

Fibra y capacidad antioxidante de algas comestibles en ratas suficientes o deficientes en vitamina E

Fiber and antioxidant capacity of edible algae in vitamin E sufficient and deficient rats

Fibra e capacidade antioxidante de algas comestíveis em camundongos suficientes e deficientes em vitamina E

► Nidia María Rodríguez¹, Anna María Cioccia¹, Marlén Gutiérrez¹, Patricio Hevia²

Resumen

Debido a la importancia que han alcanzado las algas en la alimentación de los países occidentales aquí se estudió el potencial de las algas Nori y Wakame como fuentes de fibra y capacidad antioxidante en ratas en crecimiento alimentadas con dietas suficientes o deficientes en vitamina E (vit E) durante 15 días. Hubo 3 grupos de ratas que recibieron dietas: 1. grupo control, 2. grupo Nori y 3 grupo Wakame con vit E y 3 grupos similares sin vit E. En las dietas con vit E, Nori produjo una reducción de crecimiento y las dos algas causaron una acumulación de vit E hepática, una reducción en la vit E plasmática y un aumento en TBARS en plasma e hígado. En contraste, cuando las algas se ofrecieron en dietas exentas de vit E, el grupo Nori recuperó su capacidad de crecer, mantuvo una mayor reserva de vit E en el hígado que el grupo control deficiente en vit E y el consumo de ambas algas resultó en TBARS plasmáticos por debajo de las ratas controles deficientes en vit E, lo que señaló que las algas se comportaron mejor en dietas sin vit E. Adicionalmente, se observó que las algas estimularon la función excretora del intestino sin afectar su capacidad absorbente.

Palabras clave: ratas * Nori * Wakame * crecimiento * vitamina E en plasma * hígado * poder antioxidante de reducción férrica * sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico * lipoproteínas de baja densidad * catalasa * glutatión reductasa * antagonismo alga-vit E

Abstract

In western countries, edible seaweed consumption has markedly increased in recent years. Accordingly, in this study the antioxidant capacity and fiber value of Nori and Wakame algae were evaluated in growing rats fed with sufficient or deficient vitamin E. There were 3 groups of rats: 1. Control, 2.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Nori and 3. Wakame with vitamin E and 3 similar groups without vitamin E. The diet with Nori and sufficient vitamin E caused a reduction in growth and Nori and Wakame were associated with liver vitamin E accumulation, plasma vitamin E reduction and an increase in TBARS in liver and plasma. In contrast, when the same diets were offered without vitamin E, the Nori fed rats recovered their growing capacity, they maintained a higher vitamin E reserve than the control or Wakame fed rats, and the consumption of both algae was associated with lower plasma TBARS than vitamin E deficient rats, indicating that these algae are best accepted when offered without vitamin E. In addition, both algae improved the excretory capacity of the intestine without affecting its absorption function.

Keywords: *fats * Nori * Wakame * growth * plasma vitamin E * liver * ferric reducing ability of plasma * thiobarbituric acid reaction substances * low density cholesterol * catalase * glutathione reductase * algae-vit e antagonism*

Resumo

Visto que nos países ocidentais revestiu importância o consumo de algas na alimentação, aqui foi estudado o potencial das algas Nori e Wakame como fontes de fibra e capacidade antioxidante em ratos em crescimento, alimentados com dietas suficientes ou deficientes em vitamina E (vit E) durante 15 dias. Houve 3 grupos de ratos que receberam dietas: 1. grupo controle, 2. grupo Nori e 3. grupo Wakame com vit E e 3 grupos similares sem vit E. Nas dietas com vit E, Nori produziu uma redução no crescimento e as duas algas provocaram uma acumulação de vit E hepática, redução da vit E plasmática e aumento em TBARS em plasma e fígado. Em contraste, quando as algas foram oferecidas em dietas sem vitamina E, o grupo Nori recuperou sua capacidade de crescimento, manteve maior reserva de vit E no fígado do que o grupo controle deficiente em vit E e o consumo de ambas as algas resultou em TBARS plasmáticos mais baixos do que nos ratos do grupo controle deficientes em vitamina E, indicando que essas algas são melhor aceitas quando oferecidas sem vit E. E, também, as algas melhoraram a capacidade de excreção do intestino sem afetar sua função de absorção.

Palavras-chave: *ratos * Nori * Wakame * crescimento * vitamina E em plasma * fígado * poder antioxidante de redução de ferro * substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico * lipoproteínas de baixa densidade * catalase * glutathione reductase * antagonismo alga-vit E*

Introducción

Las algas son organismos muy primitivos que taxonómicamente se ubican junto con los protozoarios y los hongos mucilaginosos dentro del reino de los protistas. Son de naturaleza muy variada, existen unas cuatrocientas mil especies, de las cuales unas doscientas cincuenta mil son unicelulares microscópicas y el resto multicelulares de diversos tamaños (1)(2). Una forma práctica de clasificarlas es de acuerdo con los pigmentos que contienen. De acuerdo con esto hay algas pardas, rojas y verdes (1). Una fracción importante de las algas es comestible y tienen características nutricionales que las hacen atractivas. Entre estas, destaca su alto contenido proteico, su bajo contenido graso y sus elevadas concentraciones de fibra (1). Adicionalmente, las algas contienen elevadas concentraciones de otros nutrientes esenciales como vitaminas y minerales y compuestos bioactivos con características antiinflamatorias, antiangiogénicas, antiadhesivas, anticoagulantes, antioxidantes y preventivas de cáncer, de síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares y diabetes (1)(3-5). Actualmente, a las al-

gas se les ha asignado un valor importante en relación con la alimentación en el futuro, ya que se espera que la población mundial aumentará para el año 2050 en unos 2,3 billones de individuos, lo que exigiría un aumento en la producción de alimentos y proteínas de aproximadamente un 70% (6). Para ello las algas se consideran como un recurso importante, ya que contienen concentraciones de proteínas similares a la presente en otros alimentos proteicos de origen terrestre y para su cultivo, no se requiere de agua de riego o tierra arable y aportan compuestos significativos desde el punto de vista de la salud, como pigmentos y polifenoles importantes en la prevención del estrés oxidativo (4)(6).

A pesar de su atractivo valor nutricional y funcional, el consumo de algas comestibles se centró en los países asiáticos, principalmente Corea, China y Japón (1)(3)(5)(6). En contraste, en los países occidentales productores de algas, su uso se orientó principalmente a la industria de cosméticos, farmacéutica, de alimentos o a la industria agroalimentaria como fertilizante o alimento para consumo animal (1)(5)(6). Sin embargo, a partir de los años 90, esto cambió debido al exponencial in-

crecimiento del consumo de comida japonesa en los países occidentales, particularmente de la comida conocida como *sushi*, que se desarrolló originalmente en la ciudad japonesa de Edo (actual Tokyo) alrededor de 1800 y que incluye arroz blanco, pescado y vegetales enrollados en una lámina del alga roja (6) conocida como "Nori" (*Porphyra tenera*). Este auge en el consumo de *sushi* se debió especialmente a que incluye ingredientes considerados saludables (arroz, pescado y vegetales), contiene una fusión exótica y agradable de sabores, colores y texturas y una presentación elegante e impecable (7) (8). Sin duda, que en esto también influyó el hecho que su consumo ha sido algo tradicional en Japón, donde se lo asocia con una vida saludable y longevidad (5) (8). Japón es uno de los países con la más alta expectativa de vida en el mundo y se estima que los japoneses viven entre 10 a 15 años más que los habitantes de los demás países (5) (7) (8). Esta apreciación encuentra apoyo en la observación de que los habitantes de Okinawa tienen la mayor expectativa de vida en el mundo (5) y que la expectativa de vida ha disminuido en Japón con el aumento en el consumo de alimentos típicos de la alimentación occidental y que los japoneses que viven en EE.UU. tienen una expectativa de vida similar a la de los americanos (5) (8).

En sus inicios, el auge del *sushi* estuvo asociado con un aumento en el número de restaurantes japoneses, pero luego se popularizó mucho más con la aparición de cadenas de comida rápida especializadas en su preparación y en la actualidad se comercializa incluso en áreas delimitadas de los más importantes supermercados (7). El resultado de este cambio en los hábitos alimenticios, experimentado en el mundo entero, ha sido un aumento notable en el consumo de todos los ingredientes que contiene el rollo *sushi*, incluyendo las algas (7). Este auge de la comida japonesa también impactó a Venezuela donde consumirla se ha transformado en algo habitual. En este caso, lo típico es consumir los rollos *sushi* acompañados con una ensalada de algas. Esta incluye el alga parda (6) conocida como Wakame (*Undaria pinnatifida*), semillas de sésamo y algún crustáceo y tiene una coloración verde muy fresca y atractiva combinada con una textura y sabor excelentes.

