Control Positivo de Caseína. De las dietas complementadas con harina de Chaya, la Dieta 6: 45% Chaya: 55% Arroz, fue la que mostró el promedio más alto. Tanto los sujetos correspondientes a la Dieta 3: 100% Arroz así como los de la Dieta 5: 45% Chaya: 55% Trigo, tuvieron un comportamiento parecido pues obtuvieron valores promedio y rangos muy similares.

Cuadro 12. Estadística descriptiva del parámetro hemoglobina (g/dL) de las diferentes dietas consumidas en la fase experimental II

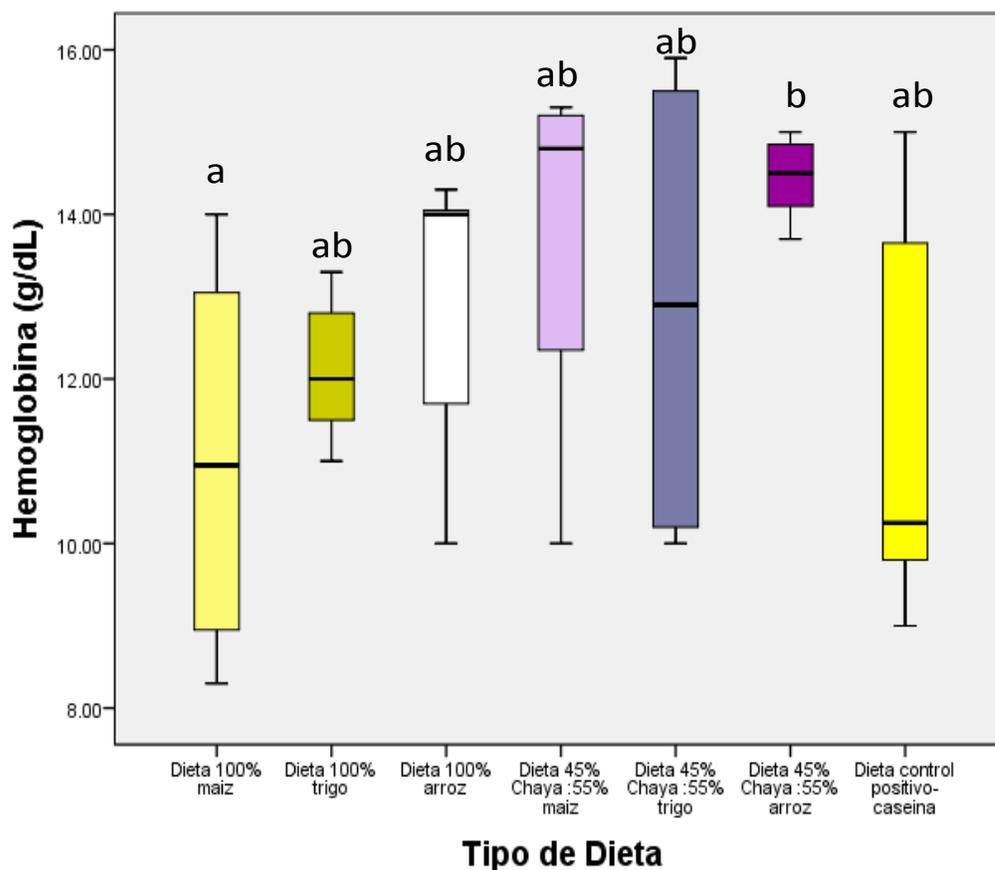
No. de Dieta	Descripción de la Dieta	Hemoglobina (g/dL)		
		Promedio \pm SD	Mediana	Min-Max.
Dieta 1	100% Maíz	11.03 \pm 2.35	10.95	8.30-14.00
Dieta 2	100% Trigo	12.11 \pm 0.80	12.00	11.00-13.30
Dieta 3	100% Arroz	12.98 \pm 1.83	14.00	10.00-14.30
Dieta 4	45% Chaya:55% Maíz	13.75 \pm 2.15	14.80	10.00-15.30
Dieta 5	45% Chaya:55% Trigo	12.89 \pm 2.77	12.90	10.00-15.90
Dieta 6	45% Chaya:55% Arroz	14.45 \pm 0.48	14.50	13.70-15.00
Dieta 7	Control Positivo de Caseína	11.43 \pm 2.30	10.25	9.00-15.00

Fuente: Datos experimentales

En la Grafica 6 se muestra que para los resultados de Hemoglobina, la dieta con valores más bajos es la Dieta 100% maíz y la que reportó los resultados mayores fue la Dieta 45% Chaya: 55% arroz. Es importante hacer notar que la mayoría de las dietas muestran una elevada variación inter-sujeto. La única dieta que no mostró esta tendencia fue la Dieta 45% Chaya: 55% arroz, que además tiene el valor promedio más alto.

Estadísticamente se observa que las dietas que son distintas entre sí, son la Dieta 100% maíz y la Dieta 45% Chaya: 55% arroz. Las otras 5 dietas formuladas son estadísticamente iguales para este parámetro, incluida la dieta control positivo.

Grafica 6. Diagramas de caja de valores de Hemoglobina de los sujetos alimentados con las diferentes dietas durante la fase experimental II



Fuente: Datos experimentales. Se utilizó la prueba ANOVA de una vía ($p < 0.001$) para comparar entre las diferentes dietas. Las dietas que comparten la misma letra no presentaron ninguna diferencia estadística al aplicarles el post-hoc de Bonferroni.

Los valores de estadística descriptiva que se muestran en el Cuadro 13, corresponden al parámetro glucosa preprandial. Se observa en este cuadro que, aquellos sujetos que obtuvieron los valores promedio más bajos, son los que consumieron las Dietas 2: 100% Trigo y 3: 100% Arroz, ambas comparten similitudes en promedios y rangos.

De las tres Dietas complementadas con harina de Chaya, la Dieta 5: 45% Chaya: 55% Trigo, fue la que mostró los sujetos con el valor promedio más alto; sin embargo, si se compara con el resto de valores reportados por los sujetos que consumieron las Dietas 1, 4, 6 y 7 los valores obtenidos por estos sujetos no difieren de forma sustancial de la Dieta 5.

Cuadro 13. Estadística descriptiva del parámetro glucosa preprandial (mg/dL) de las diferentes dietas consumidas en la fase experimental II