Las consideraciones anteriores motivaron el presente estudio, cuyo propósito fue estudiar el potencial de las algas Nori y Wakame en dos aspectos asociados con la salud como son su capacidad antioxidante y sus potenciales efectos en favorecer la función intestinal. Esto se realizó en un estudio en ratas, similar al ya descrito (9) para un salvado de arroz venezolano y que permitió establecer que ese salvado tiene potencial para reducir brechas nutricionales importantes como son las severas deficiencias en el consumo de fibra dietética y de vitamina E (vit E) con respecto a los requerimientos establecidos para estos nutrientes (9). Es importante señalar que las algas Nori y Wakame son las algas que más se consumen en el mundo (6).

Se realizó un estudio en ratas en las que muestras comerciales de las algas Nori y Wakame deshidratadas se incorporaron en dietas experimentales suficientes o deficientes en vit E y exentas de fibra. Estas dietas se ofrecieron a ratas en crecimiento durante 15 días y en ellas se evaluó el crecimiento y consumo de alimento, la masa fecal excretada, así como sus concentraciones plasmáticas y hepáticas de vit E. Adicionalmente, se estudió el efecto de estas dietas sobre varios componentes del sistema antioxidante de estos animales como enzimas antioxidantes, concentraciones de compuestos formados durante el proceso oxidativo y niveles de oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL).

Materiales y Métodos

Caracterización de las algas

Las algas marinas deshidratadas Nori (*Porphyra tenera*) y Wakame (*Undaria pinnatifida*) fueron adquiridas a un proveedor de alimentos para comida japonesa y asiática en la ciudad de Caracas. El alga Nori se presenta en láminas y el Wakame en tiras finas. Las algas se molieron en un molino (200 mallas) y se obtuvieron las harinas que se utilizaron en la preparación de las dietas. En estas harinas se determinó el contenido de cenizas (10) de proteínas utilizando un método colorimétrico (11), grasas (12) y humedad (105 °C hasta peso constante) e hidratos de carbono por diferencia. Además, durante el ensayo en ratas se recolectaron heces que sirvieron para determinar el residuo indigerible de cada una de ellas utilizando un método que se basa en un balance de materia que permite diferenciar el residuo no digerible de la dieta y específicamente del alga (13).

Preparación de las dietas

Las dietas se prepararon de acuerdo con los lineamientos del *American Institute of Nutrition* para estudios con roedores (14) y se describen en la Tabla I. Las harinas de algas se agregaron a las dietas a expensas del almidón y representaron un 16,6% de la dieta. Con los datos obtenidos de la composición aproximada (Fig. 1), se hicieron ajustes para obtener dietas isoproteicas e isocalóricas. Por esta razón, en las dietas controles, el 100% de la proteína lo aportó la caseína, mientras que en las dietas con Nori el contenido de caseína fue de sólo 75% y en las dietas con Wakame, debido a que su contenido proteico fue menor, el contenido de caseína alcanzó a un 87,5%. Tal como muestra la Tabla I, se prepararon 6 dietas, 3 con vit E y 3 sin vit E, cada una de estas categorías incluía una dieta sin algas (control), una dieta con alga Nori y otra con alga Wakame. El aceite utilizado para la preparación de todas las dietas fue previamente tratado para extraer la vit E (15), tal como se describió anteriormente (9).

Tabla I. Composición¹ porcentual (g/100g) de las dietas experimentales.

Ingredientes	Con vit E			Sin vit E		
	Control	Nori	Wakame	Control	Nori	Wakame
Caseína	20	15	17,5	20	15	17,5
Aceite de soya	7	6,6	6,2	7	6,6	6,2
Almidón de maíz	68	56,8	54,7	68	56,8	54,7
Nori ²	-	16,6	-	-	16,6	-
Wakame ³	-	-	16,6	-	-	16,6
Mezcla de minerales	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mezcla de vitaminas	1*	1*	1*	1**	1**	1**
Bitartrato de colina	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Metionina	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

1. Basada en la dieta descrita en la referencia (14). Para más detalles ver referencia (9).
 2. Alga roja *Porphyra tenera*. 3. Alga parda *Undaria pinnatifida*. Secas y molidas a 200 mallas.
 * Mezcla de vitaminas con vit E. **Mezcla de vitaminas sin vit E.

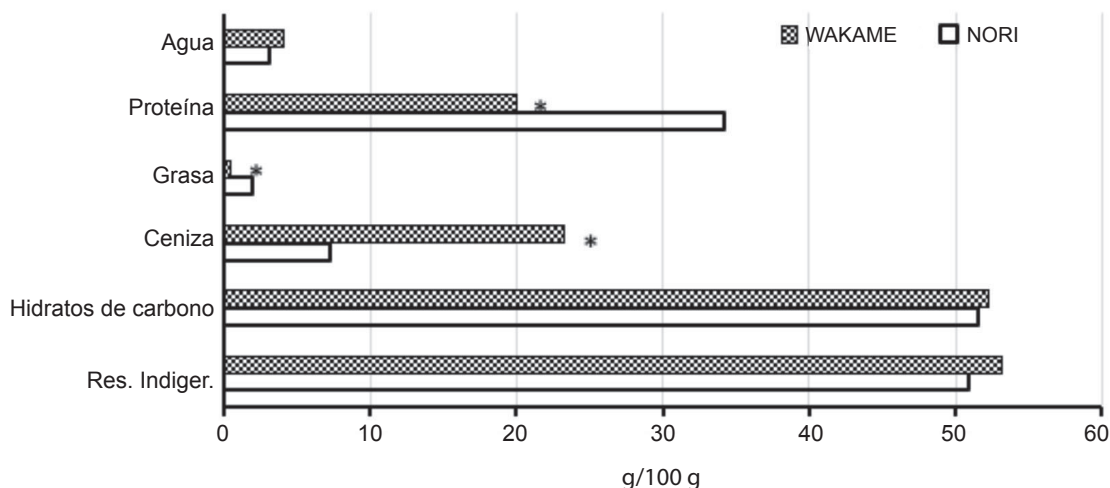


Figura 1. Composición aproximada y contenido de residuo indigerible de las algas¹ comerciales deshidratadas.

1. Las algas: Wakame (*Undaria pinnatifida*) y Nori (*Porphyra tenera*), se compararon deshidratadas en bolsas selladas, se molieron y se les determinó humedad, grasa, cenizas y proteínas. Los hidratos de carbono se calcularon por diferencia. El residuo no digerible presente en las algas se determinó en ratas. *Medias diferentes de acuerdo con la prueba t ($p < 0,05$).

Las mezclas de vitaminas utilizadas para las dietas con y sin vit E se prepararon en el laboratorio de acuerdo con las especificaciones de la mezcla AIN-97-VX (14). En el caso de las mezclas sin vit E, se excluyó esta vitamina.

Ensayo biológico

Se utilizaron ratas machos de la cepa *Sprague-Dawley* con un peso aproximado entre 112 y 120 g, las cuales fueron sometidas a un periodo de acondicionamiento de siete días con una dieta control con vit E (Tabla I).

Las ratas fueron colocadas individualmente en jaulas metabólicas de acero inoxidable con períodos alternos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Antes de iniciar el experimento se seleccionaron al azar 7 ratas, las cuales fueron sacrificadas por decapitación bajo anestesia con éter, con la finalidad de obtener muestras de hígado para determinaciones de la reserva inicial de vit E.

Luego del período de acondicionamiento, cuarenta y dos animales fueron distribuidos aleatoriamente en 6 grupos de 7 ratas cada uno, de los cuales 3 grupos consumieron dietas con concentraciones de vit E

suficientes para cubrir los requerimientos de las ratas (14) y los otros 3 grupos dietas sin vit E. En cada una de estas categorías (suficientes y deficientes en vit E), había un grupo control que consumió una dieta sin algas y de los dos grupos restantes uno se alimentó con una dieta con Nori y el otro con Wakame al 16,6%, respectivamente. El experimento tuvo una duración de 15 días con acceso permanente a agua y alimento. Se registró el consumo de alimento y el crecimiento de forma interdiaria. Durante los últimos dos días del experimento se realizó una recolección de heces para cuantificar la excreción fecal. Al finalizar el período experimental, se sacrificaron los animales por decapitación bajo anestesia con éter, con la finalidad de obtener muestras de sangre e hígado. Las muestras de sangre se colocaron en tubos heparinizados y luego el plasma y los glóbulos rojos se separaron por centrifugación a 2.500 rpm por 15 min, a una temperatura entre 0-4 °C. Los glóbulos rojos se lavaron tres veces con solución salina isotónica y posteriormente fueron hemolizados con una solución de *buffer* fosfato (50 mM, pH 7.4). El plasma, el hemolizado y los hígados fueron almacenados a -80 °C para posteriores determinaciones. Este protocolo experimental es similar al que se utilizó anteriormente en la evaluación de salvado de arroz (9).

Determinaciones bioquímicas

EN PLASMA:

Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP)

Se determinó utilizando el método de Benzie y Strain (16). En tubos de ensayo se agregaron 990 µL de una solución que contenía *buffer* acetato (300 mmol/L, pH 3,6), triazina (10 mmol/L en HCL 40 mmol/L) y solución férrica (20 mmol/L) y se incubó por 15 min a 37 °C. La curva estándar fue preparada con sulfato ferroso (1mmol/L). La reacción comienza con la adición de 33 µL de plasma. Inmediatamente se procedió a leer la absorbancia a 593 nm, y luego, a los 4 minutos de iniciada la reacción para determinar el aumento lineal. Este método determina la capacidad del suero de las ratas para reducir el hierro férrico a ferroso.

Vitamina E

En un tubo de ensayo se colocaron 100 µL de plasma, 50 µL de estándar interno (Retinil acetato 10 mg/dL) y 50 µL de una solución BHT al 0,125% en etanol absoluto. Se agitó en *vórtex* durante 20 s. Se agregaron 200 µL de una solución de BHT al 0,025% en heptano. Se agitó en *vórtex* por 1 min y se centrifugó a 2500 rpm durante 15 min, con una temperatura de 4 °C. Se tomaron 50 µL de la capa superior de heptano en un vial ámbar y se secó con nitrógeno. Posteriormente se resuspendió con

50 µL de fase móvil con metanol HPLC y se determinó usando cromatografía líquida de alta presión (HPLC) utilizando una columna Novapack C18 acoplada a un detector UV (17).

Oxidación de Colesterol de LDL

Su medición se realizó utilizando un método ELISA empleando el *Kit* Mercodia Oxidized LDL. El mismo emplea un anticuerpo monoclonal (4E6) obtenido de ratones que reacciona contra un epítipo conformacional presente en la Apo-B100 de la LDL oxidada.

EN ERITROCITOS:

Actividad de la Catalasa

Se determinó utilizando el método propuesto por Cohen *et al.* (19) tal como se describió anteriormente (9).

Actividad de la Glutación Reductasa

Se determinó siguiendo el método propuesto por Bayoumi y Rosalki (20) tal como ya se describió (9).

EN HÍGADO:

Vitamina E

Se utilizó el método de Ueda e Igarashi (21) tal como ya se describió anteriormente (9).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Qq1 varianza de dos vías. Los efectos principales fueron vit E (suficiente y deficiente) y Algas (con algas y sin algas). Además se determinó la significancia de la interacción (vit E x Algas). En los casos de un efecto de tratamientos o interacción significativa, las medias de los seis tratamientos se compararon *a posteriori* usando el método de los rangos múltiples de Duncan. Para algunas variables se realizaron análisis de correlación y regresión lineal. Para todas las pruebas se estableció un nivel de significación de $p < 0,05$ y se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17.

Resultados

CARACTERIZACIÓN DE LAS ALGAS

La Figura 1 muestra que las algas comerciales deshidratadas estudiadas (Nori y Wakame) tenían un contenido de humedad bajo y similar. Sin embargo, el contenido de proteína (34,2%) y grasa (1,9%) del alga Nori fue mayor que el del alga Wakame (20,1% y 0,5%, respectivamente). En contraste, el contenido de cenizas del alga Wakame (23,2%) fue notablemente mayor que

el del alga Nori (7,3%). Los contenidos de hidratos de carbono calculados por diferencia y el residuo no digerible determinado en ratas, no fueron diferentes entre las algas.

CRECIMIENTO Y CONSUMO DE ALIMENTO

La Tabla II muestra que tanto el consumo de alimento, el peso final de las ratas y la eficiencia alimenticia mostraron un patrón muy similar entre los diferentes grupos a excepción del grupo que consumió Nori con vit E y el grupo control sin vit E, que presentaron valores más bajos. Sin embargo, desde el punto de vista estadístico estas diferencias fueron significativas sólo para el peso final de las ratas. La comparación de medias indicó que sólo el peso final de las ratas

que consumieron la dieta que contenía Nori con vit E fue significativamente más bajo que el de los demás grupos.

La Figura 2 que describe los cambios de peso medidos secuencialmente a lo largo del experimento, muestra claramente cómo las ratas que consumieron la dieta con alga Nori con vit E, a partir del día 4 crecieron menos que todas las demás, mientras que las ratas que consumieron esta alga sin vit E mostraron los mayores aumentos de peso. Asimismo, en esta figura se observa que las ratas asignadas a la dieta control sin vit E ganaron menos peso que las controles con vit E, aunque esta diferencia no alcanzó a ser significativa, como muestra la Tabla II. Los aumentos de peso de las ratas que consumieron Wakame fueron muy similares a los medidos en las dieta control con vit E.

Tabla II. *Peso inicial y final, consumo total de alimento y eficiencia alimentaria de las ratas alimentadas con dietas suficientes o deficientes en vit E, con o sin algas durante 15 días.*

Parámetros	Con vit E			Sin vit E		
	Control	Nori	Wakame	Control	Nori	Wakame
Peso inicial (g)	111,46±12,19	113,71±12,35	112,93±11,35	112,73±13,57	112,83±13,41	111,16±11,83
Peso final (g)	169,97±23,31 ^b	157,54±15,14 ^a	169,68±16,97 ^b	161,87±21,51 ^b	173,76±23,09 ^b	164,69±20,45 ^b
Consumo de alimento total (g)	189,81±25,34	182,05±17,66	201,70±18,93	184,58±21,84	209,33±23,98	201,03±21,64
Eficiencia Alimentaria (%)	31,35±2,66	26,05±4,75	31,20±2,36	29,26±4,77	31,39±4,58	29,83±4,26

La tabla muestra la media y la desviación estándar de 7 ratas para cada tratamiento. Medias con letras distintas en una misma fila, indican una diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de los rangos múltiples de Duncan, posterior a un ANOVA de dos vías ($p < 0,05$).

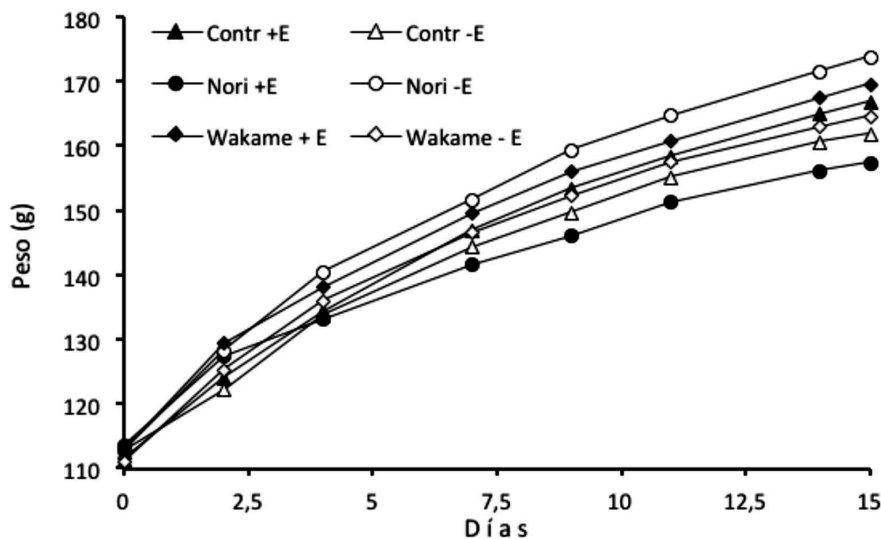


Figura 2. *Variaciones del peso corporal de las ratas que consumieron la dieta control y las que incluían algas Nori o Wakame, con o sin vit E durante los 15 días que duró el experimento.*

Los símbolos representan la media de 7 ratas. Las dietas con vit E (+E) incluían esta vit E en la mezcla vitamínica (14). En las sin vit E (-E) se excluyó esta vitamina de la mezcla. El aceite de soya utilizado en la formulación fue tratado para eliminar la vit E (15). Las ratas se pesaron los días 0, 2, 4, 7, 9, 11, 14 y 15.

Los resultados anteriores se confirman en los valores de crecimiento que se muestran en la Figura 3. La figura señala que el crecimiento más bajo de todos los grupos se observó en las ratas que consumieron la dieta que contenía alga Nori con suficiente vit E. Sin embargo, el hallazgo más notable que ilustra esta figura es que cuando el alga Nori se incluyó en la dieta deficiente en vit E, esta depresión del crecimiento se revirtió completamente y las ratas que la consumieron exhibieron un crecimiento que numéricamente fue mayor al de todos los grupos estudiados. Esto señala que la vit E dietaria modifica drásticamente el efecto del alga Nori sobre el crecimiento y sugiere que la vit E dietaria, interactúa con algún componente del alga Nori que antagoniza con el crecimiento normal de las ratas que lo consumen. Adicionalmente a este hallazgo, la Figura 3 también muestra que al comparar los dos grupos controles, la deficiencia de vit E por 15 días no causó una reducción significativa del crecimiento. El consumo del alga Wakame a un 16,6% en la dieta, a diferencia de lo descrito para el alga Nori, resultó en crecimientos similares al medido en las dietas controles y esto fue independiente de la suficiencia o deficiencia de vit E. Además, la figura muestra que desde un punto de vista numérico, el efecto de la suficiencia o deficiencia de vit E en las dietas con Wakame siguió la misma tendencia que la observada en el caso de la dietas controles sin alga.