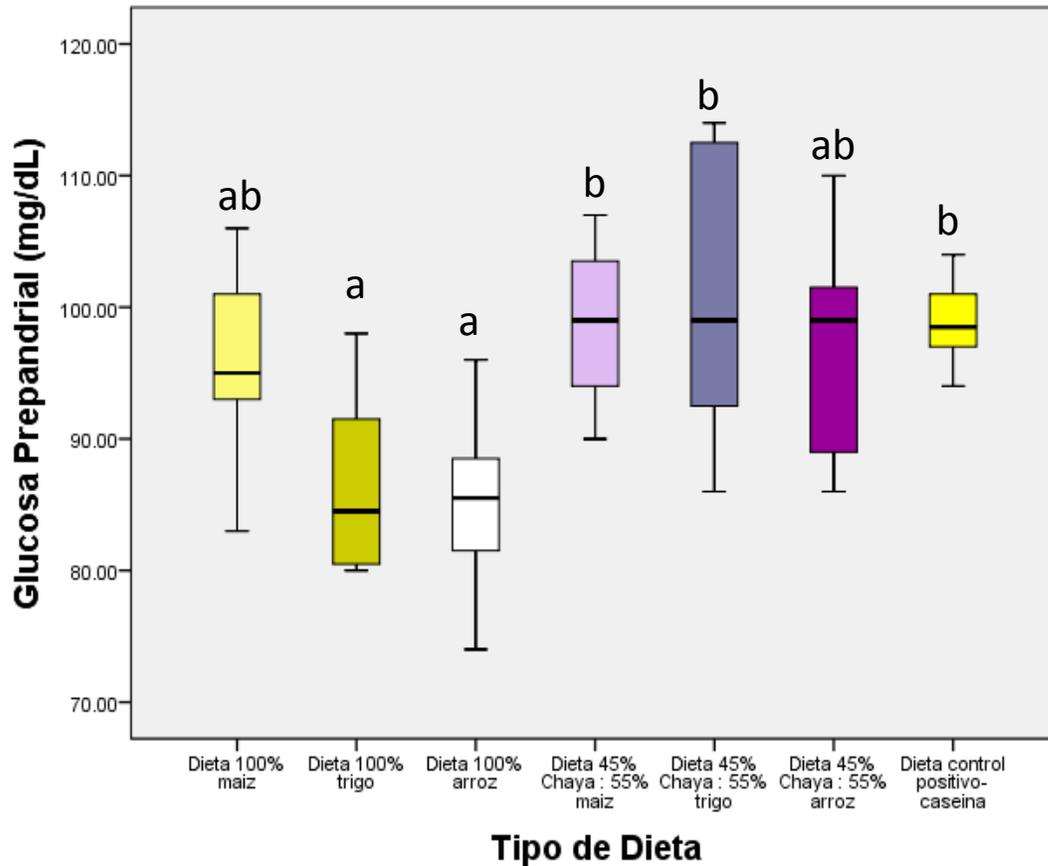
No. de Dieta	Descripción de la Dieta	Glucosa Preprandial (mg/dL)		
		Promedio \pm SD	Mediana	Min-Max.
Dieta 1	100% Maíz	95.88 \pm 7.18	95.00	83.0-106.0
Dieta 2	100% Trigo	86.38 \pm 6.78	84.50	80.0-98.0
Dieta 3	100% Arroz	85.13 \pm 6.73	85.50	74.0-96.0
Dieta 4	45% Chaya:55% Maíz	98.75 \pm 5.97	99.00	90.0-107.0
Dieta 5	45% Chaya:55% Trigo	101.0 \pm 11.04	99.00	86.0-114.0
Dieta 6	45% Chaya:55% Arroz	96.88 \pm 8.20	99.00	86.0-110.0
Dieta 7	Control Positivo de Caseína	98.88 \pm 3.18	98.50	94.0-104.0

Fuente: Datos experimentales

En la Grafica 7 se observa que los valores de glucosa preprandial son más bajos para las dietas que contienen únicamente los cereales complementarios.

Todas las dietas que tenían contenido proteico proveniente de Chaya mostraron igualdad estadística con la Dieta control positivo de caseína, sin embargo la Dieta 1: 100% Maíz y la Dieta 6: 45% Chaya: 55% Arroz presentan la dualidad, debido a la distribución de los valores reportados por los sujetos que la consumieron, de ser estadísticamente similares tanto a sus contrapartes con Chaya así como a las Dietas que únicamente contenían cereales.

Grafica 7. Diagramas de caja de valores de Glucosa Preprandial de los sujetos alimentados con las diferentes dietas durante la fase experimental II



Fuente: Datos experimentales. Se utilizó la prueba ANOVA de una vía ($p < 0.001$) para comparar entre las diferentes dietas. Las dietas que comparten la misma letra no presentaron ninguna diferencia estadística al aplicarles el post-hoc de Bonferroni.

En el Cuadro 14 se muestra los valores de estadística descriptiva que corresponden al parámetro glucosa posprandial. Para este parámetro los sujetos que mostraron el promedio más bajo fueron aquellos alimentados con las Dietas 1, 2 y 3, las cuales consistían únicamente en los Cereales sin complementación con harina de Chaya y de estas fue la Dieta 3 que consistía únicamente en arroz la que mostró el promedio más bajo.

Los sujetos alimentados con las Dietas 4, 5 y 6 que contenían el porcentaje ideal de complementación con Chaya, aumentaron sus valores promedio; sin embargo, ninguno alcanzó los valores obtenidos por los sujetos que consumieron la Dieta 7: Control Positivo de Caseína, cuyos valores máximos reportados fueron de hasta 146 mg/dL.

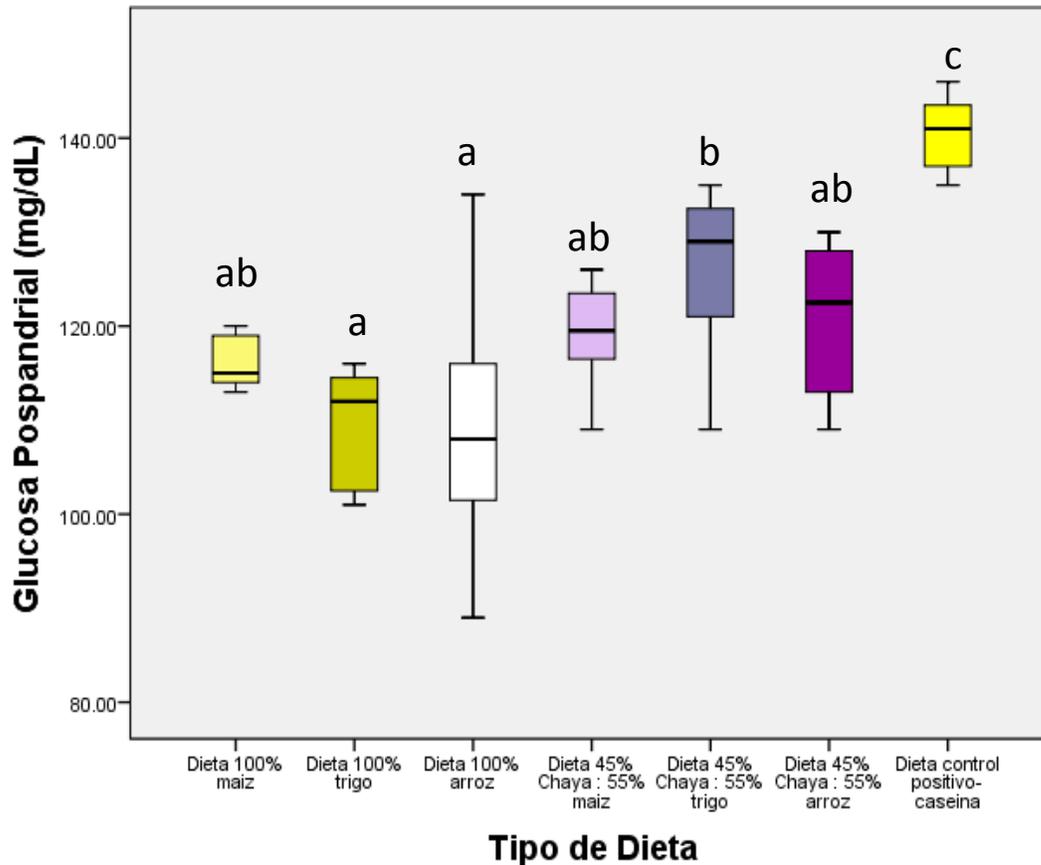
Cuadro 14. Estadística descriptiva del parámetro glucosa posprandial (mg/dL) de las diferentes dietas consumidas en la fase experimental II