EFEECTO DE LAS ALGAS SOBRE LA EXCRECIÓN FECAL

La Tabla III muestra que el consumo de las algas Nori y Wakame estuvo asociado con un notable aumento en la masa fecal excretada (heces húmedas),

así como en los sólidos fecales y en la humedad fecal. El aumento en la excreción fecal húmeda fue en el caso de los grupos asignados a las dietas con algas y vit E de 7,14 y 11 veces mayor que el control con vit E, para Nori y Wakame, respectivamente. Aunque esto sugiere que el alga Wakame es más efectiva en aumentar la masa fecal que el alga Nori, esta diferencia se reduce cuando la masa fecal se expresa por g de alimento consumido o por g de peso corporal. Asimismo, cuando el efecto de las algas sobre la excreción fecal se determinó en los grupos que las consumieron sin vit E, condición que resultó en consumos y crecimiento similares entre las dos algas, se observó que tanto Nori como Wakame tienen un efecto muy similar en relación con la excreción fecal y que numéricamente alcanza a casi nueve veces más que la excreción medida en las ratas controles. El peso de las heces húmedas mostró una estrecha relación con el material indigerible presente en las dietas y se pudo explicar por una línea recta $y=0,4107x+1,0561$ ($r=0,93/p<0,01$), donde (x) es el consumo de material indigerible presente en las dietas expresada en g/15 días e (y) el peso de las heces húmedas expresada en g/2días.

La Tabla III también muestra el efecto de incorporar las algas Nori o Wakame sobre la digestibilidad de la dieta. Se observa que la digestibilidad de las dietas controles que incluían como sus ingredientes principales caseína, almidón y aceite de maíz, fue 98%, mientras que en las dietas con alga, la digestibilidad estuvo en el orden del 90%. Si se considera que la adición de algas a las dietas fue de un 16,6% y que tal como muestra la Figura 1, su contenido de material indigerible es un poco más del 50%, se puede concluir que en las dietas con

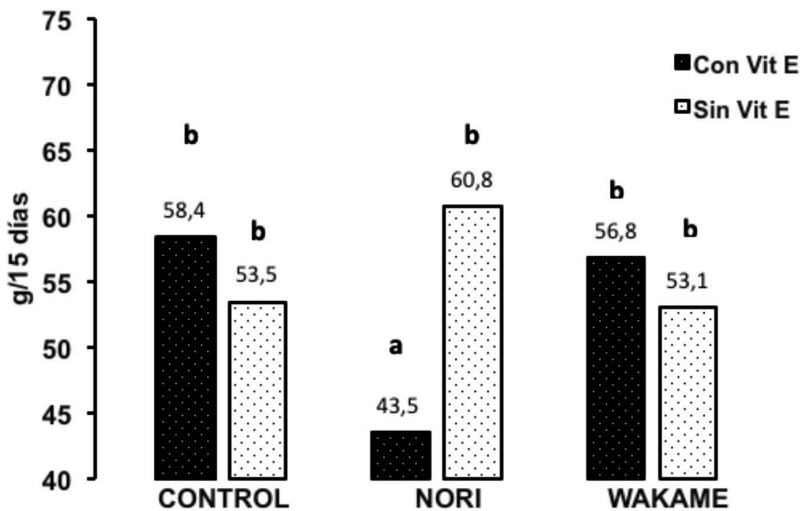


Figura 3. Crecimiento de ratas que consumieron dietas suficientes o deficientes en vit E, con o sin algas durante 15 días.

Cada barra representa el crecimiento promedio de 7 ratas. El análisis estadístico detectó una interacción significativa ($p<0,05$) Alga x vit E que justificó la comparación de medias. Barras con letras distintas indican una diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de los rangos múltiples de Duncan, posterior a un ANOVA de dos vías ($p<0,05$).

Tabla III. Excreción fecal, humedad y sólidos fecales y digestibilidad aparente de las dietas ofrecidas a ratas alimentadas con dietas suficientes o deficientes en vit E, con o sin algas durante 15 días.

Parámetros	Con vit E			Sin vit E		
	Control	Nori	Wakame	Control	Nori	Wakame
Peso heces húmedas (g/2d)	0,83±0,40 ^a	5,93±2,13 ^b	9,13±3,38 ^c	0,92±0,38 ^a	8,15±2,14 ^c	8,61±1,17 ^c
Sólidos fecales (g/2d)	0,58±0,28 ^a	2,89±1,04 ^b	4,11±1,52 ^c	0,60±0,25 ^a	3,86±1,02 ^c	3,89±0,53 ^{bc}
Humedad fecal (g/2d)	0,29±0,14 ^a	3,04±1,09 ^b	5,02±1,86 ^c	0,31±0,13 ^a	4,29±1,13 ^c	4,72±0,64 ^c
Peso de heces/Cons. Dieta (mg/g dieta)	2,27±1,07 ^a	17,80±2,39 ^b	22,81±4,98 ^c	2,68±0,96 ^a	20,06±3,49 ^{bc}	21,10±4,54 ^{bc}
Peso de heces/Peso corp. (mg/g peso corp.)	0,50±0,25 ^a	4,17±0,65 ^b	5,20±1,99 ^b	0,56±0,25 ^a	4,62±0,91 ^b	5,13±1,14 ^b
Digestibilidad Aparente (%)	98,3±0,87 ^b	90,3 ±1,31 ^a	88,5±2,52 ^a	98,0±0,71 ^b	89,3±1,86 ^a	89,3±2,30 ^a

La tabla muestra la media y la desviación estándar de 7 ratas para cada tratamiento. Medias con letras distintas en una misma fila, indican una diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de los rangos múltiples de Duncan, posterior a un ANOVA de dos vías ($p < 0,05$).

alga había un 8,3% de material indigerible asignable a las algas y aproximadamente un 2% de material indigerible asignable a los demás componentes de la dieta, lo que suma aproximadamente 10% de material indigerible. Este balance, está de acuerdo con la digestibilidad de las dietas con alga mostradas en la Tabla III y que les asigna una digestibilidad cercana al 90%.

VITAMINA E EN HÍGADO Y PLASMA

La Tabla IV muestra el peso del hígado, y el contenido de vit E en el hígado y plasma de los 6 grupos de ratas estudiados. En relación con el peso del hígado, no hubo diferencias significativas entre los grupos. Sin embargo, en el caso de la reserva de vit E hepática, la tabla muestra que los grupos asignados a las dietas con vit E tenían concentraciones mayores de esta vitamina en el hígado que las que consumieron las dietas sin vit E. Así, comparando las ratas que consumieron las dietas sin alga (controles), las asignadas a la dieta con vit E tenían una concentración hepática de esta vitamina que fue 5,16 veces mayor que las que no la consumieron, indicando

una deficiencia de vit E en las ratas controles sin vit E. La tabla también muestra que las ratas asignadas a las dietas con vit E y algas, tenían concentraciones mayores de vit E hepáticas que las asignadas a la dieta con vit E pero sin alga (control con vit E). Esto también se observó en el caso de las dietas sin vit E, pero exclusivamente en las ratas que consumieron alga Nori sin vit E que tenían una concentración hepática de vit E 77,5% mayor que las deficientes sin alga (control sin vit E). En la Tabla IV también se observa que debido a que los pesos del hígado fueron similares entre los grupos, la reserva hepática total de vit E en las ratas estudiadas mostró la misma tendencia descrita para la concentración hepática de esta vitamina. Finalmente, la Tabla IV presenta la concentración plasmática de vit E en los grupos estudiados. Se observa que tal como se describió en relación con la vit E hepática, el consumo de las dietas deficientes estuvo asociado con una reducción importante de los niveles de vit E en plasma. Sin embargo, en contraste con lo observado en el hígado, el consumo de las algas con vit E produjo una reducción de sus niveles plasmáticos. Esto fue especialmente notorio en el caso del alga Nori.

Tabla IV. Peso del hígado, concentración hepática y plasmática de vit E de las ratas alimentadas con dietas suficientes o deficientes en vit E, con o sin algas durante 15 días.