No. de Dieta	Descripción de la Dieta	Glucosa Posprandial (g/dL)		
		Promedio \pm SD	Mediana	Min-Max.
Dieta 1	100% Maíz	116.13 \pm 2.80	115.0	113.0-120.0
Dieta 2	100% Trigo	109.38 \pm 6.34	112.0	101.0-116.0
Dieta 3	100% Arroz	109.25 \pm 13.40	108.0	89.0-134.0
Dieta 4	45% Chaya:55% Maíz	119.25 \pm 5.44	119.5	109.0-126.0
Dieta 5	45% Chaya:55% Trigo	126.13 \pm 8.71	129.0	109.0-135.0
Dieta 6	45% Chaya:55% Arroz	120.75 \pm 8.12	122.5	109.0-130.0
Dieta 7	Control Positivo de Caseína	140.50 \pm 3.89	141.0	135.0-146.0

Fuente: Datos experimentales

Como se observa en la Grafica 8, las tres dietas con contenido proteico proveniente únicamente de cereales muestran valores estadísticamente iguales de glucosa posprandial entre ellas; a su vez, al comparar estas tres Dietas con el resto, se puede observar que sus resultados son estadísticamente iguales a la Dieta 4: 45% Chaya: 55% Maíz y la Dieta 6: 45% Chaya: 55% Arroz. La dieta que contiene 45% Chaya: 55% Trigo muestra el valor más elevado de glucosa posprandial pero sin alcanzar al valor de la dieta control positivo, que presenta diferencia estadística al compararla con el resto de las dietas.

Grafica 8. Diagramas de caja de valores de Glucosa Posprandial de los sujetos alimentados con las diferentes dietas durante la fase experimental II

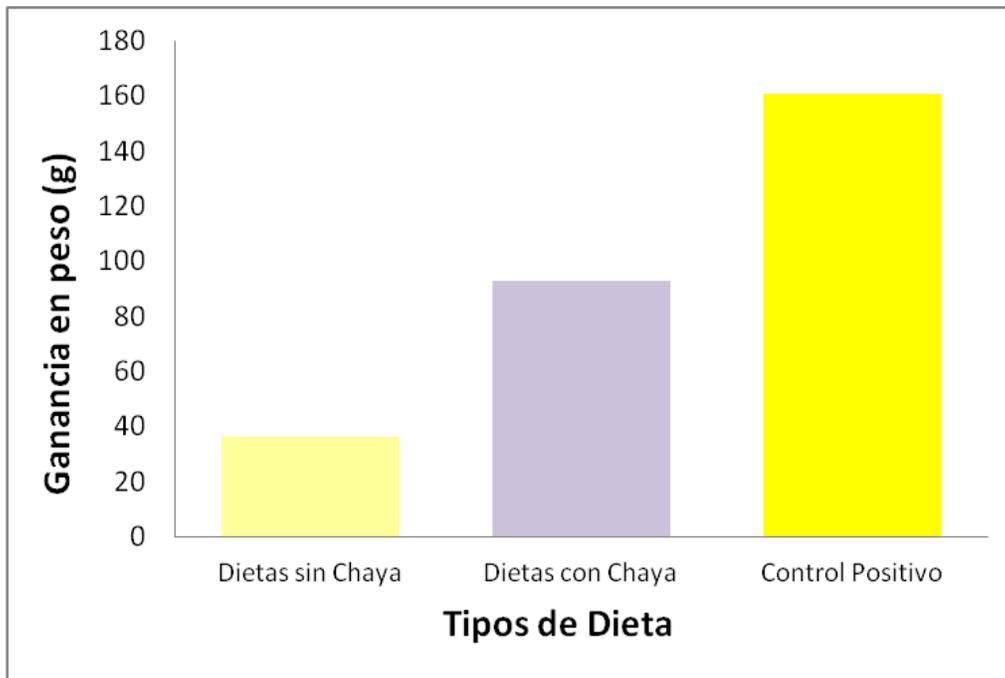


Fuente: Datos experimentales. Se utilizó la prueba ANOVA de una vía ($p < 0.001$) para comparar entre las diferentes dietas. Las dietas que comparten la misma letra no presentaron ninguna diferencia estadística al aplicarles el post-hoc de Bonferroni.

- Comparación de los promedios obtenidos entre los tipos de dieta formulados durante las dos fases experimentales.

Se observa claramente en la Grafica 9 que para el parámetro Ganancia en peso de las dos fases experimentales, los sujetos alimentados con el Control Positivo de Caseína, mostraron una media superior no sólo en comparación con aquellos alimentados con las Dietas complementadas con proteína de la harina de Chaya sino que también dejaron muy atrás a las Dietas únicamente de cereales.

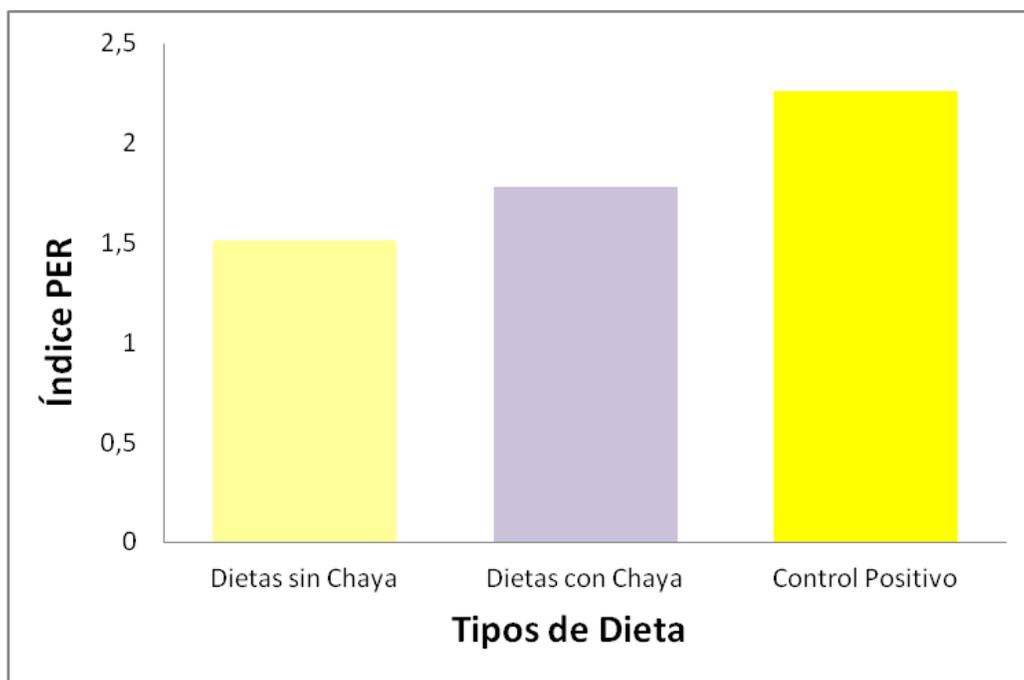
Grafica 9. Medias de Ganancia en peso



Fuente: Datos experimentales

En la Grafica 10 se muestra que las medias reportadas para el parámetro PER por los sujetos alimentados con las Dietas complementadas con proteína proveniente del harina de Chaya, no se alejan drásticamente de los valores reportados por los sujetos alimentados con la Dieta control positivo; sin embargo, la dieta control positivo permanece como aquella que mejor comportamiento muestra. Aquellos sujetos que consumieron las Dietas únicamente de cereales no complementados reportaron valores más bajos que sus contrapartes ya mencionados. Para el caso de Ganancia en Peso lo ideal era que los sujetos pudieran alcanzar valores reportados similares al control positivo, pues esta Dieta se toma como Gold Estándar para estudios biológicos cuando se evalúa eficiencia de proteína vegetal. (Bressani, 2010).