Parámetros	Con vit E			Sin vit E		
	Control	Nori	Wakame	Control	Nori	Wakame
Peso del hígado (g)	7,78±1,20	6,46±0,4	7,62±0,81	7,36±1,39	7,55±1,01	7,54±1,04
Vit E hepática (µg/g)	26,13±4,96 ^c	40,11±4,30 ^e	30,58±5,19 ^d	5,06±1,05 ^a	8,98±1,06 ^b	4,70±0,80 ^a
Vit E hepática (µg tot.)	202,84±42,61 ^c	258,72±30,23 ^d	233,69±52,95 ^d	37,44±5,94 ^a	67,79±14,31 ^b	35,41±7,04 ^a
Vit E en plasma (µg/dL)	859,26±78,84 ^d	632,94±59,82 ^c	813,89±128,86 ^d	200,45±22,78 ^a	253,13±33,46 ^b	240,63±34,23 ^{ab}

La tabla muestra la media y la desviación estándar de 7 ratas para cada tratamiento. Medias con letras distintas en una misma fila, indican una diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de los rangos múltiples de Duncan, posterior a un ANOVA de dos vías ($p < 0,05$).

La Tabla IV también muestra que en las ratas que consumieron las algas sin vit E, ocurrió lo contrario, ya que en los grupos que consumieron las dietas deficientes en vit E con alga, los niveles plasmáticos de vit E fueron más altos, particularmente en el caso del alga Nori.

NIVELES DE OXIDACIÓN ASOCIADOS CON EL CONSUMO DE ALGAS

En la Tabla V se presentan algunos indicadores de oxidación en plasma e hígado de los 6 grupos de ratas estudiadas. La tabla señala que en general, el poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) del plasma de las ratas que consumieron las dietas deficientes en vit E era menor que el medido en las ratas suficientes en vit E. Una curva de regresión lineal entre estas variables $FRAP=0,0001 \text{ vit E}+0,1797$ ($r=0,5/p<0,05$) confirmó la capacidad antioxidante de la vit E. Sin embargo, la tabla también ilustra que las algas tendieron a reducir esta capacidad, indicando que de acuerdo con este método, las algas no contribuyeron y/o redujeron la capacidad antioxidante del plasma.

La Tabla V también muestra la concentración de LDL oxidada, observándose que en estas ratas ni la deficiencia de vit E o la inclusión de las algas en la dieta afectaron el nivel de oxidación de esta lipoproteína plasmática.

Asimismo, en la Tabla V se observa que las ratas que consumieron la dieta deficiente en vit E sin algas (control sin vit E) tenían una mayor concentración de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS) que las que consumieron la misma dieta pero con vit E (control con vit E), señalando que la deficiencia de esta vitamina resulta en un estado de mayor oxidación. Sin embargo, la adición de algas a las dietas con vit E produjo un aumento en las concentraciones plasmáticas de TBARS, especialmente en las ratas asignadas a la dieta con alga Nori. Estos resultados indican que las algas y en particular el consumo del alga Nori, estuvo asociado a un mayor estado de oxidación. En contraste, cuando

las ratas consumieron las algas en dietas deficientes en vit E, los niveles plasmáticos de TBARS fueron menores que los medidos en las ratas deficientes en vit E sin alga (control sin vit E) y sustancialmente menores que los presentes en las ratas que consumieron las dietas con vit E y alga. Estos resultados indican que en ratas suficientes en vit E las algas estimulan la oxidación, mientras que en ratas deficientes la inhiben. De acuerdo con esto la relación entre la vit E plasmática (x) y la concentración de TBARS plasmática (y) en las ratas sin alga (controles) tuvo una pendiente negativa $y=-0,0203x+76,297$ ($r=-0,40/p<0,05$), indicando que a mayor vit E plasmática menos TBARS, mientras que en el caso de las dietas con alga la curva fue ascendente $y=0,0478x+41,168$ ($r=0,53/p<0,05$), mostrando que en estas dietas a medida que aumenta la vit E en el plasma, aumentan las TBARS, indicando que en las dietas con algas la vit E estimuló los niveles de oxidación en plasma.

La Tabla V muestra que en el caso de los tres grupos que consumieron dietas suficientes en vit E, las variaciones de las TBARS hepáticas fueron similares a lo descrito en el plasma. Sin embargo, en las dietas deficientes en vit E, el efecto de las algas sobre el estado de oxidación fue diferente a lo descrito en el plasma, ya que las algas no protegieron al hígado de la oxidación. La inclusión de las algas en las dietas asignadas a las ratas deficientes en vit E estuvo asociada con niveles de TBARS similares a los medidos en las ratas del grupo control sin vit E. No obstante, en el hígado la relación entre la concentración de vit E hepática y las TBARS fue similar a la obtenida en el plasma, ya que entre las concentraciones hepáticas de vit E ($\mu\text{g/g}$) y TBARS en hígado (nMoles MDA/g) en ratas que consumieron dietas con algas o sin algas produjo curvas de regresión lineal con pendientes negativas en las dietas sin alga y positivas en las dietas con alga. Dietas sin alga $y=-5,2745x+400,64$ ($r=-0,85/p<0,05$) y dietas con alga $y=2,8109x+366,22$ ($r=0,71/p<0,05$), donde (y) corresponde a las concentraciones de TBARS hepáticos, mientras que (x) corresponde a las concentraciones de vit E hepática, señalando

Tabla V. Poder antioxidante de reducción férrica (FRAP), LDL-oxidada y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en hígado y plasma de las ratas alimentadas con dietas suficientes o deficientes en vit E, con o sin algas durante 15 días.

Parámetros	Con vit E			Sin vit E		
	Control	Nori	Wakame	Control	Nori	Wakame
FRAP (mmol)	0,292±0,04 ^c	0,286±0,08 ^{bc}	0,234±0,04 ^{ab}	0,220±0,02 ^a	0,187±0,03 ^a	0,191±0,05 ^a
LDL oxidada (U/L)	10,34±4,36	11,51±3,95	10,02±3,73	9,04±2,10	10,23±2,85	8,89±2,57
TBARS Plasma (nM/mL)	61,28±12,70 ^{bc}	88,8±18,80 ^d	71,69±13,28 ^{bcd}	75,86±18,66 ^{cd}	55,47±10,32 ^{ab}	41,96±13,89 ^a
TBARS Hígado (nM/g)	258,9±32,73 ^a	495,8±41,74 ^d	428,6±21,98 ^c	353,3±51,75 ^b	383,7±46,05 ^{bc}	369,3±62,27 ^b
TBARS Hígado (μM Tot.)	1,991±0,221 ^a	3,202±0,399 ^c	3,258±0,297 ^c	2,703±0,384 ^b	2,878±0,398 ^{bc}	2,872±0,612 ^{bc}

La tabla muestra la media y la desviación estándar de 7 ratas para cada tratamiento. Medias con letras distintas en una misma fila, indican una diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de los rangos múltiples de Duncan, posterior a un ANOVA de dos vías ($p<0,05$).

do que en las dietas sin alga a medida que aumenta la vit E se reduce la oxidación, mientras que en las con alga ocurrió lo contrario.

ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN ERITROCITOS

La Tabla VI muestra las actividades de las enzimas antioxidantes catalasa y glutatión reductasa medidas en hemolizados de glóbulos rojos de los 6 grupos de ratas estudiados. En la tabla se observa que en general la actividad de ninguna de estas enzimas varió sustancialmente entre los grupos. Así, en el caso de la catalasa el análisis estadístico no detectó un efecto significativo para la vit E, indicando que los 3 grupos con vit E tenían actividades de catalasa similares que los sin vit E. Sin embargo, la tabla señala que las actividades más altas estuvieron asociadas al consumo de Nori y las más bajas al de Wakame, tanto en los grupos con vit E, como sin vit E. En el caso de la glutatión reductasa, los 3 grupos sin vit E tuvieron actividades ligeramente mayores que los 3 con vit E y que los grupos con alga tuvieron actividades mayores que los sin alga. Esto indica que tanto la deficiencia de vit E como la presencia de algas resultó en una ligera inducción de la actividad de esta enzima eritrocitaria.

Discusión y Conclusiones

En seguimiento a estudios anteriores en los que se evaluó el potencial de un salvado de arroz como fuente de fibra y su capacidad antioxidante *in vivo* (9) e *in vitro* (22), el propósito del presente experimento fue utilizar un modelo similar (9) para evaluar algas comestibles. El estudio de las algas es interesante, ya que estos organismos acuáticos han sido utilizados por comunidades costeras en Latinoamérica desde hace unos 14.000 años (23), existe una importante industria agropecuaria que las comercializa como fertilizante agrícola o como alimento para animales y además, las algas tienen gran aceptación como alimento humano (1) (3) (5) (7) (8). De acuerdo con la información científica y de divulgación disponible, las algas son alimentos con capacidad antioxidante (4) (24-30), con excelentes características nutricionales (1) (3) (5) (7) (8) (26), su consumo se asocia con longevidad y buena salud

(5) (7) (8) (26) y se las considera como un recurso proteico que puede ser utilizado en el futuro para satisfacer los requerimientos de una población en expansión (6).