Grafica 10. Medias de Índice de Eficiencia Proteica (PER)

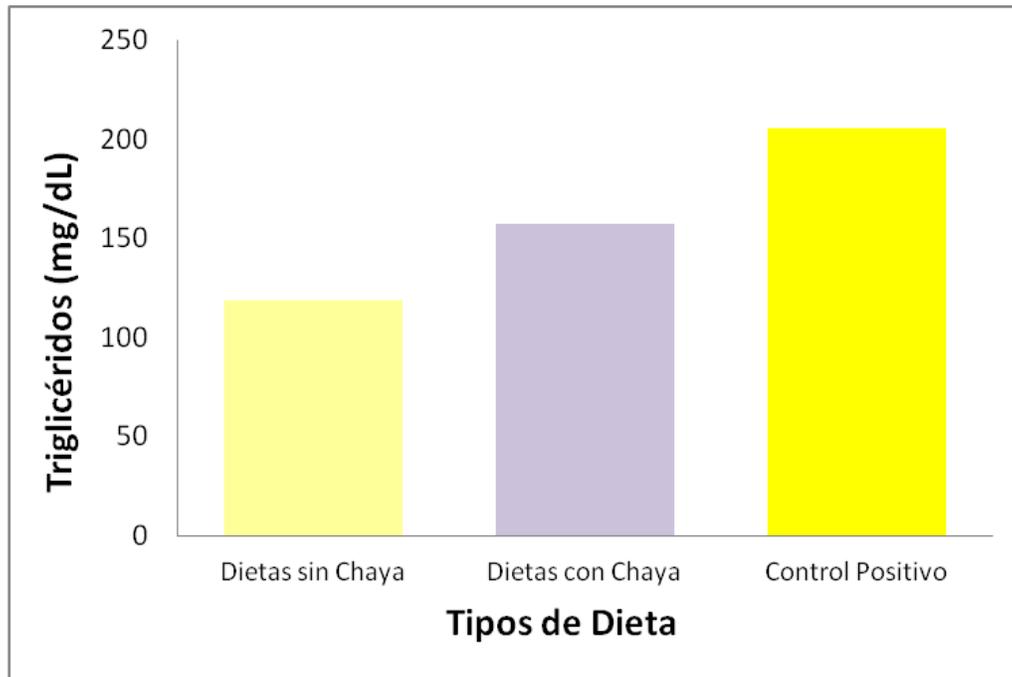


Fuente: Datos experimentales

En cuanto a las medias obtenidas para el parámetro triglicéridos, se puede observar en la Grafica 11 que los sujetos que consumieron Dietas únicamente de cereales mostraron los valores más bajos manteniéndose en un rango promedio de entre 100-140 mg/dL, asimismo, los sujetos alimentados con las Dietas complementadas con harina de Chaya, reportaron un rango de valores promedio entre 130-150 mg/dL. Por el contrario, aquellos sujetos alimentados con la Dieta Control Positivo de Caseína mostraron un promedio de 205 mg/dL.

En este caso los sujetos alimentados con las Dietas con o sin contenido proteico de Chaya tuvieron un mejor desempeño, pues mantuvieron en un nivel de bajo a medio los niveles de triglicéridos comparado con los valores tan altos que reportaron aquellos sujetos alimentados con el control positivo.

Grafica 11. Medias de Triglicéridos

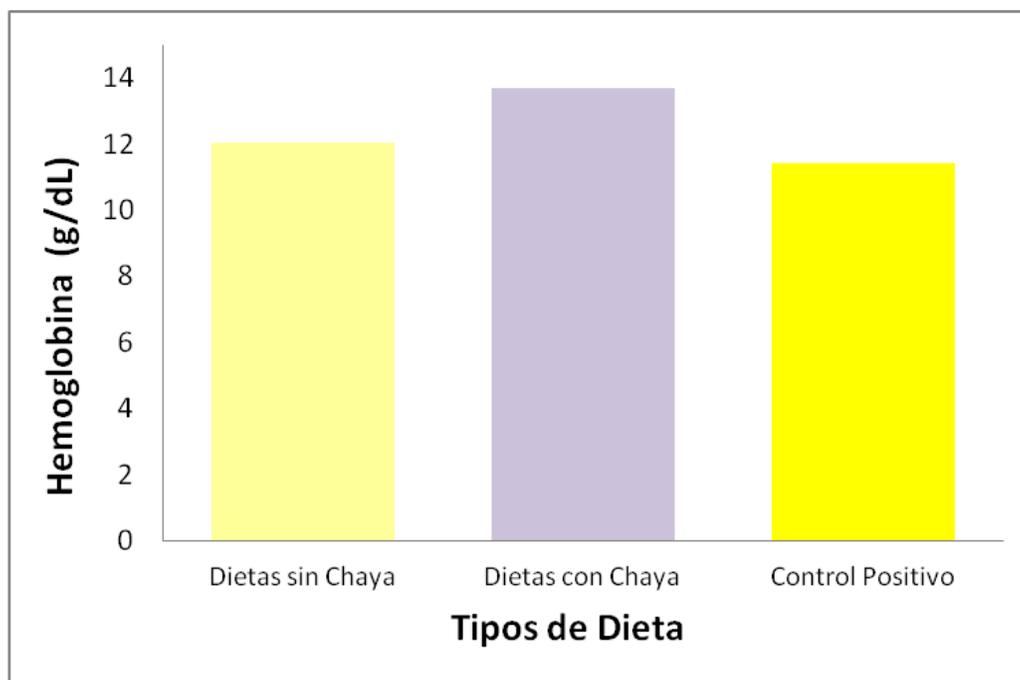


Fuente: Datos experimentales

En la Grafica 12 se muestran las tendencias de los valores promedio correspondientes al parámetro Hemoglobina, es evidente que los valores promedio de los sujetos alimentados con todas las Dietas que contenían Chaya, reportan valores más altos de hemoglobina que los de los sujetos que ingirieron las Dietas que únicamente contenían cereales o inclusive que los reportados por los sujetos que consumieron la Dieta Control Positivo de Caseína. Se observa también, que los sujetos que ingirieron las Dietas con contenido proteico único de cereales tienen un comportamiento levemente mejor respecto a sus niveles de hemoglobina que aquellos que ingirieron el control positivo.

Todos los sujetos analizados, sin importar que Dieta hayan consumido, mostraron valores dentro de los rangos de hemoglobina normales para ratas de 5-8 semanas de edad, que abarcan de 11 a 15 g/dL (León, A. 2011).

Grafica 12. Medias de Hemoglobina

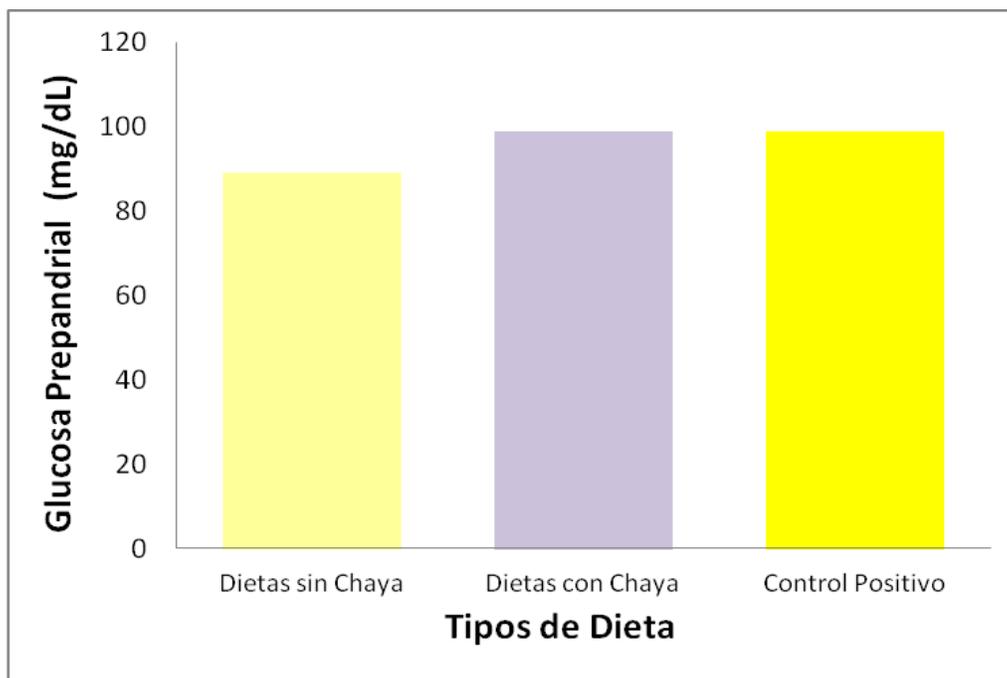


Fuente: Datos experimentales

A continuación se presenta el comportamiento observado para el parámetro Glucosa preprandial en la Grafica 13. En ella se muestra que tanto los sujetos alimentados con las Dietas con Chaya así como con la Dieta Control Positivo de Caseína, tuvieron una tendencia similar, que implicó el mantener promedios de Glucosa relativamente bajos, pues no superan los 100 mg/dL, los valores que oscilan entre 100-115 mg/dL en ratas sanas representan niveles normales de glucosa en ayuno (Urzúa, Z. 2011). Para el caso de los sujetos alimentados con aquellas Dietas que solo contenían cereales, se observó que estos mantuvieron levemente más bajos los niveles de glucosa preprandial en comparación al resto de sujetos alimentados con las Dietas con Chaya y control positivo.

Ninguno de los sujetos que consumió cualquiera de las Dietas proporcionadas reportó valores mayores de 126 mg/dL, que implicaría glicemia alterada o inclusive intolerancia a la glucosa. (Urzúa, Z. 2011)

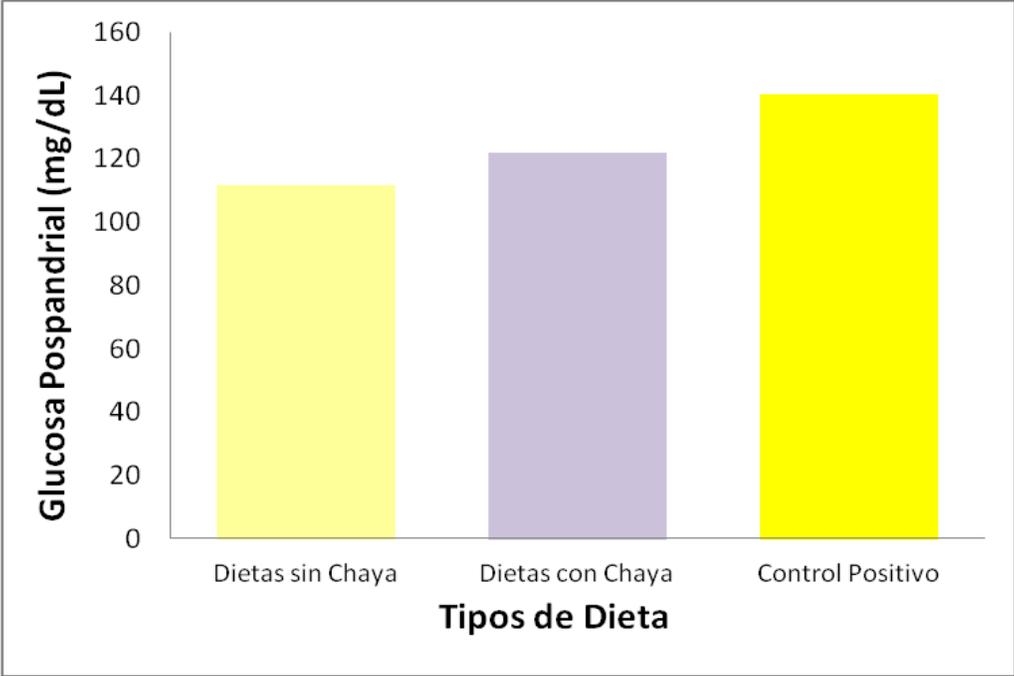
Grafica 13. Medias de Glucosa Preprandial



Fuente: Datos experimentales

Lo que se muestra en la Grafica 14 son las tendencias de promedios obtenidos de los resultados de Glucosa Posprandial, éstas muestran que una vez consumido el alimento, los niveles promedio de Glucosa aumentan en mayor proporción en aquellos sujetos que se alimentaron con la Dieta Control de Caseína seguidos de los sujetos que consumieron las Dietas con Chaya. Los niveles promedio más bajos de Glucosa posprandial fueron los de aquellos sujetos que ingirieron las Dietas que contenían únicamente cereales.

Grafica 14. Medias de Glucosa Posprandial



Fuente: Datos experimentales

VIII. DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos en las dos fases experimentales de este estudio, se puede confirmar que la harina de Chaya posee un valor nutritivo excepcional que no se esperaría en un producto de origen vegetal; su elevado contenido proteico, mineral y graso reportado en el análisis proximal, la convierten en un complemento de alto contenido nutricional, ideal para combinarse con diversos cereales o leguminosas.

La decisión para elegir la dieta con el porcentaje ideal de Chaya que se utilizaría en la fase experimental II, dependía de los resultados estadísticos de los valores de Índice PER. Debido a que se encontró que las cinco dietas con Chaya poseían índices PER estadísticamente iguales, la decisión de qué dieta utilizar se basó en estudios previos realizados en el INCAP por el Dr. Ricardo Bressani con mezclas de proteína vegetal para posible consumo humano o animal. Varios estudios realizados con maíz, soya, semilla de algodón, amaranto y frijol, reflejan que las mezclas vegetales que varían entre 30 y 45% de contenido proteico vegetal obtienen índices de ingesta proteica e índices PER bastante eficientes cuando se comparan con los valores que reporta el control positivo de caseína (Bressani, R. 2010). En base a esta evidencia se decidió utilizar la dieta formulada con 45% de Chaya para la fase experimental II.

El impacto positivo del consumo de 45% de Chaya fue claramente visible en los parámetros antropométricos evaluados durante las dos fases experimentales de este estudio. Para los parámetros de ganancia en peso e índice PER, los sujetos alimentados con 45% complementario de harina de Chaya mostraron valores superiores a sus contrapartes alimentados únicamente con cereales.