En base a este cúmulo de información, se pensó que las algas Nori y Wakame, objeto de este estudio, tendrían un comportamiento similar al del salvado de arroz (9). Sin embargo, desde los primeros días del experimento, se observó que no era así. La razón fue que a diferencia de las dietas que contenían salvado de arroz con o sin vit E (9), las ratas asignadas a la dieta con alga Nori con vit E a partir del día 4, mostraron aumentos de peso por debajo de todas las demás, ubicándose en un canal de crecimiento inferior (Fig. 2) y que mantuvieron durante todo el experimento. Inicialmente se pensó que esto podía deberse a que la calidad de la proteína presente en el alga Nori podía ser inferior a la caseína ya que con el fin de mantener dietas isonitrogenadas, estas dietas contenían sólo un 75% de caseína, mientras que las controles tenían un 100% y las dietas con Wakame 87,5% (Tabla I). Sin embargo, a partir del mismo día 4 se observó que las ratas asignadas a la dieta con Nori sin vit E mostraban un crecimiento similar o mejor que el resto de los grupos, indicando que la proteína del alga Nori era tan buena como la caseína. Además, como la única diferencia entre estas dietas era el contenido de vit E, la disminución del crecimiento observado en las ratas que consumieron Nori con vit E debía estar relacionado con esta vitamina. En contraste con esto, el consumo de las 2 dietas que contenían Wakame estuvo asociado con crecimientos similares a las ratas controles, indicando que el efecto negativo de la vit E sobre el crecimiento no afectó al Wakame.

Los efectos del consumo de las algas Wakame y Nori sobre el crecimiento de las ratas reportados aquí, están de acuerdo con los reportados en ratas alimentadas con estas algas, por otros autores (31) (32). Sin embargo, este trabajo amplía esta información, señalando que la reducción del crecimiento asociada al consumo de alga Nori ocurre sólo si las dietas son suficientes en vit E. En caso contrario, el alga puede incorporarse hasta en un 16,6% sin ningún efecto negativo sobre el crecimiento.

Un aspecto importante en este experimento fue estudiar los efectos de la fibra presente en las algas Nori y Wakame en relación con la función excretora intestinal. El estudio mostró que en las dos algas, aproxima-

Tabla VI. Actividad de las enzimas catalasa y glutatión reductasa en los eritrocitos de las ratas alimentadas con dietas suficientes o deficientes en vit E, con o sin algas durante 15 días.

Parámetros	Con vit E			Sin vit E		
	Control	Nori	Wakame	Control	Nori	Wakame
Catalasa (U/10 g Hb)	8,32±1,02 ^{bc}	8,86±0,59 ^{cd}	7,48±0,75 ^a	8,68±0,53 ^{cd}	9,21±0,78 ^d	7,70±0,48 ^{ab}
Glut.Red. (U/g Hb)	3,15±0,98 ^a	4,54 ±0,78 ^{abc}	4,83±1,18 ^{bc}	4,05±0,71 ^{ab}	5,20±0,70 ^{bc}	5,76±1,93 ^c

La tabla muestra la media y la desviación estándar de 7 ratas para cada tratamiento. Medias con letras distintas en una misma fila, indican una diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de los rangos múltiples de Duncan, posterior a un ANOVA de dos vías ($p < 0,05$).

damente la mitad era material indigerible. Esto es más alto que lo reportado anteriormente en subproductos de la industrialización de cereales, como son el salvado de trigo (33) y el salvado de arroz (9) y de acuerdo con esto, los resultados señalaron que ambas algas tuvieron un efecto similar y muy importante en la masa fecal excretada y su contenido de humedad. Asimismo, la línea de regresión entre el residuo indigerible consumido y la masa fecal excretada indicó que la masa fecal de las ratas que consumieron algas fue 7,4 veces más alta que la excretada por las ratas controles que no consumieron fibra. Una consideración importante con respecto a esta observación es que el aumento en la masa fecal es mayor a medida que aumenta el consumo de material indigerible y en consecuencia, depende de la cantidad de alga consumida. Estos resultados concuerdan con los obtenidos con salvado de trigo (33). En el experimento realizado, la concentración de alga en la dieta se fijó en un 16,6%, concentración muy alta con respecto al consumo de alga en los países occidentales. Sin embargo, en países asiáticos el consumo es alto, así por ejemplo el consumo en Corea (6) alcanza a 22,41 kg/año o 61,39 g *per capita* por día, mientras que en Japón (34) varía entre 4 y 12 g *per capita* por día y hay información (35) que señala que el contenido de algas en la dieta del Japón podría ser mayor al 10%. Considerando que la dieta en los países asiáticos es baja en grasas, su densidad calórica debe ser aproximadamente 4 kcal/g. Al mismo tiempo, el consumo calórico diario debe estar en el orden de las 2.400 kcal, por lo que el consumo diario de alimento seco se aproximaría a unos 600 g. Así, la concentración de alga en la dieta consumida en Corea sería $61,39 \times 100/600$ o un 10,23%. Usando el mismo razonamiento los consumos de 4 y 12 g/día corresponderían a 0,66% y 2% del peso de la dieta. Esto señala que el consumo de Nori y Wakame de las ratas aquí estudiadas no se aleja de la realidad presente en los países asiáticos. Asimismo, reemplazando estos consumos en la ecuación ya señalada, resulta que el consumo de una dieta con un 10% y 2% de algas, quintuplicaría y casi duplicaría la excreción fecal de las ratas controles respectivamente. Finalmente, comparando los efectos de las algas con estudios anteriores que utilizaron salvado de trigo al 15% (33) o salvado de arroz al 12,8% (9) se concluye que las algas Nori o Wakame fueron más efectivas en aumentar el peso y la humedad fecal que cualquiera de esos salvados.

Así como mantener una buena función excretora, reduce el estreñimiento y la prevalencia de enfermedades propias del intestino (9)(33), una función muy importante del aparato gastrointestinal es su función absorbente, ya que de ella depende que haya una apropiada nutrición. En este estudio se examinó el efecto de las algas Nori y Wakame sobre la digestibilidad de la dieta que las incluía. Los resultados mostraron que las dietas con alga se absorbieron menos que las sin algas, pero la disminución observada correspondió a la cantidad de

material no absorbible presente en las algas, sin ningún efecto sobre la absorción de los demás nutrientes presentes en las dietas. Esto señala que las algas estudiadas estimulan una buena función excretora intestinal sin afectar su función absorbente.

Una propiedad de los componentes no digeribles presentes en la fibra dietaria proveniente de salvados de cereales o en este caso de las algas, es que pueden servir de sustento para la flora gastrointestinal (microbiota) de los organismos que las consumen. Debido a que estos microorganismos cuentan con los sistemas enzimáticos capaces de desdoblar el material indigerible, generan energía, nutrientes esenciales y compuestos bioactivos, útiles tanto para el hospedador como para estimular su propio crecimiento y diversidad (9). Esto aporta una serie de beneficios para el hospedador que ya han sido discutidos (9). Sin embargo, una consecuencia adicional es que aumenta el peso del intestino. Esto es especialmente notorio en las ratas en las que el ciego, sirviendo como una cámara de fermentación, puede aumentar su peso (tejido + contenido) considerablemente (36) y podría explicar el mayor peso de las ratas que consumieron algas a pesar de consumir dietas con un menor contenido de nutrientes digeribles. Resultados similares se observaron en trabajos anteriores con salvado de arroz (9) y salvado de trigo (33).

El método utilizado aquí para determinar la capacidad antioxidante de las algas Nori y Wakame se basó principalmente en evaluar la capacidad de las algas de conservar la reserva hepática de vit E en ratas que las consumieron en una dieta exenta de vit E durante 15 días y que estaban utilizando esta reserva para satisfacer sus requerimientos diarios de vit E. Para evaluar esta capacidad se usaron como puntos de referencia dietas sin alga y sin vit E (control sin vit E) y sin alga con vit E (control con vit E). Para completar el diseño experimental se incorporaron también dietas con algas (Nori o Wakame) con o sin vit E.

Al analizar los tres grupos de ratas que consumieron las dietas sin vit E, se observa que las ratas que consumieron la dieta control exenta de vit E tenían sólo un 19,4% ($5,06 \times 100/26,13$) de la reserva hepática de vit E observada en las ratas controles con vit E. Sin embargo, el consumo del alga Nori estuvo asociado con un ahorro de la reserva hepática de vit E, ya que estas ratas tenían 34,4% ($8,98 \times 100/26,13$) de la reserva presente en las controles con vit E. Como esto no ocurrió en el caso del Wakame, los resultados señalan que sólo el consumo del alga Nori resulta en un ahorro de vit E. En este estudio, se sacrificaron 7 ratas el mismo día en el que se inició el experimento y estas ratas habían consumido la misma dieta control con vit E que consumieron las ratas experimentales durante la semana que duró el acondicionamiento pre-experimento. En estas ratas la concentración de vit E fue de 26,98 µg/g de hígado, valor muy similar al que tenían las ratas controles al finalizar el experimento.

to. Esto indica que la mezcla vitamínica utilizada en las dietas que contenían vit E fue suficiente para satisfacer todos los requerimientos de la rata y además asegurar una concentración hepática de vit E de aproximadamente 27 µg/g. Esto señala que las ratas que consumieron la dieta control sin vit E utilizaron un 81% de su reserva hepática inicial de vit E, mientras que las que consumieron alga Nori utilizaron sólo un 67%, lo que confirma la capacidad de esta alga para ahorrar vit E. Una condición similar se obtuvo en el caso del salvado de arroz (9) y se justificó en base al contenido de vit E en el material evaluado, a otros compuestos antioxidantes e incluso a una condición menos inflamatoria, tanto a nivel intestinal como sistémica, asociada a posibles cambios en la microbiota intestinal en respuesta a la fibra presente en el salvado de arroz (9) y aquí al consumo de alga Nori.

Aunque de la discusión anterior se puede concluir que el alga Nori tiene la capacidad de ahorrar vit E en dietas deficientes en esta vitamina, la situación se tornó diferente al examinar los efectos de las algas sobre los niveles de vit E en plasma e hígado en las ratas que consumieron las dietas suficientes en esta vitamina. En este caso, se observa que las ratas que consumieron las algas tenían concentraciones de vit E hepática mayores que las de las ratas que consumieron la misma dieta pero sin alga. Así, la concentración de vit E hepática en las ratas que consumieron las dietas con Nori y Wakame, indicó que tenían 53,5% y 17,0% más vit E que las que consumieron la dieta sin alga (control con vit E). Asimismo, llama la atención que estos mismos grupos tenían concentraciones de vit E plasmáticas que eran un 26,3% (Nori) y 5,3% (Wakame) menores que las ratas controles, sugiriendo que el consumo de las algas, especialmente el alga Nori, está asociado con una retención y acumulación de la vit E en el hígado. Esta acumulación no fue generada por los contenidos de vit E en las algas, ya que de acuerdo con el contenido de vit E reportado para estas algas (37), su contribución al contenido de vit E en las dietas con alga Nori y Wakame era de sólo 3,9% y 0,35% respectivamente, mientras que todo el resto (96,1% y 99,65%) provenía de la mezcla vitamínica utilizada en la preparación de las dietas, lo que señala que algún componente presente en las algas, interfirió con la movilización apropiada de la vit E desde el hígado al plasma.

Los resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante *in vivo* de las algas deshidratadas estudiadas, mostró que ni el alga Nori ni el Wakame redujeron el estrés oxidativo en el hígado y protegieron solo parcialmente en el plasma de las ratas que consumieron dietas deficientes en vit E. Así, por ejemplo, la capacidad del plasma para reducir el hierro férrico (FRAP), disminuyó en los tres grupos de ratas que consumieron las dietas sin vit E y esto ocurrió tanto en las ratas asignadas a las dietas con algas, como en las sin alga, indicando que en estas ratas, el consumo de las algas no mejoró la capacidad reductora del plasma.

En el caso de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), la situación fue diferente dependiendo de si las algas se consumían con o sin vit E. Tanto en el hígado como en el plasma, la deficiencia de vit E en las ratas que no consumieron algas (control sin vit E) estuvo asociada con un aumento en TBARS con respecto a las ratas que consumieron la dieta suficiente en vit E (control con vit E), indicando que la vit E, de acuerdo con su función antioxidante (38) protegió a estas ratas del estrés oxidativo. Sin embargo, en el caso de las ratas que consumieron tanto Nori como Wakame con vit E, los niveles de TBARS en hígado y plasma fueron sustancialmente mayores que en las ratas que consumieron la misma dieta sin alga (control con vit E), indicando que en estas ratas, la combinación de algún componente de las algas con la vit E estimuló la oxidación. La implicación de la vit E en este fenómeno lo demuestra el hecho que cuando las algas se consumieron sin vit E los niveles de TBARS disminuyeron. Este hallazgo lo confirmaron las pendientes de las líneas de regresión entre el consumo de vit E y el contenido de TBARS, tanto en plasma como en el hígado. Así, en el caso de las ratas que consumieron las dietas sin alga, tal como era de esperarse, a mayor consumo de vit E hubo menos TBARS en plasma e hígado (pendiente negativa), en contraste, en las ratas que consumieron las dietas con algas, mientras mayor fue el consumo de vit E mayores fueron los TBARS en ambos tejidos (pendiente positiva), indicando que en estas ratas, el consumo de vit E en lugar de reducir el estrés oxidativo, lo aumentó. Es importante indicar que este antagonismo entre el consumo de algas y vit E fue más notorio en el caso del alga Nori y esto coincidió con la observación que el crecimiento de las ratas que consumieron esta alga con vit E fue mucho menor que el de todos los demás grupos y que cuando el alga Nori se ofreció sin vit E estas ratas crecieron tanto como las controles. Esto señala que este antagonismo puede afectar una función tan fundamental como es el crecimiento corporal y que estas algas funcionan mejor cuando se incorporan en dietas deficientes en vit E. Ofrecidas en esta forma, su consumo incluso estuvo asociado con una reducción de las concentraciones plasmáticas de TBARS, indicando una cierta protección de las algas Nori y Wakame frente al estrés oxidativo que produjo el consumo de la dieta control deficiente en vit E.

Es importante indicar que indicios de los posibles efectos oxidantes de las algas ya fueron reportados por otros investigadores anteriormente (39)(40). Sin embargo el efecto de la vit E, hasta donde se sabe, es la primera vez que se reporta.

Cabe señalar que alcanzar los niveles de consumo de alga a los que estuvieron expuestas las ratas de este estudio en la dieta humana consumida por el mundo occidental es muy improbable y al mismo tiempo, más de un 90% de sus habitantes no satisfacen los requerimientos establecidos para la vit E (9) de manera que los efectos oxidantes de las algas reportados aquí, es difícil que se manifiesten.

Sin embargo, esto podría ocurrir en países asiáticos debido a sus altas ingestas de algas y particularmente en individuos que usen suplementos de vit E. Sin embargo, hay que considerar, además, la posibilidad de una adaptación a la condición que produce el antagonismo. Así, es posible que individuos que han evolucionado por generaciones consumiendo algas, hayan desarrollado un organismo capaz de digerirlas y metabolizarlas apropiadamente. Un ejemplo de esto es el alto consumo de yodo en Japón debido al consumo de algas (34) y que podría afectar la función tiroidea. Sin embargo, esto no ocurre debido a que los individuos se adaptan a estos altos consumos (41), por lo que los niveles máximos tolerables de yodo son mayores en Japón que en los países occidentales (42).

Algo que llama la atención en relación con los resultados de este estudio es que contrastan con las buenas condiciones de salud que mantienen los países que consumen algas. Sin embargo, esta información de tipo epidemiológico no invalida la evidencia experimental presentada aquí, sino más bien estimula a reflexionar en relación a cómo poner en contexto estas dos fuentes de información. En relación con esto, vale la pena destacar que a pesar de la información epidemiológica existente, Japón, China y Corea concentran el 60% del total de cánceres gástricos en el mundo y coincidentemente son los países con los más altos consumos de algas (6)(43).

Una observación que destaca en el presente trabajo es la ventaja de realizar evaluaciones nutricionales *in vivo*. En relación con esto, lo más ventajoso de este tipo de evaluación es que el material a evaluar se utiliza en la misma forma en la que se va a consumir y en consecuencia, la proporción en la que se encuentran la infinidad de componentes benéficos o potencialmente tóxicos presentes en su estructura (5)(6)(23)(34)(40), no ha sido alterada, simplificada o eliminada por los procesos de extracción que habitualmente se realizan en los estudios *in vitro*. Los resultados de este estudio y que confirman trabajos anteriores (9)(22) son un ejemplo de esta ventaja. Así, en relación con las algas, la evidencia obtenida *in vitro* señala que tienen una excelente capacidad antioxidante (2-6)(23-40), sin embargo, este estudio, de acuerdo con otros estudios similares (6)(39)(40) realizados *in vivo*, muestran que esto no es así y que además, algunos componentes presentes en las algas pueden producir interacciones negativas con otros ingredientes de la dieta, tal como ocurrió aquí en el caso de la interacción antagónica entre el consumo de las algas Nori o Wakame con la vit E dietaria. En consecuencia, lo más adecuado es complementar la información *in vitro* con estudios *in vivo*.

En conclusión, este trabajo mostró que los efectos de alimentar ratas en crecimiento con las algas Nori o Wakame al 16,6% durante 15 días son diferentes si las algas se ofrecen en una dieta suficiente o una deficiente en vit E. Así, en ratas deficientes en vit E, las algas son bien aceptadas, estimulan un crecimiento adecuado y mejoran la función excretora intestinal. Adicionalmente, las algas y

particularmente el alga Nori redujeron el estrés oxidativo. En contraste, en ratas suficientes en vit E, ambas algas provocaron una acumulación de la vit E en el hígado y aumentaron el estrés oxidativo. Esto, fue más notorio en el caso del alga Nori que causó incluso una reducción importante en el crecimiento de las ratas. Esto, apunta a un antagonismo entre la vit E y las algas que puede afectar funciones fisiológicas tan básicas como el crecimiento.