Aunque estos sujetos alimentados con 45% complementario de Chaya, no alcanzaron los valores reportados por los sujetos alimentados con el control positivo de caseína, sí mostraron un buen desempeño para los parámetros antropométricos evaluados.

La dieta de caseína se utilizó como el control positivo, fundamentándose en los resultados de varios estudios realizados en el INCAP sobre el uso de proteína vegetal para consumo

humano (Bressani, R, 2010), en los cuales se evaluó una serie de harinas de cereales y leguminosas comparándola con varias proteínas de origen animal dentro de las cuales se encontraba la caseína. Los resultados obtenidos en estos estudios evidenciaron que los valores de la caseína son superiores a los de los cereales como el maíz, trigo, arroz, sorgo para los parámetros de índice PER, ganancia de peso y NPR (índice de proteína ingerida). Además la caseína es una proteína que posee la característica de ser más accesible en su forma comercial, tanto en precio como en presentaciones disponibles, comparada por ejemplo con la proteína del huevo, que a pesar de tener mejor perfil de aminoácidos y mayor *score* de digestibilidad (Ruz, M. 2016), en precio y disponibilidad en polvo, es mucho más costosa.

Usualmente en estudios previos, los sujetos alimentados con una dieta de caseína reportaron valores de índice PER promedio de 2.62 ± 0.30 que superaron al maíz, trigo y arroz, los cuales mostraron valores PER de 1.10 ± 0.18 , 1.34 ± 0.12 y 1.78 ± 0.41 , respectivamente. (Wolzak, A. 1981)

Sin embargo, el control positivo de caseína no fue el estándar ideal a alcanzar cuando se trató de ciertos parámetros bioquímicos específicamente de los parámetros triglicéridos y glucosa posprandial.

En el caso de los triglicéridos, es importante señalar que todas las dietas formuladas contenían la misma cantidad de aceite añadido, por lo que el comportamiento de los valores de este parámetro está ligado a la naturaleza de cada dieta.

Se observó que aquellos sujetos que consumieron las dietas únicamente de cereales, reportaron valores de triglicéridos considerados normales para ratas (León, A. 2011), (Shakappa, D. 2017), por debajo de los 155 mg/dL; para el caso del consumo de las dietas complementadas con harina de Chaya, no se superaron los valores considerados normales, pues los valores reportados no sobrepasaron la media de 160 mg/dL. Sin embargo, todos los sujetos que consumieron la dieta de caseína superaron los valores de 170 mg/dL e incluso alcanzaron valores de hasta 264 mg/dL; en base a varios estudios (Burgeiro, A. 2017), (Marin-Royo, G. 2017), donde se ha establecido el perfil lipídico de ratas con

obesidad inducida, se observa que valores medios arriba de 180 mg/dL en ratas, son considerados como sujetos con riesgo de padecer dislipidemia y se les clasifica en el rango alto de triglicéridos.

Como se mencionó con anterioridad, este es uno de los casos donde la dieta control positivo de caseína mostró un comportamiento negativo respecto a los estándares saludables, pues los sujetos que consumieron esta dieta obtuvieron valores de triglicéridos moderadamente elevados.

La capacidad de alguna de las especies de Chaya para moderar los niveles de colesterol y triglicéridos, ya ha sido evidenciada, se sabe que la especie *Cnidocolus chayamansa* ha demostrado tener un efecto considerable en la reducción de la hipercolesterolemia y dislipidemia en estudios *in vivo* con ratas, de hasta un 27.9 y 31.1%, por cada 50 y 100 mg /kg, sin embargo, se basan en la ingesta de extractos (Miranda-Velázquez, L. 2010) y no del consumo de una harina o del alimento sólido a base de Chaya.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de tesis, muestran indicios de la potencial actividad regulatoria de algunos parámetros del perfil lipídico, en este caso los triglicéridos, que puede tener un alimento complementado con harina de Chaya.

En cuanto al parámetro hemoglobina se refiere, se esperaba que las dietas que contenían el porcentaje ideal de harina de Chaya, mostraran un aumento considerable para este parámetro, pues según el análisis proximal, el contenido de hierro de esta harina es particularmente alto para un producto de origen vegetal. Los resultados por el contrario muestran que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las dietas complementadas con Chaya y las Dietas únicamente de cereales y Control positivo, lo cual indica que el elevado contenido de hierro en la harina de Chaya no tiene un impacto significativo, por lo menos en los niveles de hemoglobina. Todas las Dietas evaluadas mostraron valores normales típicos para ratas Wistar de ocho semanas de vida, los cuales oscilan entre 11-15 g/dL (Filho, WJ. 2017).

Hay que recordar que el hierro biodisponible o “hemo” en alimentos de origen vegetal es usualmente entre un 15-35% del contenido total. Esta baja disponibilidad del hierro en los alimentos de origen vegetal se debe a que dichos alimentos son ricos en polifenoles, taninos, oxalatos, fitatos o fibra, los cuales provocan que la absorción de hierro se vea disminuida pues forman compuestos insolubles difíciles de absorber y asimilar. (Gil, A. 2010). Este es un factor que puede estar incidiendo en la absorción de hierro, en los sujetos alimentados con las dietas con 45% de harina de Chaya y que se mira reflejado en los valores de hemoglobina obtenidos. Aunque en este estudio, no se analizó el contenido de compuestos fitoquímicos, si se sabe que la especie *Cnidocolus aconitifolius* tiene un alto contenido de compuestos fenólicos (Jiménez-Aguilar, D. 2015), además posee también un elevado contenido de fibra, valor que fue reportado en el análisis proximal realizado en el presente estudio, la combinación de dichos factores pudieron haber limitado la absorción del hierro biodisponible.

Para el parámetro glucosa preprandrial los valores obtenidos por todos los sujetos evaluados en la fase experimental II mostraron una tendencia normal, ya que no superaron valores de 110 mg/dL, que se considera están dentro del rango normal para ratas, citado por otros autores en varios estudios de hiperglicemia inducida; donde los animales pertenecientes a los grupos control reportan medias entre 80-130 mg/dL, (Sidorova, Y. 2017), (George,GS. 2013), (Chen, JH. 2016) esto indica que ninguno de los grupos alimentados con las dietas de la segunda fase experimental II, presentaron signos de glicemia alterada en ayunas.

Luego de consumir alimento, los valores de glucosa posprandrial tanto de las Dietas únicamente de cereales como de aquellas complementadas con harina de Chaya, continuaron dentro de los límites de glicemia normal, sin embargo los sujetos que consumieron la Dieta Control positivo de caseína mostraron un leve aumento en los valores para este parámetro, que los ubica, según distintos artículos consultados (Oliva, ME. 2011) (Wu, L. 2006), (George, GS. 2013), en el rango medio a alto, de los valores establecidos en ratas para glucosa posprandrial alterada, que abarca niveles de entre 150-200 mg/dL; nuevamente la Dieta Control positivo volvió a mostrar una tendencia poco saludable, pues

provocó alteraciones significativas en el incremento de la glucosa post, de aquellos sujetos que la consumieron.