CORRESPONDENCIA

PATRICIO HEVIA

Ph.D. Nutrición.

Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos

Universidad Simón Bolívar

CARACAS, Venezuela

E-mail: phevial@usb.ve

Referencias bibliográficas

1. Quitral V, Morales C, Sepulveda M, Schwartz M. Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencial como ingrediente funcional. *Rev Chi Nutr* 2012; Vol 39 (4): 196-202.
2. Rogers K. Algae. In: *Biochemistry, Cells and Life. Fungi, Algae and Protistas*. New York: Kara Rogers. Britannica Edu Pub; 2011. p. 142-4.
3. Stramarkou M, Papadaki S, Kyriakopoulou K, Krokida M. Effect of drying and extraction conditions on the recovery of bioactive compounds from *Chlorella vulgaris*. *J App Phycoll*. Published online: 19 June 2017. (Fecha de acceso: 17 de octubre de 2017).
4. Machu L, Misurkova L, Vavra Ambrozova J, Orsavova J, Micek J, Sochor J, *et al*. Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules* 2015; 20: 1118-33.
5. Brown EM, Allsopp PJ, Magee PJ, Gill CIR, Niteckie S, Strain CR, *et al*. Seaweed and human health. *Nutr Rev* 2014; 72: 205-16.
6. Bleakley S, Hayes M. Algal proteins: Extraction, applications and challenges concerning production. *Foods* 2017; 6 (5): 33. (Fecha de acceso: 2 de octubre de 2017).
7. Cindy Hsin-I F. The tale of sushi: History and regulations. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety* 2012; 11(2): 205-20.
8. Watanabe Z. The Transition of the Japanese-Style Diet. Will Japan's food culture become the world's new macrobiotic diet and general health food. The 2006 Kikkoman Food Culture Seminar. Disponible en: https://www.kikkoman.co.jp/foodculture/pdf_13/e_002_006.pdf. (Fecha de acceso: 15 de septiembre de 2017).
9. Aguilar-García C, Cioccia AM, Gavino V, Gutiérrez M, Hevia P. Benefits of fiber and antioxidant power of rice bran in vitamin E deficient rats. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2017; 51 (1): 95-105.
10. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official methods of analysis*. 15 ed., EEUU; 1990.

11. Hevia P, Cioccia AM. Application of a colorimetric method to the determination of nitrogen in nutritional studies with rats and humans. *Nutr Rep Int* 1988; 38(6): 1129-36.
12. Blight E, Dyer W. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959; 37: 911-6.
13. Lloyd LE, McDonald BE, Crampton EW. *Fundamentals of nutrition* (G.W. Salisbury, editor), San Francisco: Freeman Publishing Co.; 1978. p. 319.
14. Reeves P, Nielsen F, Fahey G. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of The American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet. *J Nutr* 1993; 123: 1939-51.
15. Mohri K, Dohmoto C, Ikesu H, Igarashi O. A simple elimination method of vitamin E from vegetable and fish oils for the preparation of vitamin E deficient diet. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 1983; 36:122-4.
16. Benzie I, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal Biochem* 1996; 239:70-6.
17. Chow FI, Omaye ST. Use of antioxidant in analysis of vitamins A y E in mammalian plasma by performance liquid chromatography. *Lipids* 1983; 18: 837-41.
18. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-8.
19. Cohen G, Kim M, Ogwu V. A modified catalase assay suitable for a plate reader and for the analysis of brain cell cultures. *J Neurosci Meth* 1996; 67: 53-6.
20. Bayoumi R, Rosalki S. Evaluation of methods of coenzyme activation of erythrocyte enzymes for detection of deficiency of vitamins B1, B2 y B6. *Clin Chem* 1976; 22 (3): 327-35.
21. Ueda T, Igarashi O. Determination of Vitamin E in biological specimens and foods by HPLC. Pretreatment of samples and extraction tocopherols. *J Micronutr Anal* 1990; 7: 79-96.
22. Aguilar-García C, Gavino G, Baragaño-Mosqueda M, Hevia P, Gavino VC. Correlation of tocopherol, tocotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *Food Chem* 2007; 102 (4): 1228-32.
23. Craigie JG. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J Appl Phycol* 2011; 23: 371-93.
24. Batista-González A, Charles M, Mancini-Filho J, Vidal-Novo A. Las algas marinas como fuentes de fitofármacos antioxidantes. *Rev Cub Plant Med* 2009; 14 (2): 1-8.
25. Jimenez-Scrig A, Jimenez I, Pulido R, Saura-Calixto S. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *J Sci Food Agric* 2001; 81: 530-34.
26. García-Casal M, Ramírez P, Leets I, Pereira A, Quiroga M. Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva* sp., *Sargassum* sp. and *Porphyra* sp.) in human subjects. *Brit J Nutr* 2008; 101 (1): 79-85.
27. Rocha de Souza M, Teixeira-Márquez C, Guerra-Dore M, Ferreira da Silva F, Oliveira-Rocha H, Lisboa-Leite E. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *J Appl Phycol* 2007; 19: 153-60.
28. Hu T, Liu D, Chen Y, Wu J, Wang S. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Undaria pinnatifida* *in vitro*. *Int J Biol Macromol* 2010; 46: 193-8.
29. Rao H, Raghavendran B, Sathivel A, Devaki T. Hepatoprotective nature of seaweeds alcoholic extract on acetaminophen induced hepatic oxidative stress. *J Health Sci* 2004; 50 (1): 42-6.
30. Ismail A, Siew Hong T. Antioxidant activity of selected commercial seaweeds. *Mal J Nutr* 2002; 8 (2): 167-77.
31. Murata M, Sano Y, Ishihara K, Uchida M. Dietary fish oil and *Undaria pinnatifida* (Wakame) synergistically decrease rat serum and liver triacylglycerol. *J Nutr* 2002; 132: 742-7.
32. Urbano M, Goñi I. Bioavailability of nutrients in rats fed on edible seaweeds, Nori (*Porphyra tenera*) and Wakame (*Undaria pinnatifida*), as a source of dietary fibre. *Food Chem* 2002; 76: 281-6.
33. Cilli V, Hevia P. Wheat bran and whole wheat flour as sources of fiber and calories for the rat. *Nutrition Reports International* 1989; 39 (5): 917-30.
34. Zava TT, Zava DT. Assessment of Japanese iodine intake base on seaweed consumption in Japan: A literature based analysis. *Thyroid Research* 2011; 4:14. Disponible en: <http://www.thyroidresearchjournal.com/content/4/1/14> (Fecha de acceso: 20 de octubre de 2017).
35. Guiry M.D. 2000-2017. The seaweed site: information on marine algae. Seaweeds as foods. Disponible en: http://www.seaweed.ie/uses_general/humanfood.php (Fecha de acceso: 16 de octubre de 2017).
36. Montbrun M, Gutierrez M, Cioccia AM, Hevia P. La diarrea inducida con lactosa es más severa, prolongada y produce mayores pérdidas fecales de macronutrientes en ratas cecotomizadas que en ratas intactas. *Arch Latinoam Nutr* 2017; 67 (1): 32-41.
37. The Resources Council of the Science and Technology Agency of Japan. The Standard Tables of Food Composition in Japan 15 edition 2005. Disponible en: http://www.fao.org/infoods/tables_asia_en.stm#japan (Fecha de acceso: 25 de septiembre de 2017).
38. Chow Ch K. Vitamin E. En *Hanbook of Vitamins*. Third Edition (Rucker RB, Suttie JW, McCornick DB, Machlin LJ editors) Marcel Dekker, Inc. NY; 2001. p. 165-97.
39. Bocanegra A, Benedi J, Sánchez-Muñiz FJ. Differential effects of Konbu and Nori seaweeds dietary supplementation on liver glutathione status in normo-and hypercholesterolemic growing rats. *Brit J Nutr* 2006; 95: 696-702.
40. Bocanegra A, Benedi J, Ródenas S, Sánchez-Muñiz FJ. Review: Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *J Medicinal Foods* 2009; 12 (2): 236-58.
41. Leung AM, Braverman LE. Consequences of excess iodine. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 10 (3): 136-42.
42. Fuse Y, Shishiba Y, Irie M. Japan.s iodine status-too high or just right. *IDD Newsletter*. August 2015. p. 9-11. Disponible en: http://www.ign.org/cm_data/IDD_aug15_mail_1.pdf (Fecha de acceso: 2 de septiembre de 2017).
43. Csendes A, Figueroa M. Situación del cáncer gástrico en el mundo y en Chile. *Rev Chilena Cirugía* 2017; 69 (6): 502-7.

Recibido: 19 de noviembre de 2017
Aceptado: 26 de marzo de 2018