De hecho una de las Dietas administradas en el estudio de Chen, JH, et al. 2016, cuya composición es bastante similar a la Dieta Control positivo que se usó en la presente tesis, pues se compone fundamentalmente de Caseína, tuvo como consecuencia el aumento de obesidad y síndrome metabólico en los sujetos que prolongaron su alimentación hasta 12 semanas con este tipo de Dieta; lo cual se evidenció en los análisis de los parámetros metabólicos de insulina sérica, triglicéridos, colesterol total, HDL-C y composición de tejido adiposo, pues mostraron alteraciones e incrementos significativos.

Estadísticamente todas las dietas complementadas con harina de Chaya tuvieron un comportamiento similar para todos los parámetros evaluados, con excepción del índice PER, donde los sujetos alimentados con la Dieta 5, 45% Chaya: 55% trigo, mostraron valores inferiores obtenidos al de las otras dietas complementadas. Sin embargo, se puede observar que quien presentó un comportamiento en mejor sintonía con las tendencias saludables, fue la Dieta 6, 45% Chaya: 55% arroz, ya que para los parámetros antropométricos de ganancia en peso e índice PER mostró los mejores promedios y cuando se trató de los parámetros bioquímicos triglicéridos, glucosa preprandial y posprandial, los sujetos que consumieron esta dieta reportaron los valores más bajos de las tres dietas complementadas con harina de Chaya. Inclusive mostró el mejor comportamiento para el parámetro hemoglobina, pues resultó ser estadísticamente diferente a las dietas de únicamente cereales, pero estadísticamente igual en su eficacia de absorción de hierro como la Dieta 7 Control positivo de caseína.

IX. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A. Conclusiones

1. La harina de chaya es un producto con potencial para ser explotado como una fuente de nutrientes esenciales para la alimentación humana e inclusive para alimentación animal.
2. El contenido ideal de harina de chaya para complementar con algún grano o cereal, como el maíz, trigo o arroz, es 45 por ciento, pues aporta suficiente contenido proteico, que permite alcanzar un mayor crecimiento de los individuos, comparado con el crecimiento que alcanzarían si solo consumieran maíz, trigo o arroz.
3. Las Dietas de cereales complementadas con 45 por ciento de harina de Chaya reflejan, según los valores obtenidos para los parámetros de crecimiento evaluados, el aprovechamiento nutricional experimentado por los sujetos que las consumieron, ya que estos mostraron un incremento en peso e índice de eficiencia proteica PER muy cercano a sus contrapartes alimentados con la Dieta Control positivo de caseína.
4. Los sujetos alimentados con las dietas de cereales complementadas con 45 por ciento de harina de Chaya obtuvieron para los parámetros bioquímicos: triglicéridos y glucosa posprandial, una mejor respuesta en concordancia con las tendencias nutricionales saludables, que aquellos sujetos alimentados con la Dieta Control positivo de caseína, los cuales mostraron para los mismos parámetros, señales de alerta, características de ciertas enfermedades crónicas y del síndrome metabólico.
5. La dieta con 45% Chaya: 55% Arroz, fue la que mostró mejores valores tanto en los parámetros antropométricos como en los bioquímicos, y se mantuvo siempre dentro de las tendencias nutricionales saludables.

B. Recomendaciones

1. Evaluar en un estudio con ratas la cualidad de *Cnidocolus aconitifolius* de fungir como alimento complementario en un estudio con frijol, pues permitiría asegurar si la chaya potencia el valor nutricional del frijol, que de por sí ya es bastante bueno, al igual que lo hizo con el maíz, el trigo y el arroz.
2. Indagar sobre la digestibilidad de las formulaciones elaboradas, pues como ya se observó en la sección del análisis proximal, la chaya posee un elevado valor de fibra cruda, pero biológicamente este dato tendría más peso si se evalúa la digestibilidad de las distintas formulaciones con chaya, en las heces de los sujetos de estudio.

X. BIBLIOGRAFIA

- Adebiyi. (2012). Sedative effect of hydroalcoholic leaf extracts of *Cnidocolus aconitifolius*. *Journal of Applied Research in Natural Products*, 5 (No.1), 1-6.
- Aguilar, A. (2002). La Herbolaria Mexicana en el tratamiento de la diabetes. *Ciencia*, 6, 24-35.
- Akintonwa, A. (2009). Mutagenic screening of some commonly used medicinal plants in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 125 (No.3), 461-470.
- American Institute of Nutrition. (1977). Report of the American Institute of Nutrition ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *Journal of Nutrition* , 107 (No.7), 1340-1348.
- Attar-ur-Rahman, A. (1989). Medicinal plants with hypoglycemic effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 26 (No.1) , 1-55.
- Awoyinka, O. (2007). Phytochemical screening and in vitro bioactivity of *Cnidocolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Journal of Medicinal Plant Research*, 1 (No.13), 63-65.
- Bailey, C. (1989). Traditional Plant medicine as treatment for diabetes. *Diabetes Care*, 12 (No.8), 553-564.
- Bautista-Cruz, A. (2011). The Traditional Medicinal and Food Uses of Four Plants in Oaxaca Mexico. *Journal of Medicine Plants Research*, 5 (No.15), 3404-3411.
- Bressani, R. (1993). Valor nutritivo y usos en alimentación humana de algunos cultivos autóctonos subexplorados de Mesoamerica. *Food and Agricultural Organization of the United Nations*. Roma. Editorial FAO.
- Bressani, R. (2010). INCAP studies of vegetable proteins for human consumption. *Food and Nutrition Bulletin*, 31 (No.1), 95-110.
- Burgeiro, A. (2017). Glucose and Lipid Dysmetabolism in a Rat Model of Prediabetes Induced by a High-Sucrose Diet. *Nutrients*, 9 (No.6), 1-17.

- Campos, R. (2003). *Contenido de Macronutrientes, Minerales y Carotenos en Plantas Comestibles Autóctonas de Guatemala*. (Tesis de Licenciatura en Nutrición) Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Cetto-Andrade, A. (2005). Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99 (No.3), 325-348.
- Cifuentes, R. (2010). Caracterización Botánica, Molecular, Agronómica y Química de los Cultivares de chaya en Guatemala. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, 22, 33-48.
- Chen, JH. (2016). The Effect of Vegan Protein-Based Diets on Metabolic Parameters, Expressions of Adiponectin and Its Receptors in Wistar Rats. *Nutrients*, 8 (No.10), 643-654.
- Coe, S. (1994). *Americans first cuisines* (Vols. 1-300). Texas: University of Texas Press.
- Collene, A. (2005). Effects of a nutritional supplement containing Salacia oblonga extract and insulinogenic amino acids on postprandial glycemia, insulinemia, and breath hydrogen responses in healthy adults. *Nutrition*, 21 (No.7), 848-854.
- Flores, J. (2001). Plantas de la flora yucatenense que provocan alguna toxicidad en el humano. *Revista Biomedica*, 12, 86-96.
- Filho, WJ. (2017). Reference database of hematological parameters for growing and aging rats. *The Aging Male*. Pendiente de publicación impresa. Recuperado el 4 de Septiembre de 2017 de: <https://doi.org/10.1080/13685538.2017.1350156>
- George, GS. (2013). Glycated Haemoglobin, glucose and insulin levels in Diabetic Treated rats. *Journal of Pure and Applied Sciences*, 7 (No.1), 2223-2226.
- Gil, Angel. (2010). *Tratado de Nutrición.: Nutrición Humana en el Estado de Salud*. Tomo II. España. Editorial Medica Panamericana.
- Gonzales- Laredo, R. (2003). Flavonoid and cyanogenic content of Chaya (Spinach tree). *Plant Food for Human Nutrition*, 58 (No.3), 1-8.

- Haddad, P. (2012). Comprehensive Evidence Based Assessment and Prioritization of Potential Antidiabetic Medicinal Plants: A case study from Canadian Eastern James Bay Cree Traditional Medicine. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-14.
- Hernández-Galicia, A. (2002). Studies on hypoglycemic activity of Mexican medicinal plants. *Protocols of West Pharmacology Society*, 45, 118-124.
- Hung, H. (2004). Fruit and Vegetables Intake and Risk of Major Chronic Disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 96 (No.21), 1577-1584.
- Ivorra, M. (1989). A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, 27 (No.3), 243-275.
- Jaiswal, D. (2009). Effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 123 (No.3), 392-396.
- Jiménez-Aguilar, DM. (2015). Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables *Plant Foods for Human Nutrition*, 70 (No.4), 357-364.
- Kai, H. (2011). Evaluation of Antidiabetic Potential of Selected Traditional Chinese Medicines in STZ induced Diabetic Mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 137 (No.3), 1135-1142.
- Kalpana, P. (1995). Effect of dietary intake of freeze dried bitter melon (*Momordica charantia*) in streptozotocin induced diabetic rats. *Die Nahrung*, 39 (No.4), 262-268.
- Kuti, J. (2006). Cyanogenic glycosides content in two edible leaves of tree spinach (*Cnidoscolus* spp.). *Journal of Food Composition and Analyses*, 19 (No. 6), 556-561.
- León, A. (2011). Hematological and biochemical parameters in Sprague Dawley laboratory rats bred in CENPALAB, Cen: SPRD. *Revista Electronica de Veterinaria*, 12, 1-10.
- Loarca-Peña, G. (2010). Antioxidant, antimutagenic and antidiabetic activities of edible leaves from *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh. *Journal of Food Science*, 75 (No.2), 68-71.

- Malone, M. (1983). The pharmacological evaluation of natural products. *Journal of Ethnopharmacology*, 8 (No.2), 123-127.
- Marin-Royo, G. (2017). The impact of obesity in the cardiac lipidomic and its consequences in the cardiac damage observed in obese rats. *Clinica e Investigación en Arterioesclerosis*. Pendiente de publicación impresa. Recuperado el 8 de Septiembre de 2017 de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2017.07.004>.
- Miranda-Velazquez, L. (2010). Hypocholesterolemic activity from the leaf extracts of *Cnidocolus chayamansa*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2010, 65 (No.4), 392-395.
- Molina, A. (1997). Redescubriendo el valor nutritivo de las hojas de Chaya (*Cnidocolus aconitifolius*; Euphorbiaceae). *Ciencia en Acción*, 3, 1-3.
- Morales, J. (2002). *El Amaranto: Características físicas, químicas, toxicológicas, funcionales y aporte nutricional*. México, Distrito Federal: Editorial del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubiran.
- Oboh, G. (2005). Effect of some post-harvest treatments on the nutritional properties of *Cnidocolus aconitifolius* Leaf. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4 (No.4), 226-230.
- Official Methods of Analysis of AOAC International. (2005). 18a. Edición. Estados Unidos de America: Editorial Gaithersburg, Md: AOAC Internacional.
- Olaposi, A. (2010). Chemical composition of three traditional vegetables in Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9 (No.9), 858-860.
- Oyagbemi, A. (2008). Ameliorative Effects of *Cnidocolus aconitifolius* on Anaemia and Osmotic Fragility Induced by Protein Energy Malnutrition. *African Journal of Biotechnology*, 7 (No.11), 1721-1726.
- Palos, G. (2007). *Evaluación antioxidante de la Chaya (Cnidocolus chayamansa) en un modelo experimental de diabetes con ratas Wistar*. (Tesis de Maestría en Tecnología Avanzada) Instituto Politécnico Nacional de Querétaro, Querétaro, México.

- Ross, J. M. (2002). The ethnobotany of Chaya : A nutritious Maya vegetable. *Economic Botany*, 56, 350-365.
- Ruz, M. (2016). *Nutrición y Salud*. Chile: Editorial Mediterraneo.
- Shakappa, D. (2017). Hypolipidemic Effect of Red Gram (Cajanus cajanL.) Prebiotic Oligosaccharides in Wistar NIN Rats. *Journal of Dietary Supplements*, Pendiente de publicación impresa. Recuperado el 8 de Septiembre de 2017 de: <http://http://dx.doi.org/10.1080/19390211.2017.1350246>
- Sidorova, Y. (2017). Hypoglycemic and hypolipidemic effect of Vaccinium myrtillus L. leaf and Phaseolus vulgaris L. seed coat extracts in diabetic rats. *Nutrition*, 41, 107-112.
- Spell, L. B. (2011). Preparación y Caracterización Química de la proteína foliar de la Chaya. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, 23, 54-60.
- Sunil, K. (2011). High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacological*, 57 (No.5), 611-624.
- Sunil, K. (2011). Rodent models for metabolic syndrome research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 11, 1-14.
- Steinke, F.H. (1977). Protein Efficiency Ratio. Pitfalls and Causes of Variability: A Review. *Cereal Chemistry*, 54 (No.4), 949-957.
- Tanira, M. (1994). Anti-diabetic medicinal plants; a review of the present status and future directions. *International Journal of Diabetes*, 2 (No.1), 15-22.
- Torrico, F. (2003). Estudio toxicológico de Cnidoscolus chayamansa McVaugh. *Revista Facultad de Farmacia*, 66 (No.2), 58-66.
- Van Duyn, M. (2000). Overview of the Health Benefits of Fruit and Vegetables Consumption for the Diabetics Professional: Selected Literature. *Journal of the American Diabetic Association*, 100 (No.2), 1511-1521.
- Villa-Romero, A. (2012). *Epidemiología y Estadística en Salud Publica*. México: McGraw Hill.

Woods, S. (2003). A Controlled High Fat Induced an Obese Syndrome in Rats. *Journal of Nutrition*, 133, 1081-1087.

Wu, L. (2006). Addition of dietary fat to cholesterol in the diets of LDL receptor knockout mice: effects on plasma insulin, lipoproteins, and atherosclerosis. *Journal of Lipid Research*, 47, 2215-2222.

XI. ANEXOS

A. Instrumento 1. Para recolección de datos de alimento dado, alimento sobrante, peso inicial, peso ganado.

Código de Sujeto		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4	
Sexo		Alimento dado		Alimento dado		Alimento dado		Alimento dado	
		Alimento ingerido		Alimento ingerido		Alimento ingerido		Alimento ingerido	
Peso Inicial		Alimento sobrante		Alimento sobrante		Alimento sobrante		Alimento sobrante	
		Peso Ganado		Peso Ganado		Peso Ganado		Peso Ganado	
Código de Sujeto		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4	
Sexo		Alimento dado		Alimento dado		Alimento dado		Alimento dado	
		Alimento ingerido		Alimento ingerido		Alimento ingerido		Alimento ingerido	
Peso Inicial		Alimento sobrante		Alimento sobrante		Alimento sobrante		Alimento sobrante	
		Peso Ganado		Peso Ganado		Peso Ganado		Peso Ganado	



Claudia Lorena Arriaga Godoy

AUTOR



MSc. Hilda Palma de Martini

ASESOR



MSc. María Ernestina Ardón Quezada

DIRECTORA



Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

DECANO